

Présentation du projet de thèse

Résumé pour un public non scientifique (saisie libre de 1000 caractères max.)

Ce paragraphe pourra être communiqué, sauf avis contraire du porteur de projet.

Les micro-algues constituent, au sein du milieu marin, une classe d'organismes très riche, source de molécules bioactives originales et pour certaines cultivables. Afin de pouvoir maximiser l'exploitation de cette ressource (cibler prioritairement les micro-algues produisant des composés bioactifs) économe en intrants et en énergie nous proposons de développer un outil d'analyse permettant de caractériser une partie du métabolome (ensemble des métabolites synthétisés par les organismes) Pour cela, nous devons coupler analyse chimique et criblage biologique. Les données obtenues seront analysées par un outil *ad-hoc* à développer relevant de la bio-informatique. L'ensemble constituera alors un outil devant nous permettre de caractériser les composés bioactifs produits par les souches qui pourront directement intéresser nos partenaires industriels. AkiNaO et GreenSea sont deux PME régionales qui sont associées à ce projet. Les applications futures envisagées couvrent une large gamme de secteurs, de la cosmétique à la protection des cultures agricoles.

Présentation scientifique du projet de recherche (objectifs, méthode, ...) (saisie libre de 5000 caractères max.) :

Intitulé du sujet de thèse : Caractérisation de composés bioactifs issus de la diversité microALgale par MétaboLomique différentielle et Déréplication assistée par mise en REseAu Moléculaire

Acronyme : All DREAM

Contexte :

Dans un contexte d'économie circulaire et dans le cadre de l'optimisation et de la substitution des ressources, la biomasse issue de la production de micro-organismes photosynthétiques est une des alternatives mise en avant dans les secteurs de l'énergie ou de la chimie fine. En effet, au sein du milieu marin les micro-algues constituent une classe d'organisme très riche possédant un métabolome extrêmement varié. Dans ce projet nous nous proposons de nous focaliser sur le métabolisme secondaire (appelé aussi « spécialisé ») des micro-algues. Les métabolites secondaires sont les effecteurs de la communication chimique marine. Ces composés sont impliqués dans la protection contre des stress biotiques, dans la défense contre les concurrents ou les prédateurs, ils sont par conséquent actifs sur une large gamme de cibles biologiques.

Objectif et méthodologie :

Le projet consiste à développer un outil innovant adapté à l'exploration de la chimiodiversité des composés bioactifs issus des micro-algues. Il s'agit ici de proposer une analyse différentielle des empreintes métaboliques des souches de microalgues couplée à un criblage biologique adapté et permettant d'identifier des souches « ressources ». Nous proposons de rechercher de façon plus spécifique des métabolites pouvant répondre aux demandes sociétales identifiées par nos partenaires industriels dans les secteurs des alternatives aux pesticides de synthèse, de la santé ou

encore de la cosmétique. Ces métabolites pourront alors être caractérisés par déréplication assistée par l'étude des réseaux moléculaires. En effet, une approche bio-informatique innovante, nommée «réseaux moléculaires» (molecular networking), a été développée par un laboratoire de l'Université de Californie de San Diego (avec qui le CRIIBE amorce des collaborations). Cette approche est capable d'organiser et de visualiser des données MS² sous la forme de carte de similarité spectrale, mettant en lumière l'existence de groupes spectraux ainsi que leurs degrés de similarité. Grâce à l'utilisation de réseaux moléculaires, des mélanges complexes peuvent être comparés *in silico* et annotés, facilitant l'étude du métabolome d'organismes vivants et donc la caractérisation par déréplication des métabolites étudiés.

Le projet porté par le CRIIBE consiste à s'appuyer sur un fond biologique mutualisé issu des différents partenaires du projet. La souchothèque de micro-algues constituée par GreenSea permettra de disposer de souches génétiquement proches possédant des profils métaboliques différents.

Cette souchothèque nous permettra de développer l'outil constitué d'une combinaison de compétence et de techniques :

- un outil de profilage métabolique en Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse Haute Résolution, incluant le système d'extraction, de conditionnement et de conservation des fractions métaboliques à étudier,
- un criblage d'activités biologiques miniaturisé orienté sur les besoins sociétaux et sur les cibles biologiques déterminées par le consortium,
- un outil bio-informatique permettant l'analyse différentielle, la combinaison de données, et *in fine* la caractérisation des métabolites corrélés aux activités étudiées. Deux approches combinées seront développées : le ciblage des marqueurs de l'activité et leur tentative d'identification par déréplication assistée par la mise en réseau moléculaire.

Le(a) doctorant(e) sera en charge du développement du système analytique, des tests biologiques et du « workflow » informatique à appliquer aux données. Il (elle) sera en relation étroite avec les partenaires industriels dans le cadre du développement des test biologiques (AkiNaO) et pour la présélection de souches avec GreenSea et le CRIIBE.

Dans un second temps :

- les souches sélectionnées feront l'objet d'une optimisation des conditions de croissance et d'orientation métabolique. Pour cela des systèmes analytiques *ad-hoc* seront développés afin de suivre les métabolites marqueurs de l'activité et de permettre ainsi le choix des conditions de cultures.
- Les composé bioactifs seront caractérisés par déréplication en s'appuyant sur la réalisation de réseau moléculaire (Cette partie sera réalisée en collaboration avec le Dr. Louis Felix Nothias, Univ San Diego, USA).

Outre le développement de l'outil, l'ensemble des data de profilage métabolique généré au cours de ce projet permettra de proposer un nouvel arbre phylométabolique pouvant constituer, la base d'une classification alternative, un socle source pour la sélection de nouvelles souches mais aussi une banque de données précieuse pour la réalisation de futur réseau moléculaire.

Moyen Technique :

Le CRIIBE héberge et gère le Plateau Métabolites Secondaires, Xénobiotiques et Métabolomique Environnementale de la plateforme Bio2Mar. Le plateau MSXM est identifié par l'infrastructure nationale « Metabohub » (<http://www.metabohub.fr>) comme un site d'expertise en métabolomique environnementale et marine.

La société AkiNaO développera des tests biologiques à façon afin de pouvoir les coupler à l'analyse métabolomique. La société GreenSea, fournira les souches de micro-algues disponibles dans sa souchothèque et optimisera les conditions de culture des micro-algues sélectionnées pour leur intérêt biologique.

**La déréplication vise à identifier des molécules dans des mélanges complexes avant leur séparation physique complète et sur la base de données physico-chimique expérimentales et par comparaison aux données de la littérature ou des banques de données spectrales par exemple.*

Liens du sujet de thèse avec les activités de l'unité de recherche d'accueil (saisie libre de 1000 caractères max.) :

Le Centre de Recherche Insulaire et Observatoire de l'Environnement (USR 3278) est l'un des plus éminents laboratoires français pour l'étude des écosystèmes coralliens. Depuis 2010, le CRILOBE pilote le Laboratoire d'Excellence CORAIL (LABEX). Ses activités s'exercent à travers de multiples disciplines - l'écologie, la génétique, la chimie. Ce sujet s'intègre parfaitement dans un des axes principaux de recherche qu'est l'écologie chimique marine ainsi que dans le développement des compétences en métabolomique amorcé en 2010. Le CRILOBE développe des recherches sur les organismes dont les micro-algues notamment à travers les travaux d'Isabelle Bonard. Cédric Bertrand sera le directeur de thèse, il développe depuis plus de 10 ans des approches en métabolomique et a participé à l'organisation du congrès du Réseau Francophone de Métabolomique et Fluxomique à Montpellier en 2016 avec Isabelle Bonnard (co-encadrante). Les deux encadrants se forment régulièrement à l'utilisation des logiciels (R, Galaxie, W4MM...) nécessaires au traitement des grands volumes de données notamment générées en métabolomique.

Contact :

Pr. Cédric BERTRAND
Directeur du Département de Chimie
Université de Perpignan Via Domitia
CRILOBE USR 3278 CNRS-EPHE-UPVD
52 av. Paul Alduy
66860 Perpignan Cedex

cedric.bertrand@univ-perp.fr

tel 04 68 66 22 58