

PROPOSITION DE SUJET POUR UN CONTRAT DOCTORAL

<p>Laboratoire Laboratoire Littoral ENvironnement et Sociétés (LIENSs) UMR 7266 CNRS / La Rochelle Université - Equipe Biotechnologies et Chimie des Bioressources pour la Santé (BCBS)</p>
<p>Titre de la thèse Production et caractérisation de nouveaux pigments naturels et de synthèse bio-inspirés issus de bactéries marines du littoral charentais à visée thérapeutique.</p>
<p>Direction de la thèse <i>directeur-trice-s (grade, HDR) et éventuels co-directeur-trice-s</i> Béatrice Colin, MCF section CNU 64, non HDR, et Valérie Thiéry, Professeure section CNU 32, HDR.</p>
<p>Adéquation scientifique avec les priorités de l'établissement Ce sujet de thèse répond pleinement aux attentes de l'Institut Littoral Urbain Durable Intelligent (LUDI) <i>via</i> les volets environnement-société-santé et solutions fondées sur la nature dans le cadre d'une démarche visant à pallier les phénomènes de résistance en thérapeutiques (chimio- et/ou bactério-résistance), avec des effets néfastes sur les populations de Nouvelle Aquitaine (NA), notamment chez les séniors. Le laboratoire LIENSs a su se spécialiser depuis de nombreuses années et dispose d'une expertise reconnue dans la production de molécules fonctionnelles issues du vivant et de l'environnement marin rochelais. La conception et le développement de nouvelles stratégies bio-inspirées demeure un défi majeur en recherche thérapeutique pour améliorer le bien-être et le bien vieillir des populations.</p>
<p>Descriptif du sujet <i>(enjeux scientifiques, applicatifs, sociétaux...)</i> Contexte Les bactéries multirésistantes (BMR) sont des microorganismes responsables d'infections ayant développé, au fil des années, des résistances à plusieurs antibiotiques, rendant les infections induites plus difficiles à traiter. Ces microorganismes représentent une menace croissante dans le monde, en France, mais aussi au niveau régional. La Nouvelle-Aquitaine n'est pas épargnée et se situe au-dessus de la moyenne française en termes de consommation d'antibiotiques et de lutte contre certaines résistances bactériennes comme les <i>Campylobacter</i>, les Entérobactéries, les Staphylocoques ou encore les <i>Salmonelles</i>. Par le passé, les antibiotiques ont permis de réduire considérablement la mortalité associée à certaines maladies, mais leur utilisation massive, abusive, et répétée a conduit à l'émergence de ces BMR. Selon les projections, d'ici 2050, les infections bactériennes pourraient devenir la première cause de décès (1,2), entraînant plus de 10 millions de morts par an dans le monde. La médecine actuelle est de plus en plus démunie face à ces infections, confrontée à une impasse thérapeutique croissante. En 2019, environ 8 millions de décès dans le monde étaient associés à 33 infections bactériennes courantes, et cinq bactéries seulement étaient à l'origine de plus de la moitié de l'ensemble des décès (3). La synergie et l'interaction des différentes espèces au sein des biofilms permettent à ces bactéries d'échapper aux traitements conventionnels. Il est donc urgent de trouver de nouveaux composés efficaces contre ces agents pathogènes. Le cancer constitue également une préoccupation majeure de santé publique en région NA avec des taux d'incidence et de mortalité significatifs. La région, est également l'une des plus touchées en France et présente des disparités notables selon les types de cancer. En 2020, environ 35000 nouveaux cas de cancer ont été diagnostiqués dans la région avec comme cancer les plus fréquents le cancer du sein chez la femme (~60 ans) et de la prostate chez l'homme (~70 ans), représentant respectivement près de 30 et 25% des nouveaux cas. Les cancers du poumons et colo-rectaux qui affectent les deux sexes figurent également parmi les principales causes de mortalité par cancer. Une fois encore, la région enregistre un taux de mortalité liée au cancer supérieur à la moyenne nationale en raison notamment des facteurs liés au vieillissement de la population et des habitudes de vie. Le développement de nouveaux traitements ciblant l'antibiorésistance ou la chimiorésistance représente donc un défi majeur et une opportunité cruciale pour améliorer les résultats de santé en région NA et au-delà.</p>

- ⇒ **La convergence de ces deux problématiques réside dans la capacité des bactéries pathogènes et des cellules cancéreuses à développer des mécanismes de résistance aux traitements, compromettant ainsi l'efficacité des thérapies existantes.**

Problématique et trajectoire scientifique

Pour répondre à cet enjeu de santé publique, l'équipe BCBS (Biotechnologies et Chimie des Bioressources pour la Santé) du laboratoire LIENSs se consacre depuis de nombreuses années au développement de thérapies novatrices, s'inspirant de la nature et de l'écosystème marin en exploitant des ressources naturelles jusqu'ici peu exploitées. Au sein de l'équipe de nombreuses stratégies sont mises en œuvre pour essayer de trouver des solutions efficaces fondées sur la nature. Ce projet de thèse reposera donc sur **l'identification et la caractérisation de nouveaux métabolites secondaires (terpènes, alcaloïdes) mais aussi de molécules existantes (principalement pigments de type caroténoïdes)** issues de l'exploitation de la biodiversité microbienne littorale à l'aide d'approches de microbiologie, chimie, biochimie, maîtrisée par l'équipe pour valoriser ces nouvelles ressources locales par voie biotechnologique pour leur future utilisation en santé humaine. Ce projet s'insère à l'interface de deux axes de recherche de l'équipe BCBS *Substances naturelles à visée anti-infectieuse, antimicrobiens d'origine naturelle, et Substances naturelles bioactives pour le traitement des cancers, pigments et hétérocycles* ; et sera structurant à l'échelle du laboratoire et de l'établissement qui focalise sa recherche autour de la compréhension et la valorisation du littoral et des ressources qu'il peut offrir.

Contexte partenarial (cotutelle internationale, EU-CONEXUS, partenariat avec un autre laboratoire, une entreprise...)

Partenariat international : Une cotutelle pourrait être envisagée avec les universités partenaires du réseau EU-Conexus.

Partenariat avec un/des laboratoire(s) : De la même manière si nous obtenons des résultats intéressants nous pouvons envisager de tester les molécules les plus bioactives sur une plateforme de criblage à haut débit (Lille) ou encore réaliser des cultures de biofilms bactériens dans un laboratoire d'Evreux.

Partenariat avec une entreprise : Un rapprochement avec la SATT (Société d'Accélération du Transfert de Technologies) de Nouvelle Aquitaine a déjà été réalisé à la suite de l'obtention de résultats biologiques prometteurs et pourra être consolidé.

Impacts (scientifiques, technologiques, socio-économiques, environnementaux, sociétaux...)

L'environnement marin suscite la curiosité des chercheurs car il s'agit d'un milieu encore peu exploré avec, de nos jours, plus de 90% d'espèces marines non décrites (4). Du fait de l'abondance de la disponibilité et de la composition chimique des composés marins, ce milieu représente un réservoir important de biomolécules originales. Des espèces marines procaryotes ou eucaryotes synthétisent de nombreux métabolites appartenant à des classes structurales diverses tels que des sucres, des pigments, des lipides, des protéines, des polycétides, des alcaloïdes, des stéroïdes... (5). L'activité biologique de ces composés est très intéressante dans le développement de nouveaux médicaments à partir d'organismes marins naturels comme les algues, les éponges ou encore les coraux (6–9).

Parmi tous **ces composés originaux certains sont issus de bactéries marines**, ces dernières étant une source riche de diversité moléculaire. Leur adaptation à des environnements extrêmes et souvent compétitifs favorise le développement de métabolites spécifiques. De ce fait, **ces bactéries restent les microorganismes les plus prometteurs pour la découverte de nouvelles molécules aux propriétés originales, antimicrobiennes et anticancéreuses** (10–13). Comme dit précédemment, nous souhaitons nous focaliser ici sur les pigments issus de bactéries marines, puisque ceux-ci constituent des produits précieux en raison de leurs activités anticancéreuses, antimicrobiennes, antioxydantes mais aussi cytotoxiques déjà décrites (14). Au sein de l'équipe BCBS, des pigments naturels ont déjà été identifiés à partir d'archées (15) et de microalgues (16) mais jamais à partir de bactéries marines.

La production de biopigments issus de bactéries marines est menée ces dernières années à l'échelle mondiale avec un intérêt croissant. Des espèces bactériennes isolées de sédiments marins ou d'eau de mer produisent une large gamme de métabolites secondaires comme la prodigiosine, l'astaxanthine, la pyocyanine, la mélanine, ou encore le bêta-carotène. Tous ces composés sont des pigments et possèdent des structures diverses comme les carotènes, une sous-classe de caroténoïdes avec une structure polyhydrocarbonée insaturée, les prodiginines (tri-pyrroles), et les tambjamines (di-pyrroles) sont des alcaloïdes (17–19).

Dans cette optique, l'idée originale de l'équipe BCBS est donc de développer des thérapies novatrices, en s'inspirant de la nature et de l'écosystème marin en étudiant et valorisant des ressources naturelles jusqu'ici peu exploitées. **Des études utilisant des bactéries marines et leur capacité à produire des métabolites secondaires pour cibler les agents pathogènes et/ou les tumeurs constituent une nouvelle stratégie**

prometteuse. Pour atteindre cet objectif nous devons continuer à identifier un nombre important de molécules tant au niveau de la diversité moléculaire que du mode d'action. **Par cette approche innovante basée sur la production de molécules à la fois par des approches de microbiologie mais aussi d'hémisynthèse ou synthèse de novo**, nous serons en mesure d'attaquer la maladie sur plusieurs fronts et donner aux cliniciens un panel d'outils intéressants.

Programme de travail du doctorant (tâches confiées au doctorant)

Le ou la candidat.e devra posséder des compétences en chimie, biochimie, biologie moléculaire, et serra issue d'un master de biochimie, chimie.

Le programme du doctorant se décomposera en plusieurs phases interconnectées.

La première étape du projet est déjà initiée. Celle-ci a constitué en la création d'une pigmenothèque naturelle provenant de bactéries marines issues du littoral charentais récoltées sur les plages d'Eslandes et de Châtelailon-Plage en novembre 2023. Ces différentes bactéries ont été sélectionnées sur des milieux de culture spécifiques permettant leur croissance optimale. Une identification spécifique des différentes souches a aussi été réalisée à l'aide de techniques de biologie moléculaire classiques afin d'identifier les familles de bactéries impliquées dans la production de ces différents pigments. L'extraction et la production de ces biopigments a été pensée de manière écoresponsable par l'utilisation de solvants respectueux de l'environnement sous irradiation microondes (20,21). Le doctorant s'appuiera sur les travaux antérieurs du laboratoire qui a une expertise reconnue dans l'extraction de molécules d'intérêt en milieu non conventionnel et la production qualitative d'extrait.

Dans **un second temps, les effets antimicrobiens et anticancéreux de ces extraits pigmentés seront évalués.** Concernant les essais **d'activité antimicrobienne**, plusieurs tests seront réalisés en milieu gélosé et liquides contre différentes souches pathogènes du genre *Staphylococcus*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Salmonelle*... Nos résultats préliminaires ont montré des effets très prometteurs contre certaines souches pour certains extraits pigmentés mais ces résultats resteront à confirmer par le doctorant. Il sera également intéressant d'évaluer les propriétés anti-biofilm de ces pigments contre des bactéries pathogènes bien connues dans la formation de biofilms résistants, notamment les souches de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* disponibles dans la souchothèque du laboratoire. La caractérisation de l'affinité des pigments pour les bactéries, ainsi que les mécanismes d'action *via* des techniques d'analyse protéomique et d'ARN messenger pourront être menées.

De plus, concernant les essais **d'activité anticancer**, des tests préliminaires ont également été réalisés et ont donné des résultats prometteurs là encore pour certains extraits contre deux lignées de cellules cancéreuses différentes. L'évaluation de l'activité cytotoxique de ces pigments ainsi que leur activité antiproliférative pourra être étudiée en comparaison avec les standards disponibles au laboratoire. A l'inverse, les pigments standards ayant déjà démontré une activité anti-cancéreuse pourront être également testés sur des modèles de biofilm bactériens pour démontrer une activité anti-croissance ou anti-biofilm potentielle. Enfin l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire sur des modèles de lignées de macrophages pourra aussi être évaluée, offrant ainsi une vision plus complète du potentiel thérapeutique de ces molécules.

Dans **un troisième temps**, une analyse plus poussée des génomes des souches d'intérêt nous permettra de caractériser plus finement les métabolites secondaires impliqués dans ces effets antimicrobiens et anticancéreux. Cette évaluation des génomes sera couplée aux analyses de spectroscopie de masse couplé à des techniques de UHPLC afin de caractériser au mieux ces molécules pigmentées (pureté, stabilité...). Cette approche bio-guidée, nous permettra d'analyser étape par étape toutes les molécules présentes dans les extraits pigmentés. L'activité biologique des différents extraits sera évidemment testée comme précédemment. Si les pigments analysés sont des molécules connues et bien décrites de la littérature il sera intéressant d'étudier la nature ainsi que la qualité et le rendement d'extraction de ces pigments.

Enfin, bon nombre de métabolites secondaires issues de bactéries marines à activité biologique sont des terpènes, des alcaloïdes. Après caractérisation structurale (UHPLC-MS, RMN, IR) des molécules hits moléculaires issues des bactéries marines, des études de pharmacomodulation intégrant les principes de la chimie verte seront envisagées afin d'obtenir un composé « lead » en vue d'études pré-cliniques. Il s'avèrera nécessaire de continuer à identifier de nouveaux hits moléculaires encore plus sélectifs et plus puissants pour comprendre les mécanismes d'action pour pallier les résistances en thérapeutiques. La production de molécules d'intérêt à grande échelle et n'induisant pas sur le long terme une résistance demeure un challenge pour la communauté scientifique, et la santé des populations et écosystèmes.

Accompagnement du doctorant / Fonctionnement de la thèse (*accompagnement humain, matériel, financier, en particulier pour la prise en charge du fonctionnement de la thèse et des dépenses associées*)

Réunions hebdomadaires entre le doctorants/encadrants/équipe.

Participation à des congrès nationaux et internationaux en France et/ou Europe.

Accompagnement matériel : le laboratoire dispose de toutes les infrastructures nécessaires au bon déroulement de la thèse. Le/la doctorant(e) sera amené(e) à travailler dans le nouveau bâtiment de l'Institut du littoral et de l'Environnement qui dispose d'infrastructures neuves et fonctionnelles. Le/la doctorant(e) aura à disposition un bureau partagé avec d'autres doctorants ainsi que du matériel informatique.