

Proposition de Stage de Master 2 – 3^{ème} année d'école d'ingénieur Agro Année universitaire 2017 – 2018

Titre du projet :

Caractérisation fonctionnelle d'un opéron impliqué dans l'acquisition du fer chez la bactérie pathogène *Flavobacterium psychrophilum*.

Nom et adresse du Laboratoire :

Unité Virologie et Immunologie Moléculaires (VIM-UR892)

INRA, Domaine de Vilvert 78352 Jouy-en-Josas Cedex

Site internet: <http://www6.jouy.inra.fr/vim>

Equipe d'accueil : Infection et Immunité des Poissons (IIP)

Responsable de l'équipe:

Eric DUCHAUD (DR INRA, HDR, Ecole Doctorale SDSV), eric.duchaud@inra.fr

Responsable de l'encadrement du stage :

Tatiana ROCHAT (CR, INRA ; [liste de publications](#)), 01 34 65 24 76, tatiana.rochat@inra.fr.

Résumé du thème de recherche du groupe

Les recherches menées par l'équipe IIP visent à comprendre les mécanismes biologiques intervenant lors d'infections virales ou bactériennes chez les poissons que ce soit au niveau de agents pathogènes que de l'hôte. Nous nous attachons à caractériser des bactéries de la famille des *Flavobacteriaceae*, dont certaines sont les principales causes de maladies des poissons en Europe et dans le monde. Nous étudions l'espèce psychrotrophe *Flavobacterium psychrophilum* qui provoque chez les salmonidés une septicémie hémorragique et peut conduire à des mortalités importantes, impactant économiquement la filière piscicole. Des approches de microbiologie moléculaire et de génomique fonctionnelle permettent de mettre en évidence leur diversité et d'identifier les facteurs génétiques et environnementaux qui conduisent notamment à la virulence. Les interactions hôte-pathogène sont étudiées dans un modèle d'infection développé chez la truite arc-en-ciel en collaboration avec des généticiens et immunologistes du campus de Jouy-en-Josas.

Résumé du projet de stage

Flavobacterium psychrophilum est une bactérie pathogène de poissons provoquant des septicémies hémorragiques chez les alevins, ce qui entraîne d'importantes pertes économiques dans la filière piscicole. Les facteurs bactériens impliqués dans la virulence restent encore méconnus. Dans le but de mieux caractériser au niveau moléculaire la physiologie de cette bactérie, et notamment les fonctions favorisant son développement dans l'hôte, des travaux de génomique comparative et fonctionnelle ainsi qu'une caractérisation phénotypique de divers isolats ont été menés au laboratoire. Grâce à l'intégration de ces données, des hypothèses fonctionnelles peuvent être proposées et évaluées expérimentalement pour certains gènes.

Dans ce cadre, le stage aura pour objectif de préciser la fonction d'un opéron constitué de quatre gènes et impliqué dans l'acquisition du fer chez *F. psychrophilum*. Des mutants de délétion seront construits. Leur caractérisation phénotypique *in vitro* aura pour but d'identifier la source de fer utilisée par ce système, de préciser le rôle de chacun des gènes de l'opéron dans le mécanisme d'import. Leur analyse *in vivo* dans un modèle d'infection expérimentale chez la truite arc-en-ciel permettra d'évaluer leur rôle dans la colonisation de l'hôte et dans la virulence. Des expériences de gain de fonction par l'expression hétérologue des gènes

étudiés chez *E. coli* pourront être entreprises afin de faciliter l'identification des sources de fer utilisées par ce système.

Ce projet de recherche fera appel à des connaissances approfondies en microbiologie moléculaire. Un intérêt particulier pour la physiologie bactérienne, la génétique et la génomique sera un atout. La poursuite du stage par une thèse est envisagée.

Publications

[Complete Genome Sequence of *Flavobacterium psychrophilum* Strain OSU THCO2-90, Used for Functional Genetic Analysis.](#)

Rochat T, Barbier P, Nicolas P, Loux V, Pérez-Pascual D, Guijarro JA, Bernardet JF, **Duchaud E**. Genome Announc. 2017 Feb 23;5(8). pii: e01665-16. doi: 10.1128/genomeA.01665-16.

[Transcriptional responses of resistant and susceptible fish clones to the bacterial pathogen *Flavobacterium psychrophilum*.](#)

Langevin C, Blanco M, Martin SA, Jouneau L, Bernardet JF, Houel A, Lunazzi A, **Duchaud E**, Michel C, Quillet E, Boudinot P. PLoS One. 2012;7(6):e39126. doi: 10.1371/journal.pone.0039126. Epub 2012 Jun 13.

[Comparative analysis and mutation effects of fpp2-fpp1 tandem genes encoding proteolytic extracellular enzymes of *Flavobacterium psychrophilum*.](#)

Pérez-Pascual D, Gómez E, Álvarez B, Méndez J, Reimundo P, Navais R, **Duchaud E**, Guijarro JA. Microbiology. 2011 Apr;157(Pt 4):1196-204. doi: 10.1099/mic.0.046938-0. Epub 2011 Feb 3.

[Population structure of the fish-pathogenic bacterium *Flavobacterium psychrophilum*.](#)

Nicolas P, Mondot S, Achaz G, Bouchenot C, Bernardet JF, **Duchaud E**. Appl Environ Microbiol. 2008 Jun;74(12):3702-9. doi: 10.1128/AEM.00244-08. Epub 2008 Apr 18.

[Complete genome sequence of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*.](#)

Duchaud E, Boussaha M, Loux V, Bernardet JF, Michel C, Kerouault B, Mondot S, Nicolas P, Bossy R, Caron C, Bessières P, Gibrat JF, Claverol S, Dumetz F, Le Hénaff M, Benmansour A. Nat Biotechnol. 2007 Jul;25(7):763-9. Epub 2007 Jun 24.