

Titre du stage :

Diversité et phylogénie des protistes des milieux suboxiques par des approches "single cell"

Responsable de l'équipe d'appui : Purificación López-García

Intitulé et adresse du laboratoire : Unité d'Ecologie Systématique et Evolution, CNRS UMR 8079
Bat. 360, Université Paris-Sud, 91405 Orsay cedex

Maîtres de stage : Moreira, David et López-García, Purificación

Email : david.moreira@u-psud.fr, puri.lopez@u-psud.fr

Tél : 01.69.15.76.08

Description du stage :

Depuis une dizaine d'années l'utilisation des méthodes moléculaires basées sur l'amplification et le séquençage des gènes d'ARNr 18S à partir d'échantillons naturels a permis, comme précédemment dans le cas de procaryotes, la détection d'une grande diversité de microorganismes eucaryotes (protistes au sein large) dans des écosystèmes variés^[1]. Une bonne partie de cette diversité est retrouvée à l'intérieur des taxons déjà décrits par des approches classiques morphologiques, mais parfois l'existence de lignées complètement nouvelles sans représentants décrits a été mise en évidence. Or ces lignées sont souvent identifiées dans des environnements anoxiques, tels des sédiments hydrothermaux marins profonds, ou des zones appauvries en oxygène^[2,3]. Certaines semblent occuper des positions phylogénétiques basales aux grandes phylums et super-groupes eucaryotes^[2,3] mais pour les valider et contribuer à résoudre l'ordre relatif d'émergence des différents grandes lignées eucaryotes il est nécessaire de disposer de plus de marqueurs pour réaliser des analyses phylogénétiques multi-gène. Toutefois, montrer la liaison physique des gènes conservés sur un même génome à partir d'un environnement complexe est très difficile. En même temps, une partie de la diversité de protistes reste inaccessible aux analyses moléculaires basées sur l'amplification des gènes d'ARNr 18S en utilisant des amorces générales pour les eucaryotes à cause du fait que ces séquences sont plus divergentes et/ou de problèmes de lyse différentielle. Pour pallier à cela, une possibilité est d'amplifier les gènes à partir de cellules individuelles, ce qui permet, en plus, d'avoir un accès direct à leur morphologie^[4]. Au cours de ce stage, nous proposons une exploration ciblée de la diversité des protistes divergents à morphologie caractéristique par amplification génomique puis amplification des gènes d'ARNr 18S et de protéines conservées (Hsp90, actine, tubuline). Ces gènes seraient amplifiés après avoir isolé et photographié chaque cellule individuelle choisie. Les échantillons à analyser seront des tapis microbiens anoxiques ou aux gradients redox marqués, récoltés en mars 2012 lors d'une mission au désert de l'Atacama au Chili dans des environnements extrêmes fortement exposés aux ultraviolets allant des milieux hypersalés aux champs hydrothermaux de l'altiplano. Des analyses phylogénétiques des gènes individuels et des concaténations multi-gène en incorporant un bon échantillonnage taxonomique des eucaryotes seront réalisées. La diversité retrouvée sera comparée avec celle issue des études massives de diversité eucaryote par amplification et pyroséquençage des gènes d'ARNr 18S en cours au laboratoire. Certains protistes des nouvelles lignées identifiées pourront faire l'objet du séquençage génomique par la suite. Ce stage pourra se poursuivre par une thèse.

Références

- [1] López-García, P. & Moreira, D. (2008) Tracking microbial biodiversity through molecular and genomic ecology. *Res Microbiol* 159:67-73.
- [2] López-García, P., H. Philippe, F. Gail, and Moreira, D. (2003) Autochthonous eukaryotic diversity in hydrothermal sediment and experimental micro-colonizers at the Mid-Atlantic Ridge, *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 697-702
- [3] Lara, E., Moreira D. & López-García P. (2010) The environmental clade LKM11 and *Rozella* form the deepest branching clade of Fungi. *Protist*, 161: 116–121
- [4] Gómez, F., Moreira D., Benzerara K. & López-García P. (2011) *Solenicola setigera* is the first characterized member of the abundant and cosmopolitan uncultured marine stramenopile group MAST-3, *Environ Microbiol*, 13: 193-202.

Profil de l'étudiant recherché (formation initiale) :

Biologie Moléculaire des Microorganismes / Évolution / Phylogénie / Biologie Cellulaire / Génomique / Bio-Informatique