

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 642

Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement

Spécialité : « *Chimie des produits naturels* »

Par

Aurore MICHAUD

« Développement et comparaison d'approches métabolomiques multi-instrumentales pour l'étude chimique d'un *Aspergillus chevalieri* isolé du microbiome de l'éponge *Tetilla* sp. »

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 18 décembre 2024

Unité de recherche : Institut des Substances et Organismes de la Mer, ISOMer, UR-2160, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Nantes Université

Chimie et Interdisciplinarité, Synthèse, Analyse et Modélisation, CEISAM – UMR CNRS 6230, UFR Sciences et Techniques, Nantes Université

Rapporteurs avant soutenance :

Jean-Hugues Renault Professeur des universités
Marie-Virginie Salvia Maître de conférences des universités

Composition du Jury :

Président : Prénom Nom Fonction et établissement d'exercice (8)(à préciser après la soutenance)

Examineurs :	Séverine Derbré	Professeur, Université d'Angers, SONAS EA921
	Yann Guitton	Ingénieur de recherche, Oniris-INRAE Nantes, LABERCA UMR1329
	Jean-Hugues Renault	Professeur, Université de Reims Champagne-Ardenne, ICMR - UMR7312
	Marie-Virginie Salvia	Maître de conférences des universités, Université de Perpignan, CRILOBE - UAR3278

Dir. de thèse : Olivier Grovel
Co-dir. de thèse : Patrick Giraudeau

Professeur, Nantes Université, ISOMer, UR2160
Professeur, Nantes Université, CEISAM, UMR CNRS 6230

Titre : Développement et comparaison d'approches métabolomiques multi-instrumentales pour l'étude chimique d'un *Aspergillus chevalieri* isolé du microbiome de l'éponge *Tetilla* sp.

Mots clés : métabolomique, champignon marin, résonance magnétique nucléaire, méthodes multidimensionnelle rapides, spectrométrie de masse

Résumé : Les éponges hébergent de nombreux microorganismes et notamment des champignons pour lesquels la participation au dialogue chimique au sein de l'holobionte reste à déterminer. Les études chimiques sont souvent réalisées dans des conditions de culture artificielles en laboratoire, qui ne reflètent pas les conditions écologiques initiales de la vie des champignons marins dans l'holobionte. Seules quelques voies de biosynthèse sont alors exprimées. Induire la surexpression des voies de biosynthèse exprimées en conditions naturelles est ainsi une option intéressante pour élucider le dialogue moléculaire entre les champignons et leur hôte.

Pour cela, l'induction de voies biosynthétiques chez une souche fongique d'*Aspergillus chevalieri* isolée d'une éponge *Tetilla* sp. de la Mer Rouge, a été réalisée par culture sur milieu reconstitué à base de l'éponge originelle.

L'étude comparative des métabolites exprimés entre conditions « classiques » et « écologiques » a été réalisée par analyses métabolomiques non ciblées afin d'obtenir une vision du métabolome la plus exhaustive possible. Une double approche analytique a été employée alliant résonance magnétique nucléaire et spectrométrie de masse. Les profils des extraits fongiques ont été acquis grâce à des méthodes RMN 1D et 2D spécialement développées pour la métabolomique et par LC-HRMS/MS. Les travaux ont débuté par la mise au point des méthodes RMN (^1H , ^{13}C INEPT, UF COSY, HSQC SYMAPS) pour les extraits fongiques complexes. Les capacités discriminantes des méthodes RMN, leurs avantages et limites ont été étudiés et mis en regard des résultats obtenus par spectrométrie de masse.

Title: Development and comparison of multi-instrument metabolomic approaches for the chemical study of *Aspergillus chevalieri* isolated from the microbiome of the sponge *Tetilla* sp.

Keywords : metabolomics, marine fungi, nuclear magnetic resonance, fast multidimensional methods, mass spectrometry

Abstract : Sponges are home to numerous microorganisms, including fungi, whose participation in the chemical dialogue within the holobiont remains to be determined. Chemical studies are often carried out under artificial laboratory culture conditions, which do not reflect the initial ecological conditions of marine fungal life in the holobiont. Only a few biosynthetic pathways are then expressed. Inducing overexpression of biosynthetic pathways expressed under natural conditions is thus an interesting option for elucidating the molecular dialogue between fungi and their host. To this end, the induction of biosynthetic pathways in a fungal strain of *Aspergillus chevalieri* isolated from a *Tetilla* sp. sponge from the Red Sea, was carried out by culture on reconstituted medium based on the original sponge.

The comparative study of expressed metabolites between "classical" and "ecological" conditions was carried out using non-targeted metabolomic analyses, in order to obtain as exhaustive a view of the metabolome as possible. A dual analytical approach combining nuclear magnetic resonance and mass spectrometry was employed. Profiles of fungal extracts were acquired using 1D and 2D NMR methods specially developed for metabolomics, and LC-HRMS/MS. Work began with the development of NMR methods (^1H , ^{13}C INEPT, UF COSY, HSQC SYMAPS) for complex fungal extracts. The discriminating capabilities of the NMR methods, their advantages and limitations were studied and compared with the results obtained by mass spectrometry.