

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Formulaire à compléter et déposer par les porteurs du projet de thèse HDR via l'adresse mail suivante :
ed658@univ-amu.fr OU/ET romane.haddadi@univ-amu.fr

MERCI DE METTRE EN SUJET DU MAIL : Concours ED 658 2026 porteur de projet
Ces dossiers seront publiés pour que les candidats postulent.

au plus tard le 3 mars 2026.

INTITULÉ DU PROJET

RÔLE D'UN ARN 6S ET D'UN ANTI-FACTEUR SIGMA DANS LE MÉTABOLISME DE LA CELLULOSE CHEZ RUMINICLOSTRIDIUM CELLULOLYTICUM

ROLE OF A 6S RNA AND AN ANTI-SIGMA FACTOR IN CELLULOSE METABOLISM IN RUMINICLOSTRIDIUM CELLULOLYTICUM

1- Directrice ou directeur de thèse HDR

NOM	FIEROBE	Prénom	Henri-Pierre
Téléphone portable		Courriel	hpfierob@imm.cnrs.fr

Unité de recherche (UR) de rattachement

Code (acronyme et n°) de l'UR à AMU :	UMR 7283
Nom de l'UR :	Laboratoire de chimie bactérienne

Directrice ou directeur de l'UR

Nom	MAGALON	Prénom	Axel
-----	---------	--------	------

2- Codirectrice ou codirecteur de thèse, le cas échéant

NOM	PAGES	Prénom	Sandrine
Téléphone portable	0687971311	Courriel	pages@imm.cnrs.fr

Unité de recherche (UR) de rattachement

Code (acronyme et n°) de l'UR à AMU :	UMR 7283
Nom de l'UR :	Laboratoire de chimie bactérienne

Directrice ou directeur de l'UR

Nom	MAGALON	Prénom	Axel
-----	---------	--------	------

SPECIALITE : (Rayer les mentions inutiles)

~~Bio-informatique et Génomique~~ / ~~Biochimie Structurale~~ / ~~Biologie du Cancer~~ / ~~Biologie du Développement~~ / ~~Biologie Végétale~~ / ~~Biotechnologie~~ / ~~Immunologie~~ / Microbiologie et interactions hôte-pathogènes / Neurosciences

SOUS JURY POUR LE CONCOURS : (Rayer les mentions inutiles)

JURY 1 : BIOLOGIE CELLULAIRE
JURY 2 : MICROBIOLOGIE – GENOMIQUE
JURY 3 : NEURSOCIENCES

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

MERCI DE REMPLIR TOUTES LES INFORMATIONS EN FRANÇAIS ET EN ANGLAIS

Description de la problématique de recherche -

La dégradation de la cellulose constitue un enjeu biologique et biotechnologique majeur, au cœur des stratégies de valorisation de la biomasse lignocellulosique. Parmi les bactéries cellulolytiques, *Ruminiclostridium cellulolyticum*, bactérie Gram positive strictement anaérobie, se distingue par sa capacité à produire des complexes enzymatiques extracellulaires hautement spécialisés : les **cellulosomes**. Ces nanomachines moléculaires sont organisées autour d'une protéine d'échafaudage, CipC, qui recrute des enzymes de dégradation (CAZymes), notamment les cellulases Cel9E et Cel48F. L'expression coordonnée de l'opéron *cip-cel*, codant ce socle fonctionnel minimal, conditionne la survie de la bactérie sur cellulose.

Si l'architecture des cellulosomes est aujourd'hui bien décrite, les mécanismes moléculaires contrôlant leur expression restent encore largement méconnus.

Des résultats récents montrent que l'opéron *cip-cel* est soumis à une régulation complexe impliquant :

- le petit ARN non codant 6S (ssrS),
- un anti-facteur sigma transmembranaire, RsgB.

Les ARN 6S sont des régulateurs globaux capables de moduler l'activité de l'ARN polymérase en mimant la structure d'un promoteur et en interagissant avec le complexe ARN polymérase- σ^{70} . Par ailleurs, nous avons récemment identifié un anti-facteur sigma membranaire, RsgB, composé d'un domaine extracellulaire de détection et d'un domaine cytosolique anti-sigma. La surproduction du seul domaine anti-sigma cytosolique conduit à une répression drastique de *cip-cel*, suggérant que l'opéron est transcrit par un facteur sigma alternatif dont la disponibilité serait contrôlée par :

1. La perception d'un signal environnemental via le domaine extracellulaire de RsgB.
2. La compétition entre facteurs sigma modulée par le niveau intracellulaire de σ^{70} et par la présence de l'ARN 6S.

Ces observations suggèrent l'existence d'un mécanisme original couplant signal environnemental membranaire et régulation transcriptionnelle globale via la dynamique des facteurs sigma.

L'objectif de cette thèse sera de décrypter les mécanismes moléculaires gouvernant l'expression de l'opéron *cip-cel*, en caractérisant :

- le rôle fonctionnel de RsgB,
- la dynamique d'interaction entre ARN 6S, ARN polymérase et facteurs sigma,
- l'identité du facteur sigma alternatif impliqué.

Pour cela, des approches complémentaires seront mises en œuvre : génétique bactérienne, analyses biochimiques d'interaction protéine-protéine et protéine-ARN, RNA-seq, ChIP-seq et expériences de pull-down.

Project description

Cellulose degradation represents a major biological and biotechnological challenge at the core of lignocellulosic biomass valorization strategies. Among cellulolytic bacteria, *Ruminiclostridium cellulolyticum*, a Gram-positive strict anaerobe, stands out for its ability to produce highly specialized extracellular enzymatic complexes known as cellulosomes.

These molecular nanomachines are organized around the scaffold protein CipC, which recruits carbohydrate-active enzymes (CAZymes), including the essential cellulases Cel9E and Cel48F. Coordinated expression of the *cip-cel* operon, encoding this minimal functional core, is essential for bacterial survival on cellulose.

While the structural organization of cellulosomes has been extensively characterized, the molecular mechanisms controlling their expression remain poorly understood.

Recent findings indicate that *cip-cel* expression is governed by a complex regulatory network involving:

- the small non-coding RNA 6S (ssrS),
- a membrane-bound anti-sigma factor, RsgB.

6S RNAs are global transcriptional regulators that modulate RNA polymerase activity by mimicking promoter DNA structures and binding to the RNA polymerase- σ^{70} holoenzyme. Furthermore, we have recently identified a transmembrane anti-sigma factor, RsgB, composed of an extracellular sensing domain and a cytosolic anti-sigma domain. Overproduction of its cytosolic anti-sigma domain alone leads to a drastic repression of *cip-cel*, suggesting that the operon is transcribed by an alternative sigma factor whose availability depends on:

1. Environmental signal perception mediated by the extracellular domain of RsgB.

**APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026
CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant**

2. Sigma factor competition influenced by intracellular σ^{70} levels and the presence of 6S RNA.

These findings point to a previously uncharacterized regulatory mechanism coupling membrane-associated environmental sensing with global transcriptional reprogramming through sigma factor dynamics.

The objective of this PhD project is to elucidate the molecular mechanisms governing *cip-cel* expression, by:

- functionally characterizing RsgB,
- dissecting the interaction network between 6S RNA, RNA polymerase, and sigma factors,
- identifying and characterizing the alternative sigma factor involved.

To address these questions, an integrated strategy combining bacterial genetics, biochemical interaction assays, RNA-seq, ChIP-seq, and pull-down approaches will be employed.

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Mots clés Keywords

Métabolisme glucidique, Adaptation cellulaire, Régulation transcriptionnelle, sigma ECF, Anti-facteur sigma, 6S ARN

Keywords

Carbohydrate metabolism, cell adaptation, Transcriptional regulation, Anti-sigma factor, sigma ECF, 6S RNA

Thématique / Domaine / Contexte - Theme / Field / Context

Thématique : étude des mécanismes de régulation des gènes indispensables au métabolisme des polysaccharides végétaux chez la bactérie *Ruminiclostridium cellulolyticum*.

Domaine : Microbiologie, génétique, régulation transcriptionnelle, dégradation de la biomasse végétale

Contexte : La valorisation durable de la biomasse végétale nécessite une compréhension intégrée des réseaux de régulation qui permettent aux microorganismes de s'adapter aux variations structurales et chimiques des substrats polysaccharidiques. Chez *R. cellulolyticum*, l'expression des gènes impliqués dans la dégradation des polysaccharides repose sur une régulation transcriptionnelle hautement dynamique qui dépend notamment de la modulation du pool intracellulaire de facteurs sigma, éléments déterminants de la spécificité de l'ARN polymérase. L'activité des facteurs sigma est contrôlée par des anti-sigma, capables de coupler perception environnementale et réponse transcriptionnelle, ainsi que par des ARN régulateurs de type 6S, impliqués dans la redistribution des complexes ARN polymérase-sigma. Des données récentes indiquent que chez *R. cellulolyticum*, un ARN 6S et un anti-sigma transmembranaire, RsgB, interviennent dans le contrôle de l'expression d'un opéron clé du métabolisme, l'opéron *cip-cel*. Le verrou scientifique majeur réside dans la compréhension de la manière dont les signaux liés à la disponibilité et à la nature du substrat sont intégrés pour moduler la compétition entre facteurs sigma et reprogrammer l'expression génique.

Au-delà du cas particulier de *R. cellulolyticum*, cette étude contribuera à une compréhension plus générale des mécanismes de reprogrammation transcriptionnelle chez les bactéries spécialisées dans la déconstruction de la biomasse végétale.

Theme Adaptive transcriptional regulation of plant polysaccharide metabolism in *Ruminiclostridium cellulolyticum*.

Field Molecular microbiology – Bacterial genetics – Sigma factor dynamics – Global transcriptional regulation.

Context Sustainable biomass valorization requires an integrated understanding of the regulatory networks that enable microorganisms to adapt to structural and chemical variations in polysaccharide substrates.

In *R. cellulolyticum*, expression of genes involved in polysaccharide degradation relies on highly dynamic transcriptional regulation, which notably depends on modulation of the intracellular sigma factor pool—key determinants of RNA polymerase promoter specificity. Sigma factor activity is controlled by anti-sigma proteins, which couple environmental sensing to transcriptional responses, as well as by regulatory non-coding RNAs such as 6S RNAs, which participate in the redistribution of RNA polymerase-sigma complexes.

Recent data indicate that in *R. cellulolyticum*, a 6S RNA and a transmembrane anti-sigma factor, RsgB, are involved in controlling the expression of a key metabolic operon, the *cip-cel* operon. The major scientific challenge lies in understanding how signals related to substrate availability and composition are integrated to modulate sigma factor competition and reprogram gene expression.

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026
CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Beyond the specific case of *R. cellulolyticum*, this study will contribute to a broader understanding of transcriptional reprogramming mechanisms in bacteria specialized in plant biomass deconstruction

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Objectifs

Ce projet vise à décrypter les mécanismes moléculaires par lesquels un ARN 6S non codant et un anti-facteur sigma transmembranaire coordonnent les réponses transcriptionnelles adaptatives contrôlant le métabolisme de la cellulose chez *Ruminiclostridium cellulolyticum*. Plus précisément, il s'agira de comprendre comment l'ARN 6S module l'activité de l'ARN polymérase via son interaction avec les holoenzymes associées aux facteurs sigma, et comment l'anti-sigma RsgB régule la disponibilité et la libération d'un facteur sigma alternatif en réponse à des signaux environnementaux liés au substrat.

Objectives

This project aims to decipher the molecular mechanisms by which a non-coding 6S RNA and a transmembrane anti-sigma factor coordinate adaptive transcriptional responses controlling cellulose metabolism in *Ruminiclostridium cellulolyticum*.

More specifically, the project seeks to understand how 6S RNA modulates RNA polymerase activity through its interaction with sigma-associated holoenzymes, and how the anti-sigma factor RsgB regulates the availability and release of an alternative sigma factor in response to substrate-related environmental signals.

Méthode

Utilisation d'outils génétiques adaptée aux clostridies (clostron, targetron, vecteurs de complémentation, et possiblement CRISPR-Cas9), croissance en anaérobiose et manipulation en enceinte anaérobie, biologie moléculaire, biochimie (étude des interactions protéines/sucres, purification de protéines), analyse protéomique (plateforme IMM), analyse transcriptomique (plateforme transcriptomique IMM), RNAseq (plateforme transcriptomique IMM). Analyses structurales et modélisation en collaboration avec P. COUTINHO. Thermal Shift Assay (TSA) et microcalorimétrie de mélange (ITC). CHIP-seq, Pull-down.

Method

Use of genetic tools adapted to clostridia (Clostron, Targetron, complementation vectors, and possibly CRISPR-Cas9), anaerobic growth conditions and handling in an anaerobic chamber, molecular biology techniques, and biochemical approaches (protein-carbohydrate interaction studies, protein purification).

Proteomic analyses (IMM proteomics platform), transcriptomic analyses including RNA-seq (IMM transcriptomics platform).

Structural analyses and modeling in collaboration with P. Coutinho.

Thermal shift assays (TSA) and isothermal titration calorimetry (ITC).

ChIP-seq and pull-down assays.

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Références bibliographiques

Vita N, Holmière M, Mejia-Otalvaro F, Debarb F, Degeilh L, Gagnet S, Crônier D, Habrant A, Pion F, Denis Y, Sciara G, Faulds C, Monteil C, Santini S, Ducrot PH, Perret S, Aguié-Béghin V, Panis G, Record E, Chabbert B, Fierobe HP. Uncovering enzymatic tools promoting lignocellulose breakdown in the anaerobic bacterium *Ruminiclostridium cellulolyticum*. Commun Biol. 2025 Dec 4;9(1):24.

Blouzard JC, Coutinho PM, Fierobe HP, Henrissat B, Lignon S, Tardif C, Pagès S, de Philip P. Modulation of cellulosome composition in *Clostridium cellulolyticum*: adaptation to the polysaccharide environment revealed by proteomic and carbohydrate-active enzyme analyses. Proteomics. 2010 Feb;10(3):541-54.

Kampik C, Denis Y, Pagès S, Perret S, Tardif C, Fierobe HP, de Philip P. A novel two-component system, XygS/XygR, positively regulates xyloglucan degradation, import, and catabolism in *Ruminiclostridium cellulolyticum*. Appl Environ Microbiol. 2020 Oct 1;86(20):e01357-20.

Nataf Y, Bahari L, Kahel-Raifer H, Borovok I, Lamed R, Bayer EA, Sonenshein AL, Shoham Y. *Clostridium thermocellum* cellulosomal genes are regulated by extracytoplasmic polysaccharides via alternative sigma factors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Oct26;107(43):18646-51.

Steuten B, Schneider S, Wagner R. 6S RNA: recent answers--future questions. Mol Microbiol. 2014 Feb;91(4):641-8.

Conditions scientifiques matérielles et financières du projet de recherche - Scientific, material, and financial conditions of the research project

L'équipe « Cellulosomes and plant polymers degradation » du LCB dans laquelle sera accueilli l'étudiant, est actuellement composé de deux chercheurs CNRS, 3 enseignants chercheurs, 2 ingénieurs et 2 doctorants. L'équipe a récemment obtenu des financements auprès du PEPR B-Best (projet Flavolases 2025-2029) et de l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR) (projets Ddistance 2025-2029, et REBBAR 2026-2029). La bactérie *R. cellulolyticum* n'étant pas pathogène, aucune condition particulière de sécurité n'est nécessaire (pas de laboratoire P2). Une journée hygiène et sécurité est organisé par le LCB pour tous les étudiants entrants.

The group « Cellulosomes and plant polymers degradation » in LCB which will host the Ph. D. student, is currently composed of 2 CNRS-researchers, 3 lecturers/professors, 2 engineers and 2 Ph. D. students. The group has recently obtained fundings from the PEPR B-Best (project Flavolases, 2025-2029), and has two projects granted by from the National Agency for Research (ANR) (project Ddistance, 2025-2029, and project Rebbbar, 2026-2029). The bacterium *R. cellulolyticum* is not pathogenic, thus no special safety conditions are required (the use of a P2 laboratory is not requested). A hygiene and safety day is organized by the LCB for all incoming students.

**APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026
CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant**

Profil et compétences recherchées - Profile and skills required

Le candidat devra posséder des compétences en microbiologie (physiologie, métabolisme) biologie moléculaire (clonage, PCR, RTqPCR) et génétique bactérienne. Il devra maîtriser des compétences dans le domaine de la régulation génétique procaryote mais aussi maîtriser les rudiments des méthodes omiques (transcriptomique, protéomiques). Le candidat doit faire preuve d'autonomie et de rigueur. Il devra faire preuve d'une bonne qualité d'orateur et savoir présenter clairement des résultats scientifiques en Français et en Anglais.

The candidate must have skills in microbiology (physiology, metabolism), molecular biology (cloning, PCR, RT-qPCR), and bacterial genetics. Proficiency in prokaryotic gene regulation is required, as well as a basic understanding of omics methods (transcriptomics, proteomics). The candidate should demonstrate autonomy and rigor. The candidate must also possess strong presentation skills and be able to clearly communicate scientific results.