

**Proposition de Stage de Master 2**

version française, English below

Encadrante : Dr. Catherine Badel, Maîtresse de Conférence

Laboratoire d'accueil : équipe AIME, UMR 7156 GMGM

Site internet : <https://aime.unistra.fr/>

Lieu du stage : IPCB, 4 allée Konrad Roentgen 67000 Strasbourg

Dates du stage : entre janvier et juillet 2026

**Genomic stress response in *Methylobacterium* species**

Les bactéries du genre *Methylobacterium* habitent des environnements (sol, eau douce ou phyllosphère des plantes) où elles sont soumises à divers stress génotoxiques, comme l'exposition aux UV ou à des micropolluants. Ce stage vise à étudier la réponse génomique de *Methylobacterium* aux stress génotoxiques au travers de différentes expériences et en utilisant deux modèles d'études : *Methylobacterium radiotolerans* et *Methylobacterium extorquens*. *M. radiotolerans* est souvent isolée à la surface de feuilles (Badel et al., in prep.) où elle est fortement exposée au rayonnement UV. *Methylobacterium extorquens* DM4 (1) est capable de dégrader le polluant dichlorométhane (DCM, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) en l'utilisant comme seule source de carbone et d'énergie. Cette transformation génère un intermédiaire de réaction génotoxique, responsable de la formation d'adduits à l'ADN.

La première série d'expérience visera à déterminer le niveau de ploïdie (nombre de chromosome) de *Methylobacterium radiotolerans*. En effet, chez certaines autres espèces bactériennes, il a été mis en évidence que la réponse au stress peut impliquer de multiples copies du chromosome (polyploïdy) (2). Des données préliminaires du laboratoire suggèrent que *Methylobacterium radiotolerans* pourrait être polyploïde. Le ou la stagiaire déterminera le niveau de ploïdy de *M. radiotolerans* et ses changements éventuels en réponse à différents stress par ddPCR (droplet digital PCR) et par cytométrie de flux.

Une deuxième série d'expérience visera à déterminer les changements de conformation du génome de *Methylobacterium extorquens* DM4 suite à l'exposition au stress génotoxique du dichlorométhane et les mécanismes impliqués. Dans la cellule, le chromosome bactérien adopte une structure tridimensionnelle nécessaire à son fonctionnement. Récemment, des techniques de 3C (capture de conformation de chromosome) (3) ont permis de déterminer la structure tridimensionnelle d'une vingtaine de chromosome de bactéries et archées (4). Cette technique a été optimisée à *Methylobacterium extorquens* DM4 et des premiers résultats ont été obtenus. La ou le stagiaire mettra en œuvre la technique de 3Cseq, impliquant des méthodes de biologie moléculaire (digestion par enzyme de restriction, ligation, électrophorèse sur gel d'agarose, purification d'ADN) et RNAseq et analysera les données obtenues par bio-informatique à l'aide de scripts prédéfinis (langage Bash) et de R studio. Différents gènes de *M. extorquens* DM4 sont connus pour leur implication dans la réponse au dichlorométhane (Osipenko et al., in prep). La ou le stagiaire étudiera des mutants de délétions de ces gènes et pourra être amené.e à en obtenir des nouveaux.

**Pour tous renseignements et candidature, merci de contacter Catherine Badel avant novembre 2025 :**[cbadel@unistra.fr](mailto:cbadel@unistra.fr)**Références**

1. Maucourt B, Roche D, Chaignaud P, Vuilleumier S, Bringel F. Genome-Wide Transcription Start Sites Mapping in *Methylobacterium* Grown with Dichloromethane and Methanol. *Microorganisms*. 2022 Jul;10(7):1301.
2. Brück P, Wasser D, Soppa J. One Advantage of Being Polyploid: Prokaryotes of Various Phylogenetic Groups Can Grow in the Absence of an Environmental Phosphate Source at the Expense of Their High Genome Copy Numbers. *Microorganisms*. 2023 Sep;11(9):2267.
3. Kempfer R, Pombo A. Methods for mapping 3D chromosome architecture. *Nat Rev Genet*. 2019;1-20.
4. Badel C, Bell SD. Chromosome architecture in an archaeal species naturally lacking structural maintenance of chromosomes proteins. *Nat Microbiol*. 2024 Jan;9(1):263-73.

Supervisor: Dr. Catherine Badel, Maîtresse de Conférence

Laboratory: team AIME, UMR 7156 GMGM

Website: <https://aime.unistra.fr/>

Localisation: IPCB, 4 allée Konrad Roentgen 67000 Strasbourg

Dates: between January and July 2026

## Genomic stress response in *Methylobacterium* species

Bacteria of the genus *Methylobacterium* inhabit various environments (soil, freshwater or plant phyllosphere) where they are subjected to various genotoxic stresses, such as exposure to UV or to micropollutants. The internship aim to study the genomic response of *Methylobacterium* species to genotoxic stress through various experiments and using two models: *Methylobacterium radiotolerans* and *Methylobacterium extorquens*. *M. radiotolerans* is often isolated from leaf surfaces (Badel et al., in prep.), where it is exposed to UV radiation. *Methylobacterium extorquens* DM4 (1) can degrade the pollutant dichloromethane (DCM,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), using it as its sole source of carbon and energy. This transformation generates a genotoxic reaction intermediate, leading to the formation of DNA adducts.

The first series of experiments will aim to determine the ploidy level (chromosome number) of *Methylobacterium radiotolerans*. Indeed, in some other bacterial species, it has been shown that the stress response can involve multiple copies of the chromosome (polyploidy) (2). Preliminary data from the laboratory suggest that *Methylobacterium radiotolerans* may be polyploid. The student will determine the ploidy level of *M. radiotolerans* and its possible variations in response to different stresses by ddPCR (droplet digital PCR) and flow cytometry.

A second series of experiments will explore the conformational changes in *Methylobacterium extorquens* DM4 genome following exposure to the genotoxic stress of dichloromethane, and the mechanisms involved. In the cell, the bacterial chromosome adopts a three-dimensional structure necessary for its function. Recently, 3C (chromosome conformation capture) techniques (3) have resolved the three-dimensional structure of about twenty bacterial chromosomes (4). This technique has been optimized for *Methylobacterium extorquens* DM4 and first results have been obtained. The student will implement the 3Cseq technique, involving molecular biology methods (restriction enzyme digestion, ligation, agarose gel electrophoresis, DNA purification) and RNAseq, and analyze the data obtained by bioinformatics using predefined scripts (Bash language) and R studio. Several genes from *M. extorquens* DM4 are known to be involved in the response to dichloromethane (Osipenko et al., in prep). The student will analyse deletion mutants of these genes and may be called upon to obtain new ones.

**For information and application, please contact Catherine Badel before Nov 2025: [cbadel@unistra.fr](mailto:cbadel@unistra.fr)**

### Références

1. Maucourt B, Roche D, Chaignaud P, Vuilleumier S, Bringel F. Genome-Wide Transcription Start Sites Mapping in *Methylobacterium* Grown with Dichloromethane and Methanol. *Microorganisms*. 2022 Jul;10(7):1301.
2. Brück P, Wasser D, Soppa J. One Advantage of Being Polyploid: Prokaryotes of Various Phylogenetic Groups Can Grow in the Absence of an Environmental Phosphate Source at the Expense of Their High Genome Copy Numbers. *Microorganisms*. 2023 Sep;11(9):2267.
3. Kempfer R, Pombo A. Methods for mapping 3D chromosome architecture. *Nat Rev Genet*. 2019;1-20.
4. Badel C, Bell SD. Chromosome architecture in an archaeal species naturally lacking structural maintenance of chromosomes proteins. *Nat Microbiol*. 2024 Jan;9(1):263–73.