**Université de POITIERS**

**Faculté de Médecine et de Pharmacie**

**2016** **Thèse n°**

# THESE
# POUR LE DIPLOME D'ETAT
# DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(arrêté du 17 juillet 1987)

présentée et soutenue publiquement
le 07, Janvier, 2016 à POITIERS
par Madame, CROUE Julie
01 Mars 1985

Eponges marines et micro-organismes associés : sources de métabolites bioactifs

Composition du jury :

Président : Madame IMBERT Christine

Membres : Monsieur HECHARD Yann, Professeur
Madame AYRAUD-THEVENOT Sarah, Maitre de conferences, Praticien hospitalier

Directeur de thèse : Monsieur BODET Charles

**Université de POITIERS**

**Faculté de Médecine et de Pharmacie**

**2016** **Thèse n°**

# THESE
# POUR LE DIPLOME D'ETAT
# DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(arrêté du 17 juillet 1987)

présentée et soutenue publiquement
le 07, Janvier, 2016 à POITIERS
par Madame, CROUE Julie
01 Mars 1985

Eponges marines et micro-organismes associés : sources de métabolites bioactifs

Composition du jury :

Président : Madame IMBERT Christine

Membres : Monsieur HECHARD Yann, Professeur
Madame AYRAUD-THEVENOT Sarah, Maitre de conferences, Praticien hospitalier

Directeur de thèse : Monsieur BODET Charles

*« La mer lave tous les maux des hommes » Platon.*

UNIVERSITE DE POITIERS

# Faculté de Médecine et de Pharmacie

Année universitaire 2015-2016

## PHARMACIE

**Professeurs**

- CARATO Pascal, Chimie Thérapeutique
- COUET William, Pharmacie Clinique
- FAUCONNEAU Bernard, Toxicologie
- GUILLARD Jérôme, Pharmaco chimie
- IMBERT Christine, Parasitologie
- MARCHAND Sandrine, Pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, Galénique
- PAGE Guylène, Biologie Cellulaire
- RABOUAN Sylvie, Chimie Physique, Chimie Analytique
- SARROUILHE Denis, Physiologie
- SEGUIN François, Biophysique, Biomathématiques

**Maîtres de Conférences**

- BARRA Anne, Immunologie-Hématologie
- BARRIER Laurence, Biochimie
- BODET Charles, Bactériologie
- BON Delphine, Biophysique
- BRILLAULT Julien, Pharmacologie
- CHARVET Caroline, Physiologie
- DEBORDE Marie, Sciences Physico-Chimiques
- DEJEAN Catherine, Pharmacologie
- DELAGE Jacques, Biomathématiques, Biophysique
- DUPUIS Antoine, Pharmacie Clinique
- FAVOT Laure, Biologie Cellulaire et Moléculaire
- GIRARDOT Marion, pharmacognosie, botanique, biodiversité végétale
- GREGOIRE Nicolas, Pharmacologie
- GRIGNON Claire, PH
- HUSSAIN Didja, Pharmacie Galénique
- INGRAND Sabrina, Toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile Pharmaco chimie
- PAIN Stéphanie, Toxicologie
- RAGOT Stéphanie, Santé Publique
- RIOUX BILAN Agnès, Biochimie
- TEWES Frédéric, Chimie et Pharmaco chimie
- THEVENOT Sarah, Hygiène et Santé publique
- THOREAU Vincent, Biologie Cellulaire
- WAHL Anne, Pharmaco chimie, Produits naturels

**PAST - Maître de Conférences Associé**

- DELOFFRE Clément, Pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, Pharmacien

**Professeur 2nd degré**

- DEBAIL Didier

**Maître de Langue - Anglais**

- JORDAN Steven

**Poste d'ATER**

- COSTA Damien

**Poste de Moniteur**

- VERITE Julie

# Sommaire


**Chapitre I. Introduction Générale ..... 8**
**I- Introduction Générale ..... 9**
1- L'Océan une incroyable pharmacopée ..... 9
2- Début de la pharmacologie marine ..... 10
3- Sélection des organismes marins potentiellement producteurs ..... 13
4- Les organismes marins sessiles : source majeure de métabolites spécialisés ..... 13

**Chapitre II. Eponges Marines ..... 17**
**II- Les éponges marines ..... 18**
1-Biologie des Spongiaires : contact étroit avec de très nombreux micro-organismes marins ..... 19
2- Systématique des spongiaires ..... 20
3- Les éponges marines : source de molécules bioactives ..... 24
4- Les difficultés de production à grande échelle : plusieurs options pour y remédier ..... 27

**Chapitre III. Micro-organismes associes aux éponges marines ..... 32**
**III- Microorganismes associés aux éponges marines ..... 33**
A) Symbiose éponges et micro-organismes marins ..... 33
1- Définition de la symbiose ..... 33
2- Mode d'acquisition des micro-organismes symbiotiques ..... 34
3- Localisation des micro-organismes symbiontes ..... 36
4- Abondance des micro-organismes symbiontes: classification des éponges en deux grands groupes ..... 37
5- Intérêts de la symbiose ..... 39

B) Diversité des micro-organismes associés aux spongiaires ..... 40
1- Spécificité des symbiontes: existence de clusters monophylétiques spécifiques aux éponges « Sponge Specific Clusters : SSC » ..... 40
2- Caractéristiques des communautés symbiotiques des Spongiaires ..... 41
3- Distribution phylogénétique des bactéries associées aux éponges ..... 44

C) Les Spongiaires et leurs micro-organismes: réservoir de substances naturelles bioactives ..... 47
1- Microorganismes associes aux Spongiaires : véritable source de métabolites bioactifs ..... 47
2- Culture des microorganismes symbiotiques potentiellement source de principe actif ..... 50
3 -La Métagénomique et le « Single Cell Genomic » ..... 52

**Chapitre IV. Conclusion ..... 57**

**Références bibliographiques ..... 61**

# Liste des Figures

**Figure 1.** Structure de la Céphalosporine C ..... 11

**Figure 2.**
Structures des nucléosides et analogues extraits de l'éponge *Cryptotethya crypta* ..... 12

**Figure 3.** Nombre de nouveaux composés bioactifs isolés d'organismes marins par décade. 12

**Figure 4.** Nombre total de nouveaux composés isolés de différentes sources marines de 2001 à 2010. ..... 15

**Figure 5.** Photos Diversité de forme et de couleur a- Polymastia agglutinans ; b-Spirastrella cunctatrix ; c- Oscarella lobularis ; d-Tethya aurantium ; e- Clathrina clathrus ; f-Hymedesmia paupertas Photos credits : www.mer-littoral.org W. Bay-Nouailhat ..... 18

**Figure 6.** Organisation générale des éponges : (a) coupe transversale d'une éponge (b) coupe transversale d'un choanocyte. ..... 19

**Figure 7.** Différentes formes de spicules. © *Encyclopaedia Universalis*..... 21

**Figure 8.** Exemples de Calcisponges ..... 22

**Figure 9.** Exemple d'éponge siliceuse ..... 22

**Figure 10.** Exemple d'éponge de verre ..... 23

**Figure 11.** Structure chimique du composé PM060184 ..... 26

**Figure 12.** Structure chimique de l'Halichondrine B ..... 29

**Figure 13.** Structure chimique Eribuline mésylate ..... 30

**Figure 14.** Structure chimique Peluroside A ..... 30

**Figure 15.** Localisation des micro-organismes symbiontes au sein des Spongiaires ..... 36

**Figure 16.** Coupe transversale d'un bactériocyte chez *Petrosia ficiformis*. ..... 37

**Figure 17.** Mésohyles de (a) *Xestospongia muta* (HMA) et (b) *Crella cyatophora* (LMA) ... 38

**Figure 18.** Organisation de la communauté microbienne symbiotiques des Spongiaires ..... 42

**Figure 19.** Diversité bactérienne associée à 32 espèces d'éponges de localisation géographique distincte à travers le monde (données de pyroséquençage-454 ARNr16S).. .... 45

**Figure 20.** Nombre de publications de 1975 à 2015 ..... 58

**Figure 21.** Approches pour l'obtention de métabolites bioactifs d'éponges marines. ..... 59

# Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide ribonucléique

**ARP** : Ankyrine Repeat Protein

**ELP** : Eukaryote Like protein

**FACS** : Fluorescence-Activated Cell Sorting

**HMA** : High Microbial Abundance

**LMA** : Low Microbial Abundance

**NRPS** : Non Ribosomal Polyketide Synthase

**OTU** : Operational Taxonomic  Unit

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**PKS** : Polyketide Synthase

**SCG** : Single Cell Genomic

**SSC** : Sponge Specific Cluster

**SSSC** : Sponge Species Specific Cluster

**TPR** : Tetratricopeptide Repeat

# Chapitre I

# Introduction Générale

# I- Introduction Générale

Pendant de nombreuses années, la bioprospection s'est essentiellement concentrée sur les écosystèmes terrestres conduisant notamment à la découverte de médicaments tels que la streptomycine, le chloramphénicol et bien d'autres. La raison de cet attrait pour l'environnement terrestre est en partie due à la facilité d'accès aux sources potentiellement productrices de métabolites bioactifs. Néanmoins, l'environnement marin, composé des mers et océans, est connu pour héberger une incroyable biodiversité marine, associée à une incroyable chimiodiversité, en faisant le nouvel Eldorado de l'instigation des futures promesses de la recherche pharmaceutique.

## 1- *L'Océan une incroyable pharmacopée*

L'Océan a de tout temps été une source de remèdes pour les hommes. Il y a plus de cinq milles ans, les algues marines notamment, étaient utilisées en médecine traditionnelle chinoise comme remède contre les ulcères de l'estomac ou encore les goitres, et de nombreux organismes marins figuraient au « *materia medica* » chinois, plus ancienne oeuvre consacrée à la pharmacologie. L'historien romain, Pline l'Ancien rapportait également que les éponges marines, riches en iode étaient utilisées pour faciliter la coagulation du sang. Cependant, les recherches de molécules marines biologiquement actives n'ont débuté qu'au début du XXè siècle, lorsque les scientifiques eurent accès aux profondeurs par la plongée sous-marine puis par la suite, *via* des robots sous-marins facilitant les prélèvements biologiques même dans des zones abyssales. Recouvrant près de 70% de la surface totale du globe, l'environnement marin renferme une immense biodiversité, pouvant être expliquée par une longue période

d'évolution et de co-évolution avec l'apparition de la vie dans les océans il y a près de 3,8 milliards d'années tandis que la vie continentale serait évaluée à 400 millions d'années (Le Gal, 2004). Le consortium d'étude de la vie marine (Census of Marine Life), regroupant plus de 2700 scientifiques de 80 pays, a comptabilisé à ce jour environ 250 000 espèces marines décrites dans la littérature et estime à plus de 750 000 le nombre d'espèces marines restant à découvrir (excluant les très nombreux micro-organismes marins).

Cette importante biodiversité marine est quant à elle, source d'une incroyable chimiodiversité mobilisant un nombre croissant d'équipes de recherche et de grands groupes pharmaceutiques dans le monde (Banaigs & Kornprobst, 2007). Les organismes marins, vivant dans un milieu particulièrement compétitif, produisent des métabolites bioactifs puissants à des fins de compétition pour l'espace, d'attraction, de reproduction, de défense chimique contre les prédateurs ou encore contre la colonisation, mais également à des fins de communication chimique favorisée par la fonction vectrice de l'eau.

En une quarantaine d'années, plus de 18 000 nouvelles molécules isolées du milieu marin ont été caractérisées. Ces dernières présentent des structures chimiques originales rarement observées dans des métabolites bioactifs isolés d'organismes terrestres (Kornprobst, 2005) avec notamment des éléments chimiques tels que le chlore, le soufre, ou encore le brome, et ce en raison de la richesse des eaux marines en halogènes.

### *2- Début de la pharmacologie marine*

Les recherches en pharmacologie marine débutèrent avec deux découvertes majeures :

***La première, dans le domaine des antibiotiques***

- avec la découverte en 1948 de la céphalosporine C par un biologiste italien, G. Brotzu. La céphalosporine C (Figure 1) fut isolée d'un champignon microscopique marin *Cephalosporium acremonium*, il fallut attendre les années 60 pour connaître la structure chimique du principe actif qui fut la première molécule marine commercialisée en 1964 (Allemand, 2009). Actuellement produites par synthèse chimique, les céphalosporines sont des antibiotiques classés par « génération », encore couramment utilisés.

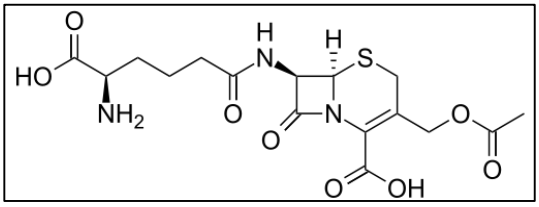
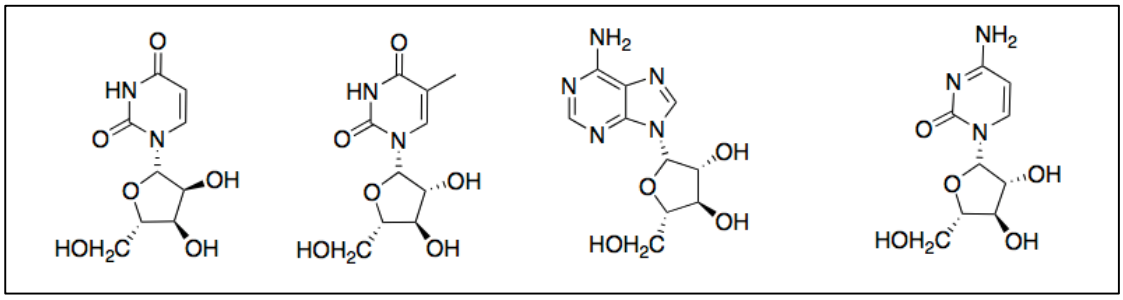



**Figure 1. Structure de la Céphalosporine C**

***Et la seconde, dans le domaine des anticancéreux et des antiviraux***

- avec la découverte en 1951 par le professeur Werner Bergmann, de deux nucléosides inhabituels dont le ribose est remplacé par un arabinose : spongouridine et spongothymidine. Ces nucléosides ont été isolés de l'éponge marine *Cryptotethya crypta* (Bergmann et Feeney, 1950, 1951). Les pharmacochimistes eurent rapidement l'idée d'utiliser ces structures originales et deux analogues de synthèse furent développés : l'Ara-A (Vidarabine) et l'Ara-C (Cytarabine) (Figure 2) utilisés respectivement dans le traitement de l'herpès ou du zona et dans le traitement des leucémies et des lymphomes non hodgkinien.



spongouridine spongothymidine Ara-A(vidarabine) Ara-C (cytarabine)

**Figure 2.**

**Structures des nucléosides et analogues extraits de l'éponge *Cryptotethya crypta*.**

Depuis les recherches de produits naturels marins ne cessent de se multiplier conduisant à la découverte de plus en plus de molécules d'intérêts pharmacologiques, comme le montre la figure 3.

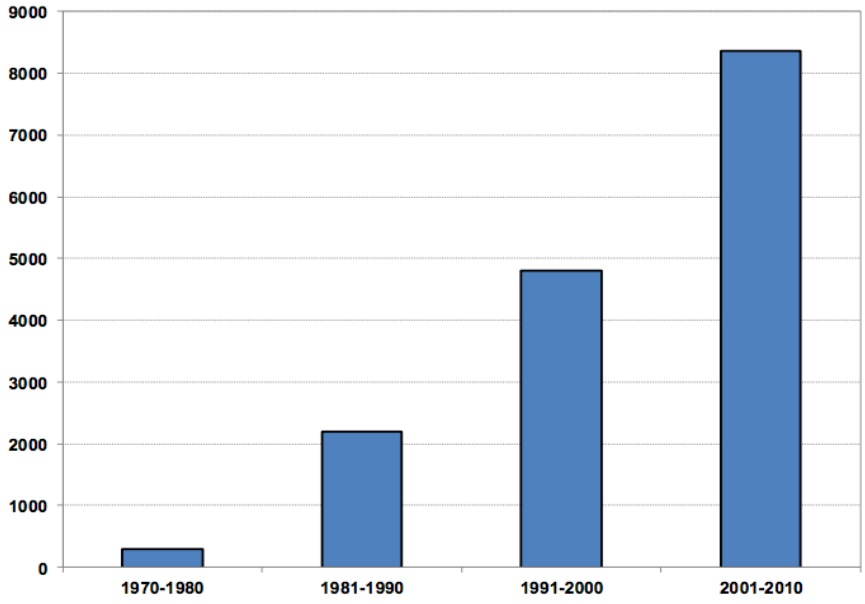



**Figure 3. Nombre de nouveaux composés bioactifs isolés d'organismes marins par décade. (Ferdous Mehbub et al., 2014)**

## *3- Sélection des organismes marins potentiellement producteurs*

La sélection d'un organisme cible à partir duquel sera réalisée l'extraction des métabolites potentiellement bioactifs peut être effectuée selon différents critères :

- l'Ethnopharmacologie, définit comme "l'exploration interdisciplinaire des agents biologiquement actifs traditionnellement employés ou observés par l'homme" (Bruhn et Holmstedt B., 1981) où les recherches sont orientées par les médecines traditionnelles ;

- La chimiotaxonomie, se basant sur la similitude des principes actifs isolés d'espèces appartenant à la même famille taxonomique permettant d'orienter les recherches vers des espèces proches ;

- le criblage systématique, consistant à étudier tous les organismes marins ou terrestres isolés ;

- Et l'écologie chimique, définie comme l'étude du rôle des composés chimiques dans les intéractions biotiques; par exemple, les invertébrés marins sessiles intéressent particulièrement les scientifiques. Généralement exempts de mécanisme de défense mécanique, ils ont su développer des mécanismes de défenses chimiques particulièrement puissants afin de pérenniser au fil des siècles dans l'environnement marin.

## *4- Les organismes marins sessiles : source majeure de métabolites spécialisés*

Les organismes marins dits « sessiles » tels que les éponges, coraux, ou encore les ascidies vivent fixés à différents substrats (roche, coque de mollusque...). Ces organismes marins sont reconnus comme étant les plus producteurs de substances naturelles bioactives (Ferdous Mehbub et al., 2014). En effet, majoritairement dépourvus de défense physique

comme des coquilles, piquants ou encore la fuite, ils ont su développer des mécanismes de défense chimique pour se protéger de la prédation, de la colonisation, ou encore en vue de la compétition pour l'espace. Les substances impliquées dans ces mécanismes de défense dits « métabolites secondaires » par opposition aux métabolites primaires indispensables à la vie, sont toxiques et confèrent pour certains un goût désagréable (antipalatabilité) protégeant ainsi l'organisme producteur de la prédation. On retrouve des tanins, des alcaloïdes ainsi que des terpènes. Ces métabolites secondaires sont étudiés pour la recherche de nouvelles substances naturelles bioactives et peuvent représenter de futurs agents thérapeutiques. En effet, si ces organismes sessiles savent se défendre chimiquement dans l'eau, un milieu diluant majeur, c'est qu'ils produisent des toxines extrêmement puissantes.

Parmi ces invertébrés sessiles, les *Porifera* encore appelés spongiaires ou éponges représentent un des phyla les plus étudiés dans l'investigation de nouvelles molécules actives; près de 300 sont découvertes chaque année (Blunt et al., 2012) portant entre 2008 à 2012 à près de 1500 produits naturels marins isolés des spongiaires et faisant des spongiaires la source marine la plus importante de métabolites spécialisés (Figure 4). Enfin sur plus de 18 000 molécules naturelles marines décrites, près de 30% ont été isolés des éponges, ce qui représente la plus importante source marine de produits naturels bioactifs (Leal et al., 2012). Les éponges marines sont de ce fait une source importante de molécules actives leur ayant conféré protection et maintien de l'homéostasie dans leur environnement et pouvant présenter un intérêt pharmaceutique (Selvin et al., 2009).

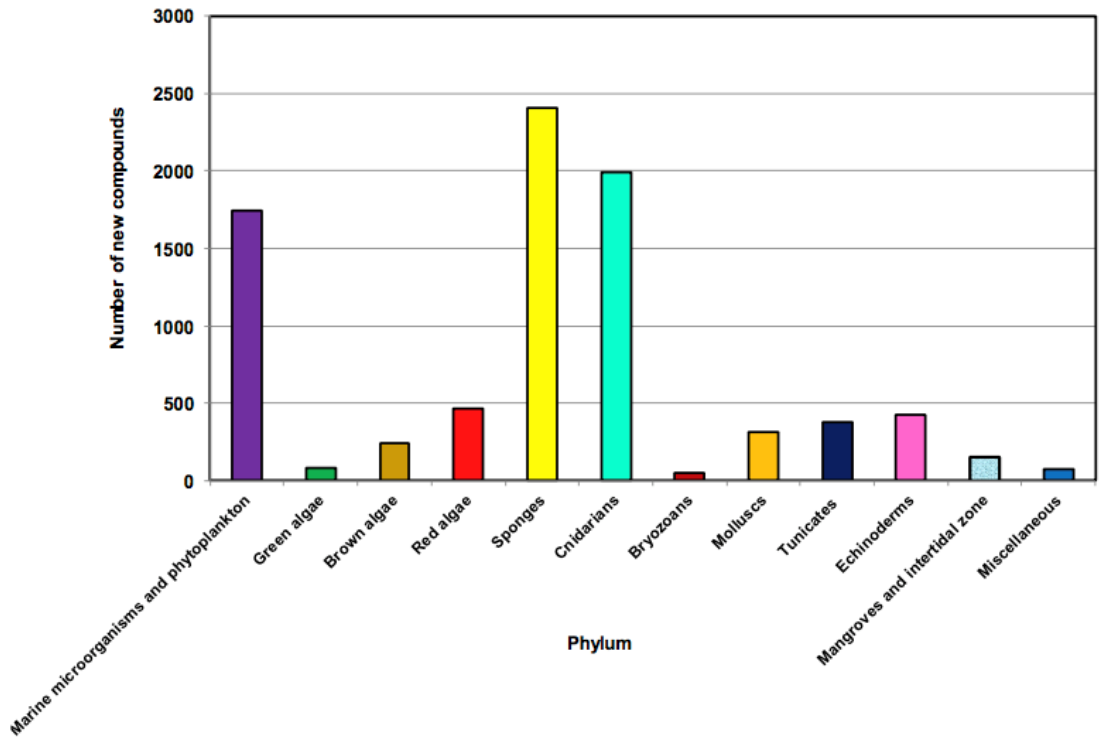



**Figure 4. Nombre total de nouveaux composés isolés de différentes sources marines de 2001 à 2010 (Ferdous Mehbub et al., 2014).**

# Chapitre II

# Les Eponges Marines

## II- Les éponges marines

Adaptées à une grande diversité de niches écologiques, les spongiaires sont retrouvées depuis le littoral marin jusqu'aux zones abyssales et sont également présentes dans les eaux douces (moins de 1% des espèces). Plus de 8553 espèces d'éponges ont été décrites (Van Soest et al., 2012) possédant une grande diversité de formes et de couleurs, quelques exemples sont présentés ci dessous (Figure 5). Les éponges marines peuvent constituer l'organisme macro-benthique majoritaire et représenter près de 80% de la biomasse de certains habitats comme au niveau des régions polaires (Bergquist et al., 2001).

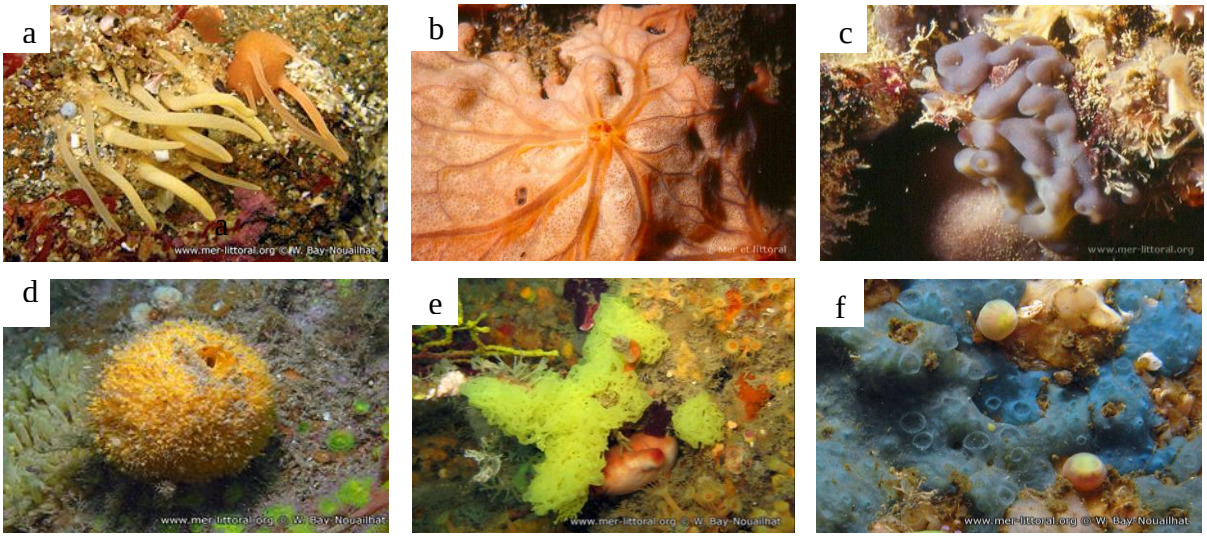



**Figure 5. Photos Diversité de forme et de couleur a- *Polymastia agglutinans ; b-Spirastrella cunctatrix ; c- Oscarella lobularis ; d-Tethya aurantium ; e- Clathrina clathrus ; f- Hymedesmia paupertas.* Photos crédits : www.mer-littoral.org - W. Bay-Nouailhat.**

## *1-Biologie des Spongiaires : contact étroit avec de très nombreux micro-organismes marins.*

D'organisation très simple, les éponges sont des animaux multicellulaires, ne possédant ni tissu ni organe différencié et sont, de ce fait, les métazoaires les plus primitifs apparus au Précambrien il y a plus de 600 millions d'années. Animaux diploblastiques, les éponges sont constituées de deux couches de cellules appelées pinacoderme et choanoderme séparées par le mésohyle. Le pinacoderme est perforé d'une multitude de petits pores ou *ostia*, (Figure 6) d'où l'étymologie du nom *Porifera* donné au groupe des éponges (latin *porus* signifiant petit trou et verbe *ferre* signifiant porter).

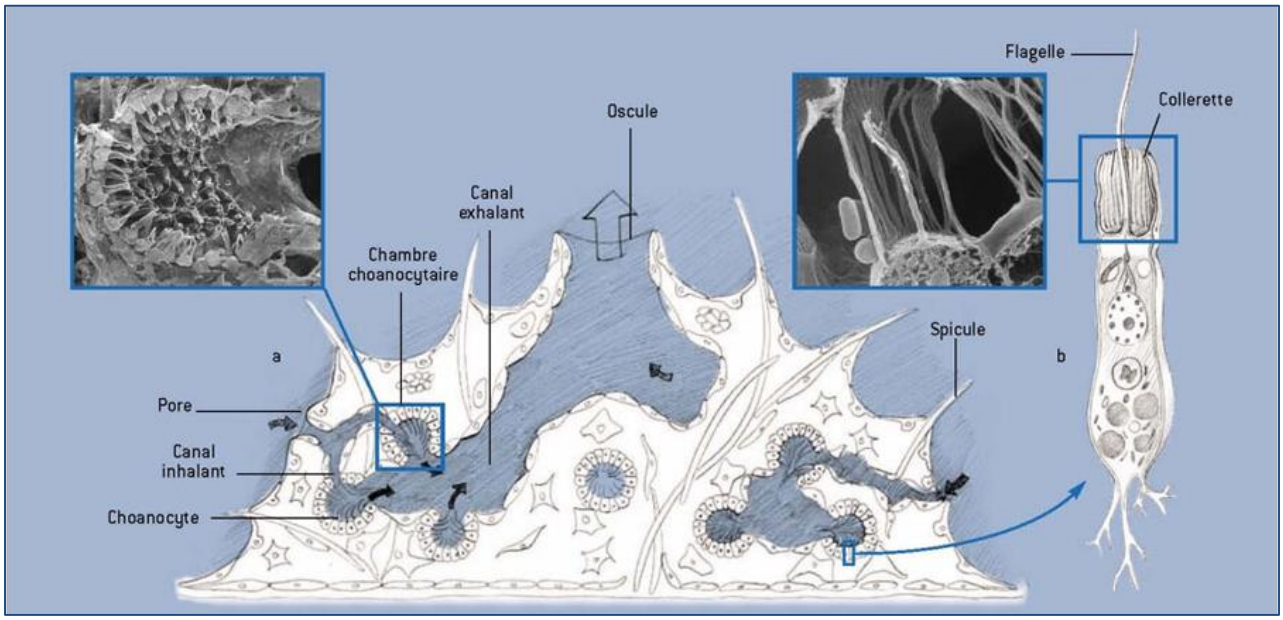



**Figure 6. Organisation générale des éponges : (a) coupe transversale d'une éponge (b) coupe transversale d'un choanocyte. (Manuel et al., 2003).**

Organismes sessiles vivant fixés à différents types de substrat, les éponges se nourrissent, pour la grande majorité d'entre-elles, par filtration de larges volumes d'eau, jusqu'à 24 $m^3$/kg/jour

(Vogel, 1977). L'eau environnante chargée de particules nutritives en suspension, pénètre dans l'éponge *via* les ostia. Puis, celle-ci circule au sein des tissus par un réseau de canaux inhalants jusqu'à atteindre les chambres choanocytaires tapissées de choanocytes. Il s'agit de cellules à collerette munies d'un flagelle (Figure 6-b). Les mouvements du flagelle assurent la circulation de l'eau au sein de l'éponge (Harrison et Cowden, 1976 ; Simpson, 1984). La collerette quant à elle est composée de microvillosités, qui captent les particules nutritives. Les bactéries (cyanobactéries et bactéries hétérotrophes) et micro algues phagocytées par un autre type cellulaire, les archaeocytes, satisfont les besoins alimentaires des éponges (Reiswig, 1975b). Le taux de capture des bactéries présentes dans l'eau filtrée peut atteindre jusqu'à 96% (Reiswig, 1975a ; Pile, 1997 ; Turon et al., 1997 ; Wehrl et al., 2007). L'eau rejoint ensuite un réseau de canaux exhalants avant de quitter l'éponge *via* l'oscule.

## *2- Systématique des spongiaires*

La systématique des spongiaires (phylum *Porifera)* repose sur la forme des spicules. Les spicules sont des éléments microscopiques sécrétés par les scléroblastes (cellules spécialisées du mésohyle) et contribuant à la rigidité structurale des éponges. Leur nature (calcite ou silice) et forme (Figure 7) définissent le classement des éponges.

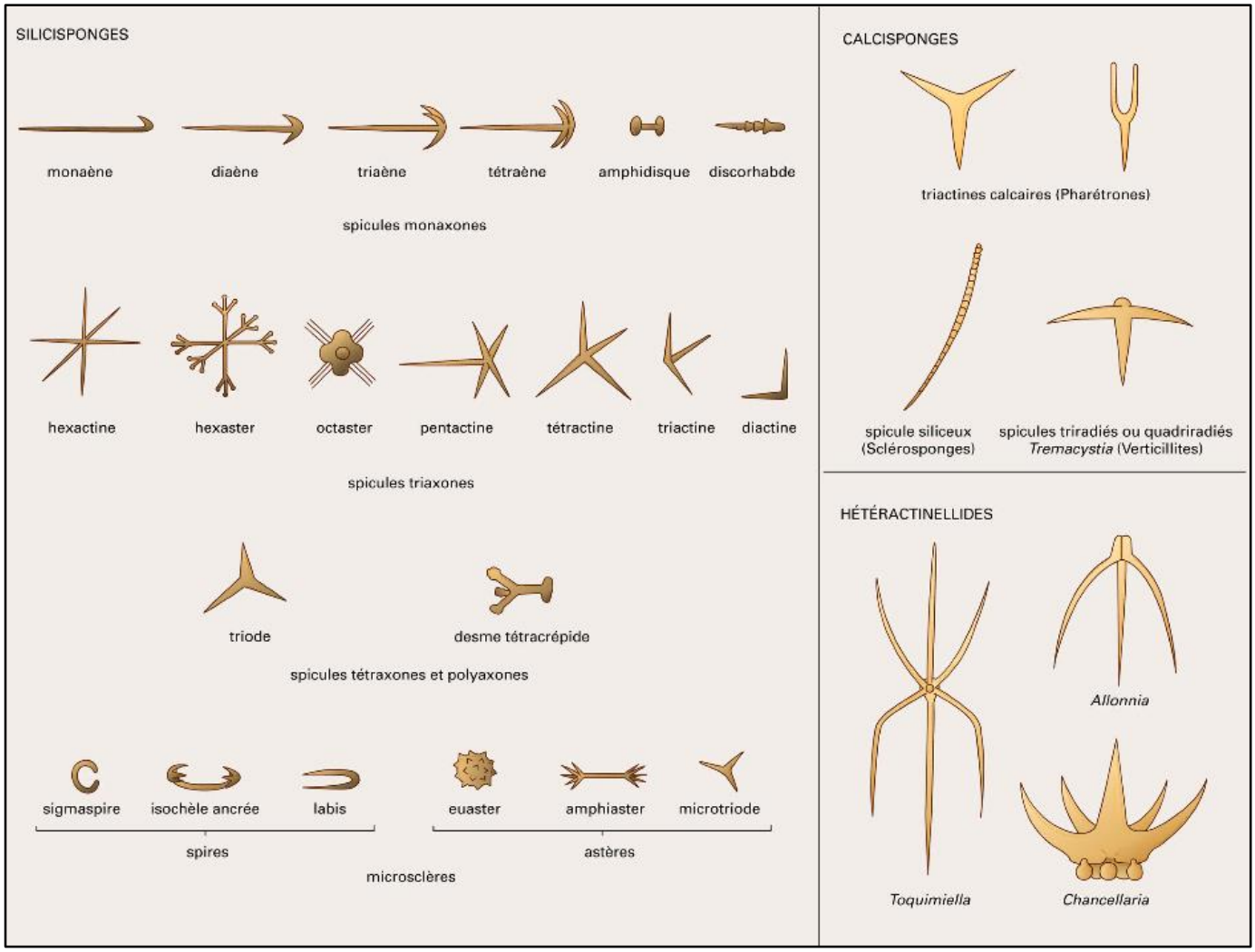



**Figure 7. Différentes formes de spicules. © *Encyclopaedia Universalis***

Les spongiaires sont composées de 4 classes : les éponges calcaires *Calcarea* (Bowerbank, 1864) et les éponges siliceuses : *Demospongiae* (Sollas, 1885) (regroupant près de 95% des éponges), *Hexactinellida* (Schmidt, 1870), et *Homoscleromorpha* (Dendy, 1905) :

**- Les éponges calcaires** ou *Calcispongia* (Bowerbank, 1864) : ont un squelette de carbonate de calcium (spicules calcaires). De taille réduite (< 10 cm), les calcisponges sont plus

abondantes et plus diversifiées sur le plateau continental et donc dans des eaux peu profondes (< 100 mètres).

***Clathrina cerebrum*** ***Ascandra falcata***

**Figure 8. Exemples de Calcisponges - Photos crédits : www.mer-littoral.org -W. Bay-Nouailhat.**

**- Les éponges siliceuses**

Elles présentent un squelette constitué de spicules de silice. Ces éponges sont ensuite classées selon la forme des spicules:

- Les Démosponges *Desmospongia* (Sollas, 1885) regroupent près de 85% des éponges la plupart marines (comme les éponges de toilette *Spongia officinalis*). Le squelette est constitué de fibres de spongine et/ou des spicules de silice hydratée mono ou tetraxoniques.

***Halichondria panicea***

**Figure 9. Exemple d'éponge siliceuse - Photos crédits : www.mer-littoral.org - W. Bay-Nouailhat.**

- Les Hexactinellides *Hexactinellida* (Schmidt, 1870) ou éponges de verre qui possèdent des spicules siliceuses à trois axes perpendiculaires et six pointes : les triaxones hexactines à l'origine du nom de cette classe. Ces spicules n'existent pas chez les Démosponges. Par association elles donnent à l'éponge une structure rigide. Les Hexactinellides sont principalement retrouvées en zone bathyale entre 200 et 600 mètres de profondeur et sont exclusivement des éponges marines. Ces éponges représentent probablement les spongiaires les plus évolués.

***Euplectella aspergillum***

**Figure 10. Exemple d'éponge de verre - Photos crédits : Jean Vacelet.**

- Les Homoscleromorpha (Dendy, 1905)

Récemment reconnue comme 4ème classe (Gazave et al., 2010) à la suite d'études phylogénétiques poussées, elle est composée de deux familles les Plakinidae et les Oscarellidae.

## *3- Les éponges marines : source de molécules bioactives*

Comme dit précédemment, les premières utilisations humaines des éponges marines ont été rapportées par l'historien romain Plinius. Les éponges marines, étant saturées en iodine, étaient utilisées comme coagulant, mais également réduites en poudre pour permettre le traitement de brûlures et infections diverses.

Depuis, beaucoup de molécules bioactives ont été découvertes (Uriz et al., 1996; Osinga et al., 1998; Munro et al., 1999; Pomponi, 1999; Faulkner et al, 1999; Richelle-Maurer et al., 2003) au sein des tissus d'éponges. La classe des Demospongiae et plus particulièrement les ordres Halichondrida, Poecilosclerida, et Dictyoceratida sont les sources les plus importantes de composés (Thomas et al., 2010b). La diversité chimique des métabolites spécialisés isolés des éponges inclut des acides aminés, des peptides, des nucléosides, des macrolides, des terpènes, des porphyrines, des polycétides ainsi que des alcaloïdes et des stérols (Sipkema et al., 2005). Ces molécules constituent une large gamme de produits naturels d'intérêt pharmacologique, comme des anti-cancéreux (Bourguet-Kondracki et al., 2000 ; Rangel et al., 2001 ; Laport et al., 2009), des anti-épibiose (Fusetani, 2011), ou encore des antibiotiques (Belarbi et al., 2003). Cependant, malgré l'augmentation constante du nombre de produits naturels isolés des éponges, peu ont pu être commercialisés en thérapeutique humaine. Les molécules actuellement commercialisées sont regroupées dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Molécules isolées des éponges, approuvées par la FDA ou en cours d'essais cliniques - Mis a jour en Juin 2015.

| | Nom du composé | Molécule | Médicament princeps | Classe chimique | Cible moléculaire | Maladie cible | Compagnie |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Approuvé FDA | Cytarabine (Ara-C) | Spongothymidine | Cytosar-U ® | Nucléoside | ADN polymérase | Cancer Leucémie | Bedford Laboratories (Bedford, OH, USA) |
| | Eribuline mésylate (E7389) | Halichondrine B | Halaven ® | Macrolide | Microtubules | Cancer du sein métastasique | Eisai Inc. (Tokyo, Japan) |
| | Vidarabine (Ara-A) | Spongouridine | Vira-A ® | Nucléoside | ADN polymérase viral | Antiviral : Virus Herpes simplex | King Pharmaceutical (Tenafly, NJ, USA), |
| Phase I | PM060184 | | - | Polycétide | Microtubules | Tumeurs solides | PharmaMar |

Les composés Cytarabine (Ara-C) et Vidarabine (Ara-A) ont été présentés précédemment (Figure 2A), quant à l'Eribuline mésylate, approuvé dans le traitement du carcinome mammaire localement avancé ou métastasique par la US Food and Drug Administration (Donoghue et al., 2012) et les Autorités Européennes (Menis and Twelves, 2011; Gourmelon et al., 2011) sera présenté ultérieurement (page 26).

Le composé PM060184 quant à lui, est actuellement en phase I des essais cliniques. Il s'agit d'un polycétide isolé en 2005 de l'éponge *Lithoplocamia lithistoides* collectée à Madagascar. La molécule interfère avec les microtubules, structure indispensable à la division cellulaire. PM060184 (Figure 11) synthétisé en 33 étapes en 2013, est particulièrement actif contre les cellules cancéreuses (Martin et al., 2013).

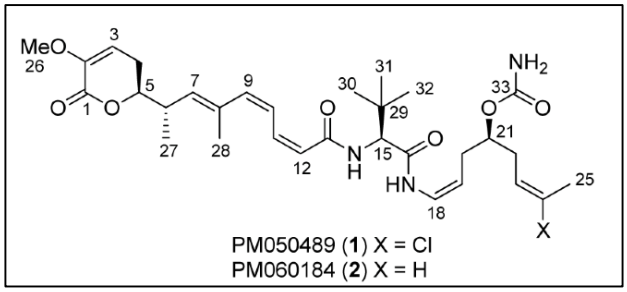



**Figure 11. Structure chimique du composé PM060184 (Martin et al., 2013).**

Malgré ce faible nombre de molécules actuellement commercialisées ou en phase I, II ou III des essais cliniques, de nombreuses autres sont actuellement en essais précliniques. La majorité des molécules d'origine marine actuellement en développement clinique sont destinées au traitement des cancers, parmi eux :

- Renieramycin M, appartenant à la famille des tetrahydroiso-quinolines, isolé des éponges appartenant au genre Reniera. Les résultats précliniques révèlent que la Renieramycin M induit l'apoptose des cellules cancéreuses du poumon, la molécule inhiberait ainsi la progression du cancer ainsi que le développement de métastases (Perdicaris et al., 2013).

- Peloruside A, est un agent stabilisant les microtubules, isolé de l'éponge *Mycale henscheli* qui semble présenter des propriétés anticancéreuses prometteuses. Les premiers essais précliniques étudièrent les effets de la Peluroside A sur la croissance de cellules cancéreuses du poumon à 5 et 10 mg/kg. La Peluroside A induit une inhibition de croissance des tumeurs de 84 et 95% respectivement contre 50 et 18% respectivement pour le paclitaxel (8 mg/kg) et docetaxel (6.3 mg/kg) (Meyer et al., 2015).

- Les Crambescidines, alcaloïdes pentacycliques, isolées de l'éponge Méditerranéenne *Crambe crambe*, sont cytotoxiques sur des cellules leucémiques L1210 mais également sur de nombreuses cellules tumorales (Jares-Erijman et al., 1991 ; Berlinck et al., 1993 ; Aoki et al., 2004 ; Rubiolo et al., 2013). Elles présentent de plus une activité antivirale vis-à-vis de l'herpes simplex de type 1 (HSV-1), et antifongiques (crambescidines 800, 830 et 816) contre *Saccharomyces cerevisiae* (Rubiolo et al., 2013). La crambescidine 800 possède également des activités anti-malariques (Lazaro et al., 2006). La crambescidine 816 est quant à elle, un puissant antagoniste des canaux calciques (Berlinck et al., 1993 ; Martin et al., 2013). Ces molécules, synthétisées, font l'objet de dépôts de brevets (exemple : demande de brevet CA 2286738 pour les composés de crambescidines).

Beaucoup d'autres molécules font actuellement l'objet de dépôt de brevet et sont en essais précliniques afin de tester leur pouvoir anticancéreux mais également, antibiotiques, antifongiques, anti-inflammatoires et bien d'autres.

### *4- Les difficultés de production à grande échelle : plusieurs options pour y remédier*

Malgré le nombre croissant de composés naturels marins isolés, seulement 300 brevets ont été déposés aboutissant pour le moment qu'à une poignée de molécules commercialisées. En effet, la concentration de ces molécules, au sein des tissus des éponges est extrêmement faible, variable (ex : moins de 0.4% en poids secs jusqu'à 12% pour les concentrations les plus importantes (Unson et al., 1994)) et fonction des facteurs environnementaux.

Les saisons, les variations de température du milieu environnent, la pression de compétition pour l'espace, la luminosité, l'ensemble de ces paramètres à un effet sur la concentration des

métabolites bioactifs dans les tissus de l'organisme. Becerro et collaborateurs (1994) mirent en évidence la différence de concentration des métabolites secondaires dans l'ectosome d'une éponge Méditerranée *Crambe crambe* en fonction de la luminosité de l'environnement abritant celle-ci, la toxicité de cette éponge est supérieure lorsqu'elle se situe dans des endroits ombragés. Ceci peut être expliqué par une différence de pression de compétition dans le milieu environnent.

Du fait de la quantité infime des produits actifs au sein de ces invertébrés, l'extraction en masse de centaines de grammes est complexe et se révèle être un frein à l'utilisation de ces composés en thérapeutique humaine.

Dans le cas d'une molécule particulièrement intéressante, plusieurs options peuvent être envisagées :

- ***La synthèse totale ou bien l'hémisynthèse chimique de la molécule.***

La synthèse totale est la « synthèse complète d'une molécule complexe à partir de composés de départ simples et généralement disponibles commercialement ». L'hémisynthèse quant à elle, est la « synthèse d'une molécule réalisée à partir de composés naturels possédant déjà une partie de la molécule visée ». Néanmoins, les molécules isolées des éponges sont généralement très complexes nécessitant un grand nombre d'étapes pour leur synthèse, rendant difficile leur production tant d'un point de vue développement qu'économique.

Dans le cas où la synthèse est économiquement inenvisageable, la recherche d'analogue de synthèse peut se révéler indispensable. Le cas de l'Eribuline mésylate (E7389) illustre cela. L'Halichondrine B, est un macrolide présentant des propriétés anti-tumorale, isolé en 1996 de l'éponge *Halichondria okadai* (Uemura et al., 1985; Hirata & Uemura, 1986). Néanmoins sa

trop faible concentration au sein des tissus de l'éponge ne permis pas le début des essais précliniques. De plus, en raison de la complexité de la molécule (Figure 12), la synthèse ne put être envisagée. Cependant, l'Halichondrine B fut mise en évidence au sein de différentes éponges appartenant au genre Axinella, Phakellia mais également Lissodendoryx (Hart et al., 2000). *Lissodendoryx sp.* présente la plus importante concentration d'Halichondrines au sein de ses tissus, orientant ainsi les recherches vers la récolte et l'aquaculture et aboutissant à l'obtention de 310 mg d'Halichondrine B nécessaires aux essais précliniques. Cependant la récolte ainsi que l'aquaculture n'ont pas pu être considérées comme solution pour une éventuelle commercialisation de ce composé, en effet il a été estimé à 1 à 5 kg de composé annuel nécessaire pour cela, rendant ainsi l'aquaculture non économiquement viable considérant que une tonne d'éponge fournit approximativement 300 mg d'Halichondrine B (Sipkema et al., 2005). Par la suite, la collaboration entre scientifiques et industriels permit le développement d'un analogue structural, l'Eribuline mésylate (E7389) (Figure 13), structuralement plus simple mais à l'activité biologique similaire. L'E7389, breveté en 2001, et aujourd'hui approuvé par la FDA, inhibe la polymérisation des microtubules et séquestre la tubuline libre en agrégat (Gourmelon et al., 2011) provoquant l'arrêt de la mitose tout comme l'Halichondrine B. Il est utilisé dans le traitement du cancer du sein mais ne peut être mis en place qu'après avoir testé deux autres chimiothérapies.

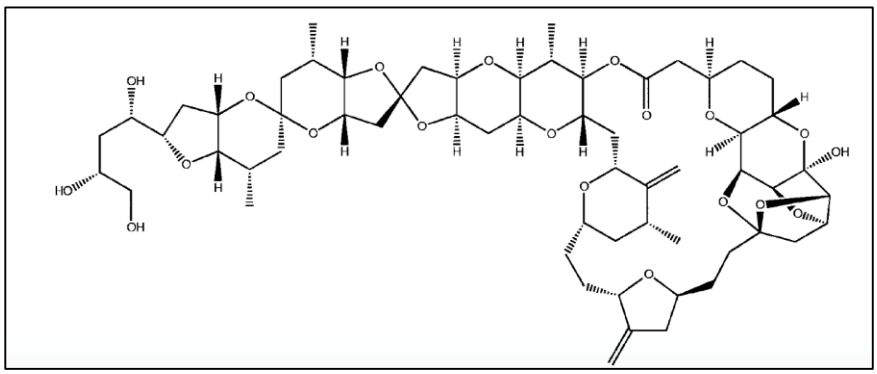


**Figure 12. Structure chimique de l'Halichondrine B.**

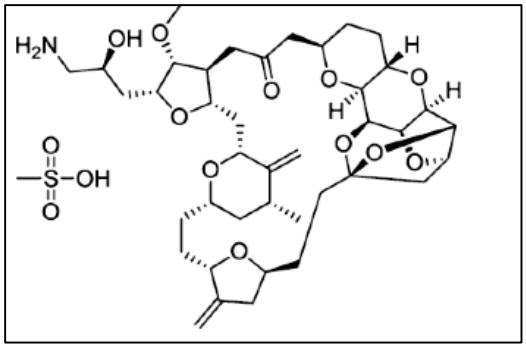



**Figure 13. Structure chimique de l'Eribuline mésylate.**

- ***L'aquaculture d'éponges marines***

L'aquaculture des éponges marines est également proposée et de plus en plus étudiée. Citons le cas de du composé Peluroside A (Figure 14) isolé de l'éponge *Mycale hentscheli* actuellement en essais précliniques. Ce composé présente des propriétés anticancéreuses à l'activité similaire à celle du Paclitaxel (Taxol®). Actuellement, en essais précliniques deux alternatives ont été mises en place afin d'assurer la production d'une quantité suffisante de principe actif. Plusieurs équipes travaillent sur la synthèse chimique de ce composé (Jin & Taylor, 2005) et des études sont en cours afin de déterminer si sa synthèse chimique est une possibilité économiquement viable. Une autre possibilité est l'aquaculture de *M. hentscheli* montrant des résultats encourageants. Il a été montré que 200kg d'éponge fourniraient 2 grammes pur de Peluroside A (Page et al., 2005).

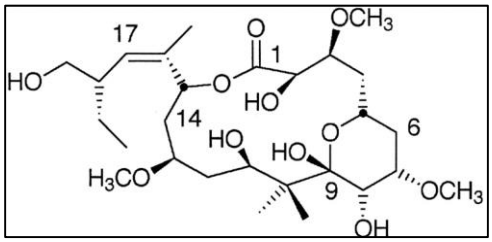



**Figure 14. Structure chimique Peluroside A.**

- ***Des études d'écologie chimique***

Enfin, des études d'écologie chimique peuvent également se révéler indispensables afin d'identifier les conditions et/ou le(s) organisme(s) responsable(s) de la production de ce composé. En effet, il est de plus en plus reconnu que les métabolites extraits des éponges peuvent être produits par les cellules de l'éponge elle-même (Garson et al., 1998 ; Turon et al., 2000 ; Roué et al., 2010) , mais également par un/plusieurs micro-organisme(s) associé(s) a celle-ci (Unson et al., 1994 ; Bewley et Faulkner, 1998 ; Lee et al., 2001 ; Proksch et al., 2002 ; Roué et al., 2012) ou encore co-produits par l'activité simultanée de l'ensemble des partenaires de la symbiose éponge-micro-organismes (Ebel et al., 1997 ; Debitus et al., 1998). En effet, il est aujourd'hui proposé que les bactéries associées aux éponges seraient la véritable source de nombreux métabolites extraits de ces invertébrés marins.

La culture des micro-organismes producteurs d'un métabolite spécialisé est la méthode la plus directe pour l'obtention d'une quantité suffisante et constante de ces composés. Ainsi à l'aube du 3ème millénaire, l'exploitation des microorganismes marins semble particulièrement prometteuse.

# Chapitre III

# Micro-organismes associés aux éponges marines

## III- Micro-organismes associés aux éponges marines

## A) Symbiose éponges et micro-organismes marins

Les éponges étant des organismes sessiles, elles se nourrissent par filtration de micro-organismes présents dans l'eau environnante (Vogel, 1977) et sont ainsi en contact étroit avec de très nombreux micro-organismes. Certains de ces micro-organismes pérennisent dans leurs tissus. Les éponges sont ainsi les hôtes d'une remarquable diversité de micro-organismes contribuant à leur biologie et au maintien de leur homéostasie (Lee et al., 2001 ; Hill, 2004). L'association microorganismes marins - éponges seraient la plus ancienne association microorganismes – métazoaires et dateraient de la période du Précambrien, il y a près de 600 millions d'années (Wilkinson, 1984).

Plusieurs auteurs ont suggéré qu'ils participent notamment à la protection de ces hôtes sessiles par la synthèse de nombreux métabolites spécialisés (Unson et al. 1994 ; Schmidt et al., 2000) et ils seraient une source de nombreuses molécules isolées d'éponges. Les éponges et leurs bactéries associées représentent ainsi un objet d'étude particulièrement intéressant tant du point de vue écologique (origine des symbioses, transmissions, rôles) mais aussi pharmacologique (sources des métabolites spécialisés, production de ces mêmes métabolites...).

### *1- Définition de la symbiose*

Dans de ce manuscrit, le mot symbiose sera employé selon la définition originale de Anton De Bary (1879). La symbiose est définie comme étant l'association spécifique et durable de 2 ou plusieurs espèces différentes, indépendamment des bénéfices/inconvénients tirés par

chacun des partenaires. Les partenaires de la symbiose sont appelés l'hôte et le(s) symbionte(s). L'association des partenaires est nommée holobionte.

### *2- Mode d'acquisition des micro-organismes symbiotiques*

Il a été démontré que les symbiontes d'éponge peuvent être acquis de la colonne d'eau par transfert horizontal et/ou des éponges « parentes » par transfert vertical *via* les gamètes ou larves lors des cycles de reproduction sexuée ou asexuée. Ce mode de transmission a été rapporté la première fois par Lévi et Porte en 1962 et mis en évidence chez de nombreuses éponges, par exemple : *Tethya citrina* (Gaino et al., 1987), *Geodia cydonium* (Sciscioli et al., 1994), *Mycale laxissima* (Enticknap et al., 2006), *Corticium candelabrum* (De Caralt et al., 2007).

Le transfert horizontal nécessite une discrimination entre les micro-organismes symbiotiques et les micro-organismes de la colonne d'eau utilisés à des fins alimentaires par l'hôte (Bergquist, 1978 ; Wilkinson, 1984). Le procédé par lequel cette discrimination est effectuée est encore mal déterminé. Deux hypothèses par lesquelles les symbiontes échapperaient au processus de digestion de l'hôte ont été proposées (Wilkinson, 1978b, 1984): (i) ils seraient spécifiquement reconnus par l'éponge et ainsi délibérément non ingérés et/ou (ii) ils seraient pourvus de système d'encapsulation permettant ainsi un masquage des sites de reconnaissance présents à leur surface les rendant alors non détectables. De nombreuses observations microscopiques de symbiontes d'éponges ont rapporté la présence d'une membrane supplémentaire les entourant, confirmant ainsi cette dernière hypothèse émise par Wilkinson en 1984.

Cependant plusieurs études supportent quant à elles l'hypothèse de reconnaissance spécifique symbionte – hôte. Il a été suggéré par Müller et collaborateurs en 1979, le rôle de la lectine dans l'agrégation des cellules d'éponges (*Geodia sp*.). Cependant le rôle biologique de cette protéine ne se résumerait pas uniquement à la réagrégation des cellules, elle interviendrait également dans l'établissement et le maintien de la symbiose comme dans le cas de l'éponge *Halichondria panicea* et sa bactérie associée *Pseudomonas insolita* (Müller et al., 1981). De récentes études de métagénomique ont également révélé la présence de gènes codant pour des protéines dites « eukaryote like proteins» (ELP) dans le génome de bactéries associées aux éponges (Thomas et al., 2010a ; Siegl et al., 2011 ; Fan et al., 2012 ; Liu et al., 2012). Parmi elles, les motifs répétés ankyrine (ARPs) et les tetratricopeptides (TPR) ont été mis en évidence dans le génome de la bactérie majoritaire associée à *Cymbastella concentrica* ainsi que dans 5 autres espèces d'éponge (Thomas et al., 2010a). Les ELPs sont des protéines retrouvées typiquement chez les eucaryotes, identifiées comme intervenant dans les interactions hôtes-symbiontes. La fonction de ces protéines atypiques chez les bactéries, est encore largement inconnue mais elles sont suspectées, comme chez les eucaryotes, de participer aux interactions micro-organismes-hôte. Des études de recombinaison génétique ont montré que l'expression des ARPs chez *Escherichia coli* modulait la phagocytose conduisant ainsi à l'accumulation de bactéries au sein des phagosomes (Nguyen et al., 2014). Ils interfèreraient dans le déroulement de la phagocytose en bloquant la fusion du phagosome au lysosome et ses enzymes digestives. Ceci constituerait un mécanisme d'échappement à la digestion par l'éponge hôte et donc de discrimination avec les bactéries de la colonne d'eau utilisées à des fins alimentaires (Nguyen et al., 2014). Un autre mécanisme proposé est l'antibiose où la communauté symbiotique serait sélectionnée par sa résistance aux métabolites secondaires, plus justement appelés aujourd'hui métabolites spécialisés, doués de propriétés antimicrobiennes produits par l'hôte (Taylor et al., 2007).

### 3- *Localisation des micro-organismes symbiontes*

La distribution des micro-organismes associés aux éponges suit une organisation générale. Les micro-organismes photosynthétiques comme les cyanobactéries sont majoritairement retrouvés dans l'ectoderme à proximité de la lumière (Figure 15-A). Les bactéries hétérotrophes et/ou autotrophes sont, quant à elles, hébergées au sein du mésohyle. Les symbiontes sont généralement retrouvés libres (endosymbiontes extracellulaires) (Figure 15-B) cependant chez certaines espèces d'éponges, comme *Petrosia ficiformis*, les bactéries sont regroupées au sein de cellules spécialisées appelées bactériocytes (Vacelet et Donadey, 1977 ; Wörheide, 1998) (Figure 16). Certains symbiontes ont également été mis en évidence au sein même des noyaux de cellules d'éponge (localisation intranucléaire Figure 15-D) comme chez *Aplysina aerophoba* (Vacelet et Donadey, 1977 ; Friedrich et al., 1999).

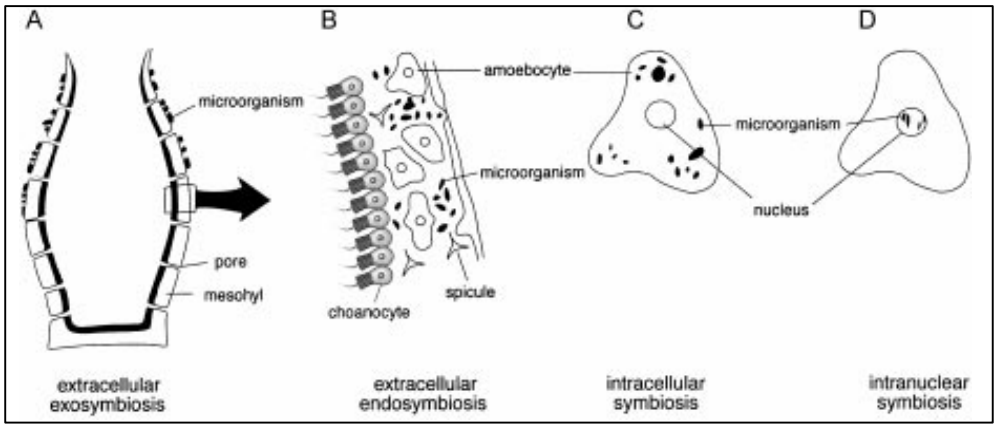



**Figure 15. Localisation des micro-organismes symbiontes au sein des Spongiaires (Lee et al., 2001).**

**Figure 16. Coupe transversale d'un bactériocyte chez *Petrosia ficiformis*. MET X 25.500 (Vacelet et Donadey, 1977).**

*4- Abondance des micro-organismes symbiontes: classification des éponges en deux grands groupes*

En 1977, des études microscopiques menées par Vacelet et Donadey mirent en évidence des différences d'abondances de micro-organismes symbiotiques en fonction des espèces d'éponges étudiées. Certaines espèces hébergent une importante concentration de micro-organismes dans leurs tissus (concentration microbienne> $10^8$ cellules.$g^{-1}$ correspondant à une concentration 2 à 4 fois supérieure à celle de l'eau de mer), la biomasse microbienne contribuant jusqu'à 35% de la biomasse de l'animal (Hentschel et al., 2012) (Figure 4). Ces éponges ont été nommées « bactériosponges » (Reiswig et al., 1981) et plus récemment « high microbial abundance sponges » ou « HMA » (Hentschel et al., 2003). Elles présentent un mésohyle dense et un système aquifère complexe composé de canaux inhalants longs et tortueux entrainant ainsi une vitesse de filtration lente et donc un contact long avec l'eau de mer (Vacelet et Donadey, 1977 ; Weisz et al., 2008 ; Schläppy et al., 2010). *Petrosia ficiformis* (Poiret, 1789), *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1847), *Agelas oroides* (Schmidt, 1864), ainsi que *Aplysina aerophoba* (Nardo, 1833) sont des exemples d'éponges méditerranéennes appartenant au groupe des éponges « HMA ».

D'autres espèces d'éponges, colonisant les mêmes milieux, hébergent quant à elles une plus faible concentration de micro-organismes dans leurs tissus (concentration microbienne $<10^6$ cellules.$g^{-1}$, approximativement égale à celle de l'eau de mer environnante) (Hentschel et al., 2003 ; Weisz et al., 2007 ; Kamke et al., 2010). Les observations microscopiques ont montré que le mésohyle de ces éponges est pour la majorité d'entre-elles dépourvu de micro-organismes (Vacelet et Donadey, 1977 ; Weisz et al., 2008 ; Kamke et al., 2010 ; Giles et al., 2013) (Figure 17). Elles ont été nommées « non-bactériosponges » (Reiswig, 1981) ou plus récemment « Low Microbial Abundance sponges » ou « LMA » (Hentschel et al., 2003). Ces éponges présentent un système aquifère simple et ainsi une vitesse de filtration plus élevée permettant une capture plus rapide et plus active de la matière organique particulaire présente dans la colonne d'eau (Vacelet et Donadey, 1977 ; Weisz et al., 2008 ; Schläppy et al., 2010). Par exemple, *Cliona viridis* (Schmidt, 1862), *Hemimycale columella* (Bowerbank, 1874), *Oscarella lobularis* (Schmidt, 1862) ainsi que *Crambe crambe* (Schmidt, 1862) sont des éponges méditerranéennes appartenant au groupe des éponges « LMA ».

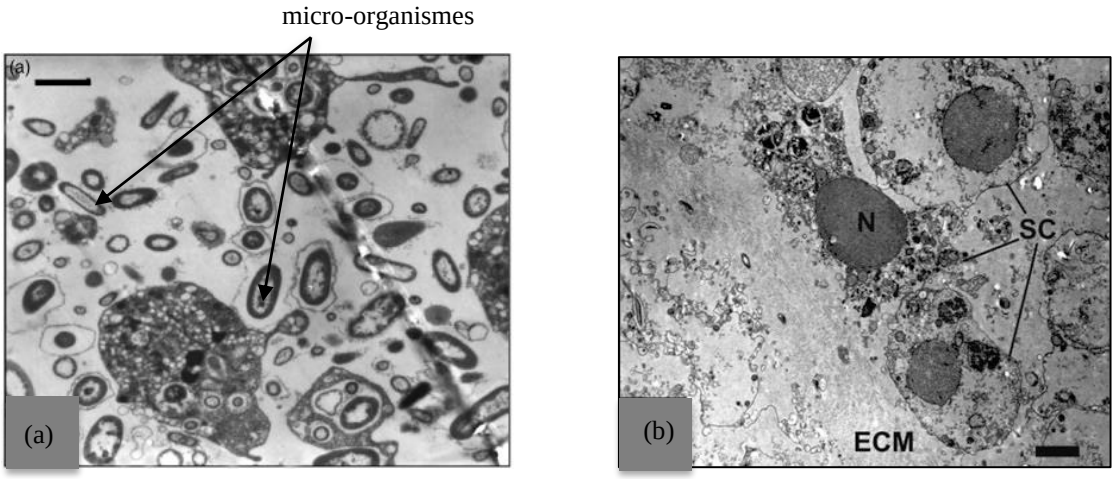



**Figure 17. Mésohyles de (a) *Xestospongia muta* (HMA) et (b) *Crella cyatophora* (LMA) (N : nuclei ; SC : Sponge Cell). MET- Barre 1,5 et 2 µm ((a) et (b) respectivement) ((a) Hentschel et al., 2006 (b) Giles et al., 2013).**

### *5- Intérêts de la symbiose*

De nombreuses fonctions ont été attribuées aux micro-organismes symbiotiques. Ils contribuent à la biologie et au maintien de l'homéostasie de l'hôte. Ils permettent l'incorporation directe de particules organiques dissoutes provenant de l'eau environnante (Wilkinson et Garrone, 1980) et contribuent à la rigidité structurale de l'éponge *via* la production de mucus bactérien (Wilkinson et al., 1981). Ils peuvent également protéger l'éponge hôte des rayons ultraviolets (Steindler et al., 2002) et participer à la détoxification et l'élimination des déchets produits par l'éponge elle-même (ex : transformation de l'ammonium en nitrite par des bactéries ammonio-oxydantes) (Wilkinson, 1978a ; Taylor et al., 2007 ; Hoffmann et al., 2009). Ils interviennent de plus dans la synthèse de métabolites spécialisés dont on a parfois montré l'implication dans le système de défense (contre des prédateurs, des micro-organismes pathogènes, ou encore l'épibiose), de communication ou encore de compétition pour l'espace (Bakus et al., 1986 ; Proksch, 1994 ; Unson et al., 1994 ; Bewley et al., 1996). Quant à l'éponge, elle confère aux symbiontes un habitat sûr, les protégeant notamment de la pression de broutage par des bactérivores et leur fournit également un apport important en nutriments. Les symbiontes bénéficient de l'ammonium excrétée par l'éponge mais également des carbohydrates et acides aminés produits lors de la digestion des particules alimentaires par l'éponge (Hentschel et al., 2006).

Une étude menée par Kamke et collaborateurs (2010) a montré l'activité *in situ* d'une large fraction de bactéries symbiotiques non cultivables associées aux éponges *Ancorina alata* (éponge classée « HMA ») et *Polymastia sp.* (éponge classée « LMA »), par comparaison des ADN16S et des ARNr16S extraits de celles-ci. L'activité des micro-organismes au sein des éponges est très probablement influencée par la biologie de l'hôte mais également par de nombreux facteurs environnementaux comme les changements de température, la salinité, ou

encore la luminosité (Kamke et al., 2010).

## B) Diversité des micro-organismes associés aux spongiaires

### *1- Spécificité des symbiontes: existence de clusters monophylétiques spécifiques aux éponges « Sponge Specific Clusters : SSC »*

En 2002, Hentschel et collaborateurs analysèrent l'ensemble des 190 séquences bactériennes (ARNr 16S) disponibles dans les banques de données. Ils mirent en évidence des groupes monophylétiques composés uniquement de séquences ARNr16S issues d'éponges de localisations géographiques distinctes. Ces groupes (14) nommés « Groupes spécifiques aux éponges » ou « SSC pour Sponge Specific Clusters » sont définis comme : « des groupes d'au minimum 3 séquences ARNr 16S (i) provenant de différentes espèces d'éponges ou d'éponges de localisations géographiques distinctes; (ii) ayant plus de similarité entre-elles qu'avec toutes autres séquences provenant d'autres sources; (iii) étant regroupées indépendamment de la technique utilisée pour la réalisation des arbres phylogénétiques (Hentschel et al., 2002 ) ». En 2007, près de 32% des séquences à la fois 16S et 18S disponibles (1694 séquences) y étaient affiliées (Taylor et al., 2007), et près de 27% en 2012 (Simister et al., 2012a). Les séquences composant ces « SSCs » correspondent pour la plus grande majorité à des micro-organismes symbiotiques des éponges classées « HMA » (Hentschel et al., 2006 ; Kamke et al., 2010 ; Giles et al., 2013). Parmi les Bactéries, les *Chloroflexi, Cyanobactéries*, "*Poribactéries*", *Bêtaprotéobactéries,* et *Acidobactéries* sont les phyla (et classe du phylum des *Protéobactéries* dans le cas des *bêtaprotéobactéries*) contenant le plus de SSCs (Simister et al., 2012a). Une étude réalisée par Webster et collaborateurs (2010), a révélé la présence de séquences affiliées à des « SSCs » dans des

échantillons d'eau de mer, suggérant que les bactéries dites spécifiques des éponges seraient en réalité également retrouvées à l'extérieur de leur hôte. Cette étude fut complétée par Taylor et collaborateurs (2013) qui étudièrent la composition microbienne présente dans divers sources (eau de mer, sédiment, coraux…). Douze millions de séquences ARNr16S disponibles furent analysées. De nombreux micro-organismes dont les séquences étaient affiliées aux « SSCs » ont été mis en évidence dans des sources autres que les éponges à des abondances extrêmement faibles, suggérant leur capacité de survie en dehors de leur hôte. Il a alors été proposé de renommer ces micro-organismes non plus «spécifiques des éponges » mais « enrichis au sein des éponges » (Moitinho-Silva et al., 2013). De plus des analyses de PCR quantitatives (méthode de réaction en chaîne par polymérase permettant de mesurer la quantité d'ADN d'un échantillon donné) menées sur ces micro-organismes « enrichis au sein des éponges » retrouvés en dehors de leur hôte montrèrent de faibles rapports transcrits/gène suggérant qu'elles seraient alors inactives (Moitinho-Silva et al., 2013).

### *2- Caractéristiques des communautés symbiotiques des Spongiaires*

**Communauté espèce spécifique ou « SSSC pour Sponge Species Specific Clusters »**

Schmitt et collaborateurs (2012b) étudièrent les communautés microbiennes associées à 32 éponges marines d'origines géographiques distinctes. Ces éponges partagent toutes un petit nombre d'OTUs (« Operational Taxonomic Units ») bactériennes communes, probablement acquises de l'environnement par transfert horizontal. La plus grande partie de la communauté microbienne associée à ces éponges (> 50% des OTUs) est composée de micro-organismes spécifiques de chaque espèce d'éponge (SSSCs) (Figure 18). Ces bactéries dites « espèces spécifiques » sont très probablement acquises par transfert vertical. Bien que chaque éponge étudiée présente une communauté microbienne qui lui est propre, tous ces micro-organismes SSSC sont néanmoins plus proches phylogénétiquement les uns des autres (Plus-OTUs,

Figure 18) qu'avec toute autre bactérie provenant d'une source différente telle que l'eau de mer environnante (Minus-OTUs, Figure 18). La communauté microbienne associée à une éponge est ainsi composée:

(i) d'un groupe de micro-organismes communs aux éponges, défini comme étant constitué d'OTUs partagées par plus de 70% des éponges analysées (<1% de la communauté microbienne totale (Reveillaud et al., 2014))

(ii) d'un groupe de micro-organismes variables, défini comme partagé par moins de 70% des éponges analysées mais plus de 2 espèces distinctes

(iii) d'un groupe « espèce spécifique » ou « SSSC » présent au sein d'une seule espèce d'éponge (ce groupe représente environ 30% de la communauté microbienne totale (Reveillaud et al., 2014)) .

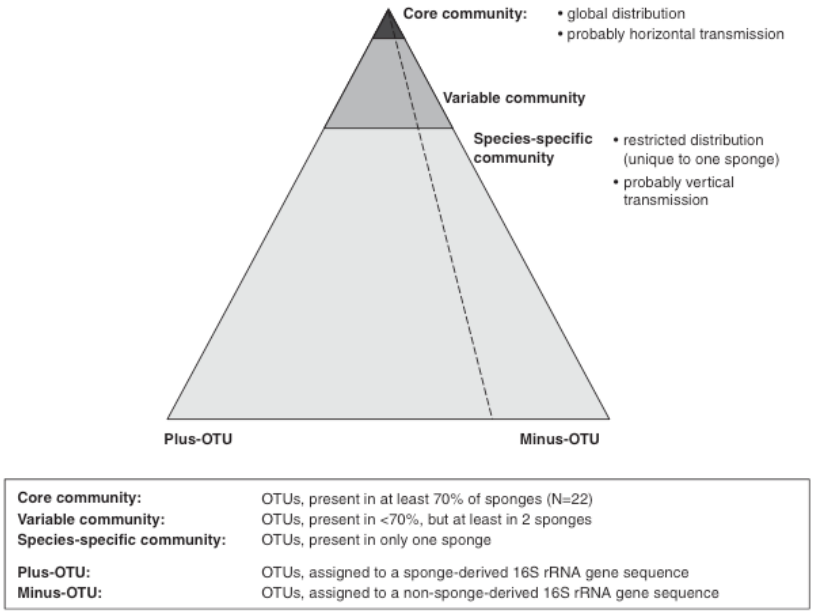



**Figure 18. Organisation de la communauté microbienne symbiotiques des Spongiaires (Schmitt et al., 2012b).**

**Communauté microbienne : indépendante de la phylogénie et de la localisation géographique des hôtes**

L'étude des communautés bactériennes associées à 32 éponges marines de localisations géographiques différentes et appartenant à 9 ordres distincts (Schmitt et al., 2012b) a révélé que les éponges tropicales partagent plus de similarité au sein de leurs symbiontes qu'avec des éponges subtropicales, cependant aucun profil géographique ou phylogénétique n'a été trouvé. Les espèces d'éponges appartenant au même ordre ne possèdent pas plus de similarité de leurs micro-organismes associés que des espèces d'ordres différents (Schmitt et al., 2012b). Il en a été de même pour l'étude menée par Webster et collaborateurs (2013) qui étudièrent les communautés bactériennes associées aux éponges marines de la Grande Barrière de Corail. Aucune corrélation entre la composition des communautés microbiennes et la phylogénie des hôtes ne fut observée suggérant que l'acquisition des micro-organismes symbiotiques serait effectuée à la fois par transfert vertical et horizontal (Webster et al., 2013). De plus la spécificité des micro-organismes symbiotiques à une espèce d'éponge donnée suggère la coévolution hôtes-micro-organismes. La coévolution des partenaires de ces symbioses a été démontrée par plusieurs auteurs (Erpenbeck et al., 2002 ; Thacker et Starnes, 2003 ; Fan et al., 2012).

Cependant des éponges phylogénétiquement plus proches et appartenant au même genre semblent avoir des communautés symbiotiques relativement similaires (Taylor et al., 2007 ; Erwin et al., 2012). Par exemple, deux espèces du genre *Xestospongia* provenant de deux océans distincts partagent certaines bactéries symbiotiques (Montalvo et Hill, 2011).

Ainsi, la communauté microbienne hébergée par une éponge est spécifique de l'hôte, indépendante à la fois de sa phylogénie à haut niveau taxonomique (i.e. Ordre) mais aussi de

sa localisation géographique (Santavy et al., 1990 ; Hentschel et al., 2002 ; Taylor et al., 2004b ; Schmitt et al., 2012b ; Webster et al., 2013). Il a été suggéré que cette communauté serait stable au cours du temps (Taylor et al., 2004b ; Erwin et al., 2012).

### *3- Distribution phylogénétique des bactéries associées aux éponges*

**Diversité des symbiontes bactériens**

Plus de 47 phyla et « phyla candidats » bactériens ont été identifiés au sein des tissus d'éponges, *via* des techniques à la fois moléculaires et/ ou culture dépendante (Webster et al., 2010 ; Schmitt et al., 2012b; Hentschel et al., 2012 ; Reveillaud et al., 2014). Les phyla bactériens les plus représentés sont : les *Protéobactéries*, *Chloroflexi, Acidobactéries, Actinobactéries, Nitrospirae,* et le phylum candidat "*Poribactérie*" (Taylor et al., 2007 ; Schmitt et al., 2012b ; Hentschel et al., 2012) (Figure 19).

Le phylum candidat des "*Poribactéries*" exclusivement retrouvé chez les spongiaires a été proposé par Fieseler et collaborateurs (2004). Les membres de ce phylum présentant moins de 75% d'homologie avec les phyla bactériens les plus proches *(Planctomycètes, Verrucomicrobia,* et *Chlamydia),* il a été proposé comme phylum candidat et nommé ainsi pour marquer son affiliation aux éponges. Le rôle de ces bactéries est encore mal déterminé mais elles interviendraient, entre autres, dans la fixation du carbone et la synthèse de la vitamine B12 (cobalamine) (Siegl et al., 2011).

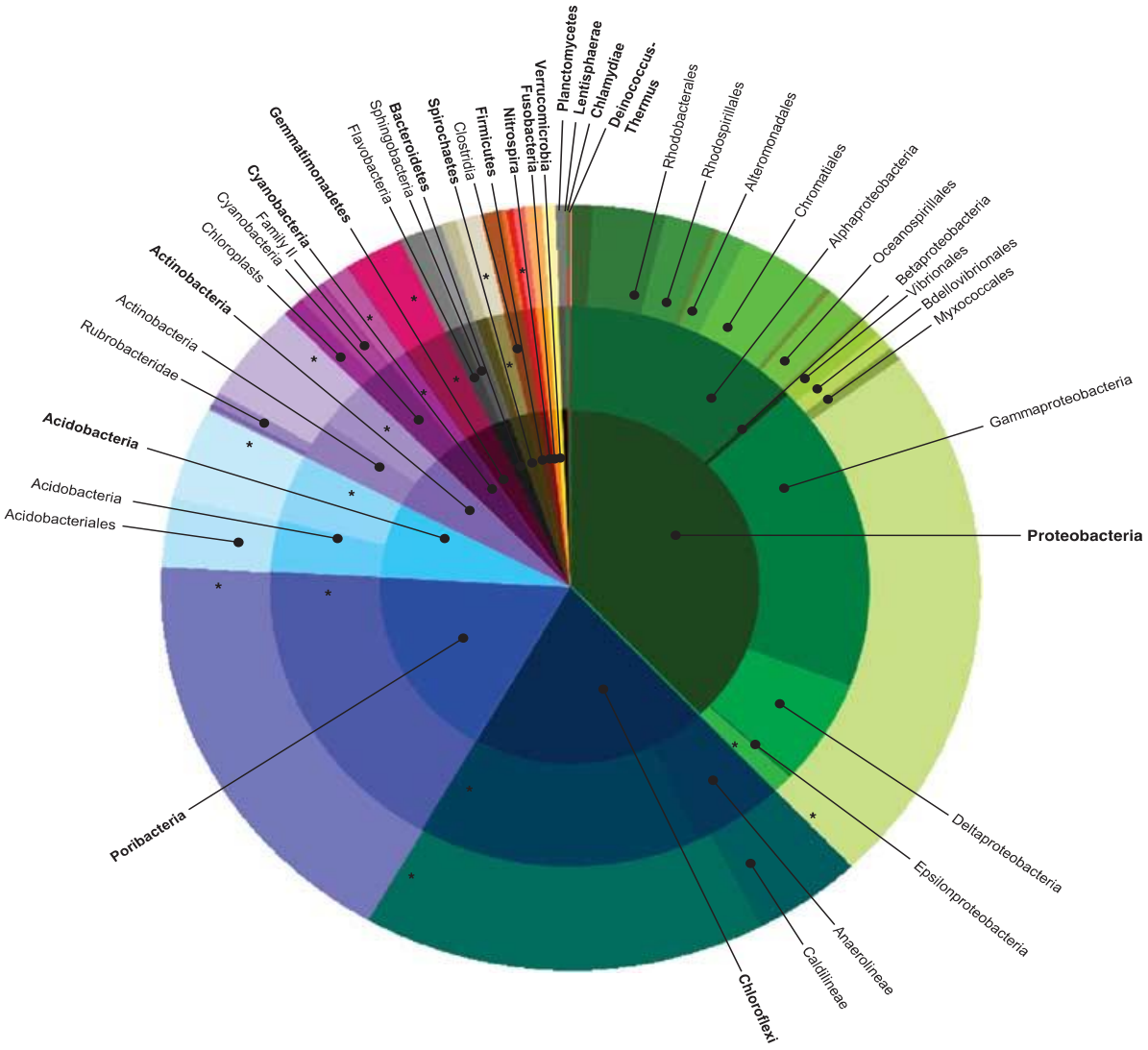



**Figure 19. Diversité bactérienne associée à 32 espèces d'éponges de localisation géographique distincte à travers le monde (données de pyroséquençage-454 ARNr16S). Distribution phylogénétique à 97% d'identité, phylum (cercle intérieur), classe (cercle du milieu), et ordre (cercle extérieur). (Schmitt et al., 2012b).**

**Caractéristiques des communautés symbiotiques des éponges « HMA » et des éponges « LMA »**

Les éponges « HMA » et « LMA » différent non seulement par l'abondance des micro-organismes associés à leurs tissus mais également par la diversité et la composition phylogénétique de ces symbiontes.

Les communautés bactériennes associées aux éponges « HMA » sont dans la plupart des cas diversifiées, spécifiques, et distinctes de celles de la colonne d'eau contrairement à celles des éponges « LMA », faiblement diversifiées et longtemps décrites comme similaires à celles de la colonne d'eau (Weisz et al., 2008 ; Kamke et al., 2010 ; Erwin et al., 2011 ; Gloeckner et al., 2013 ; Giles et al., 2013). Cependant, il a récemment été démontré que les éponges « LMA » hébergeraient des micro-organismes symbiotiques spécifiques et distincts de ceux retrouvés au sein de l'environnement avec néanmoins une faible diversité (Blanquer et al., 2013 ; Croué et al., 2013 ; Mointinho-Silva et al., 2013).

Les éponges « HMA » et « LMA » présentent des spécificités relatives à la phylogénie de leurs micro-organismes symbiotiques. Les phyla des « *Poribactéries* » et des *Chloroflexi* sont majoritairement mis en évidence au sein des éponges « HMA » (Hochmuth et al., 2010 ; Schmitt et al., 2012a ; Blanquer et al., 2013). Quant aux éponges « LMA », leurs communautés de micro-organismes associés sont généralement composées d'une OTU majoritaire affiliée le plus souvent aux *Cyanobactéries* ou à une classe des *Protéobactéries* (Kamke et al., 2010 ; Erwin et al., 2011 ; Croué et al., 2013 ; Giles et al., 2013 ; Mointinho-Silva et al., 2013).

## C) Les Spongiaires et leurs micro-organismes: réservoir de substances naturelles bioactives

### *1- Micro-organismes associés aux Spongiaires : véritable source de métabolites bioactifs*

Il est de plus en plus accepté que les micro-organismes associés aux éponges seraient les véritables sources de nombreux métabolites extraits de ces invertébrés marins (des exemples sont donnés dans le Tableau 2, page 46, de Lee et al. 2001). Les phyla bactériens reconnus comme étant les plus producteurs de métabolites spécialisés bioactifs chez les spongiaires sont les Protéobactéries, les Firmicutes, les Actinobactéries, et les Cyanobactéries (Thomas et al., 2010b).

Les études attribuant la biosynthèse des métabolites secondaires bioactifs extraits des éponges marines aux bactéries associées sont de plus en plus nombreuses (Bewley et Faulkner, 1998 ; Lee et al., 2001 ; Proksch et al., 2002 ; Taylor et al., 2007). Pour exemple, la synthèse de l'alcaloïde tetracyclique cytotoxique Alteramide A isolé de l'éponge *Halichondria okadai* a été attribuée à la bactérie *Alteromonas sp.* (Shigemori et al., 1992), celle des antibiotiques polybromés isolés de l'éponge *Dysidea herbacea* à des cyanobactéries filamenteuses endosymbiotiques appartenant à l'espèce *Oscillatoria spongeliae* (Unson et Faulkner, 1993 ; Unson et al., 1994), ou bien encore celle des métabolites antitumoraux onnamide et théopédérine à un micro-organisme associé à l'éponge *Theonella swinhoei* (Bewley et al., 1996 ; Piel et al., 2004b). Le Tableau 2 regroupe des exemples de micro-organismes symbiotiques d'éponges marines reconnus comme étant la véritable source des métabolites spécialisés extraits des éponges hôtes.

**Tableau 2.** Eponges et leur micro-organismes associés sources de produits naturels bioactifs (Lee et al., 2001).

| Sponge | Symbiotic microorganism[a] | Natural product[b] | Reference |
|---|---|---|---|
| *Aciculites orientalis* | Filamentous bacteria | Theonegramide | 7 |
| Antarctic sponge | B, *Pseudomonas aeruginosa* | NC | 54 |
| *Aplysina* sp. | B, *Arthrobacter* sp. | NC | 46 |
| *Aplysina* sp. | B, *Bacillus* sp. | NC | 46 |
| *Aplysina* sp. | B, *Micrococcus* sp. | NC | 46 |
| *Aplysina* sp. | B, *Pseudoalteromonas* sp. | NC | 46 |
| *Aplysina* sp. | B, *Vibrio* sp. | NC | 46 |
| *Cenarchaeum symbiosum* | Archeon | NC | 88 |
| *Dysidea herbacea* | Cyanobacterium | Chlorinated metabolites | 115 |
| *Dysidea herbacea* | C, *Oscillatoria spongeliae* | Polybrominated biphenyl ethers | 30 |
| *Dysidea* sp. | B, *Vibrio* sp. | Brominated biphenyl ethers | 24 |
| *Halichondria okadai* | B, *Alteromonas* sp. | Alteramide A | 103 |
| *Halichondria okadai* | D, *Prorocentrum lima* | Okadaic acid | 63 |
| *Halichondria panicea* | B, *Antarcticum vesiculatum* | Neuroactive compounds | 86 |
| *Halichondria panicea* | B, *Pseudomonas insolita* | NC | 80 |
| *Halichondria panicea* | B, *Rhodobacter* sp. | NC | 1 |
| *Halichondria panicea* | B, *Psychroserpens burtonensis* | Neuroactive compounds | 86 |
| *Homophymia* sp. | B, *Pseudomonas* sp. | Antimicrobial compounds | 10 |
| *Hyatella* sp. | B, *Vibrio* sp. | NC | 82 |
| *Rhopaloeides odorabile* | B, ! -*Proteobacteria* | NC | 122 |
| *Rhopaloeides odorabile* | B, "-*Proteobacteria* | NC | 122 |
| *Rhopaloeides odorabile* | A, *Actinobacteria* sp. | NC | 122 |
| *Rhopaloeides odorabile* | B, *Cytophaga* sp. | NC | 122 |
| *Rhopaloeides odorabile* | Green sulfur bacteria | NC | 122 |
| *Sigmadocia symbiotica* | R, *Ceratodictyon spongiosum* | NC | 89 |
| *Suberea creba* | B, *Pseudomonas* sp. | NC | 22 |
| *Suberea creba* | B, *Pseudomonas* sp. | Quinolones | 22 |
| *Tedania ignis* | B, *Micrococcus* sp. | Diketopiperazines | 107 |
| *Theonella swinhoei* | B, #-*Proteobacteria* | NC | 97 |
| *Theonella swinhoei* | C, *Aphanocapsa feldmanni* | NC | 7 |
| *Theonella swinhoei* | Filamentous bacteria | Theopalauamide | 97 |
| *Theonella swinhoei* | Unicellular bacteria | Swinholide A | 6 |
| *Unidentified sponge* | A, *Streptomyces* sp. | Urauchimycins A and B | 51 |
| *Verongia* sp. | B, *Aeromonas* sp. | NC | 117 |
| *Verongia* sp. | B, *Pseudomonas* sp. | NC | 117 |
| *Xestospongia* sp. | B, *Micrococcus luteus* | Antimicrobial compounds | 9 |

[a]A, actinomycete; B, Bacteria; C, Cyanobacteria; D, Dinoflagellate; R, Red algae.
[b]NC: It was not checked.

L'implication des micro-organismes symbiotiques des éponges dans la biosynthèse de ces composés d'intérêts est proposée:

- lorsque une éponge donnée produits différentes classes chimiques de métabolites,
- lorsque différentes espèces d'éponges contiennent les mêmes métabolites spécialisés (Unson et al., 1994 ; Hentschel et al., 2001). Les Halichondrines, macrolides

cytotoxiques ont été isolées de plusieurs éponges de zones géographiques distinctes : *Halichondria okadai* (Hirata et Uemura, 1986), *Axinella* spp., *Phakiella carteri*, *Raspailia agminata*, et *Lissodendoryx* sp. (Hart et al., 2000) laissant alors supposer une origine microbienne pour ces composés,

- lorsque la structure chimique de ces molécules est similaire à celle des molécules produites par des micro-organismes libres (Unson et al., 1994 ; Hentschel et al., 2001 ; Piel, 2009). C'est le cas pour les polycétides (Bode et Müller, 2005), famille de produits naturels issus de la condensation de monomères d'acyl-CoA tels que l'acétyl-CoA et le propionyl-CoA, avec des unités de malonyl-CoA ou de méthylmalonyl-CoA. Leur nom provient du fait que ces composés présentent des groupements fonctionnels β-cétoniques. Les polycétides sont majoritairement synthétisés par les bactéries, champignons et plantes. Ils possèdent une très large gamme d'activités pharmacologiques ce sont notamment des antimicrobiens, des antifongiques, des antiparasitaires ou encore des anti-tumoraux. Beaucoup de médicaments sont synthétisés à partir de polycétides, comme les antibiotiques tétracycline et érythromycine, ou encore des médicaments anticancéreux comme la doxorubicine.

Cependant, il est dans la majorité des cas, très difficile d'affirmer l'implication d'un/de micro-organisme(s) associe(s) a une éponge dans la biosynthèse d'un ou plusieurs métabolites secondaires extraits de cette dernière. Différentes techniques peuvent être utilisées, directes par isolement et culture du/des micro-organisme(s) symbiotique(s) potentiellement producteur(s) ou bien indirectes par : séparation des différents types cellulaires constitutifs des éponges (par gradient chimique) et localisation des métabolites

secondaires par analyse chimique des différentes fractions obtenues (Unson et al., 1994 ; Bewley et al., 1996 ; Faulkner et al., 1999 ; Roué et al., 2010) ; ou bien, par analyse du métagénome des micro-organismes symbiotiques afin de rechercher les gènes potentiellement impliqués dans la synthèse de métabolites secondaires (Piel et al., 2004a ; Fieseler et al., 2006).

### *2- Culture des microorganismes symbiotiques potentiellement source de principe actif*

L'isolement et la culture sur milieu artificiel du/des micro-organisme(s) potentiellement producteur du/des métabolite(s) spécialisé(s) est la façon la plus directe d'avoir un accès à une plus importante concentration de principe actif permettant la mise en place des essais précliniques, cliniques ainsi qu'une possible commercialisation de ce composé. En effet, lorsque la synthèse chimique n'est pas envisageable, l'isolement et la culture du/des micro-organisme(s) cible(s) au sein de fermenteurs peuvent permettre une production rapide, constante et à grande échelle des métabolites bioactifs.

Néanmoins, peu d'études rapportent l'isolement de micro-organismes symbiontes responsables de la production de métabolites secondaires extraits des tissus de leurs éponges hôtes. Il est noté l'isolement d'un *Micococcus sp.* à partir des tissus de l'éponge *Tedania ignis* produisant des dicétopipérazines (Stierle et al., 1988) ; d'un *Vibrio sp.* à partir des tissus de l'éponge *Dysidea sp.* produisant des bromodiphenylethers (Elyakov et al., 1991 ; Lee et al., 2001) ; ou encore d'une actinobactérie *Micromonospora sp.* des tissus de l'éponge *Haliclona sp.* (Hill et al., 2004) produisant la manzamine A, alcaloïde à l'activité anti-tumorale (Sakai et al., 1986) et antimalarique (Ang et al., 2000).

Les techniques de culture standard sont souvent peu adaptées à l'étude de la diversité bactérienne marine. En effet, moins de 1% des bactéries marines observées par marquage direct dans un échantillon d'eau de mer sont cultivables par des méthodes classiques et les bactéries associées aux éponges ne sont pas des exceptions avec moins de 14% de la diversité bactérienne totale qui sont cultivables sur ces milieux de culture (Santavy et al., 1990 ; Friedrich et al., 2001 ; Webster et al., 2001b ; Sipkema et al., 2011 ; Schippers et al., 2012). La plupart des études de culture utilise des milieux développés pour l'isolement de bactéries aérobies planctoniques. Cependant le micro-environnement du mésohyle, où sont majoritairement localisées les bactéries associées à ces éponges est significativement différent de l'environnement naturel dans lequel vivent ces invertébrés (Sipkema et al., 2011). Cela rend ces milieux peu adaptés à l'isolement des bactéries endosymbiotiques. Par exemple, par la présence de sidérophores (chélateurs de fer sécrétés notamment par les micro-organismes), les concentrations en fer sont plus importantes au sein du mésohyle que dans l'eau de mer environnante (Guan et al., 2000). Les éponges comme de nombreux autres invertébrés marins produisent également de l'ammonium (comme déchets de leur métabolisme), induisant une plus forte concentration de cet ion au sein de leurs tissus (Brusca et Brusca, 1990). Des conditions anoxiques sont également retrouvées au sein du mésohyle lorsque l'éponge cesse de filtrer l'eau de mer environnante (Hoffmann et al., 2005 ; Hoffmann et al., 2008). Des lectines, protéines intervenant dans le processus de réagrégation cellulaire (Müller et al., 1979) et dans l'établissement et le maintien de la symbiose entre l'éponge et les bactéries sont présentes au sein des tissus d'éponge (Müller et al., 1981) ; ainsi que des acyles homosérines lactones (Taylor et al., 2004a), « molécules signales » impliquées dans la communication inter-bactérienne (Fuqua et al., 2001) et dans la colonisation de nombreux macro-organismes.

Il est ainsi possible d'augmenter la cultivabilité de nombreuses souches bactériennes présentes au sein des éponges par la mise en place de techniques sélectives mimant la

composition et les conditions *in vivo* retrouvées au sein du mésohyle. Pour exemple, l'utilisation de milieux supplémentés en extraits d'éponges, en acyles homosérines lactones (Sipkema et al., 2011), ainsi que des conditions d'incubation micro-aérophiles ou anaérobiques (Lavy et al., 2014) ont permis une augmentation du nombre d'isolats bactériens obtenus à partir des tissus d'éponge. Il a également été montré que l'isolement de micro-organismes associés aux spongiaires était favorisé lors de l'utilisation de milieux de culture oligotrophes (Muscholl-Silberhorn et al., 2008). Récemment, l'utilisation d'une chambre de diffusion placée au sein du mésohyle de *Rhobdastrella globostella* a elle aussi permis l'isolement de souches difficilement cultivables (Steinert et al., 2014).

Cependant, malgré l'augmentation de la cultivabilité des micro-organismes associés aux éponges et l'isolement du possible producteur des molécules bioactives, les conditions dans lesquelles les micro-organismes produisent leurs métabolites sont variables et ne peuvent garantir le maintien de la production du métabolite cible lorsque le micro-organisme est isolé de son hôte en milieu pur et en absence des signaux environnementaux requis pour sa production (Uria & Piel, 2009).

Néanmoins, l'augmentation de la cutlurabilité des micro-organismes symbiontes permet l'accès à une diversité microbienne toujours plus importante et par la même à une plus grande chimiodiversité disponible (Hill, 2004).

### *3 -La Métagénomique et le « Single Cell Genomic »*

Actuellement, du fait de la difficulté de culture des micro-organismes, environ 70% de l'ensemble des phyla bactériens connus ne possèdent pas de représentant cultivé (Achtman et

Wagner, 2008). Ainsi, de plus en plus de techniques indépendantes de la culture, telle que la métagénomique, sont utilisées afin d'étudier la diversité des micro-organismes d'un échantillon donné mais également afin de déterminer les mécanismes d'action de ces derniers. La métagénomique est l'étude des métagénomes par méthode bio-informatique. Un métagénome est l'ensemble des séquences ADN ou ARN extraites d'un échantillon environnemental complexe, composé de plusieurs espèces. Cette technique pourrait offrir la possibilité de production constante et à grande échelle d'un métabolite bioactif donné provenant de micro-organismes même non cultivables. En effet, si les gènes de biosynthèse sont clonés avec succès et exprimés au sein d'un micro-organisme cultivable tel que *Escherichia coli*, cela permettrait une production illimitée de ce métabolite spécifique. Ceci s'appelle le criblage fonctionnel métagénomique, technique complémentaire de la métagénomique par séquençage direct. Cela consiste à exprimer des fragments d'ADN inconnus extraits de l'ADN total d'un échantillon donné, au sein d'un vecteur hôte facilement cultivable en laboratoire généralement *Escherichia coli*, qui possède une efficacité de transformation exceptionnellement élevée (Butzke & Piel, 2006 ; Haygood et al., 1999).

Bien que cela puisse paraître simple, il n'en est rien. En effet, les métabolites bioactifs extraits des éponges présentent généralement une structure particulièrement complexe et par la même des voies de biosynthèse complexes, faisant intervenir un nombre important de gènes, et chacun d'eux devra être identifié. Le premier travail employant cette stratégie avec des éponges marines, date de 2004, et fut réalisé par Piel et collègues (2004a et b). Ils isolèrent et identifièrent des groupes de gènes PKS (polyketide synthase) et NRPS (Nonribosomal peptide synthesis) d'un métagénome complexe provenant de l'éponge marine *Theonella swinhoei. Theonella swinhoei* est la source de deux métabolites spécialisés aux propriétés anti-tumorales appartenant aux polycétides: les onnamides (Sakemi et al., 1988) et theopederines (Fusetani et

al., 1992). L'ADN total fut extrait puis cloné et la librairie de clones ainsi obtenue screener à l'aide d'amorces PCR spécifiques. Par cette technique, ils isolèrent des groupes de gènes PKS et NRPS impliqués dans la biosynthèse d'une large partie de la structure polycétidique de la molécule onnamide correlée à l'activité anticancéreuse de ce composé. Du fait de l'absence d'intron, de codon stop et de la présence de séquences de Shine-Dalgarno (séquence nucléotidique présente sur les ARN messagers des bactéries), ils en déduirent que ces gènes proviennent d'un micro-organisme non cultivable symbiotique de *T. swinhoei*. Il s'agit de la première démonstration de l'implication des micro-organismes associés aux éponges marines dans la biosynthèse des composés isolés de ces dernières (Piel et al., 2004b).

Une limite à l'utilisation de la métagénomique est, qu'il est rarement possible de relier la fonction du/des gène(s) cloné(s) à sa phylogénie. En effet les clones présentant à la fois un gène de biosynthèse et un marqueur phylogénétique sont quasi inexistants au sein des banques de clones.

Afin de résoudre ce dilemme, le « single cell genomic » (SCG) peut être proposé. Le SCG est un outil utilisé dans l'étude des génomes des micro-organismes non cultivables et notamment ceux des symbiontes d'éponges (Siegl et al., 2011 ; Kamke et al., 2012, 2013, 2014). L'obtention d'une cellule individualisée est la première étape de cette technique (Kamke et al., 2012), ainsi le tri cellulaire à l'aide d'un cytométre de flux avec triage de sous populations (FACS) par exemple, est nécessaire afin d'isoler une cellule unique. Cette technique permet de relier l'identité phylogénétique à la fonction du micro-organisme cible sans qu'il ne soit nécessaire de le cultiver (Swan et al., 2011). Elle a ainsi permis d'augmenter les connaissances sur le(s) rôle(s) de ces micro-organismes symbiotiques au sein de leur hôte et notamment ceux des Poribactéries, micro-organismes spécifiques des éponges (Fieseler et al., 2004 ; Lafi et al., 2009). Il a récemment été montré par « single cell genomic », que les

Poribactéries ne seraient pas membres du superphylum Planctomyces-Verrucomicrobia-Chlamydia mais qu'elles constitueraient un phylum monophylétique distinct (Kamke et al., 2014) ; et qu'elles posséderaient divers rôles  au sein de l'éponge hôte (Siegl et al., 2011 ; Kamke et al., 2013 ; Kamke et al., 2014). Ainsi le «single cell genomic » représente un outil prometteur pour obtenir des informations sur le rôle des micro-organismes non cultivables symbiotiques des éponges par exemple.

# Chapitre IV. Conclusion

Les éponges, animaux les plus primitifs apparus au Précambrien, représentent aujourd'hui les invertébrés marins les plus étudiés dans la recherche de nouveaux composés bioactifs pouvant être utilisés à des fins de thérapeutiques humaines, comme en témoigne l'augmentation constante du nombre de publications scientifiques portant sur ces organismes de 1975 à nos jours (Figure 20).

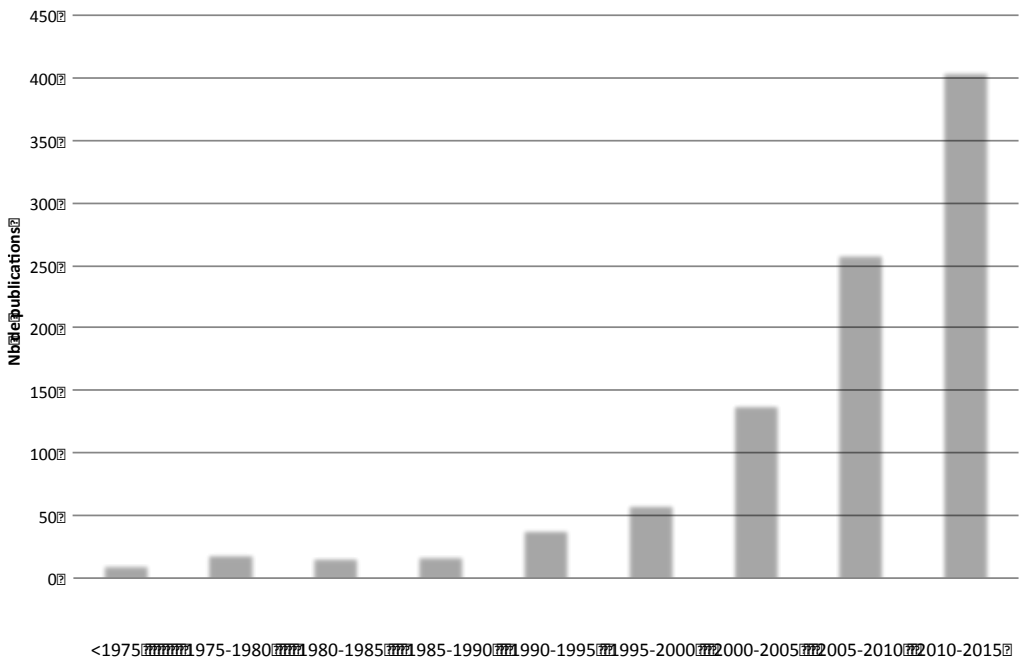



**Figure 20 : Nombre de publications de 1975 à 2015 – ISI Web of Knwoledge recherche**

**(TITLE: ((sponge* or porifera* or demosponge* or sclerosponge* or hexactinellide*) AND (bacteria* or prokaryote* or microbe* or microorganism* or cyanobacteri* or archaeon or archaea* or crenarchaeo* or fung* or diatom* or dinoflagellate* or zooxanthella*) NOT (surgery* or surgical*))**

Cependant, l'augmentation constante de métabolites bioactifs isolés à partir des éponges marines (tels que des terpènes, des alcaloïdes, des peptides, ou encore des polycétides…) n'est pas corrélée à l'augmentation du nombre de composés commercialisés issus de ces dernières.

Actuellement, seuls trois ont été approuvés par la FDA et ont obtenu l'autorisation de mise sur le marché, Cytosar-U® et Halaven ® tous deux anticancéreux et Vira-A® antiviral.

Différentes approches sont disponibles afin d'accéder aux métabolites bioactifs synthétisés par les éponges et/ou leurs micro-organismes associés (Figure 21). Cependant chacune d'entres elles présente des inconvénients. En effet, la complexité structurale ainsi que la faible concentration de ces derniers au sein des tissus des éponges rendent difficile tant d'un point de vue économique que quantitatif, l'approvisionnement en métabolites bioactifs.

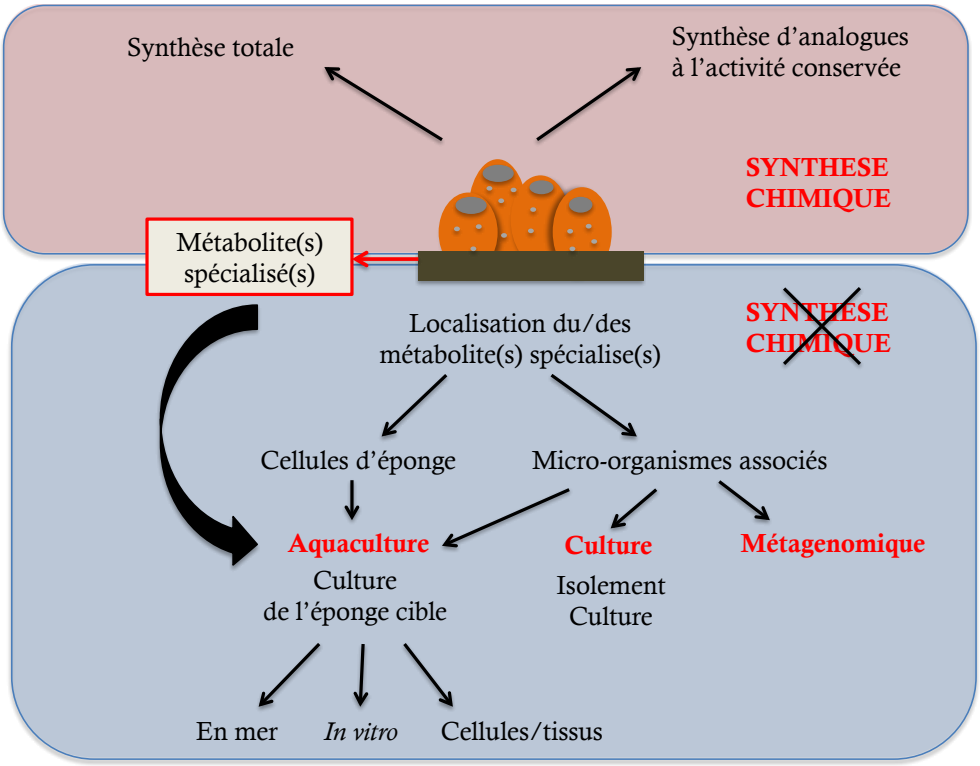



**Figure 21 : Approches pour l'obtention de métabolites bioactifs d'éponges marines.**

Les recherches actuelles se tournent de plus en plus vers l'étude des micro-organismes associés aux éponges marines, leurs diversités, leurs rôles au sein des symbioses mais aussi et surtout leurs potentielles implications dans la synthèse de métabolites bioactifs isolés d'éponges

marines. De part la structure de certains métabolites, l'implication de ces derniers dans leur synthèse est de plus en plus proposée. La perspective d'isolement d'un micro-organisme producteur d'un métabolite cible, permettrait l'éventuelle culture de ce dernier au sein de bioréacteurs et ainsi un approvisionnement constant et à moindre coût des métabolites produits. De ce fait, de plus en plus de groupes scientifiques, étudient les différentes techniques de culture possibles afin d'augmenter la cultivabilité de ces micro-organismes symbiotiques. Cependant malgré leurs efforts, moins de 14% des micro-organismes associés aux éponges sont actuellement cultivables. C'est pour cela que nous assistons aujourd'hui à un véritable essor des techniques moléculaires indépendantes de l'isolement et la culture du/des micro-organismes cibles, telles que la métagénomique ou encore le single-cell génomique. Ces techniques moléculaires permettent chaque jour de mieux comprendre le rôle de ces micro-organismes au sein de leurs hôtes mais également d'étudier les possibles gènes impliqués dans la biosynthèse de ces composés et ainsi d'appréhender leur synthèse chimique mais également, d'exprimer ces gènes producteurs au sein de micro-organismes cultivables. De plus en plus de projets, combinent les efforts de biologistes, microbiologistes, chimistes, zoologistes,… ce recoupement de techniques et de connaissances permet de faire progresser chaque jour la recherche et les possibilités d'approvisionnement à plus grande échelle de ces composés à fort avenir thérapeutique. L'exploitation des éponges marines et de leurs micro-organimes associés est aujourd'hui plus que prometteuse et pourrait devenir rapidement une filière importante des activités associées à la santé et la recherche médicale. Comment mieux illustrer ceci quant citant une toute récente étude rapportant l'isolement à partir d'un extrait de l'éponge marine *Stelletta sp.* de deux depsipeptides inhibiteurs du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), stellettapeptins A et B. Ces deux composés présentent une structure proche des peptides non ribosomaux (NRPS) majoritairement produits par des micro-organimes, laissant ainsi suggérer la possible implication de ces derniers dans leurs biosynthèses (Jae Shin et al., 2015).

# Références bibliographiques

## A


Achtman, M., & Wagner, M. (2008). Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nature Reviews Microbiology, 6*(6), 431-440.

Allemand, D. (2009). Les médicaments de la mer. *La Gazette de Monaco, n423*, p32.

Ang, K. K. H., Holmes, M. J., Higa, T., Hamann, M. T., & Kara, U. A. K. (2000). In Vivo Antimalarial Activity of the Beta-Carboline Alkaloid Manzamine A. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *44*(6), 1645‑1649. doi:10.1128/AAC.44.6.1645-1649.2000

Aoki, S., Kong, D., Matsui, K., & Kobayashi, M. (2004). Erythroid Differentiation in K562 Chronic Myelogenous Cells Induced by Crambescidin 800, a Pentacyclic Guanidine Alkaloid. *Anticancer Research*, *24(4)*, 2325‑2330.


## B


Bakus, G. J., Targett, N. M., & Schulte, B. (1986). Chemical ecology of marine organisms: An overview. *Journal of Chemical Ecology*, *12*(5), 951‑987. doi:10.1007/BF01638991

Banaigs B. & Kornprobst J-M. (2007). La biodiversité marine et le médicament*:* espoirs, réalités et contraintes. *L'Actualité Chimique,* 7-13.

Becerro, M. A., Lopez, N. I., Turon, X., & Uriz, M. J. (1994). Antimicrobial activity and surface bacterial film in marine sponges. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *179*(2), 195‑205. doi:10.1016/0022-0981(94)90114-7

Belarbi, E. H., Contreras Gómez, A., Chisti, Y., Garcıa Camacho, F., & Molina Grima, E. (2003). Producing drugs from marine sponges. *Biotechnology Advances*, *21*(7), 585‑598. doi:10.1016/S0734-9750(03)00100-9

Bergmann, W., & Feeney, R. J. (1950). The isolation of a new thymine pentoside from sponges. *Journal of the American Chemical Society*, *72*(6), 2809‑2810. doi:10.1021/ja01162a543

Bergmann, W., & Feeney, R. J. (1951). Contributions to the study of marine products. 32. The nucleosides of sponges. *Journal of Organic Chemistry, 16(6)*, 981-987. doi : 10.1021/jo01146a023

Bergquist, P. R. (1978). *Sponges*. UC Press, Berkeley.

Bergquist, P. R. (2001). "Porifera (Sponges)". *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.1038/npg.els.0001582

Berlinck, R. G. S., Braekman, J. C., Daloze, D., Bruno, I., Riccio, R., Ferri, S., … Speroni, E. (1993). Polycyclic Guanidine Alkaloids from the Marine Sponge Crambe crambe and

Ca++ Channel Blocker Activity of Crambescidin 816. *Journal of Natural Products*, *56*(7), 1007‐1015. doi:10.1021/np50097a004

Bewley, C. A., & Faulkner, D. J. (1998). Lithistid Sponges: Star Performers or Hosts to the Stars. *Angewandte Chemie International Edition*, *37*(16), 2162‐2178. doi:10.1002/(SICI)1521-3773(19980904)37:16<2162::AID-ANIE2162>3.0.CO;2-2

Bewley, C. A., Holland, N. D., & Faulkner, D. J. (1996). Two classes of metabolites from *Theonella swinhoei* are localized in distinct populations of bacterial symbionts. *Experientia*, *52*(7), 716‐722. doi:10.1007/BF01925581

Blanquer, A., Uriz, M. J., & Galand, P. E. (2013). Removing environmental sources of variation to gain insight on symbionts vs. transient microbes in high and low microbial abundance sponges. *Environmental Microbiology*, *15*(11), 3008‐3019. doi:10.1111/1462-2920.12261

Blunt, J. W., Copp, B. R., Keyzers, R. A., Munro, M. H. G., & Prinsep, M. R. (2012). Marine natural products. *Natural Product Reports*, *29*(2), 144‐222. doi:10.1039/C2NP00090C

Bode, H. B., & Müller, R. (2005). The Impact of Bacterial Genomics on Natural Product Research. *Angewandte Chemie International Edition*, *44*(42), 6828‐6846. doi:10.1002/anie.200501080

Bourguet-Kondracki, M.-L., Longeon, A., Debitus, C., & Guyot, M. (2000). New cytotoxic isomalabaricane-type sesterterpenes from the New Caledonian marine sponge Rhabdastrella globostellata. *Tetrahedron Letters*, *41*(17), 3087-3090. doi:10.1016/S0040-4039(00)00345-2

Bruhn, J. G., Holmstedt, B. (1981). Ethnopharmacology: objectives, principles and perspectives. *Natural Products as Medicinal Agents.Beal,J. L.,Reinhard,E.(eds.).HippokratesVerl.,Stuttgart*, 405–430

Brusca R. C., and Brusca G. J. (1990). Invertebrates. Sinaeur Associated, Inc., Publishers.

Butzke, D., & J. Piel. (2006). Genomic and metagenomic strategies to identify biosynthetic gene clusters in uncultivated symbionts of marine invertebrates, p. 327–355. *In* P. Proksch and W. E. G. Mueller (ed.), Frontiers in marine biotechnology. Horizon Bioscience, Norfolk, VA.

## C

De Caralt, S., Uriz, M. J., & Wijffels, R. H. (2007). Vertical transmission and successive location of symbiotic bacteria during embryo development and larva formation in Corticium candelabrum (Porifera: Demospongiae). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *87*(6), 1693-1699. doi:10.1017/S0025315407056846

Croué, J., West, N. J., Escande, M.-L., Intertaglia, L., Lebaron, P., & Suzuki, M. T. (2013). A single betaproteobacterium dominates the microbial community of the crambescidine-containing sponge *Crambe crambe*. *Scientific Reports*, *3*. doi:10.1038/srep02583

**D**

De Bary, A. (1879). « The Phenomenon of Symbiosis », privately printed in Strasburg

Debitus, C., Guella, G., Mancini, I., Waikedre, J., Guemas, J. P., Nicolas, J. L., & Pietra, F. (1998). Quinolones from a bacterium and tyrosine metabolites from its host sponge, Suberea creba from the Coral Sea. *Journal of Marine Biotechnology*, *6*(3), 136-141.

Donoghue, M., Lemery, S. J., Yuan, W., He, K., Sridhara, R., Shord, S., …Pazdur, R. (2012). Eribulin Mesylate for the Treatment of Patients with Refractory Metastatic Breast Cancer: Use of a "Physician's Choice" Control Arm in a Randomized Approval Trial. *Clinical Cancer Research, 18*(6), 1-10.

**E**

Ebel, R., Brenzinger, M., Kunze, A., Gross, H. J., & Proksch, P. (1997). Wound Activation of Protoxins in Marine Sponge Aplysina aerophoba. *Journal of Chemical Ecology*, *23*(5), 1451-1462. doi:10.1023/B:JOEC.0000006475.10310.3a

Elyakov, G. B., Kuznetsova, T., Mikhailov, V. V., Maltsev, I. I., Voinov, V. G., & Fedoreyev, S. A. (1991). Brominated diphenyl ethers from a marine bacterium associated with the spongeDysidea sp. *Experientia*, *47*(6), 632‑633. doi:10.1007/BF01949894

Enticknap, J. J., Kelly, M., Peraud, O., & Hill, R. T. (2006). Characterization of a Culturable Alphaproteobacterial Symbiont Common to Many Marine Sponges and Evidence for Vertical Transmission via Sponge Larvae. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(5), 3724‑ 3732. doi:10.1128/AEM.72.5.3724-3732.2006

Erpenbeck, D., Breeuwer, J., Velde, H. van der, & Soest, R. van. (2002). Unravelling host and symbiont phylogenies of halichondrid sponges (Demospongiae, Porifera) using a mitochondrial marker. *Marine Biology*, *141*(2), 377‑386. doi:10.1007/s00227-002-0785-x

Erwin, P. M., Olson, J. B., & Thacker, R. W. (2011). Phylogenetic Diversity, Host-Specificity and Community Profiling of Sponge-Associated Bacteria in the Northern Gulf of Mexico. *PLoS ONE*, *6*(11), e26806. doi:10.1371/journal.pone.0026806

Erwin, P. M., Pita, L., López-Legentil, S., & Turon, X. (2012). Stability of Sponge-Associated Bacteria over Large Seasonal Shifts in Temperature and Irradiance. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(20), 7358‑7368. doi:10.1128/AEM.02035-12

**F**

Fan, L., Reynolds, D., Liu, M., Stark, M., Kjelleberg, S., Webster, N. S., & Thomas, T. (2012). Functional equivalence and evolutionary convergence in complex communities of microbial sponge symbionts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(27), E1878‑E1887. doi:10.1073/pnas.1203287109

Faulkner, D. J., Harper, M. K., Salomon, C. E. & Schmidt, E. W. (1999). Localisation of

bioactive metabolites in marine sponges. *Memoirs of the Queensland Museum, 44*(1-2), 167-173.

Ferdous Mehbub, M., Lei, J., Franco, C., & Zhang, W. (2014). Marine Sponge Derived Natural Products between 2001 and 2010: Trends and Opportunities for Discovery of Bioactives. *Marine Drugs, 12,* 4539-4577. doi:10.3390/md12084539

Fieseler, L., Horn, M., Wagner, M., & Hentschel, U. (2004). Discovery of the Novel Candidate Phylum « Poribacteria » in Marine Sponges. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(6), 3724‑3732. doi:10.1128/AEM.70.6.3724-3732.2004

Fieseler, L., Quaiser, A., Schleper, C., & Hentschel, U. (2006). Analysis of the first genome fragment from the marine sponge-associated, novel candidate phylum Poribacteria by environmental genomics. *Environmental Microbiology*, *8*(4), 612‑624. doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00937.x

Friedrich, A. B., Fischer, I., Proksch, P., Hacker, J., & Hentschel, U. (2001). Temporal variation of the microbial community associated with the mediterranean sponge Aplysina aerophoba. *FEMS Microbiology Ecology*, *38*(2-3), 105‑115. doi:10.1111/j.1574-6941.2001.tb00888.x

Fuqua, C., Parsek, M. R., & Greenberg, E. P. (2001). REGULATION OF GENE EXPRESSION BY CELL-TO-CELL COMMUNICATION: Acyl-Homoserine Lactone Quorum Sensing. *Annual Review of Genetics*, *35*(1), 439‑468. doi:10.1146/annurev.genet.35.102401.090913

Fusetani, N. (2011). Antifouling marine natural products. *Natural Product Reports*, *28*(2), 400-410. doi:10.1039/C0NP00034E

## G

Gaino, E., Burlando, B., Buffa, P., & Sarà, M. (1987). Ultrastructural study of the mature egg of Tethya citrina sarà and melone (porifera, demospongiae). *Gamete Research*, *16*(3), 259-265. doi:10.1002/mrd.1120160308

Garson, M. J., Flowers, A. E., Webb, R. I., Charan, R. D., & McCaffrey, E. J. (1998). A sponge/dinoflagellate association in the haplosclerid sponge Haliclona sp.: cellular origin of cytotoxic alkaloids by Percoll density gradient fractionation. *Cell and Tissue Research*, *293*(2), 365‑373. doi:10.1007/s004410051128

Gazave, E., Lapebie, P., Renard, E., Vacelet, J., Rocher, C., Ereskovsky, A. V., Lavror, D. V., & Borchiellini, C. (2010). Molecular Phylogeny Restores the Supra-Generic Subdivision of Homoscleromorph Sponges (Porifera, Homoscleromorpha). *PLoS ONE 5*(12): e14290. doi:10.1371/journal.pone.0014290

Giles, E. C., Kamke, J., Moitinho-Silva, L., Taylor, M. W., Hentschel, U., Ravasi, T., & Schmitt, S. (2013). Bacterial community profiles in low microbial abundance sponges. *FEMS Microbiology Ecology*, *83*(1), 232‑241. doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01467.x

Gloeckner, V., Hentschel, U., Ereskovsky, A. V., & Schmitt, S. (2013). Unique and species-specific microbial communities in *Oscarella lobularis* and other Mediterranean *Oscarella species* (Porifera: Homoscleromorpha). *Marine Biology*, *160*(4), 781‑791.

doi:10.1007/s00227-012-2133-0

Gourmelon, C., Frenel, J. S., & Campone, M. (2011). Eribulin mesylate for the treatment of late-stage breast cancer. *Expert Opiniom on Pharmacotherapy, 12*(18), 2883-2890

Guan, L. L., Onuki, H., & Kamino, K. (2000). Bacterial Growth Stimulation with Exogenous Siderophore and Synthetic N-Acyl Homoserine Lactone Autoinducers under Iron-Limited and Low-Nutrient Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(7), 2797‑2803. doi:10.1128/AEM.66.7.2797-2803.2000

**H**

Harrison, F. W., & Cowden, R. R. (1976). Aspects of Sponge Biology. Academic Press, New York.

Hart, J. B., Lill, R. E., Hickford S. J. H, Blunt J. W. & Munro M. H. G. (2000) The Halichondrins : Chemistry, Biology, Supply and delivery. *In Drugs from the seas,* pp 134-153. doi: 10.1159/000062488

Haygood, M. G., Schmidt, E. W., Davidson, S. K., & Faulkner, D. J. (1999). Microbial symbionts of marine invertebrates: opportunities for microbial biotechnology. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. 1*(1), 33–43.

Hentschel, U., Fieseler, L., Wehrl, M., Gernert, C., Steinert, M., Hacker, J., & Horn, M. (2003). Microbial Diversity of Marine Sponges. In P. D. W. E. G. Müller (Éd.), *Sponges (Porifera)* (p. 59‑88). Springer Berlin Heidelberg. Consulté à l'adresse http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-55519-0_3

Hentschel, U., Hopke, J., Horn, M., Friedrich, A. B., Wagner, M., Hacker, J., & Moore, B. S. (2002). Molecular Evidence for a Uniform Microbial Community in Sponges from Different Oceans. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(9), 4431‑4440. doi:10.1128/AEM.68.9.4431-4440.2002

Hentschel, U., Piel, J., Degnan, S. M., & Taylor, M. W. (2012). Genomic insights into the marine sponge microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, *10*(9), 641‑654. doi:10.1038/nrmicro2839

Hentschel, U., Schmid, M., Wanger, M., Fieseler, L., Gernert, C., Hacker, J. (2001). Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean sponges Aplysina aerophoba and Aplysina cavernicola. *FEMS Microbial Ecology, 35*, 305-312. doi :10.1016/S0168-6496(01)00110-6

Hentschel, U., Usher, K. M., & Taylor, M. W. (2006). Marine sponges as microbial fermenters. *FEMS Microbiology Ecology*, *55*(2), 167‑177. doi:10.1111/j.1574-6941.2005.00046.x

Hill, R. T. **(**2004**).** Microbes from marine sponges: A treasure trove of biodiversity for natural products discovery. *In : Bull AT (ed.) Microbial Diversity and Bioprospecting, ASM Press, Washington DC,* pp. 177-190.

Hirata, Y., & Uemura, D. (1986). Halichondrins - antitumor polyether macrolides from a marine sponge. *Pure and Applied Chemistry*, *58*(5), 701-710. doi:10.1351/pac198658050701

Hochmuth, T., Niederkrüger, H., Gernert, C., Siegl, A., Taudien, S., Platzer, M., … Piel, J.

(2010). Linking Chemical and Microbial Diversity in Marine Sponges: Possible Role for Poribacteria as Producers of Methyl-Branched Fatty Acids. *ChemBioChem*, *11*(18), 2572‑2578. doi:10.1002/cbic.201000510

Hoffmann, F., Larsen, O., Thiel, V., Rapp, H. T., Pape, T., Michaelis, W., & Reitner, J. (2005). An Anaerobic World in Sponges. *Geomicrobiology Journal*, *22*(1-2), 1‑10. doi:10.1080/01490450590922505

Hoffmann, F., Radax, R., Woebken, D., Holtappels, M., Lavik, G., Rapp, H. T., … Kuypers, M. M. M. (2009). Complex nitrogen cycling in the sponge Geodia barretti. *Environmental Microbiology*, *11*(9), 2228‑2243. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.01944.x

Hoffmann, F., Røy, H., Bayer, K., Hentschel, U., Pfannkuchen, M., Brümmer, F., & Beer, D. de. (2008). Oxygen dynamics and transport in the Mediterranean sponge Aplysina aerophoba. *Marine Biology*, *153*(6), 1257‑1264. doi:10.1007/s00227-008-0905-3

## J

Jae Shin, H., Rashid, M. A., Cartner, L. K., Bokesch, H. R., Wilson, J. A., McMahon, J. B. & Gustafson, K. R. (2015). Stellettapeptins A and B, HIV-inhibitory cyclic depsipeptides from the marine sponge *Stelletta sp*. *Tetrahedron Letters 56, 4215-4219*

Jares-Erijman, E. A., Sakai, R., & Rinehart, K. L. (1991). Crambescidins: new antiviral and cytotoxic compounds from the sponge *Crambe crambe*. *The Journal of Organic Chemistry*, *56*(19), 5712‑5715. doi:10.1021/jo00019a049

Jin, M., & Taylor, R. E. (2005). Total synthesis of (+)-peloruside A. *Organic Letters, 7*(7)**,** 1303-1305.

## K

Kamke, J., Bayer, K., Woyke, T., & Hentschel, U. (2012). Exploring Symbioses by Single-Cell Genomics. *The Biological Bulletin*, *223*(1), 30‑43. doi :10.2307/41758992

Kamke, J., Rinke, C., Schwientek, P., Mavromatis, K., Ivanova, N., Sczyrba, A., … Hentschel, U. (2014). The Candidate Phylum Poribacteria by Single-Cell Genomics: New Insights into Phylogeny, Cell-Compartmentation, Eukaryote-Like Repeat Proteins, and Other Genomic Features. *PLoS ONE*, *9*(1), e87353. doi:10.1371/journal.pone.0087353

Kamke, J., Sczyrba, A., Ivanova, N., Schwientek, P., Rinke, C., Mavromatis, K., … Hentschel, U. (2013). Single-cell genomics reveals complex carbohydrate degradation patterns in poribacterial symbionts of marine sponges. *The ISME Journal*, *7*(12), 2287‑2300. doi:10.1038/ismej.2013.111

Kamke, J., Taylor, M. W., & Schmitt, S. (2010). Activity profiles for marine sponge-associated bacteria obtained by 16S rRNA vs 16S rRNA gene comparisons. *The ISME Journal*, *4*(4), 498‑508. doi:10.1038/ismej.2009.143

Kornprobst, J.-M. (2005) Substances naturelles d'origine marine. Tec&Doc Lavoisier. 2 Vol. 1830 pages

**L**

Lafi, F. F., Fuerst, J. A., Fieseler, L., Engels, C., Goh, W. W. L., & Hentschel, U. (2009). Widespread Distribution of Poribacteria in Demospongiae. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(17), 5695‑5699. doi:10.1128/AEM.00035-09

Laport, M. S., Santos, O. C. S., & Muricy, G. (2009). Marine Sponges: Potential Sources of New Antimicrobial Drugs. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *10*(1), 86‑105. doi:10.2174/138920109787048625

Lavy, A., Keren, R., Haber, M., Schwartz, I., & Ilan, M. (2014). Implementing sponge physiological and genomic information to enhance the diversity of its culturable associated bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, *87*(2), 486‑502. doi:10.1111/1574-6941.12240

Lazaro, J. E. H., Nitcheu, J., Mahmoudi, N., Ibana, J. A., Mangalindan, G. C., Black, G. P., … Diquet, B. (2006). Antimalarial Activity of Crambescidin 800 and Synthetic Analogues against Liver and Blood Stage of Plasmodium sp. *The Journal of Antibiotics*, *59*(9), 583‑590. doi:10.1038/ja.2006.78

Le Gal, Y. (2004). Biodiversité marine et exploitation biotechnologique des oceans. *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement* [En ligne], 5(3). http://vertigo.revues.org/3356 ; DOI : 10.4000/vertigo.3356

Leal, M. C., Puga, J., Serôdio, J., Gomes, N. C. M., & Calado, R. (2012). Trends in the Discovery of New Marine Natural Products from Invertebrates over the Last Two Decades – Where and What Are We Bioprospecting? *PLoS ONE*, *7*(1), e30580. doi:10.1371/journal.pone.0030580

Lee, O. O., Wang, Y., Yang, J., Lafi, F. F., Al-Suwailem, A., Qian, P.-Y. (2011). Pyrosequencing reveals highly diverse and species-specific microbial communities in sponges from the Red Sea. *The ISME Journal, 5*, 650–664. doi :10.1038/ismej.2010.165

Lee, Y.K., Lee, J.H., & Lee, H.K. (2001). Microbial symbiosis in marine sponges. *Journal of Microbiology, 39*, 254-265.

Lévi, C. & Porte, P. (1962) Etude au microscope électronique de l'éponge Oscarella lobularis et de sa larve amphiblastula. *Cahier Biologie Marine, 3,* 307-315.

Liu, M., Fan, L., Zhong, L., Kjelleberg, S., & Thomas, T. (2012). Metaproteogenomic analysis of a community of sponge symbionts. *The ISME Journal*, *6*(8), 1515‑1525. doi:10.1038/ismej.2012.1

**M**

Manuel, M., Boury-Esnault, N., & Vacelet, J. (2003). L'éponge…une république cellulaire. Revue *Pour la Science N°310*

Martín, M. J., Coello, L., Fernandez, R., Reyes, F., Rodrigues, A., Murcia, C., … Cuevas, C. (2013). Isolation and First Total Synthesis of PM050489 and PM060184, Two New Marin Anticancer Compounds. *Journal of the Amercian Chemical Society, 135*, 10164-

10171.

Martín, V., Vale, C., Bondu, S., Thomas, O. P., Vieytes, M. R., & Botana, L. M. (2013). Differential Effects of Crambescins and Crambescidin 816 in Voltage-Gated Sodium, Potassium and Calcium Channels in Neurons. *Chemical Research in Toxicology*, *26*(1), 169‑178. doi:10.1021/tx3004483

Menis, J., & Twelves, C. (2011). Eribulin (Halaven): a new, effective treatment for women with heavily pretreated metastatic breast cancer. *Breast Cancer (Dove Med Press), 3,* 101-111.

Meyer, C. J., Krauth, M., Wick, M. J., Shay, J. W., Gellert, G., De Branamder, J. K., Nortcote, P. T., & Miller, J. H. (2015). Peluroside A inhibits growth of human lung and breast tumor xenografts in an athymic nu/nu mouse model. *Molecular Cancer Therapeutics, 14*(11), 1816-1823

Moitinho-Silva, L., Bayer, K., Cannistraci, C. V., Giles, E. C., Ryu, T., Seridi, L., … Hentschel, U. (2013). Specificity and transcriptional activity of microbiota associated with low and high microbial abundance sponges from the Red Sea. *Molecular Ecology*, *23*(6), 1348‑1363. doi:10.1111/mec.12365

Montalvo, N. F., & Hill, R. T. (2011). Sponge-Associated Bacteria Are Strictly Maintained in Two Closely Related but Geographically Distant Sponge Hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(20), 7207‑7216. doi:10.1128/AEM.05285-11

Müller, W. E., Kurelec, B., Zahn, R. K., Müller, I., Vaith, P., & Uhlenbruck, G. (1979). Aggregation of sponge cells. Function of a lectin in its homologous biological system. *Journal of Biological Chemistry, 254*(16), 7479‑ 7481.

Müller, W. E., Zahn, R. K., Kurelec, B., Lucu, C., Müller, I., & Uhlenbruck, G. (1981). Lectin, a possible basis for symbiosis between bacteria and sponges. *Journal of Bacteriology*, *145*(1), 548‑558.

Munro, M. H. G., Blunt, J. W., Dumdei, E. J., Hickford, S. J. H., Lill, R. E., Li, S., Battershill, C. N. & Duckworth, A. R. (1999). The discovery and development of marine coumpounds with pharmaceutical potential. *Journal of Biotechnology*, 70, 15-25.

Muscholl-Silberhorn, A., Thiel, V., & Imhoff, J. F. (2008). Abundance and Bioactivity of Cultured Sponge-Associated Bacteria from the Mediterranean Sea. *Microbial Ecology*, *55*(1), 94‑106. doi:10.1007/s00248-007-9255-9

**N**

Nguyen, M. T. H. D., Liu, M., & Thomas, T. (2014). Ankyrin-repeat proteins from sponge symbionts modulate amoebal phagocytosis. *Molecular Ecology*, *23*(6), 1635‑1645. doi:10.1111/mec.12384

**O**

Osinga, R., Tramper, J., & Wijffels R.H. (1998). Cultivation of marine sponges for metabolite production: application for biotechnology? *Trends in Biotechnology*, 16 (3),130–134. doi:10.1016/S0167-7799(97)01164-5

**P**

Page, M. J., Northcote, P. T., Webb, V. L., Mackey, S., & Handley, S. J. (2005). Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae: Poecilosclerida). *Aquaculture, 250(1-2),* 256-269.

Perdicaris, S., Vlachogianni, T., & Valavanidis, A. (2013). Bioactive Natural Substances from Marine Sponges : New Developments and Prospects for Future Pharmaceuticals. *Natural Products Chemistry & Research, 1*(3), 1-8.

Piel, J. (2009). Metabolites from symbiotic bacteria. *Natural Product Reports*, *26*(3), 338‑362. doi:10.1039/B703499G

Piel, J., Hui, D., Fusetani, N., & Matsunaga, S. (2004a). Targeting modular polyketide synthases with iteratively acting acyltransferases from metagenomes of uncultured bacterial consortia. *Environmental Microbiology*, *6*(9), 921‑927. doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00531.x

Piel, J., Hui, D., Wen, G., Butzke, D., Platzer, M., Fusetani, N., & Matsunaga, S. (2004b). Antitumor polyketide biosynthesis by an uncultivated bacterial symbiont of the marine sponge Theonella swinhoei. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(46), 16222‑16227. doi:10.1073/pnas.0405976101

Pomponi, S. A. (1999). The bioprocess-technological potential of the sea. Journal of Biotechnology, 70(1-3)5-13.doi:10.1016/S0168-1656(99)00053-X

Proksch, P. (1994). Defensive roles for secondary metabolites from marine sponges and sponge-feeding nudibranchs. *Toxicon*, *32*(6), 639‑655. doi:10.1016/0041-0101(94)90334-4

Proksch, P., Edrada, R. A., & Ebel, R. (2002). Drugs from the seas - current status and microbiological implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *59*(2-3), 125‑134. doi:10.1007/s00253-002-1006-8

**R**

Rangel, M., de Sanctis, B., de Freitas, J. C., Moutinho Polatto, J., Granato, A. C., Berlinck, R. G. S., & Hajdu, E. (2001). Cytotoxic and neurotoxic activities in extracts of marine sponges (Porifera) from southeastern Brazilian coast. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *262*(1), 31‑40. doi:10.1016/S0022-0981(01)00276-3

Reiswig, H. M. (1975a). Bacteria as food for temperate-water marine sponges. *Canadian Journal of Zoology*, *53*(5), 582‑589. doi:10.1139/z75-072

Reiswig, H. M. (1975b). The aquiferous systems of three marine demospongiae. *Journal of Morphology*, *145*(4), 493‑502. doi:10.1002/jmor.1051450407

Reiswig, H. M. (1981). Partial Carbon and Energy Budgets of the Bacteriosponge Verohgia fistularis (Porifera: Demospongiae) in Barbados. *Marine Ecology*, *2*(4), 273-293. doi:10.1111/j.1439-0485.1981.tb00271.x

Reveillaud, J., Maignien, L., Eren, A. M., Huber, J. A., Apprill, A., Sogin, M. L., & Vanreusel, A. (2014). Host-specificity among abundant and rare taxa in the sponge microbiome.

*The ISME Journal*, *8*(6), 1198‑1209. doi:10.1038/ismej.2013.227

Richelle-Maurer, E., De Kluijver, M.J., Feio, S., Gaudencio, S., Gaspar, H., Gomez, R., … Van Soest, R.W.M. (2003). *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(10), 1073-1091, doi:10.1016/S0305-1978(03)00072-3

Roué, M., Domart-Coulon, I., Ereskovsky, A., Djebiat, C., Perez, T., & Bourguet-Kondracki, M. -L. (2010). Cellular localization of Clathridine, an antimicrobial 2-aminoimidazole alkaloids produced by the Mediterranean calcareous sponge *Clathrina clathrus*. *Journal of Natural Products, 73*(7), 1277-1282. doi : 10.1021/np100175x

Roué, M., Quévrain, E., Domart-Coulon, I., & Bourguet-Kondracki, M. –L. (2012). Assessing calcareous sponges and their associated bacteria for the discovery of new bioactive natural products. *Natural Product Reports, 29,* 739-751.

Rubiolo, J. A., Ternon, E., López-Alonso, H., Thomas, O. P., Vega, F. V., Vieytes, M. R., & Botana, L. M. (2013). Crambescidin-816 Acts as a Fungicidal with More Potency than Crambescidin-800 and -830, Inducing Cell Cycle Arrest, Increased Cell Size and Apoptosis in Saccharomyces cerevisiae. *Marine Drugs*, *11*(11), 4419‑4434. doi:10.3390/md11114419

**S**

Sakai, R., Higa, T., Jefford, C. W., & Bernardinelli, G. (1986). Manzamine A, a novel antitumor alkaloid from a sponge. *Journal of the American Chemical Society*, *108*(20), 6404‑6405. doi:10.1021/ja00280a055

Santavy, D. L., Willenz, P., & Colwell, R. R. (1990). Phenotypic study of bacteria associated with the caribbean sclerosponge, *Ceratoporella nicholsoni*. *Applied and Environmental Microbiology*, *56*(6), 1750‑1762.

Sakemi, S., Ichiba, T., Kohmoto, S., Saucy, G., & Higa, T. (1988). Isolation and structure elucidation of onnamide A, a new bioactive metabolite of a marine sponge, *Theonella* sp. *Journal of the American Chemical Society*, *110*, 4851-4853.

Sciscioli, M., Lepore, E., Gherardi, M., & Scalera Liaci, L. (1994). Transfer of symbiotic bacteria in the mature oocyte of Geodia cydonium (Porifera, Demosponsgiae) : an ultrastructural study. *Cahiers de Biologie Marine*, *35*(4), 471-478.

Schippers, K. J., Sipkema, D., Osinga, R., Smidt H., Pomponi, S. A., Martens, D. E., & Wijffels, R. H. (2012). Cultivation of sponges, sponge cells and symbionts : Achievements and future prospects. *Advances Marine Biology, 62*, 273-337. doi :10.1016/B978-0-12-394283-8.00006-0

Schläppy, M.-L., Schöttner, S. I., Lavik, G., Kuypers, M. M. M., Beer, D. de, & Hoffmann, F. (2010). Evidence of nitrification and denitrification in high and low microbial abundance sponges. *Marine Biology*, *157*(3), 593‑602. doi:10.1007/s00227-009-1344-5

Schmidt, E. W., Obraztsova, A. Y., Davidson, S. K., Faulkner, D. J., & Haygood, M. G. (2000). Identification of the antifungal peptide-containing symbiont of the marine sponge Theonella swinhoei as a novel δ-proteobacterium, « Candidatus Entotheonella palauensis ». *Marine Biology*, *136*(6), 969‑977. doi:10.1007/s002270000273

Schmitt, S., Hentschel, U., & Taylor, M. W. (2012a). Deep sequencing reveals diversity and

community structure of complex microbiota in five Mediterranean sponges. *Hydrobiologia*, *687*(1), 341‑351. doi:10.1007/s10750-011-0799-9

Schmitt, S., Tsai, P., Bell, J., Fromont, J., Ilan, M., Lindquist, N., … Taylor, M. W. (2012b). Assessing the complex sponge microbiota: core, variable and species-specific bacterial communities in marine sponges. *The ISME Journal*, *6*(3), 564‑576. doi:10.1038/ismej.2011.116

Selvin, J., Shanmugha Priya, S., Seghal Kiran, G., Thangavelu, T., & Sapna Bai, N. (2009). Sponge-associated marine bacteria as indicators of heavy metal pollution. *Microbial Research, 164*(3), 352-363

Shigemori, H., Bae, M. A., Yazawa, K., Sasaki, T., & Kobayashi, J. (1992). Alteramide A, a new tetracyclic alkaloid from a bacterium Alteromonas sp. associated with the marine sponge Halichondria okadai. *The Journal of Organic Chemistry*, *57*(15), 4317‑4320. doi:10.1021/jo00041a053

Siegl, A., Kamke, J., Hochmuth, T., Piel, J., Richter, M., Liang, C., … Hentschel, U. (2011). Single-cell genomics reveals the lifestyle of Poribacteria, a candidate phylum symbiotically associated with marine sponges. *The ISME Journal*, *5*(1), 61‑70. doi:10.1038/ismej.2010.95

Simister, R. L., Deines, P., Botté, E. S., Webster, N. S., & Taylor, M. W. (2012a). Sponge-specific clusters revisited: a comprehensive phylogeny of sponge-associated microorganisms. *Environmental Microbiology*, *14*(2), 517‑524. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02664.x

Simpson, T. L. (1984). The Cell Biology of Sponges. New York : Springer-Verlag.

Sipkema, D., Osinga, R., Schatton, W., Mendola, D., Tramper, J., & Wijffels, R. H. (2005). Large-scale production of pharmaceuticals by marine sponges: sea, cell, or synthesis? *Biotechnology and Bioengineering, 90*(2), 201-222.

Sipkema, D., Schippers, K., Maalcke, W. J., Yang, Y., Salim, S., & Blanch, H. W. (2011). Multiple Approaches To Enhance the Cultivability of Bacteria Associated with the Marine Sponge Haliclona (gellius) sp. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(6), 2130‑2140. doi:10.1128/AEM.01203-10

Steindler, L., Beer, S., & Ilan, M. (2002). Photosymbiosis in intertidal and subtidal tropical sponges. *Symbiosis*, *33*(3), 263‑273.

Steinert, G., Whitfield, S., Taylor, M. W., Thoms, C., & Schupp, P. J. (2014). Application of diffusion growth chambers for the cultivation of marine sponge-associated bacteria. *Marine Biotechnology*, doi :10.1007/s10126-014-9575-y

Stierle, A. C., Cardellina, J. H., 2nd, & Singleton, F. L. (1988). A marine Micrococcus produces metabolites ascribed to the sponge Tedania ignis. *Experientia*, *44*(11-12), 1021. doi :10.1007/BF01939910

Swan, B. K., Martinez-Garcia, M., Preston, C. M., Sczyrba, A., Woyke, T., Lamy, D., … Stepanauskas, R. (2011). Potential for Chemolithoautotrophy Among Ubiquitous Bacteria Lineages in the Dark Ocean. *Science*, *333*(6047), 1296‑1300. doi:10.1126/science.1203690

**T**

Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., & Wagner, M. (2007). Sponge-Associated Microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *71*(2), 295–347. doi:10.1128/MMBR.00040-06

Taylor, M. W., Schupp, P. J., Baillie, H. J., Charlton, T. S., Nys, R. de, Kjelleberg, S., & Steinberg, P. D. (2004a). Evidence for Acyl Homoserine Lactone Signal Production in Bacteria Associated with Marine Sponges. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(7), 4387–4389. doi:10.1128/AEM.70.7.4387-4389.2004

Taylor, M. W., Schupp, P. J., Dahllöf, I., Kjelleberg, S., & Steinberg, P. D. (2004b). Host specificity in marine sponge-associated bacteria, and potential implications for marine microbial diversity. *Environmental Microbiology*, *6*(2), 121–130. doi:10.1046/j.1462-2920.2003.00545.x

Taylor, M. W., Tsai, P., Simister, R. L., Deines, P., Botte, E., Ericson, G., … Webster, N. S. (2013). 'Sponge-specific' bacteria are widespread (but rare) in diverse marine environments. *The ISME Journal*, *7*(2), 438–443. doi:10.1038/ismej.2012.111

Thacker, R. W., & Starnes, S. (2003). Host specificity of the symbiotic cyanobacterium Oscillatoria spongeliae in marine sponges, Dysidea spp. *Marine Biology*, *142*(4), 643–648. doi:10.1007/s00227-002-0971-x

Thomas, T. R. A., Kavlekar, D. P., & LokaBharathi, P. A. (2010b). Marine Drugs from Sponge-Microbe Association—A Review. *Marine Drugs*, *8*(4), 1417–1468. doi:10.3390/md8041417

Thomas, T., Rusch, D., DeMaere, M. Z., Yung, P. Y., Lewis, M., Halpern, A., … Kjelleberg, S. (2010a). Functional genomic signatures of sponge bacteria reveal unique and shared features of symbiosis. *The ISME Journal*, *4*(12), 1557–1567. doi:10.1038/ismej.2010.74

Turon, X., Becerro, M. A., & Uriz, M. J. (2000). Distribution of brominated compounds within the sponge Aplysina aerophoba: coupling of X-ray microanalysis with cryofixation techniques. *Cell and Tissue Research*, *301*(2), 311–322. doi:10.1007/s004410000233

Turon, X., Galera, J., & Uriz, M. J. (1997). Clearance rates and aquiferous systems in two sponges with contrasting life-history strategies. *Journal of Experimental Zoology*, *278(1),* 22–36. doi:10.1002/(SICI)1097-010X(19970501)278:1<22::AID JEZ3>3.0.CO;2-8

**U**

Uemura, D., Takahashi, K., Yamamoto, T., Katayama, C., Tanaka, J., Okumura, Y. & Hirata, Y. (1985). Norhalichondrin A: an antitumor polyether macrolide from a marine sponge. *Journal of the American Chemical Society 107,* 4796–4798

Unson, M. D., & Faulkner, D. J. (1993). Cyanobacterial symbiont biosynthesis of chlorinated metabolites from Dysidea herbacea (Porifera). *Experientia*, *49*(4), 349–353. doi:10.1007/BF01923420

Unson, M. D., Holland, N. D., & Faulkner, D. J. (1994). A brominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Marine Biology*, *119*(1), 1–11.

doi:10.1007/BF00350100

Uria, A., & Piel, J. (2009). Cultivation-independant approaches to investigate the chemistry of marine symbiotic bacteria. *Phytochemistry Reviews, 8*(2), 401-414.

Uriz, M. J., Becerro, M. A., Tur, J. M., & Turon, X. (1996). Location of toxicity within the Mediterranean sponge *Crambe crambe* (Demospongiae: Poecilosclerida). *Marine Biology*, *124*(4), 583‑590. doi:10.1007/BF00351039

**V**

Vacelet, J., & Donadey, C. (1977). Electron microscope study of the association between some sponges and bacteria. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *30*(3), 301‑314. doi:10.1016/0022-0981(77)90038-7

Van Soest, R. W. M., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., Dohrmann, M., Erpenbeck, D., De Voogd, N. J., … Hooper, J. N. A. (2012). Global Diversity of Sponges (Porifera). *PLoS ONE*, *7*(4), e35105. doi:10.1371/journal.pone.0035105

Vogel, S. (1977). Current-induced flow through living sponges in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *74*(5), 2069‑2071.

**W**

Webster, N. S., Luter, H. M., Soo, R. M., Botte, E. S., Simister, R. L., Abdo, D., & Whalan, S. (2013). Same, same but different: symbiotic bacterial associations in GBR sponges. *Frontiers in Microbiology*, *3*. doi:10.3389/fmicb.2012.00444

Webster, N. S., Taylor, M. W., Behnam, F., Lücker, S., Rattei, T., Whalan, S., … Wagner, M. (2010). Deep sequencing reveals exceptional diversity and modes of transmission for bacterial sponge symbionts. *Environmental Microbiology*, *12*(8), 2070‑2082. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02065.x

Webster, N. S., Wilson, K. J., Blackall, L. L., & Hill, R. T. (2001b). Phylogenetic Diversity of Bacteria Associated with the Marine Sponge Rhopaloeides odorabile. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(1), 434‑444. doi:10.1128/AEM.67.1.434-444.2001

Wehrl, M., Steinert, M., & Hentschel, U. (2007). Bacterial uptake by the marine sponge Aplysina aerophoba. *Microbial Ecology*, *53*(2), 355‑365. doi:10.1007/s00248-006-9090-4

Weisz, J. B., Lindquist, N., & Martens, C. S. (2008). Do associated microbial abundances impact marine demosponge pumping rates and tissue densities? *Oecologia*, *155*(2), 367‑376. doi:10.1007/s00442-007-0910-0

Wilkinson C. R., & Garrone R. (1980) Nutrition in marine sponges. Involvement of symbiotic bacteria in the uptake of dissolved carbon. In: Smith DC, Tixon Y (eds) Nutrition in the lower Metazoa. Pergamon Press, Oxford, pp 157±161

Wilkinson, C. R. (1978a) Microbial associations in sponges. I. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef sponges. *Marine Biology, 49(2),* 161-167. doi :10.1007/BF02010471

Wilkinson, C. R. (1978b) Microbial associations in sponges. II. Numerical analysis of sponge

and water bacterial populations. *Marine Biology, 49(2),* 169-176. doi :10.1007/BF00387116

Wilkinson, C. R. (1984). Immunological Evidence for the Precambrian Origin of Bacterial Symbioses in Marine Sponges. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, *220*(1221), 509–518. doi:10.1098/rspb.1984.0017

Wilkinson, C. R., Nowak, M., Austin, B., & Colwell, R. R. (1981). Specificty of bacterial symbionts in Mediterranean and Great Barrier Reef sponges. *Microbiol Ecology, 7(1),* 13-21. doi :10.1007/BF02010471

Wörheide, D. G. (1998). The reef cave dwelling ultraconservative coralline demospongeAstrosclera willeyana Lister 1900 from the Indo-Pacific. *Facies*, *38*(1), 1–88. doi:10.1007/BF02537358

**Résumé:**

Le milieu marin héberge la plus grande partie de la biodiversité de notre planète, associée à une incroyable chimiodiversité. En effet, les organismes marins, vivant dans un milieu hautement compétitif, produisent des métabolites bioactifs extrêmement puissants à des fins de protection, communication, ou encore compétition pour l'espace. Les éponges marines, animaux sessiles les plus primitifs, sont le centre d'intérêt de nombreuses équipes de recherche et parmi les invertébrés marins les plus producteurs de métabolites bioactifs. Animaux suspensivores, les éponges se nourrissent par filtration de l'eau environnante, et sont ainsi les hôtes d'une importante diversité de micro-organismes. Il est de plus en plus proposé, que ces micro-organismes associés seraient la véritable source de ces métabolites bioactifs. De ce fait, l'exploitation des éponges marines et de leurs micro-organimes associés est aujourd'hui plus que prometteuse et pourrait bien être l'avenir de demain en matière de santé et recherche médicale.

**Mots clés :** éponges marines, micro-organismes associés, métabolites bioactifs, santé humaine, médicaments d'origine marine

# SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma propession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

**Résumé:**

Le milieu marin héberge la plus grande partie de la biodiversité de notre planète, associée à une incroyable chimiodiversité. En effet, les organismes marins, vivant dans un milieu hautement compétitif, produisent des métabolites bioactifs extrêmement puissants à des fins de protection, communication, ou encore compétition pour l'espace. Les éponges marines, animaux sessiles les plus primitifs, sont le centre d'intérêt de nombreuses équipes de recherche et parmi les invertébrés marins les plus producteurs de métabolites bioactifs. Animaux suspensivores, les éponges se nourrissent par filtration de l'eau environnante, et sont ainsi les hôtes d'une importante diversité de micro-organismes. Il est de plus en plus proposé, que ces micro-organismes associés seraient la véritable source de ces métabolites bioactifs. De ce fait, l'exploitation des éponges marines et de leurs micro-organimes associés est aujourd'hui plus que prometteuse et pourrait bien être l'avenir de demain en matière de santé et recherche médicale.

**Mots clés :** éponges marines, micro-organismes associés, métabolites bioactifs, santé humaine, médicaments d'origine marine