



HAL
open science

Présentation des travaux de recherche sur l'oeuf

Joël Gautron, Sophie Réhault-Godbert, Nicolas Guyot

► **To cite this version:**

Joël Gautron, Sophie Réhault-Godbert, Nicolas Guyot. Présentation des travaux de recherche sur l'oeuf. Commission technique et réglementaire du CNPO, Oct 2017, Nouzilly, France. hal-02737529

HAL Id: hal-02737529

<https://hal.inrae.fr/hal-02737529v1>

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



→ DOVE (2017)

Relations structure/fonction
modélisation 3D
Dir. ED SSBCV Orléans-Tours

Thèse L, Bedrani (2011-2014)

Biominéralisation et nutrition des poules
pondeuses

Relations structure/fonction
Prod. de protéines recombinantes

Biominéralisation

L. Stapano (Doc. 2019)- 6ème promotion EIR-A
N. Le Roy (Post-Doc. 2018) Agreenskills

Thèse P, Marie (2011-2014)

Peptides antimicrobiens/œuf
de consommation

Protéases-antiprotéases
/œuf à couver

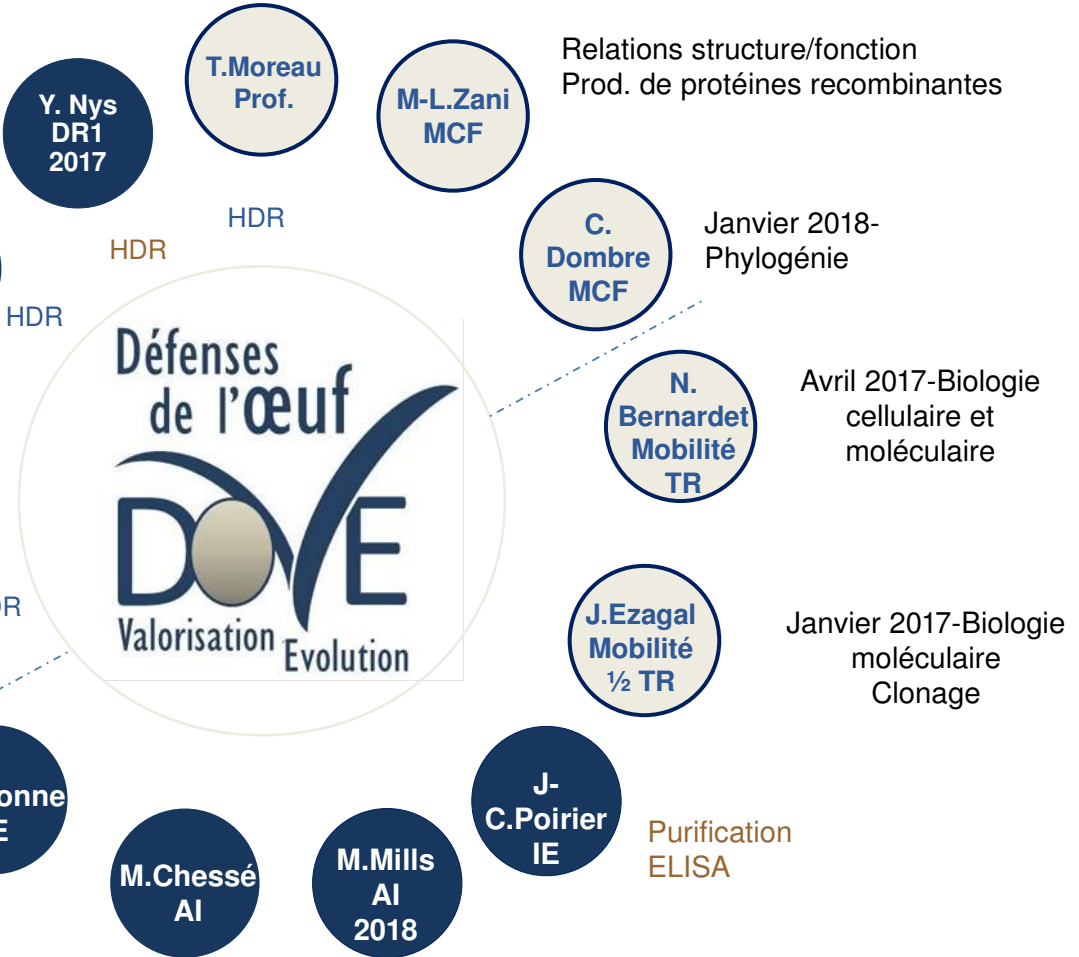
M. Da Silva (2014- 2017)

Thèse M. Bourin (2009-2012)

Analyse fonctionnelle des séquences
moléculaires

Bactériologie
Animatrice Assurance /Qualité

Biochimie des protéines
/qualité de l'œuf
Animatrice Assurance/Qualité



Janvier 2018-
Phylogénie

Avril 2017-Biologie
cellulaire et
moléculaire

Janvier 2017-Biologie
moléculaire
Clonage

Purification
ELISA

Réseaux, sociétés savantes

World Poultry Science Association
Société Française de le Biologie des Tissus Minéralisés
Réseau de génétique avicole (RESAVI)
GDR Mutifonction des peptides antimicrobiens
GDR Modèle Aviaire
ARD Biomédicaments
Unité transversale d'allergologie



Interprofession
CNPO
Adro-Ouest

Partenaires privés

DSM
TRONICO
IGRECA
MERIAL



Partenaires académiques

Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires (INSERM)
Centre de Biophysique Moléculaire (CNRS, Orléans)
UMR Infectiologie et Santé Publique
UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements
UMR Science et technologie de l'œuf et du lait (Rennes)
University of Ottawa (Canada)
University of Grenada (Espagne)
University of Wroclav (Pologne)

Plate-formes

Protéomique INRA-PAIB2
Métabolomique CHU Tours-ASB
SIGENAE (Toulouse)
Get-PLAGE (Toulouse)

Collaborations Intra-Unité

ALISE Poules pondeuses, Protéines
et protéases du tube digestif
MOQA/AQSel Analyse de la
composition des œufs issus de
lignées divergentes
Atelier « Gene Ontology »

Contexte, démarche et enjeux



L'Œuf de consommation

un produit de base pour
l'alimentation humaine

14,7 milliards d'œufs en 2015



L'Œuf à couver

une enceinte close et autosuffisante
pour permettre le développement
d'un embryon

1,1 milliard d'œufs en 2013

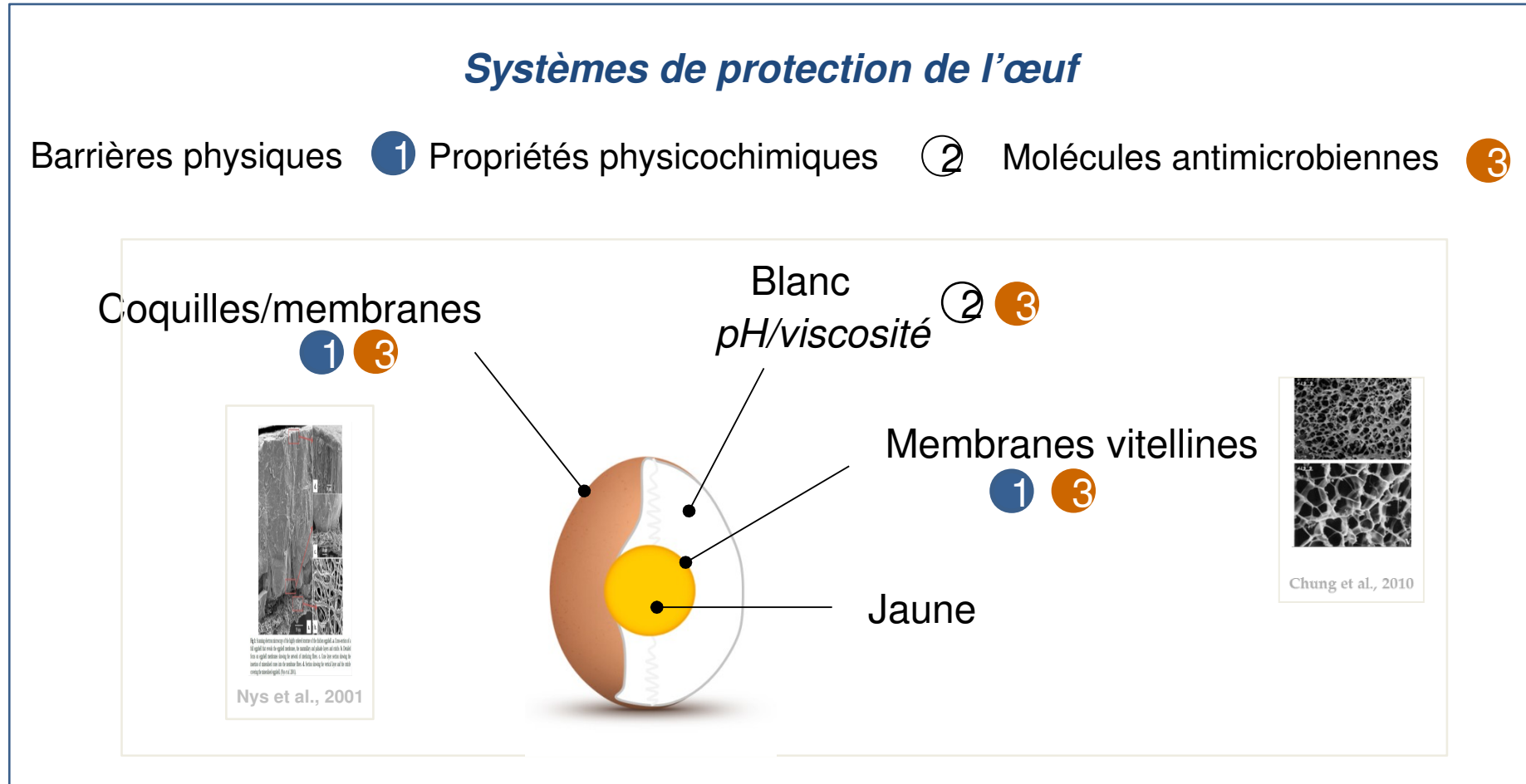
Enjeux sanitaires, économiques et éthiques

Caractérisation biochimique et fonctionnelle des protéines de l'œuf
associées aux systèmes de défenses naturelles

- **Garantir et renforcer la qualité sanitaire des œufs**
- **Valoriser les molécules issues de l'œuf ou dérivés**
- **Proposer des stratégies innovantes**

L'œuf, une chambre isolée pour le développement embryonnaire

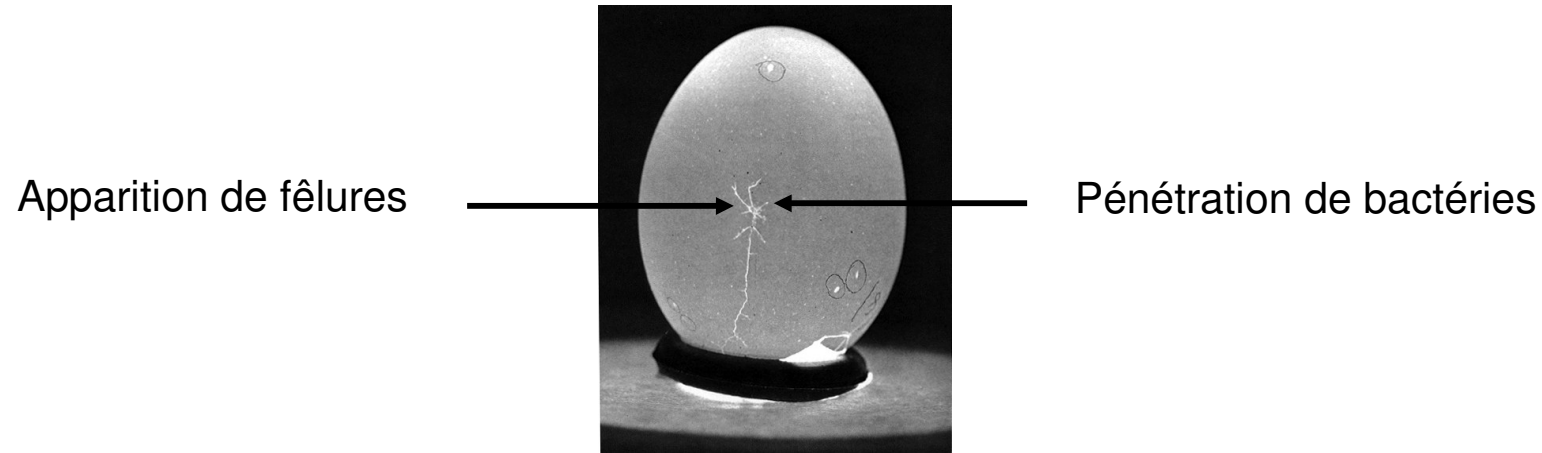
- Assurer le développement de l'embryon et la descendance (source de nutriments, de molécules actives et de systèmes de protection)



- Garantir la qualité hygiénique et les propriétés organoleptiques et fonctionnelles

La coquille : une barrière physique contre la pénétration bactérienne

L'intégrité de la coquille est cruciale pour le producteur et la sécurité alimentaire du consommateur



Facteurs influençant la qualité de la coquille

- › Génétique
- › Nutrition, environnement et élevage de la poule (lumière, températures...)
- › Physiologie (Age Allongement de la période de ponte)
- › Chocs : système d'élevage, transports...

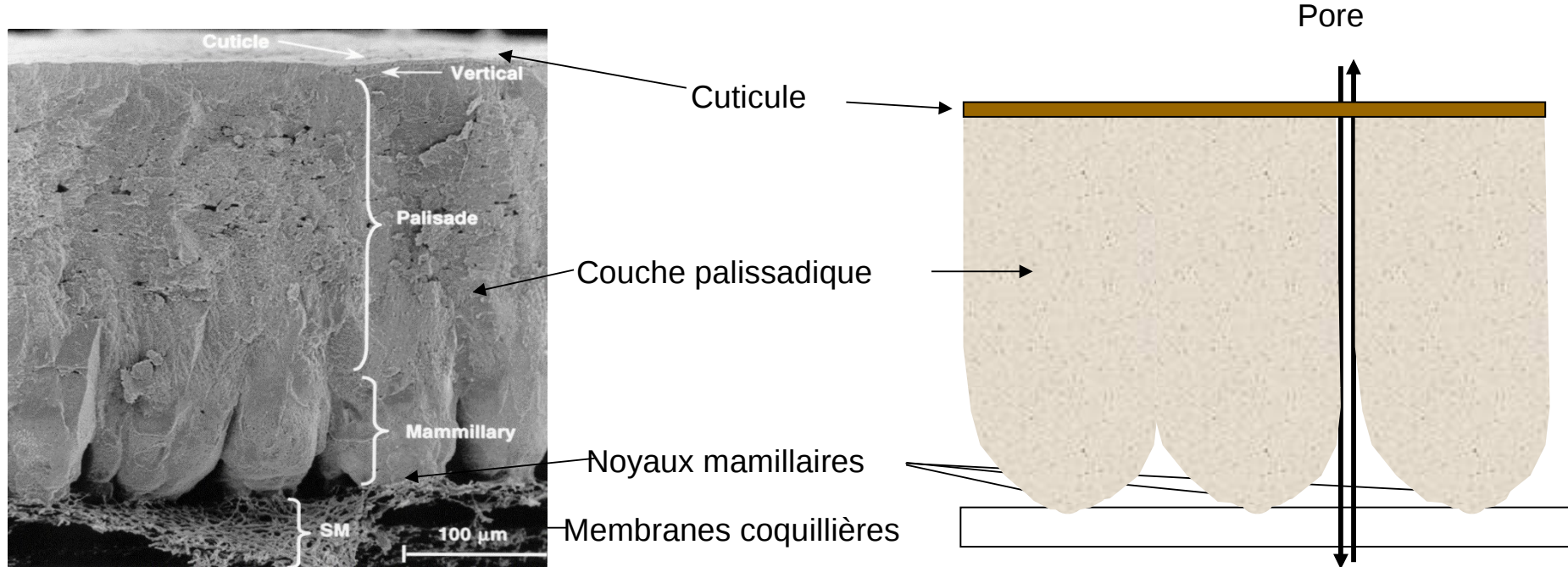
— La nutrition optimisée, la génétique et la maîtrise de ses facteurs limitent la casse, mais ne l'élimine pas

Comprendre les mécanismes de fabrication de la coquille et déterminer l'origine de ses faiblesses

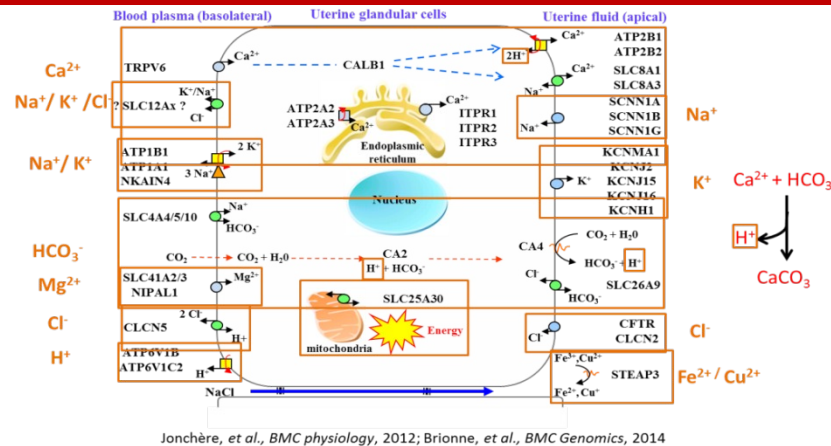
Développer de nouveaux outils pour la sélection

La coquille (défense physique)

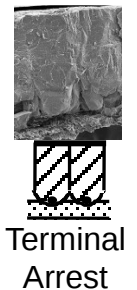
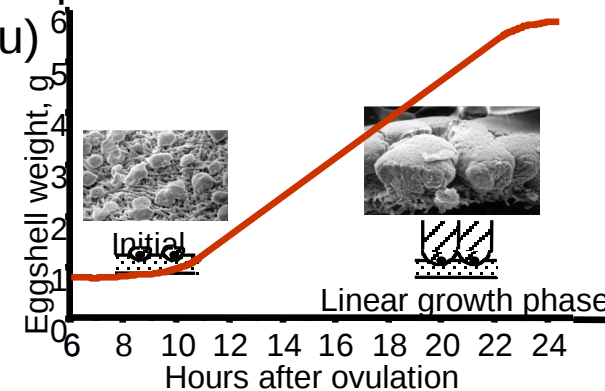
La coquille se forme dans l'utérus selon le processus de biominéralisation le plus rapide du vivant
 6 g de biominéral déposé en 17-18 heures



Supply of minerals for shell mineralization

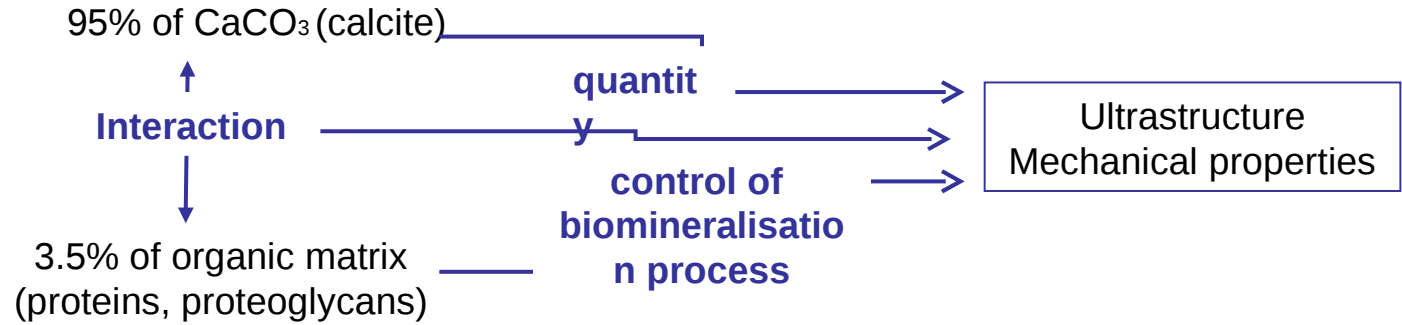


3 main phases in the uterine fluid (acellular milieu)

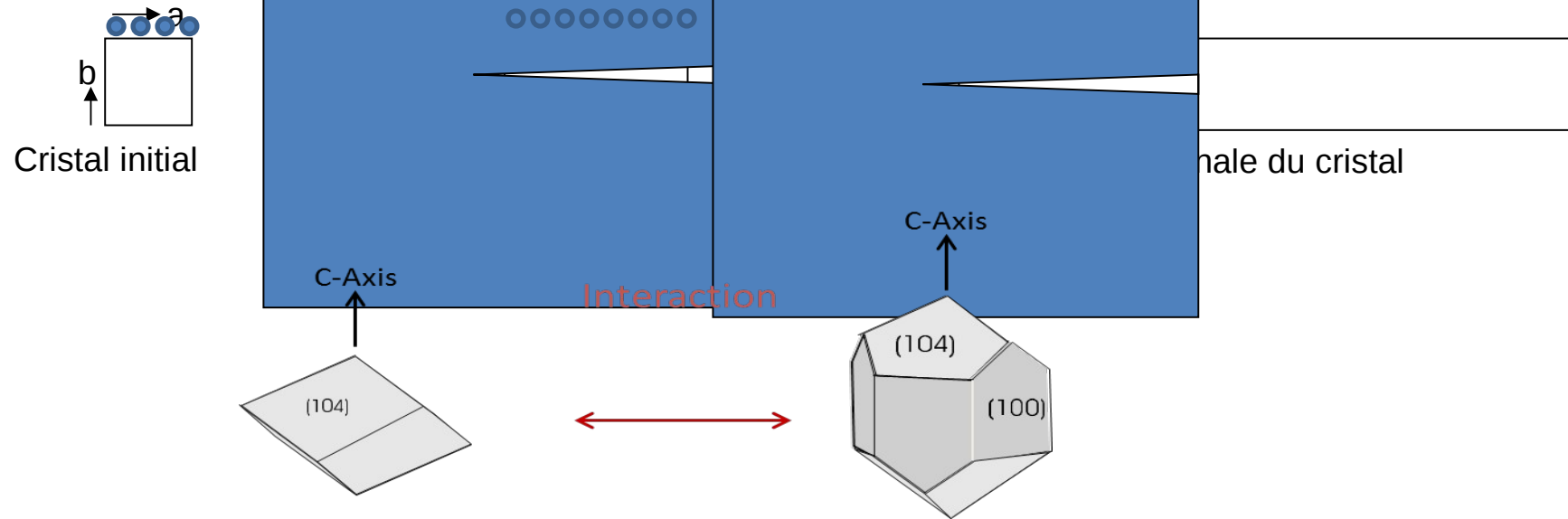


La coquille (défense physique)

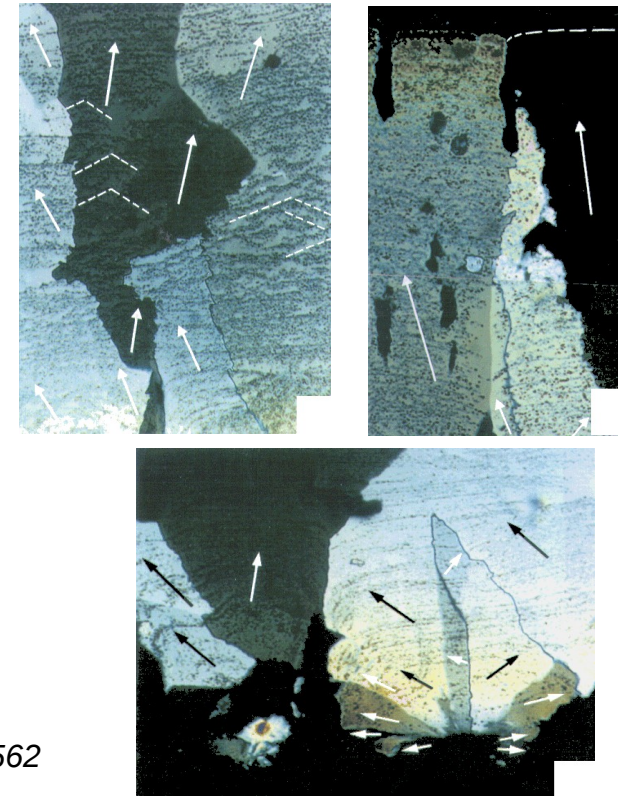
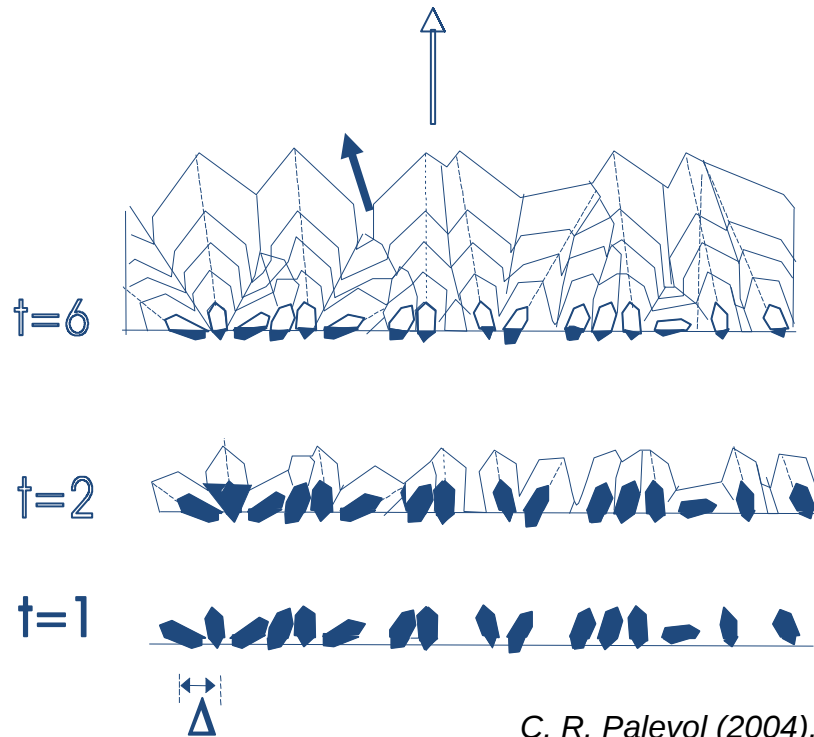
La matrice organique détermine la texture de la coquille et ses propriétés mécaniques qui en résultent



La matrice contrôle la nucléation, la forme, la taille et le type cristallin des cristaux déposés dans la coquille



La formation de la coquille, un processus de biominéralisation



C. R. Palevol (2004), 3, 549-562

□ **Identification et caractérisation de plus de 700 protéines de la matrice organique**



Classement en 3 groupes différents selon leurs fonctions prédites

Impliquées dans le processus de minéralisation

Impliquées dans la régulation des protéines qui minéralisent

Protéines antimicrobiennes et autres..

La coquille (défense physique)

Utilisation comme marqueurs biologiques en sélection génomique pour renforcer la solidité de la coquille

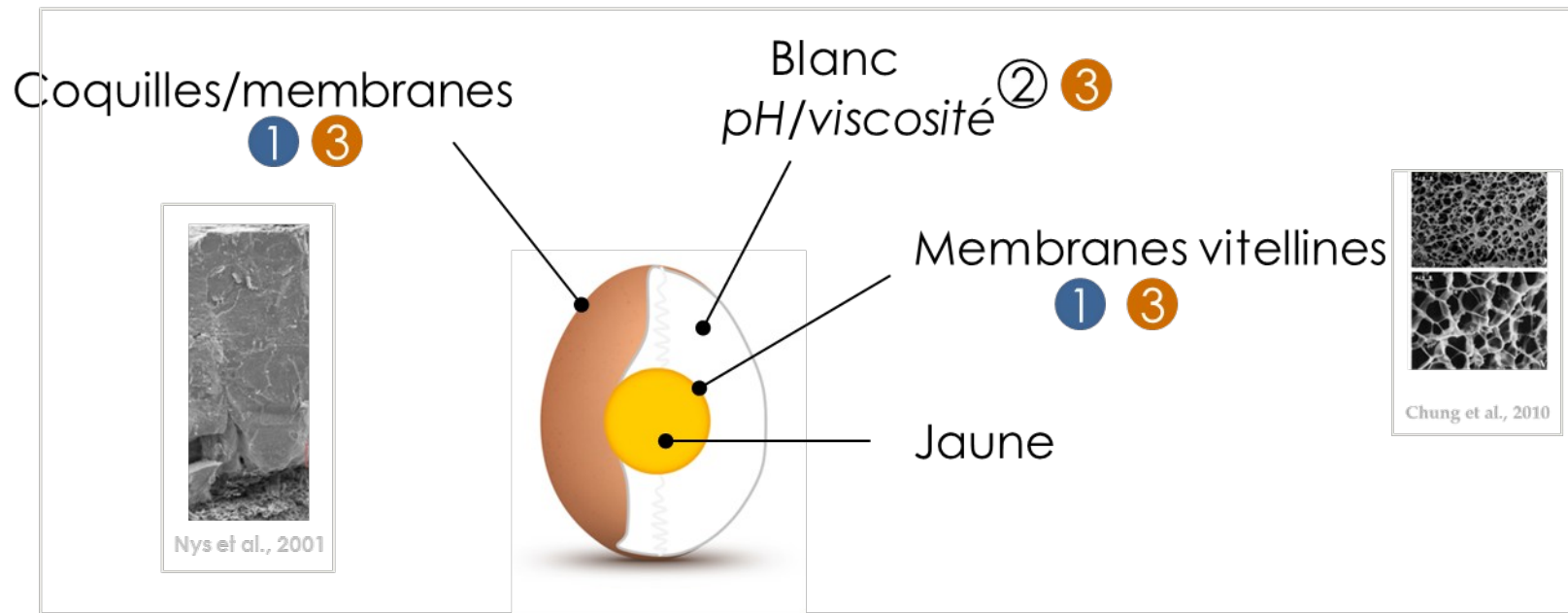
- ✓ Utilisation des QTL et SNPs publiques et privés en rapport avec la solidité de coquille (*Collaboration avec éleveurs et des équipes de génétique*)



→ Assurer le développement de l'embryon et la descendance (source de nutriments, de molécules actives et de systèmes de protection)

Systèmes de protection de l'œuf

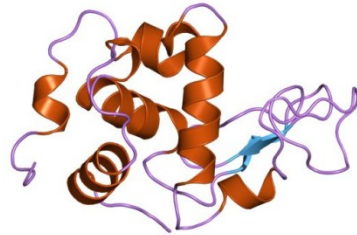
Barrières physiques ① Propriétés physicochimiques ② Molécules antimicrobiennes ③





Exemple du lysozyme de blanc d'œuf (Additif E1105)

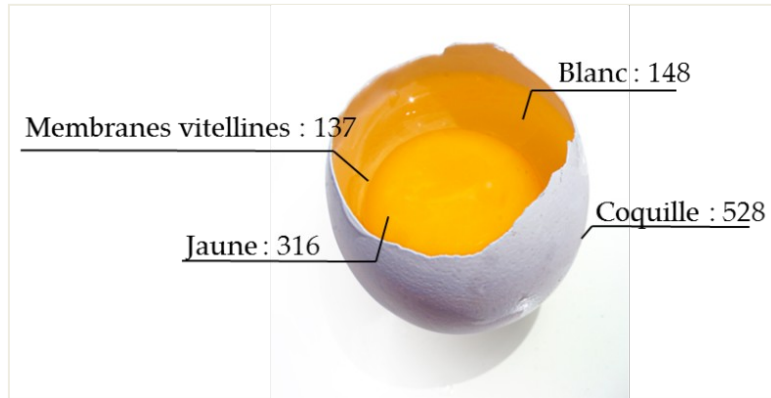
*Petite molécule de 14 kDa bactéricide, hydrolysant la paroi des
bactéries par son activité « muramidase »*



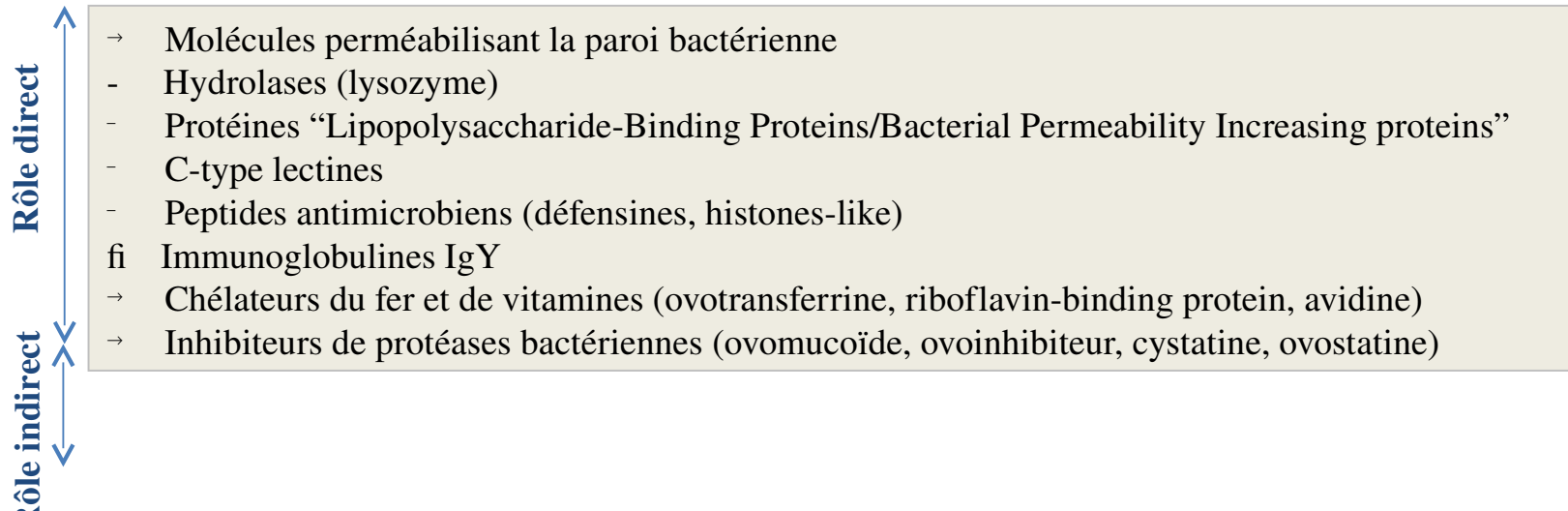
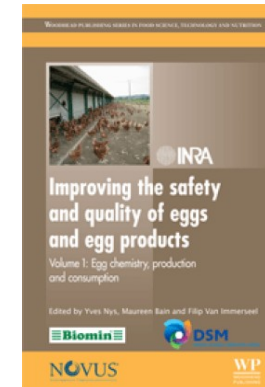
- ❖ Conservateur pour les fromages affinés
- ❖ Conservateur utilisé en vinification en remplacement du SO₂
- ❖ Principe actif de médicaments: Cantalene®, Glossithiase®, Hexalyse®, Lyso6®, Lysocline®, Lysopaïne®, Oroseptol®, lisozyme®, Rhinobebe®...

Molécules antimicrobiennes de l'œuf

- Près de 900 protéines et peptides, de rôle inconnu pour la plupart
- En 2010, 11 molécules antibactériennes connues : lysozyme, ovotransferrine, avidine, riboflavin-binding protein, cystatine, ovostatine, ovomucine, phosvitine, Tenp et ovocalyxine 36



90 candidats antibactériens



Molécules antibactériennes de l'œuf: les protéines liant l'héparine

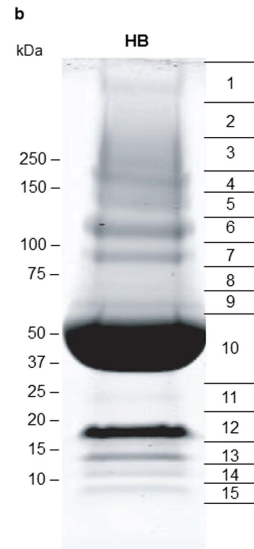


SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Proteomic analysis of egg white heparin-binding proteins: towards the identification of natural antibacterial molecules

Received: 04 January 2016
Accepted: 26 May 2016
Published: 13 June 2016

Nicolas Guyot¹, Valérie Labas², Grégoire Harichaux², Magali Chessé¹, Jean-Claude Poirier¹, Yves Nys² & Sophie Réhault-Godbert¹



Guyot et al., 2016

14 protéines candidates dont 3 connues (lysozyme, avidine, TENP)

Nouveaux candidats:

Pléiotrophine (*L.m*, *S.E*)

VMO-1 (*L.m*, *S.E*)

Ovalbumin-related protein X (*L.m*, *S.E*)

Galline (bêta-défensine) (*E. Coli*)

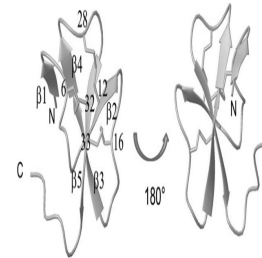
Bêta-défensine 11 (spectre large)

Bêta-microsémipoprotéine (*L.m*, *S.E*)

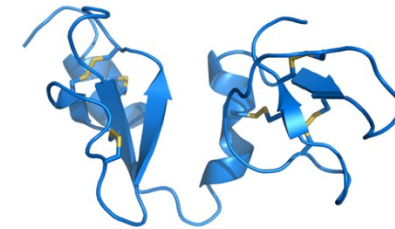
Spécificités de séquence et/ou de structure 3D chez l'oiseau



OVAX 
(F.Coste, données non publiées)

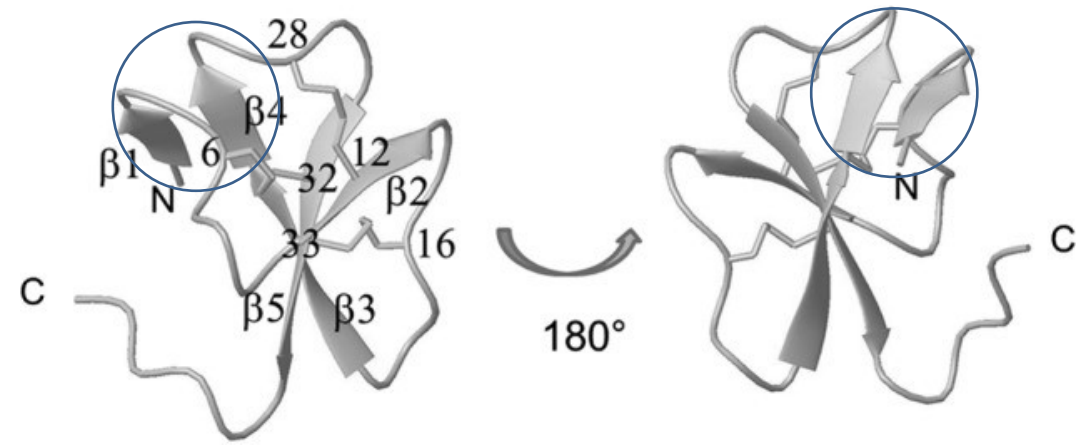


Galline 
(Hervé et al., 2014)



AvBD11 
(H. Meudal, données non publiées)

La galline



Hervé et al., 2014

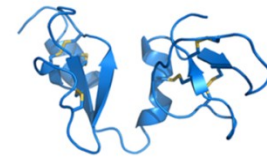
- Une bêta-défensine présentant une structure en 5 brins bêta = nouvelle sous-famille de bêta-défensines
- Molécule très cationique (pI=9,22) mais activité antibactérienne restreinte à *E. coli*

TABLE 1
MIC of synthesized gallin

Bacterial group	MIC ^a (S.E.)	
	Control MSI-94 ^b	Gallin
	μM	μM
Gram-negative		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.32 (0.04)	0.84 (0.03)
<i>E. coli</i> CFT073	ND ^c	1.23 (0.07)
<i>E. coli</i> BEN3578	ND	2.00 (0.81)
<i>S. enterica</i> Enteritidis ATCC 13076	0.28 (0.03)	>53
<i>S. enterica</i> Enteritidis LA5	0.31 (0.05)	>53
<i>S. enterica</i> Typhimurium ATCC 14028	0.29 (0.01)	>53
Gram-positive		
<i>S. aureus</i> ATCC 29740	0.45 (0.07)	>53
<i>L. monocytogenes</i>	0.32 (0.04)	>53

^a The MIC was determined by a radial diffusion assay for each bacterial strain.
^b MSI-94 is a magainin variant used as a positive control.
^c ND, not determined.

Perspectives de valorisation pour traiter des infections à E. coli (Santé humaine et animale)



AvBD11
(H. Meudal,
données non publiées)

- Double défensine
- Une séquence très conservée au sein des oiseaux (absente dans d'autres espèces animales)



N. Guyot, données personnelles

- Mais des spécificités de séquence et de charge possiblement associées à des fonctions renforcées voire différentes

Classe	Ordre	Protéine	pI théorique	
			Domaine 1	Domaine 2
Aves	Galliformes	AvBD11_Gallus	9,34	6,88
		AvBD11_Meleagris	9,34	7,78
	Passeriformes	AvBD11_Zonotrichia	8,92	5,05
		AvBD11_Geospiza	8,92	5,05
		AvBD11_Ficedula	8,92	5,05
		AvBD11-Taeniopygia	8,92	5,05
		AvBD11_Pseudopodoces	8,92	5,05
	Falconiformes	AvBD11_Falco	8,92	5,31
	Columbiformes	AvBD11_Columba	9,55	4,72
Anseriformes	AvBD11_Anas	9,15	8,65	



N. Guyot, données personnelles

L'AvBD11 (2/2)

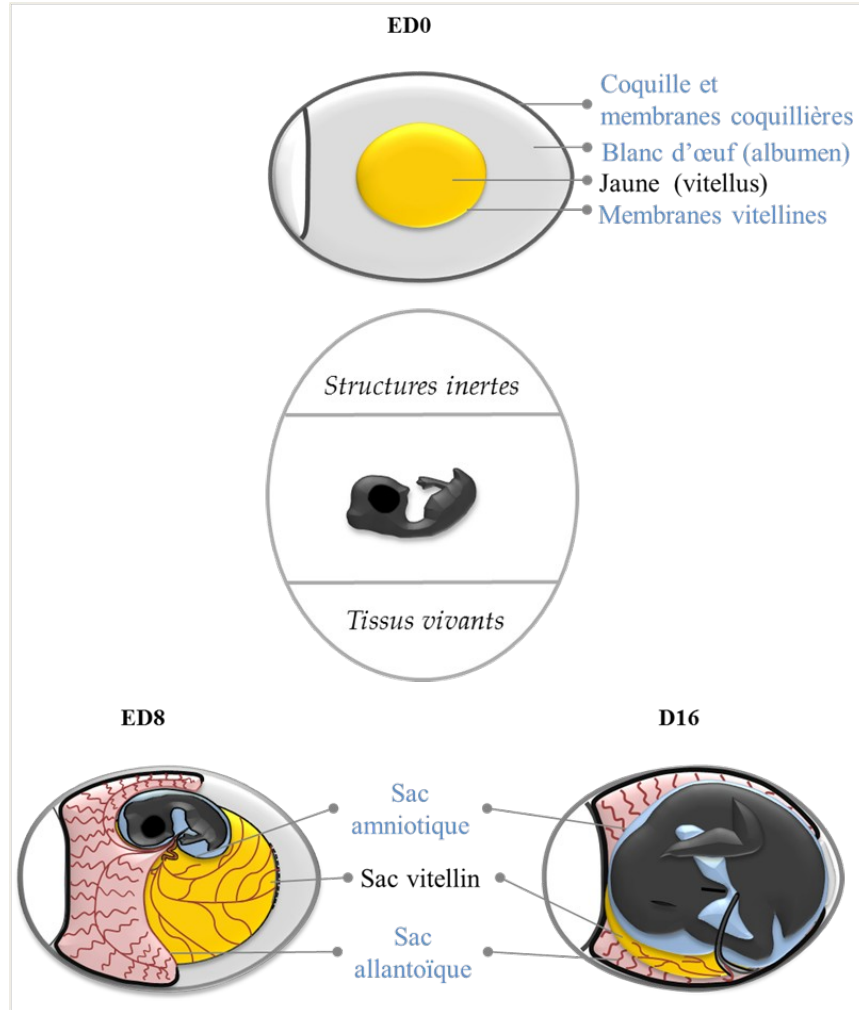
AvBD11 d'œuf de poule *versus* œuf de cane

Domaine 1 : 9,3 Domaine 2 : 6,9	 AvBD11 (H. Meudal, données non publiées)	Domaine 1 : 9,1 Domaine 2 : 8,6
		
N. Guyot IA 2017-2019		

Criblage des activités antibactériennes, antivirales et antiparasitaires

Perspectives de valorisation pour traiter des infections microbiennes variées (comme alternatifs aux antibiotiques notamment)

Conclusions

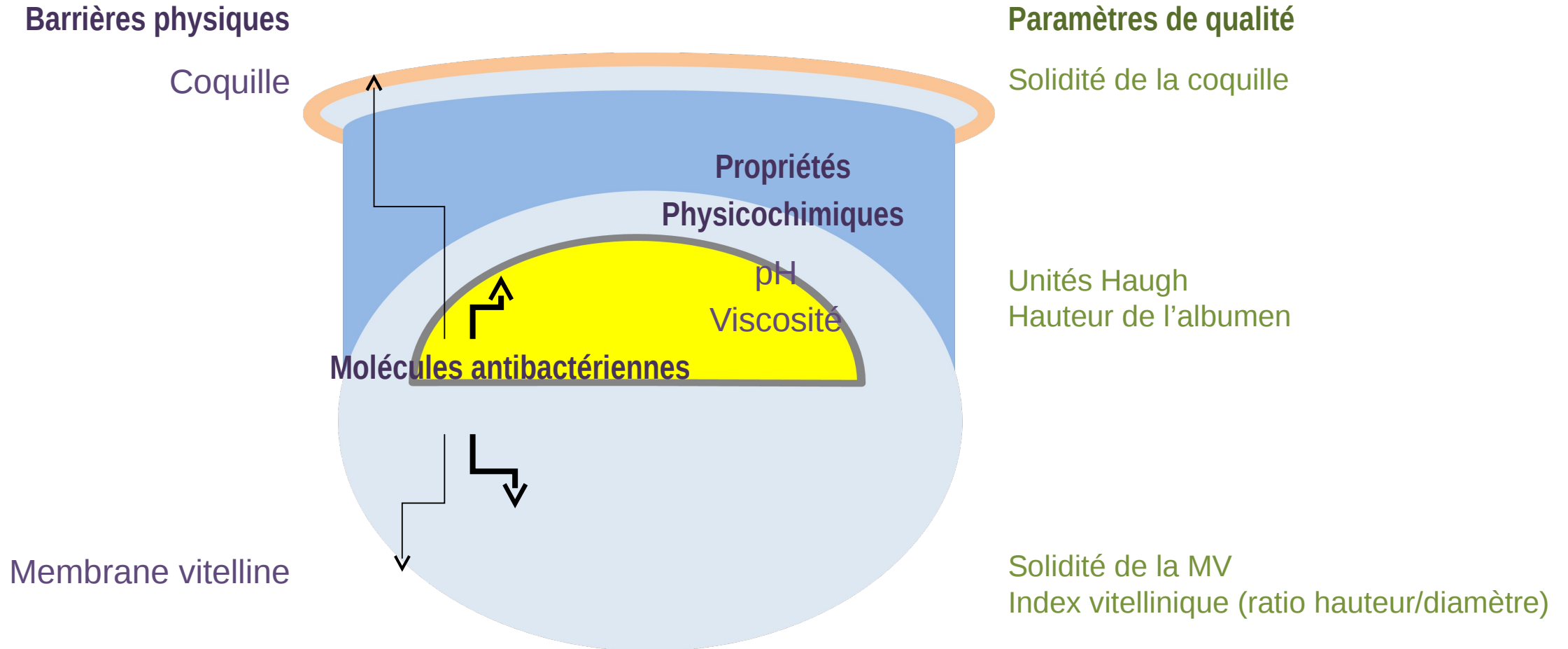


- De très nombreux candidats antibactériens identifiés dont la plupart reste à caractériser
- Des molécules retrouvées que chez les oiseaux et des séquences (structures/fonctions?) propres à certaines espèces d'oiseaux

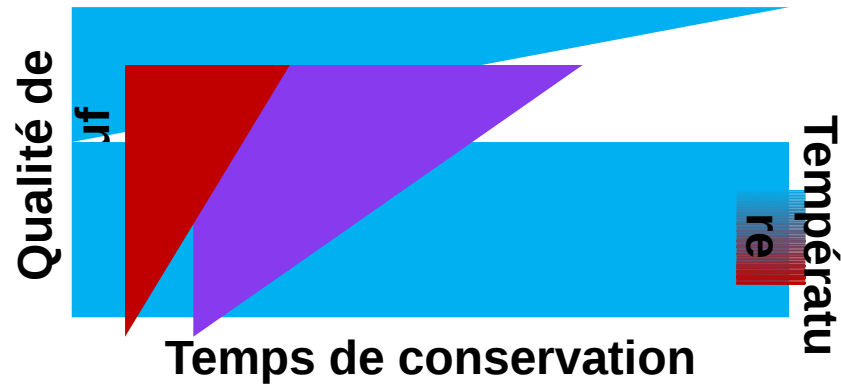
Activation/altération au cours du développement embryonnaire?
Transfert vers d'autres compartiments

- De nouvelles molécules antimicrobiennes activées/secrétées par l'embryon ou les structures extraembryonnaires (*thèse M. Da Silva 2014-2017*) (ex: interféron gamma identifié en 1957 par Isaacs et Lindenmann après infection du virus de la grippe sur le sac allantoïque = traitement maladies virales, cancers et maladies autoimmunes)
- De nouvelles activités à explorer (en lien avec l'angiogenèse et la morphogénèse, par exemple)

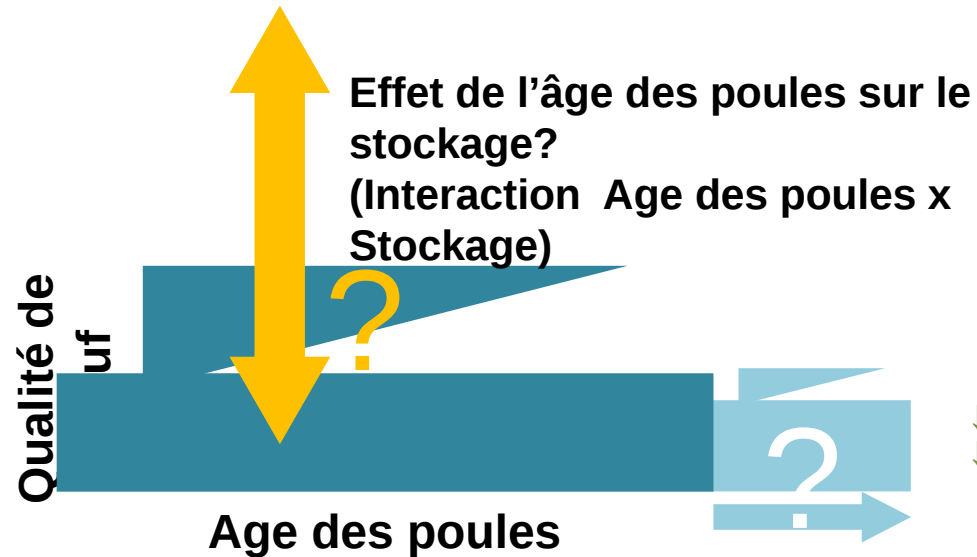
Défenses naturelles & Qualité de l'œuf



Facteurs de variabilité de la qualité de l'œuf



- ↓ Unités Haugh/Hauteur de l'albumen
- ↓ Solidité de la MV
- ↓ Index vitellinique



- ↓ Solidité de la coquille
- ↓ Unités Haugh

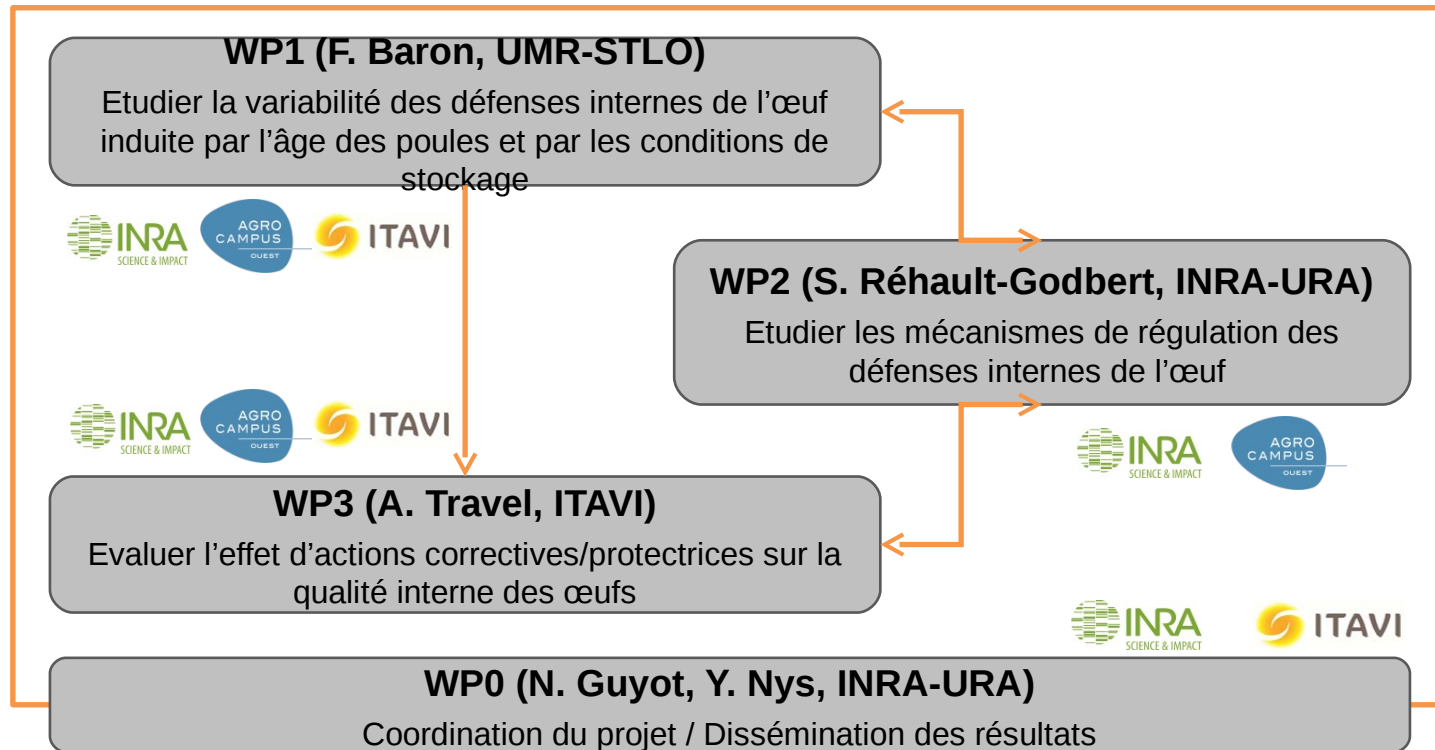
Impact de l'allongement de la durée de ponte sur la qualité et les défenses de l'œuf?

Enjeux sanitaires et économiques:

- Risques de toxi-infection
- Œufs déclassés
- Mauvaise séparation blanc-jaune (ovoproduits)

Projet ELIPSE (Enhance the Level of Internal Protections of Shell Eggs)

Dépôt à l'AAP ANR 2018 ?



Paramètres étudiés:

Blanc:

- pH
- Hauteur de l'albumen / unités Haugh
- Ovalbumine S
- Masse/Volume
- Concentration protéique et profil protéique
- Activités antibactériennes

MV/Jaune:

- Masse
- Index vitellinique
- Elasticité et résistance à la rupture de la MV
- Profil protéique de la MV

Méthodes correctives/protectrices:

Séquences de T°C

Atmosphère enrichie en CO2

Nutrition des poules

5 partenaires: INRA-URA (coord), INRA-PAIB2, INRA-PEAT, UMR-STLO, ITAVI

Durée du projet: 3 ans

Demande de soutien du **pôle de compétitivité VALORIAL**