



**HAL**  
open science

## Identification de molécules participant à la protection antimicrobienne de l'œuf par analyse protéomique ou transcriptomique

Joël Gautron, Sophie Réhault-Godbert, Valérie Labas, Karlheinz Mann, Yves Y. Nys

### ► To cite this version:

Joël Gautron, Sophie Réhault-Godbert, Valérie Labas, Karlheinz Mann, Yves Y. Nys. Identification de molécules participant à la protection antimicrobienne de l'œuf par analyse protéomique ou transcriptomique. Demi-journée scientifique: La protéomique et Métabolomique au Service de la Recherche Biomédicale, Jun 2011, Tours, France. hal-02744556

**HAL Id: hal-02744556**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02744556>**

Submitted on 3 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.

# Identification de molécules participant à la protection antimicrobienne de l'œuf par analyse protéomique ou transcriptomique

**J. Gautron, Sophie Réhault Godbert, Y. Nys**

INRA, Fonction et régulation des protéines de l'œuf, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly

**K. Mann**

Max planck institute fur biochemie, Martinsried, Allemagne

**V. Labas**

INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, PAIB, Laboratoire de spectrométrie de masse, F-37380 Nouzilly



La protéomique et Métabolomique  
au service de la Recherche Biomédicale  
Tours 21 juin 2011

ALIMENTATION  
AGRICULTURE  
ENVIRONNEMENT



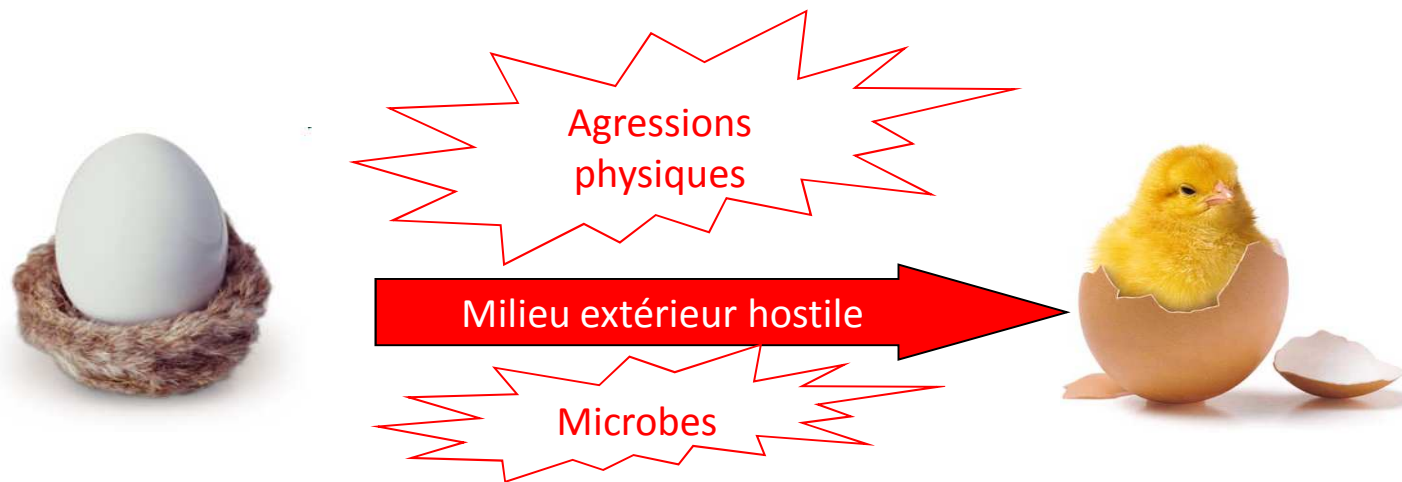
# L'œuf des oiseaux

**Chambre isolée pour permettre le développement de l'embryon**

**Doit contenir la totalité des composants nécessaires au développement embryonnaire**

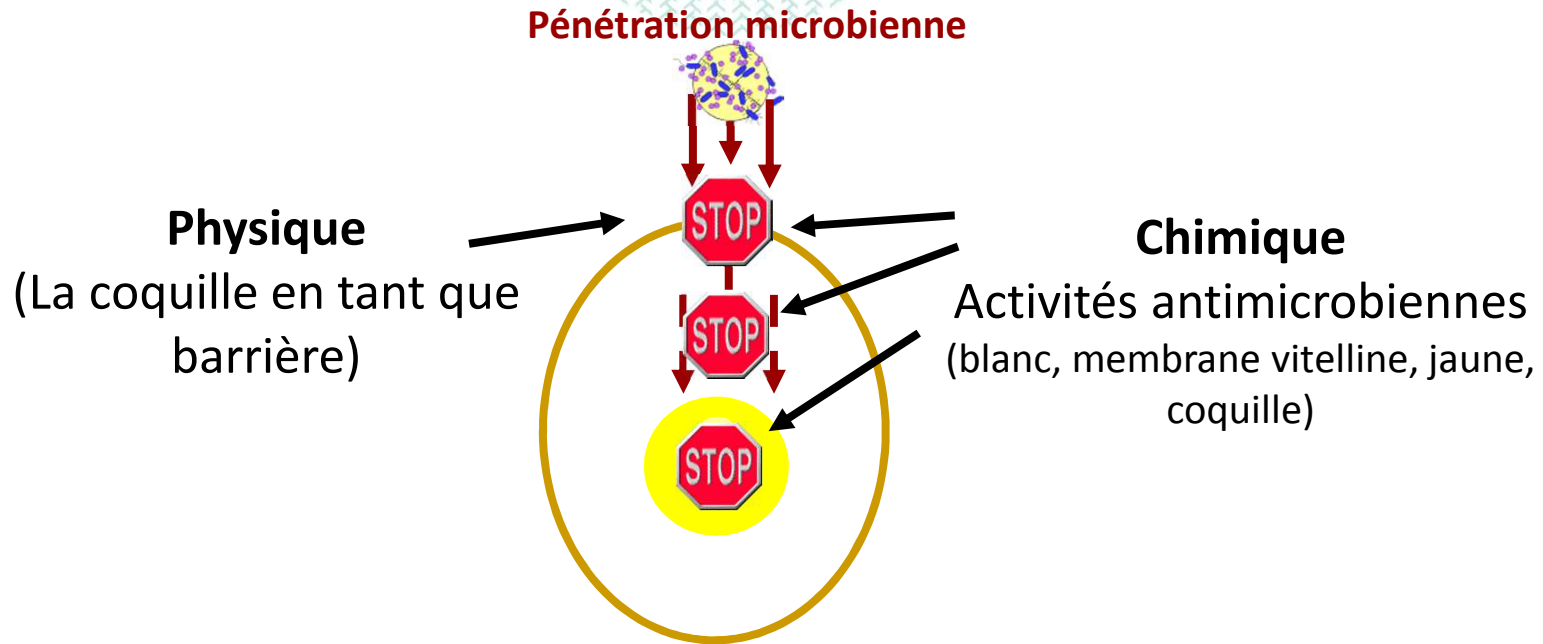
→ **Éléments nutritionnels parfaitement équilibrés**

**Ingrédient de base pour la consommation humaine**



→ **Systèmes de protection (défenses naturelles de l'œuf )**

# Les défenses naturelles de l'œuf



- Protection de l'embryon
- Qualité hygiénique des œufs de consommation



**Toxi-infections humaines**

**Comprendre et améliorer les défenses naturelles de l'œuf**

# Identification des protéines de l'œuf

## Les techniques classiques

➤ Biochimie (Fractionnement des composés de l'œuf par chromatographie, électrophorèses...) et biologie moléculaire

→ 2006, environ 50 protéines de l'œuf

## Les développements récents

➤ 2004, publication de la séquence génomique de la poule (*Gallus gallus*) (2004)

➤ 2009, plus de 630 000 transcrits fonctionnels identifiés (banques cDNA et ESTs)

➤ Développement des techniques "omiques" et des outils de fouilles de données

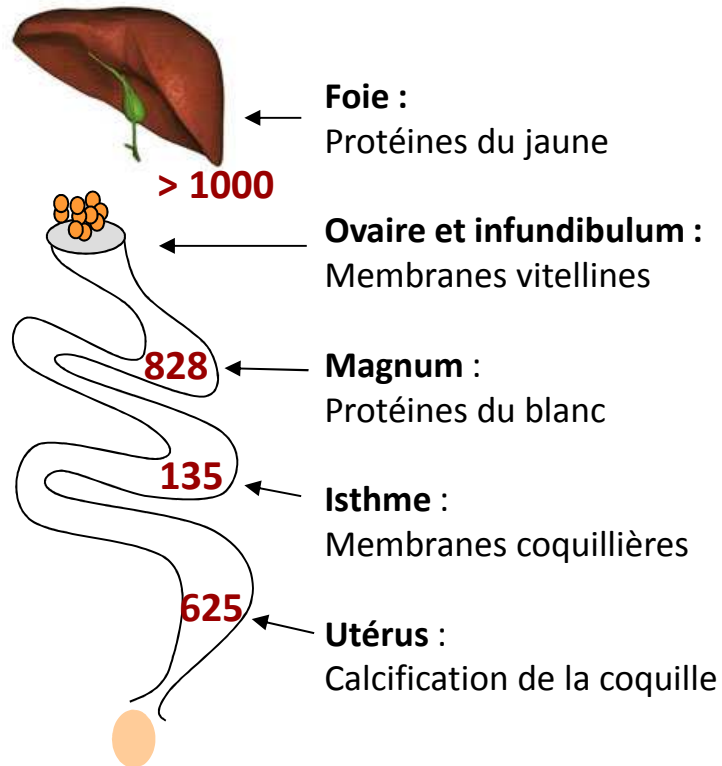
(Mann et al., 2003, 2006, 2007, 2008, 2011 Guérin-Dubiard et al., 2006, D'Ambrosio et al., 2008, D'Alessandro et al., 2010, Farinazzo et al., 2009, Jonchere et al., 2010)

→ 2010, environ 1000 protéines connues dans l'œuf

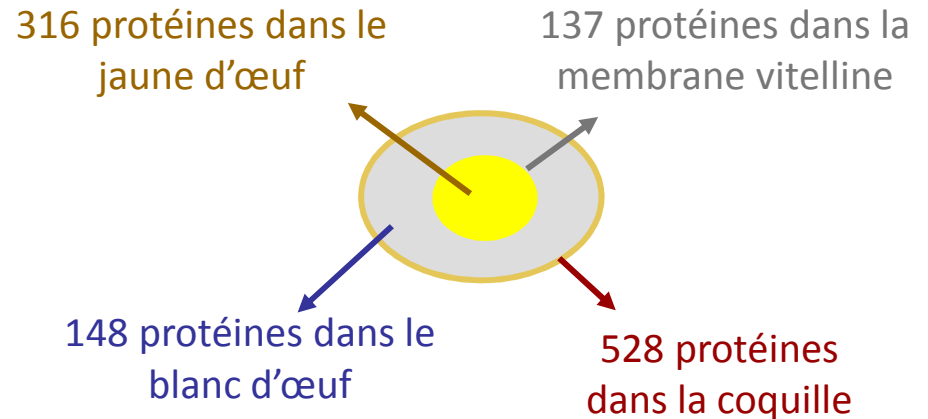
**Caractériser les activités biologiques de ces protéines, un challenge en cours de réalisation**

# Les développements récents

→ Approche transcriptomique



→ Approche protéomique



- ✓ **Intégration des données protéomiques et transcriptomique**
- ✓ **Intégration des données de la littérature sur l'œuf**
- ✓ **Utilisation des bases de données, des outils de bioinformatique et de text-mining**

# Caractériser les activités biologiques de l'œuf

## → Identifier de nouveaux acteurs

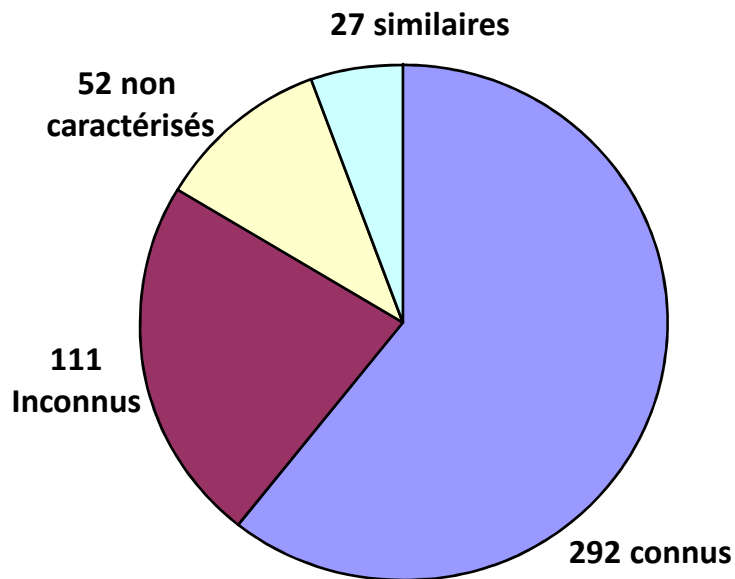
✓ Recherche de domaines fonctionnels spécifiques, d'homologues...

Interrogation de bases de données

(Ensembl, SIGENAE, AgBase, Entrez-NCBI, Uniprot, EBI...)

Classement par ontologies

(Gene ontology)



Produits des gènes du blanc d'œuf

GO:0016787	hydrolase activity	20
GO:0003824	catalytic activity	18
GO:0005488	binding	15
GO:0016740	transferase activity	13
GO:0005515	protein binding	12
GO:0000166	nucleotide binding	10
GO:0008233	peptidase activity	8
GO:0003677	DNA binding	7
GO:0030234	enzyme regulator activity	7
GO:0004872	receptor activity	6
GO:0003700	sequence-specific DNA binding transcription factor activity	4
GO:0003674	molecular_function	3
GO:0004518	nuclease activity	3
GO:0005509	calcium ion binding	3
GO:0030528	transcription regulator activity	3
GO:0003676	nucleic acid binding	2
GO:0004672	protein kinase activity	2
GO:0005102	receptor binding	2
GO:0008092	cytoskeletal protein binding	2
GO:0016301	kinase activity	2
GO:0003723	RNA binding	1
GO:0004721	phosphoprotein phosphatase activity	1
GO:0004871	signal transducer activity	1
GO:0005198	structural molecule activity	1
GO:0005215	transporter activity	1
GO:0008135	translation factor activity, nucleic acid binding	1
GO:0008289	lipid binding	1
GO:0009055	electron carrier activity	1

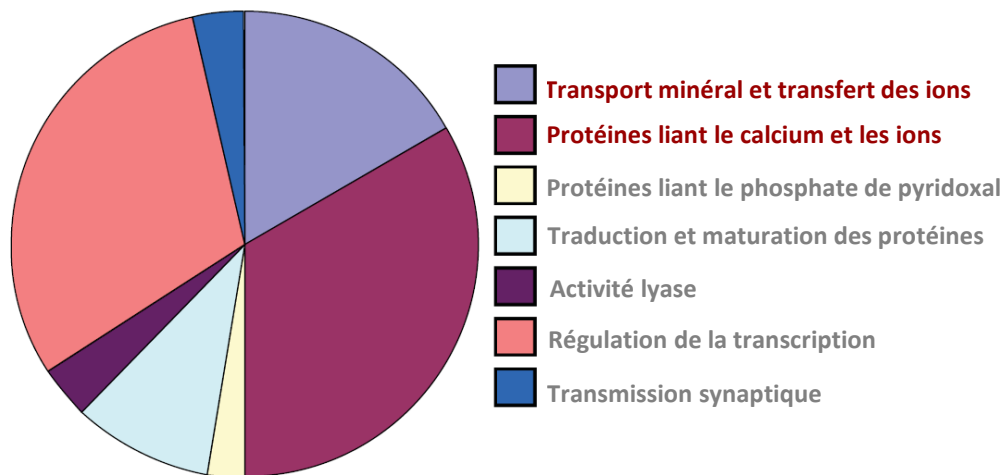


# Caractériser les activités biologiques de l'œuf

→ Identifier de nouveaux acteurs

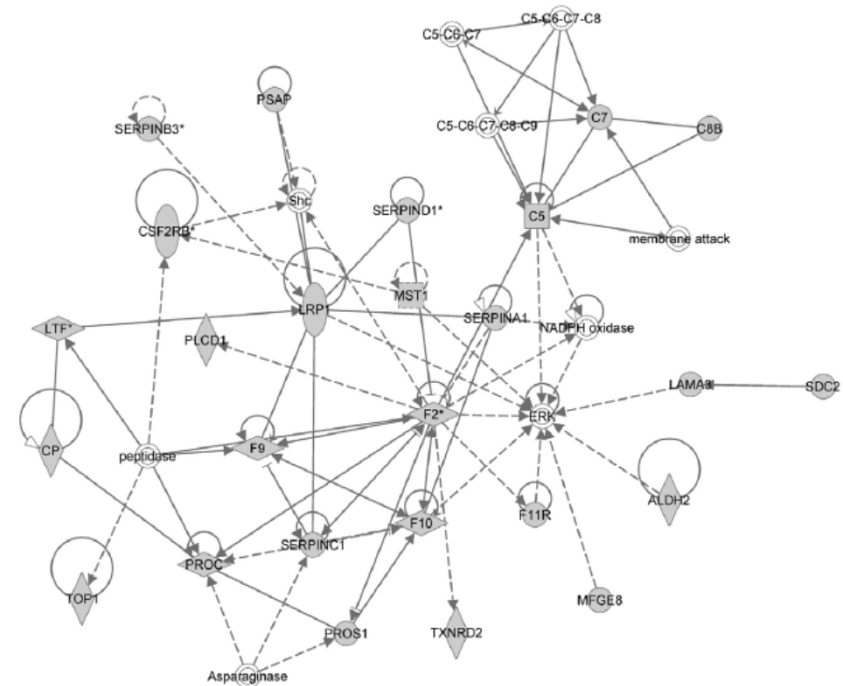
✓ Recherche de domaines fonctionnels spécifiques, d'homologues...

Enrichissement  
(Genomatix, David, Ease...)



Transcrits associés à la calcification de la coquille

Construction de réseaux moléculaires  
(Genomatix, IPA, Pathway studio...)



Protéines du jaune d'œuf



# Caractériser les activités biologiques de l'œuf

- ✓ Intégration des données protéomiques et transcriptomique
- ✓ Intégration des données de la littérature sur l'œuf
- ✓ Outils de fouille de données

## → Classification par types d'activité et mécanismes d'action

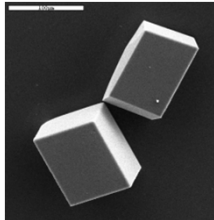
- Protéines impliquées dans le développement embryonnaire  
(*Remodelage tissulaire, angiogenèse ...*)
- Protéines impliquées dans le transport de molécules  
(*Minéraux, lipides, vitamines...*)
- Protéines à application agro-alimentaire, pharmaceutique, technologique...  
(*Propriétés émulsifiantes, moussantes, antioxydantes, antibiotiques naturels...*)

- Protéines impliquées dans la biominéralisation de l'œuf (Défense physique)
- Protéines impliquées dans les défenses moléculaires de l'œuf (Défense chimique)

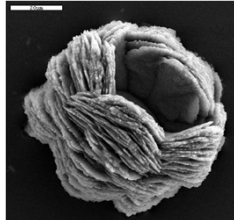
# La coquille (défense physique)

→ 95% de carbonate de calcium sous forme de calcite

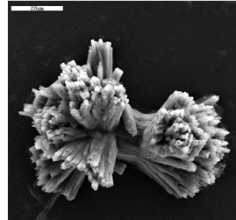
Calcite



Aragonite



Vatérite



Interaction

Quantité

**Propriétés mécaniques**

- Environ 300  $\mu\text{m}$  d'épaisseur
- Résiste à 4 kg de pression

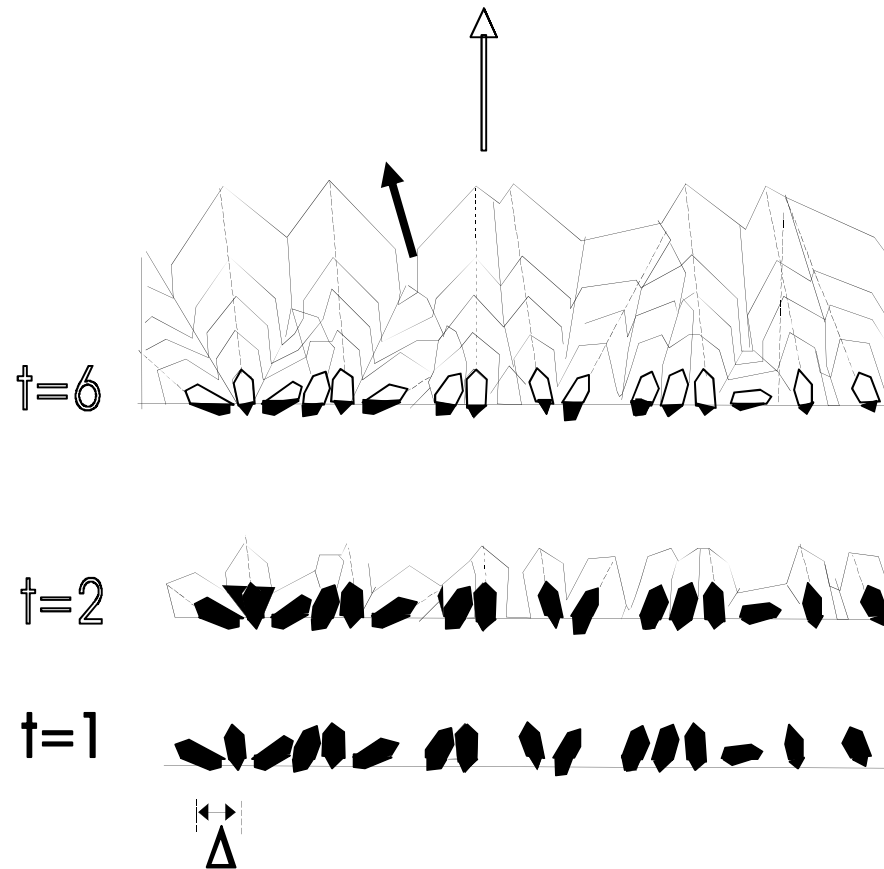
Contrôle du processus de calcification

→ 3,5% de matière organique (matrice organique)

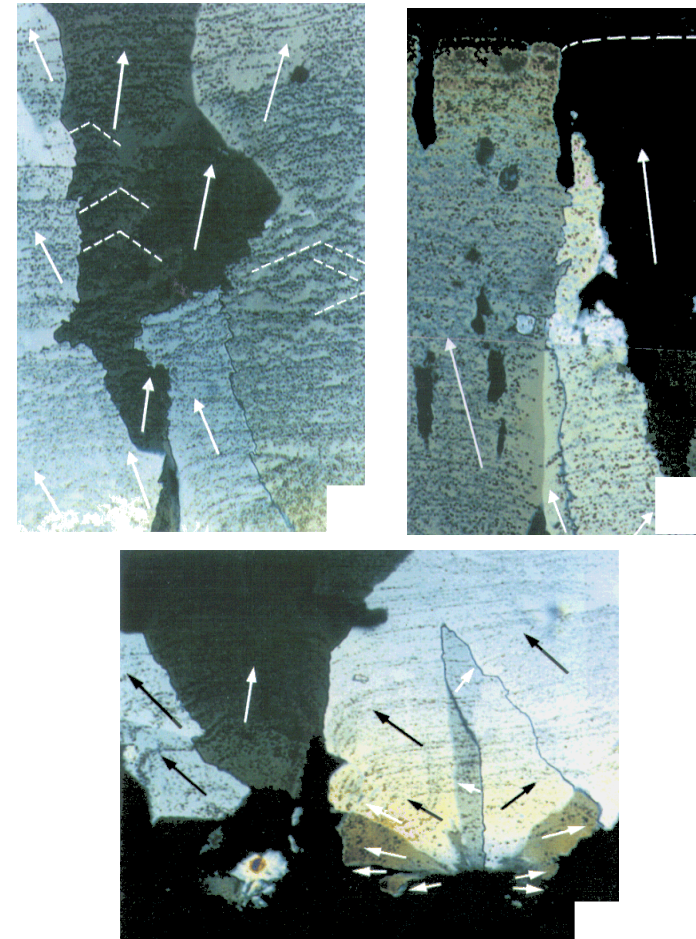
*Protéines et protéoglycanes*

# La coquille (défense physique)

Séquence temporelle de la nucléation, de la croissance et génération d'une orientation privilégiée des cristaux et de la microstructure

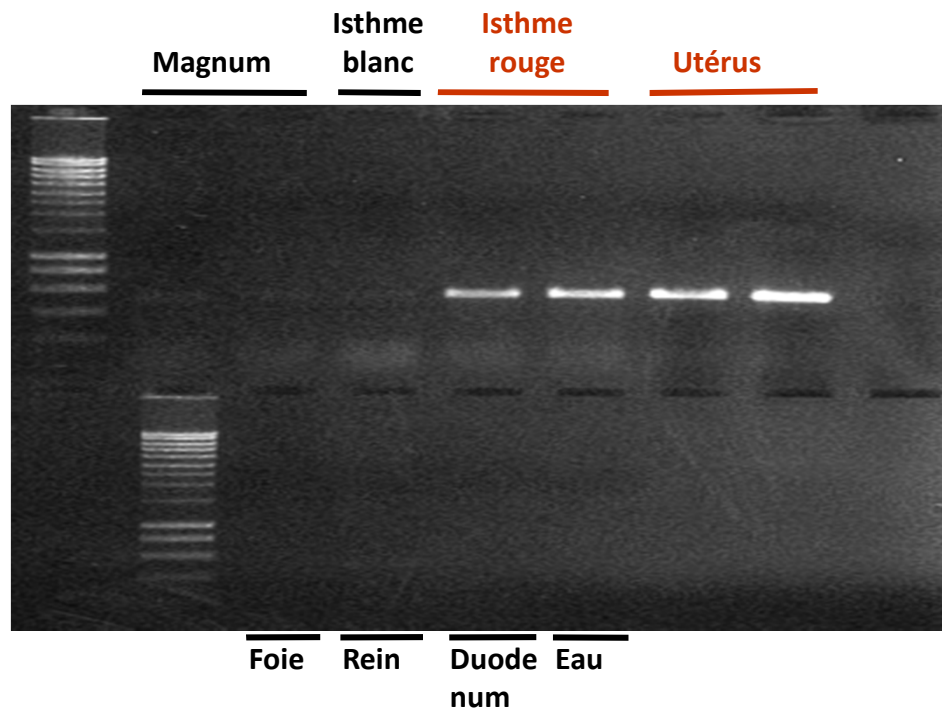


C. R. Palevol (2004), 3, 549-562

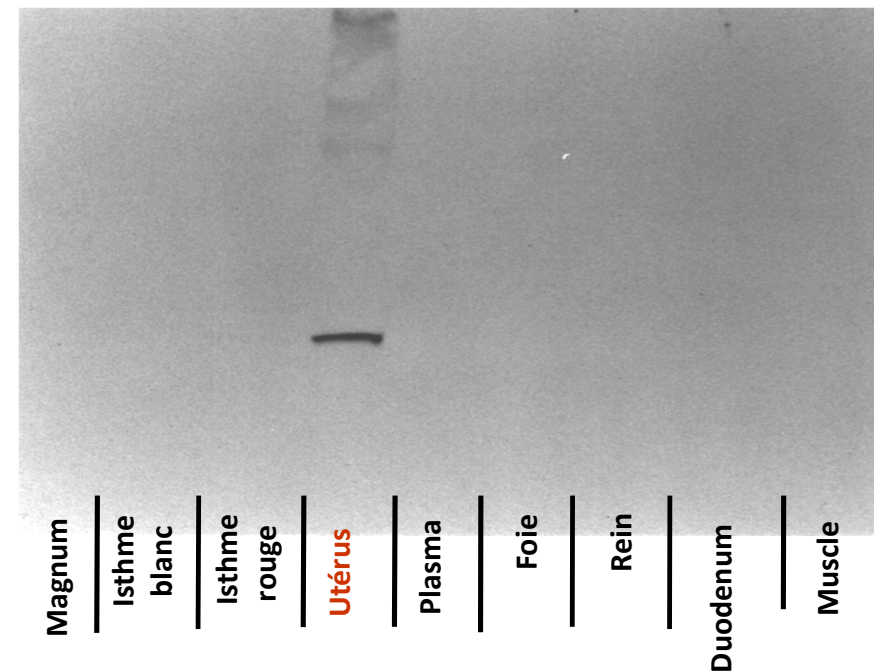


# Les protéines spécifiques de la coquille

- **Ovocleidin -116** (*J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 32915-32923)
- **Ovocalyxines -25 et -21** (*Bioactive egg compounds*, 109-115. Springer-Verlag (Ger))
- **Ovocalyxine -32** (*J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 39243-39252)
  - Nouvelles séquences protéiques non identifiées au préalable
  - Uniquement exprimées dans les tissus où se forme la coquille



RT-PCR de l'ovocalyxine-32



Western blot de l'ovocalyxine-32

# Défenses moléculaires de l'œuf

- Utilisation des outils de prédiction de fonctions des protéines identifiées (transcriptomique et protéomique)
- Extraction des identifiants UniProt/Kb
- Recherche de fonctions, de domaines, de motifs retrouvés dans des protéines antimicrobiennes et protectrices connues

→ De 12 en 2009 à 141 protéines en 2011



## Protéines antimicrobiennes

- action directe (dégradation)
- action indirecte
  - inhibition de protéines microbiennes
  - chélation de molécules nécessaires à la prolifération bactérienne

## Autres molécules protectrices

- Protéines anti-oxydantes -
- Cytokines
- Protéines chaperonnes

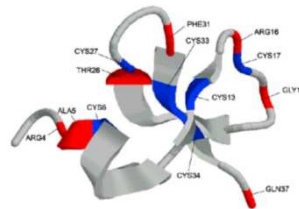


# Protéines antimicrobiennes

## Peptides antimicrobiens

### *Beta-défensines aviaires*

Peptides cationiques  
6 cystéines impliquées dans trois ponts disulfures  
Activité antimicrobienne large



### *Protéines histones*

Protéines basiques constitutives  
des nucléosomes,  
Impliquées dans la défense innée  
Activité antibactérienne large

#### Nom

#### Localisation

##### *Beta-défensines*

AvBD-11	C, B, MV
AvBD-10	C
Galline	B
AvBD-9	Ut

##### *Protéines histones*

Histone H2A.Z	C, B, J
Similar to Histone protein	B
Histone H1	B
Histone H2A-III	C, B, J
Histone H2A	J
Histone H4	C, J
Histone H2A-VIII	C
Histone H2A-IV	C, B, J
Histone H2A.J	C, J
Histone H2A.V	C, J
Histone H2B 1/2/3/4/6	J
Histone H2B 5	J
Histone H2B 8	J
Histone H4 type VIII	C, J

# Autres Molécules protectrices

## Protéines chaperonnes

- Participation à la conformation des protéines, réactivation de protéines malformée ou dénaturées
- Régulation du processus de biominéralisation acellulaire

Protéines	Localisation
<b>Protéines "Heat shock"</b>	
Heat shock protein HSP 90-alpha	C
Heat shock 70 kDa protein	C, J
Heat shock cognate 71 kDa protein	C, J, MV
Heat shock cognate protein HSP 90-beta	C
Heat shock protein 10	C
Putative uncharacterized protein HSP70	C
78 kDa glucose-regulated protein	C, B, Ut
Endoplasmine	Ut
<b>Autres protéines chaperone</b>	
LDLR chaperone MESD	C
DnaJ homolog subfamily C member 3	C
Lysosomal alpha-mannosidase	Ut
Calnexine	Ut
FK506-binding protein 9	Ut
Clusterine	C, B, MV
Ovocalyxine-21	C, Ut
<b>Catalyseurs de ponts disulfures</b>	
Protein disulfide-isomerase	C
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	C, B, MV
Sulfhydryl oxidase 1	C, B, MV

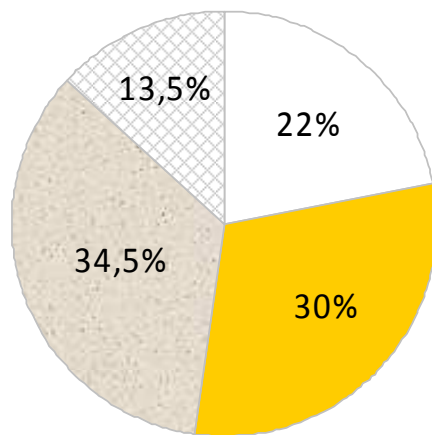


# Défenses moléculaires de l'œuf

141 molécules susceptibles de jouer un rôle dans la défense de l'œuf

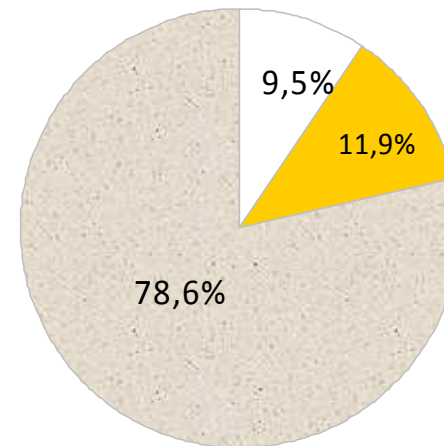
- Protection de l'embryon
- Qualité hygiénique des œufs de consommation

## Protéines antimicrobiennes



- Blanc
- Jaune
- Coquille
- ▣ Membrane vitelline

## Autres molécules protectrices



# Conclusions

- Source majeure de composés avec un large spectre d'activités biologiques dans le jaune, la membrane vitelline, le blanc et la coquille
- Les outils de type « omique » ont permis d'identifier et de caractériser des centaines de nouveaux constituants
- Potentiel pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires et pour la santé humaine et animale
- La caractérisation fonctionnelle de ces centaines de nouveaux constituants est le challenge en cours de réalisation

Caractérisation de molécules  
biologiquement actives

Renforcement des  
défenses naturelles

Valorisation alimentaire et non alimentaire de l'œuf

# Equipe FRPO

## Chercheurs



Yves NYS  
Responsable



Joël  
GAUTRON



Sophie REHAULT  
-GODBERT



Nicolas  
GUYOT

## Doctorants



Larbi  
BEDRANI



Marie  
BOURIN

## AI - TR



Aurélien  
BRIONNE



Maryse  
MILLS



Jean-Claude  
POIRIER



Magali  
BERGES



Cédric  
CABAU



Angélique  
TRAVEL