



HAL
open science

Régulation transcriptionnelle dans un génome réduit symbiotique : réduite ou active ? Réponse de la voie de biosynthèse à un stress en leucine chez le symbiote primaire du puceron du pois

Yvan Rahbé

► To cite this version:

Yvan Rahbé. Régulation transcriptionnelle dans un génome réduit symbiotique : réduite ou active ? Réponse de la voie de biosynthèse à un stress en leucine chez le symbiote primaire du puceron du pois. Séminaire "Plante et Environnement", Cluster de recherche Rhône-Alpes "Qualité des plantes, agricultures, acteurs et territoires". Villeurbanne, FRA., Jun 2008, Lyon, France. 27 diapos. <hal-02812507>

HAL Id: hal-02812507

<https://hal.inrae.fr/hal-02812507v1>

Submitted on 6 Jun 2020

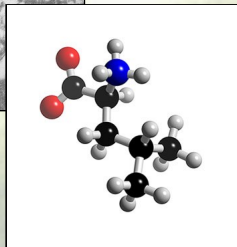
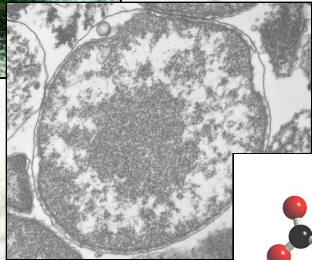
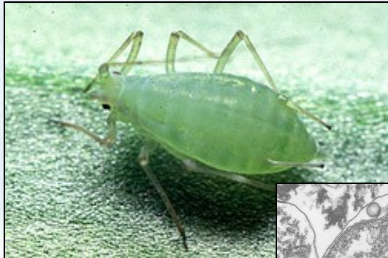
HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

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.



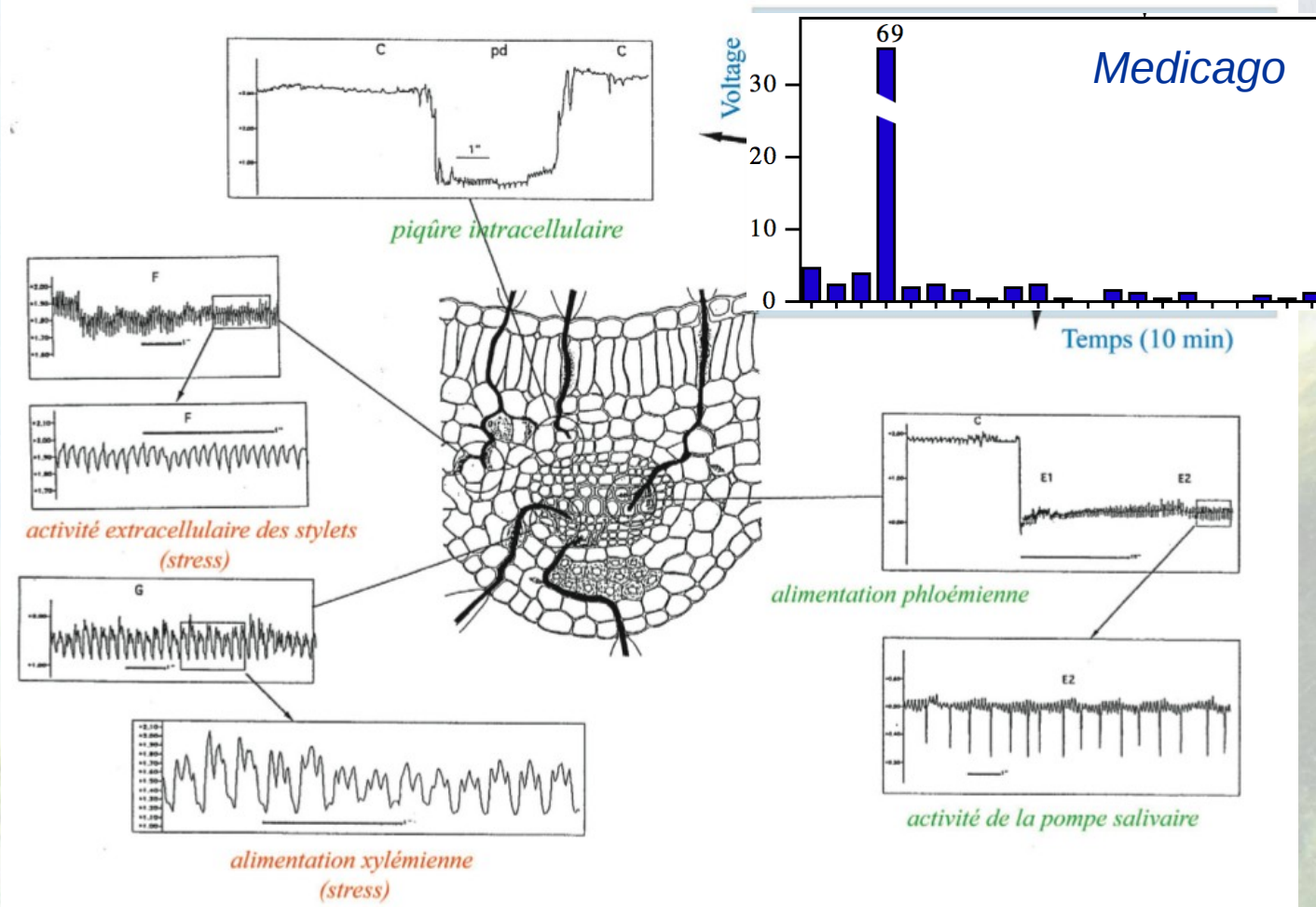
HAL Authorization

Régulation transcriptionnelle dans un génome réduit symbiotique: réduite ou active ?



Réponse de la voie de biosynthèse à un stress en leucine chez le puceron du pois

Le modèle puceron - *Buchnera*: 1: Une niche trophique unique, la sève phloémienne

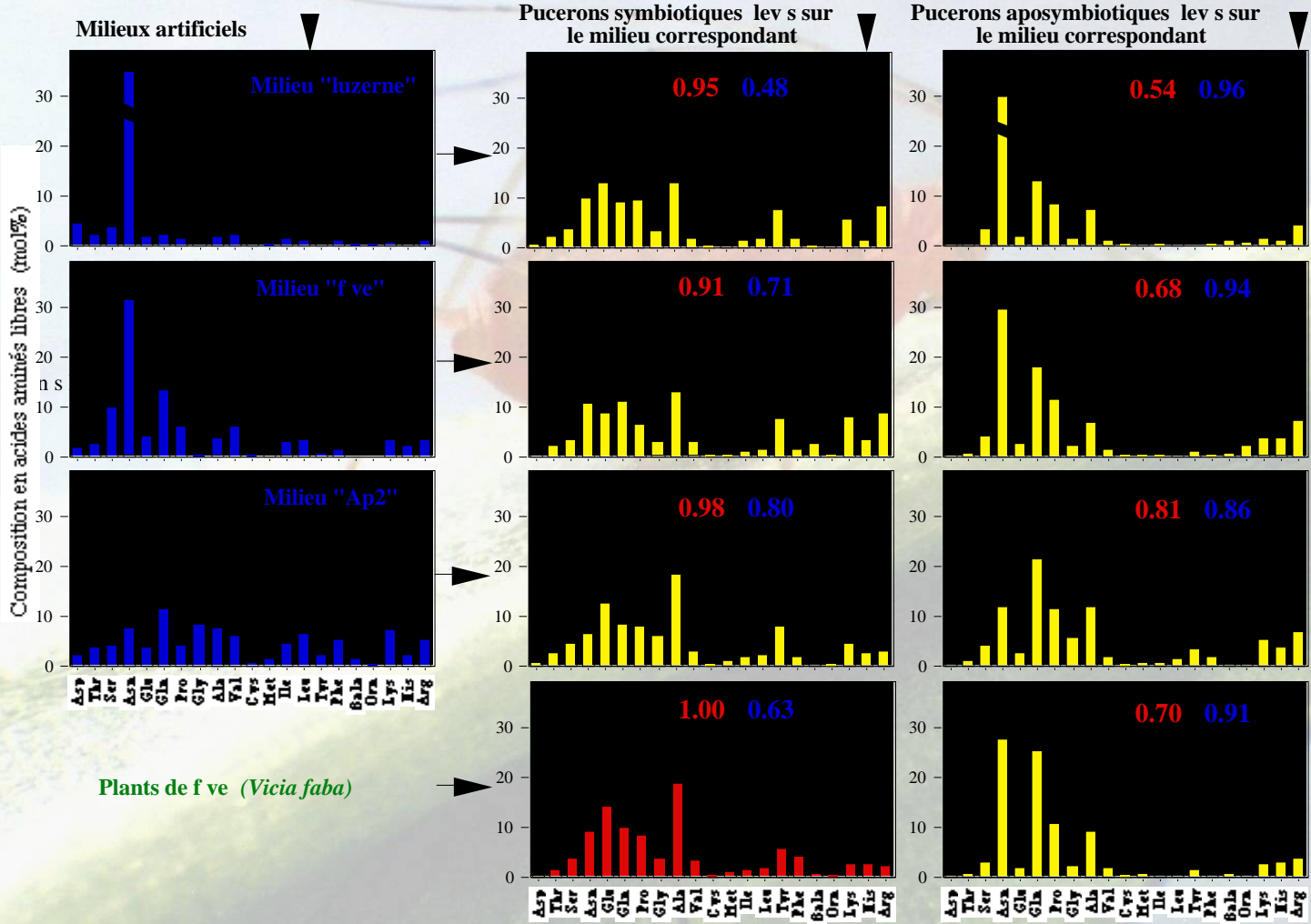


Le modèle puceron - *Buchnera*:

2: Le phloème, une équilibre azoté particulier.

La fonction homéostatique de *Buchnera*.

Compositions en acides aminés libres et coefficients de similarité



- Demande en leucine
 - Les embryons parthénogénétiques: des puits à leucine ?
 - Le phloème: une compétition pour la leucine ?
- Aposymbiose et hypoleucinémie
- La plupart des lignages de *Buchnera* possèdent un plasmide Leucine.

Le modèle puceron - *Buchnera*: 4: L'évolution du plasmide leucine chez *Buchnera*

R. Gil et al. / Gene 370 (2006) 17–25

19

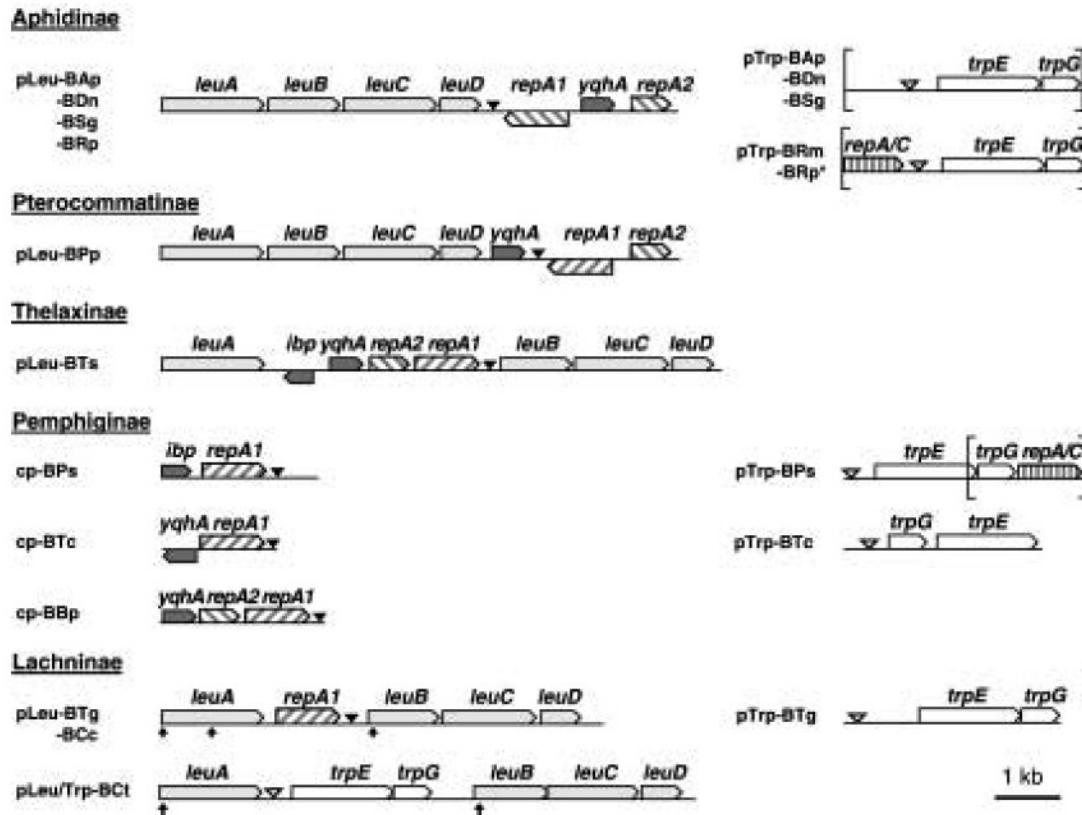


Fig. 1. Linearized physical maps of the different types of plasmids identified in *B. aphidicola* strains belonging to aphids from different subfamilies. Arrowheads indicate the position of the origin of replication (▼, RepA-replicon type; ▽, RepA/C-replicon type). For the pTrp plasmids, the region amplified in tandem repeats appears within brackets. See Table 1 for *B. aphidicola* strains code. * In pTrp-BRp, repA/C is a pseudogene. Chi-like sites identified in this work are indicated (♣). In pLeu-BCc the indicated Chi-like sites present nucleotide substitutions compared with the consensus sequence. White boxes, tryptophan genes; light grey boxes, leucine cluster; dark grey boxes, additional genes; dashed boxes, rep genes.

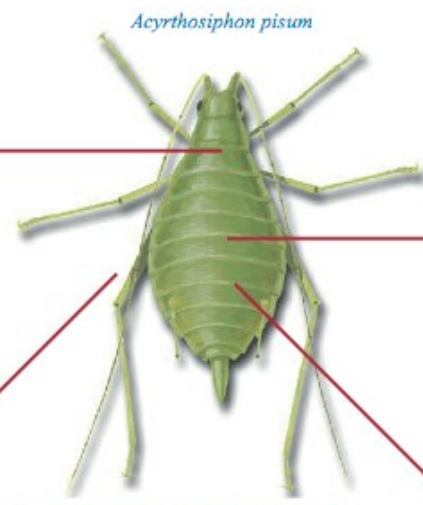
Le modèle puceron - *Buchnera*:

5: Le modèle biologique du puceron du pois.

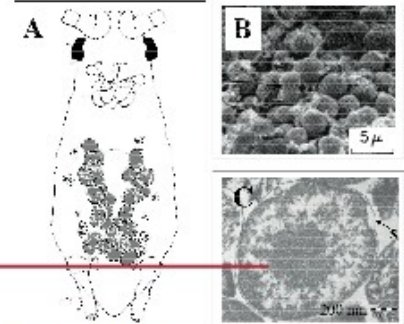
Un étonnant micro-écosystème microbien



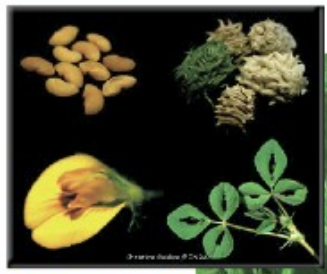
Aphidius ervi



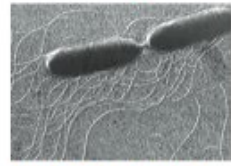
Acyrthosiphon pisum



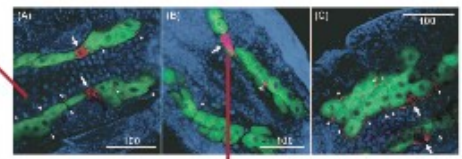
Buchnera aphidicola



Medicago truncatula



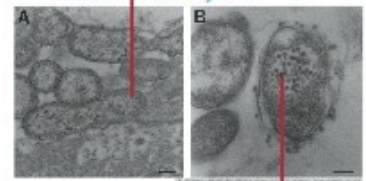
Sinorhizobium meliloti



Serratia symbiotica

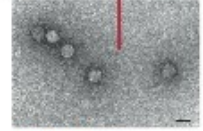
Regiella insecticola

Hamiltonella defensa



Rickettsia sp.

Spiroplasma sp.

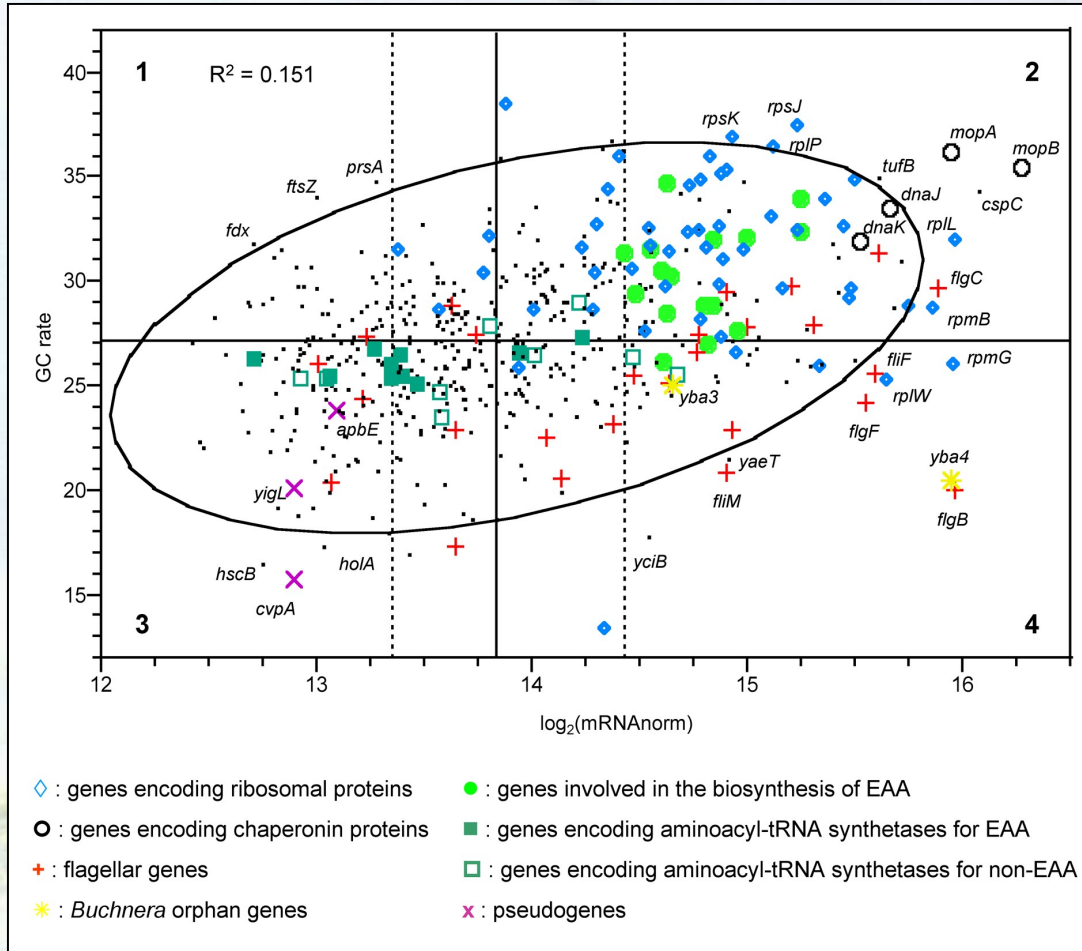


APSE2 phage

La question biologique

- Quels sont les déterminants moléculaires de la fonction homéostatique de *Buchnera* ?
- *Buchnera* a t'elle conservé des capacités de régulation (transcriptionnelles) dans une voie centrale de la relation trophique ?
- En particulier, quels sont les caractéristiques de la réponse plasmidique (pLeu) à des stress en leucine ?

Le fardeau évolutif de *Buchnera*: 1- Expressivité et évolution génique (biosynthèse AA flagelle)



- Corrélation globale entre évolution génique et expressivité
- Surexpression des chaperones, des protéines ribosomales, des gènes de biosynthèse des AA
- Différenciation de AA-tRNA synthétases (EAA, nEAA)
- Surexpression atypique des gènes du flagelle

Le fardeau évolutif de *Buchnera*: 2- Réponse à un stress aromatique (absence de réponse simple)

GLOBAL GENE EXPRESSION PROFILING IN *BUCHNERA* SPP. 7763

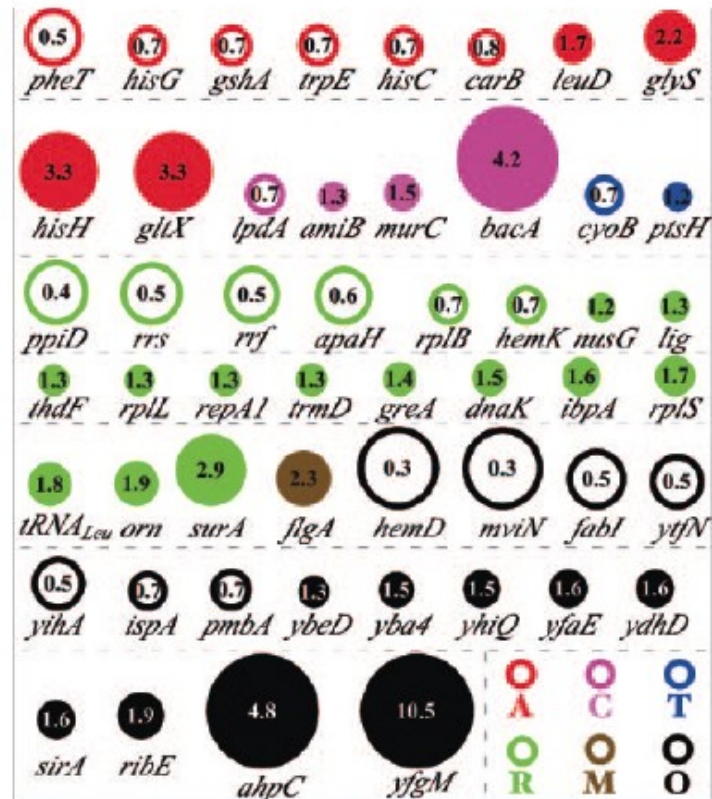


FIG. 3. Differentially expressed genes of experiment 1. Open circles are downregulated genes, and plain circles are upregulated genes. Circle diameters are proportional to the change (n -fold) of the gene (except *yfgM*). Changes (n -fold) to one decimal place are also reported within circles. Gene colors correspond to their GO classes. A, amino acids and derivative metabolism, GO0006519; C, carbohydrate metabolism, GO0005975; T, transport, GO0006810; R, RNA, nucleic acid, and protein metabolism, GO0006139, GO0016070, GO0019219, GO0019538; M, cellular morphogenesis, cell motility, GO000902, GO0006928; O, others.

Le fardeau évolutif de *Buchnera*: 3- Conservation d'une organisation génomique de l'expressivité

BMC Genomics BioMed Central

Research article Open Access

Conservation of the links between gene transcription and chromosomal organization in the highly reduced genome of *Buchnera aphidicola*

José Viñuelas^{1*}, Federica Calevro¹, Didier Remond², Jacques Bemillon³, Yvan Rahbé¹, Gérard Febvay¹, Jean-Michel Fayard¹ and Hubert Charles¹

Address: ¹UMR 203 Biologie Fonctionnelle Insectes et Interactions, IFB41, INRA, INSA-Lyon, F-69621 Villeurbanne, France, ²Laboratoire de Dynamique des Machines et des Structures, INSA-Lyon, F-69623 Villeurbanne, France and ³DTAMB, Université Claude Bernard Lyon-1, F-69622 Villeurbanne, France

Email: José Viñuelas* - jose.vinuelas@insa-lyon.fr; Federica Calevro - federica.calevro@insa-lyon.fr; Didier Remond - didier.remond@insa-lyon.fr; Jacques Bemillon - jbermill@biomerv.univ-lyon1.fr; Yvan Rahbé - Yvan.Rahbe@lyon.inra.fr; Gérard Febvay - Gerard.Febvay@lyon.inra.fr; Jean-Michel Fayard - jean-michel.fayard@insa-lyon.fr; Hubert Charles - hubert.charles@insa-lyon.fr

* Corresponding author

Published: 4 June 2007 Received: 7 February 2007
 BMC Genomics 2007, 8:143 Accepted: 4 June 2007
 doi:10.1186/1471-2164-8-143

This article is available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/8/143>

© 2007 Viñuelas et al; licensee BioMed Central Ltd.
 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

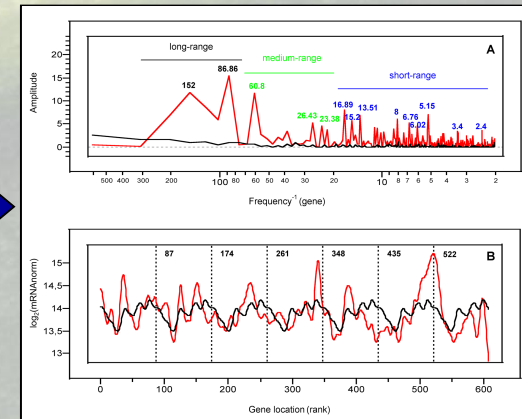
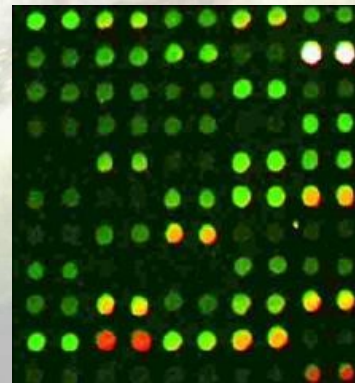
Background: Genomic studies on bacteria have clearly shown the existence of chromosomal organization as regards, for example, to gene localization, order and orientation. Moreover, transcriptomic analyses have demonstrated that, in free-living bacteria, gene transcription levels and chromosomal organization are mutually influenced. We have explored the possible conservation of relationships between mRNA abundances and chromosomal organization in the highly reduced genome of *Buchnera aphidicola*, the primary endosymbiont of the aphids, and a close relative to *Escherichia coli*.

Results: Using an oligonucleotide-based microarray, we normalized the transcriptomic data by genomic DNA signals in order to have access to inter-gene comparison data. Our analysis showed that mRNA abundances, gene organization (operon) and gene essentiality are correlated in *Buchnera* (i.e., the most expressed genes are essential genes organized in operons) whereas no link between mRNA abundances and gene strand bias was found. The effect of *Buchnera* genome evolution on gene expression levels has also been analysed in order to assess the constraints imposed by the obligate symbiosis with aphids, underlining the importance of some gene sets for the survival of the two partners. Finally, our results show the existence of spatial periodic transcriptional patterns in the genome of *Buchnera*.

Conclusion: Despite an important reduction in its genome size and an apparent decay of its capacity for regulating transcription, this work reveals a significant correlation between mRNA abundances and chromosomal organization of the aphid-symbiont *Buchnera*.

Page 1 of 12
(page number not for citation purposes)

- Cette étude montre, pour la première fois dans une bactérie à génome réduit, la conservation de relations cohérentes et significatives entre transcription et organisation du chromosome.



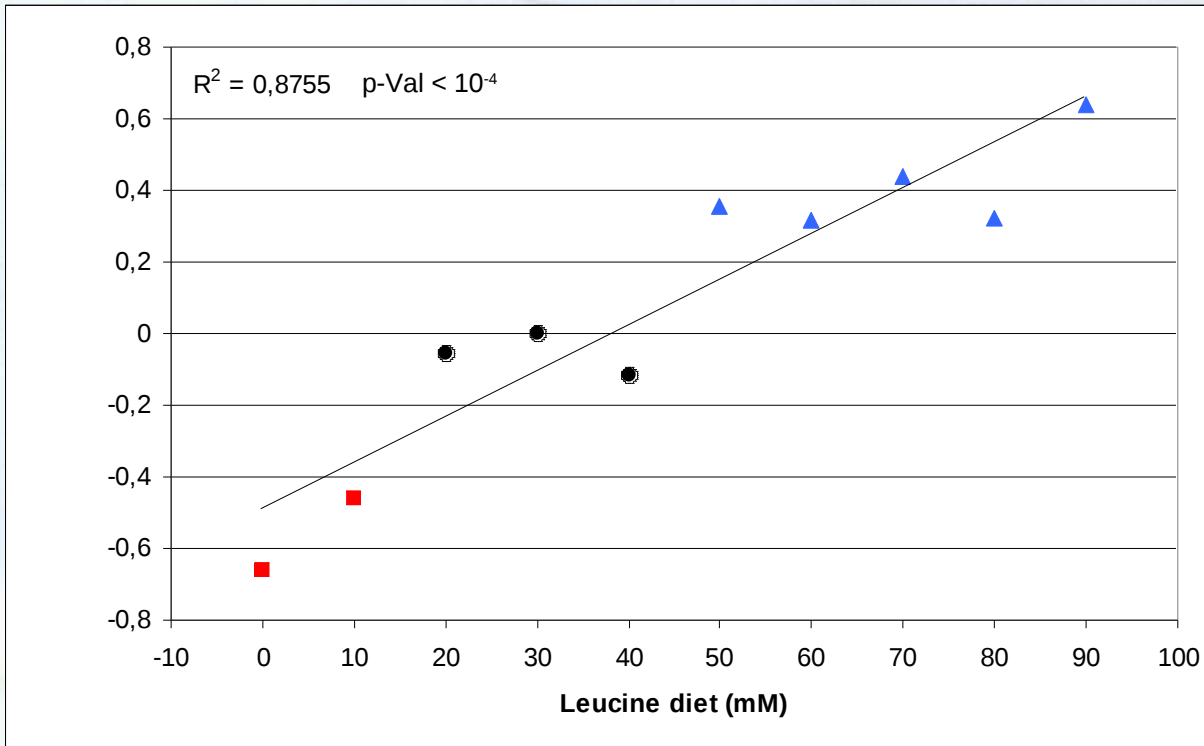
L'expérience

- Application d'un stress en leucine
 - Carence totale (0 mM)
 - Alimentation phloémienne « standard » (20 mM)
 - Excès de leucine (60 mM ou plus)
- Analyse de la réponse biologique
 - Croissance et comportement alimentaire
- Analyse de la réponse métabolique
 - Cage à métabolisme transformation ^{14}C -sucrose leucine
- Analyse de la réponse moléculaire

La réponse biologique (*A. pisum*)



Phagostimulation



Test non paramétrique
des rangs signés de
Wilcoxon (seuil à 5%) :

- ▲ : $Pi_{\text{test}} > Pi_{\text{leu20}}$
- : $Pi_{\text{test}} = Pi_{\text{leu20}}$
- : $Pi_{\text{test}} < Pi_{\text{leu20}}$



20 mM

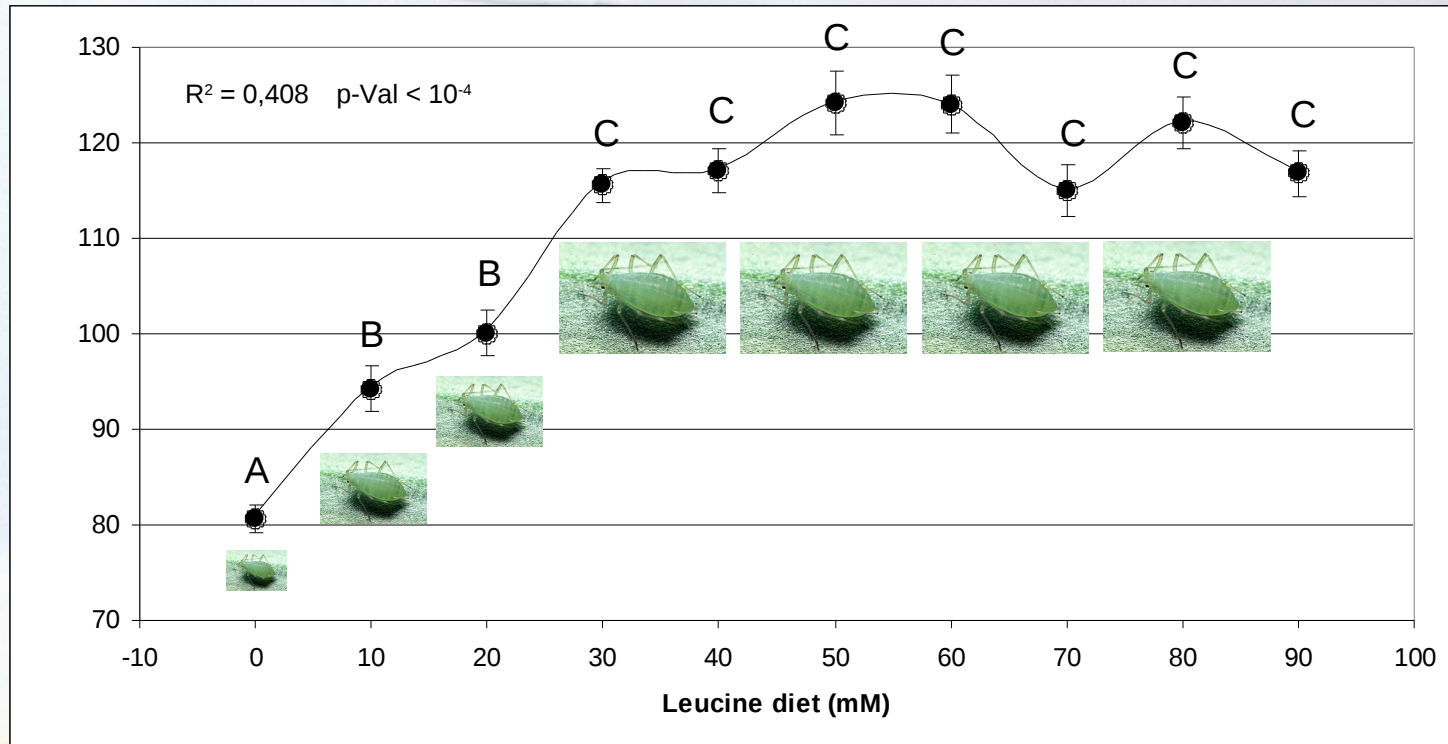
X mM

?

Quid ?

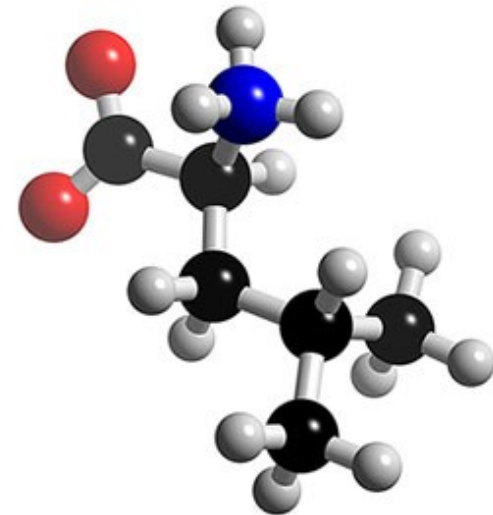


Croissance



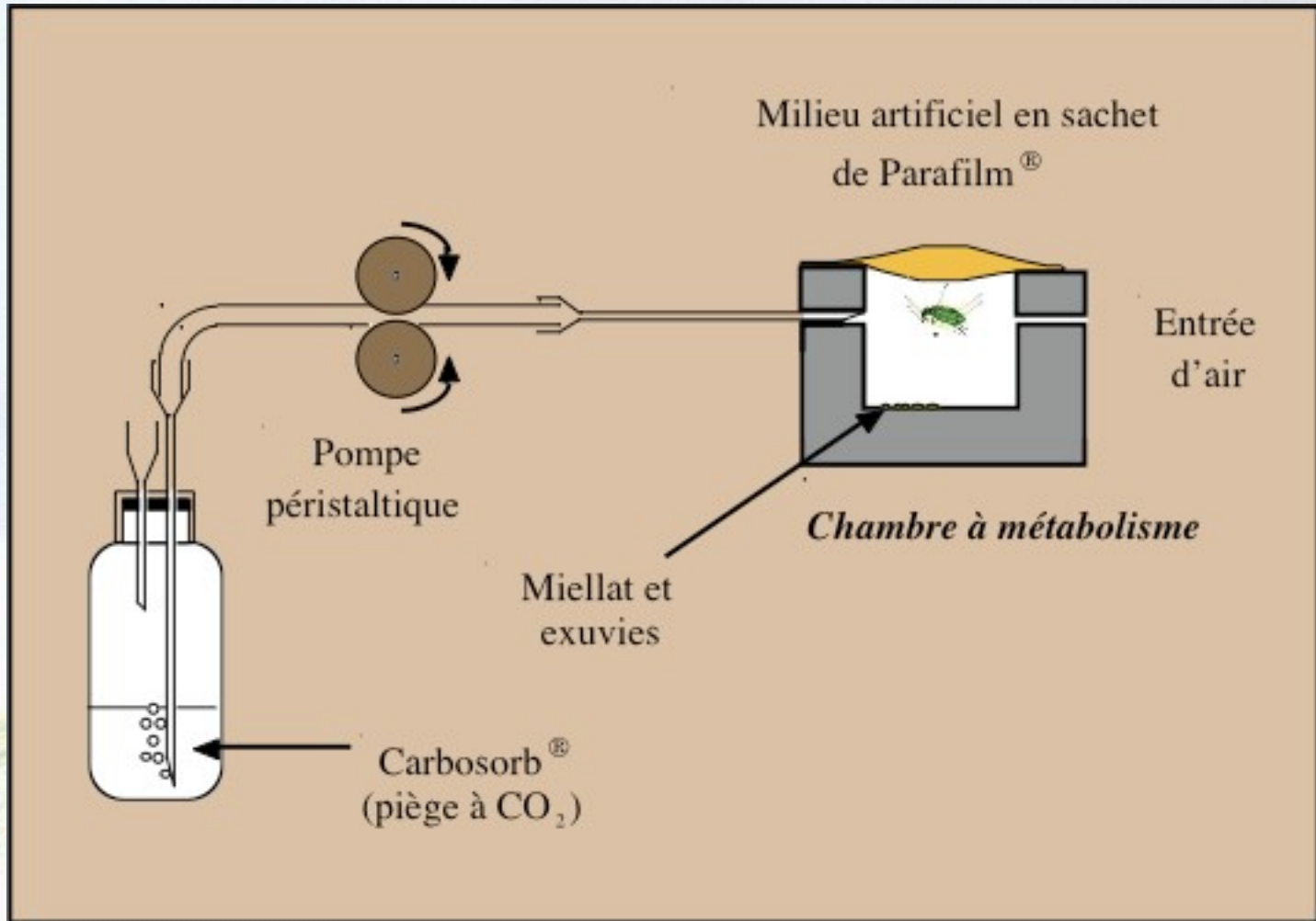
ABC : test Tukey-Kramer HSD (toutes les comparaisons) seuil à 5%

La réponse métabolique

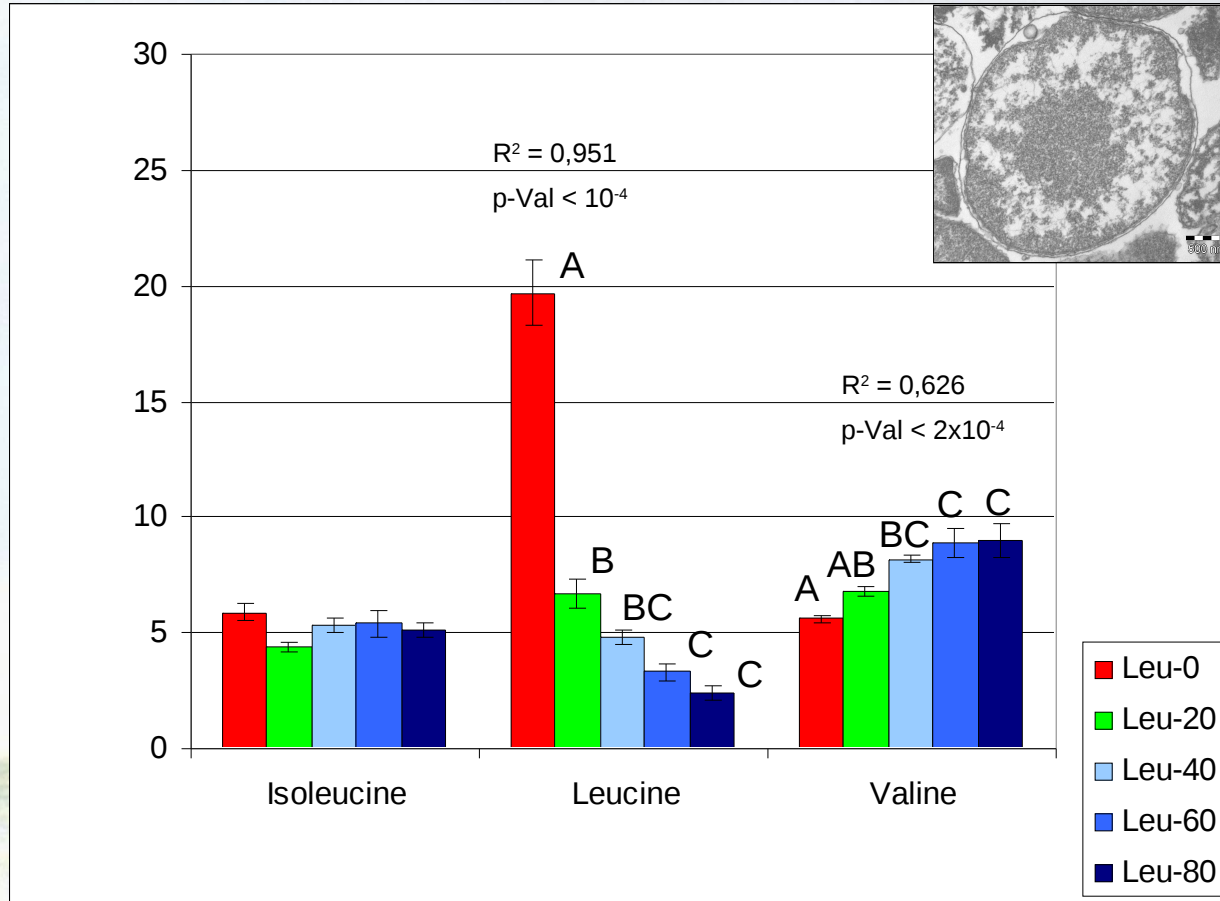


Leucine

Cage à métabolisme



Néosynthèse des acides aminés branchés

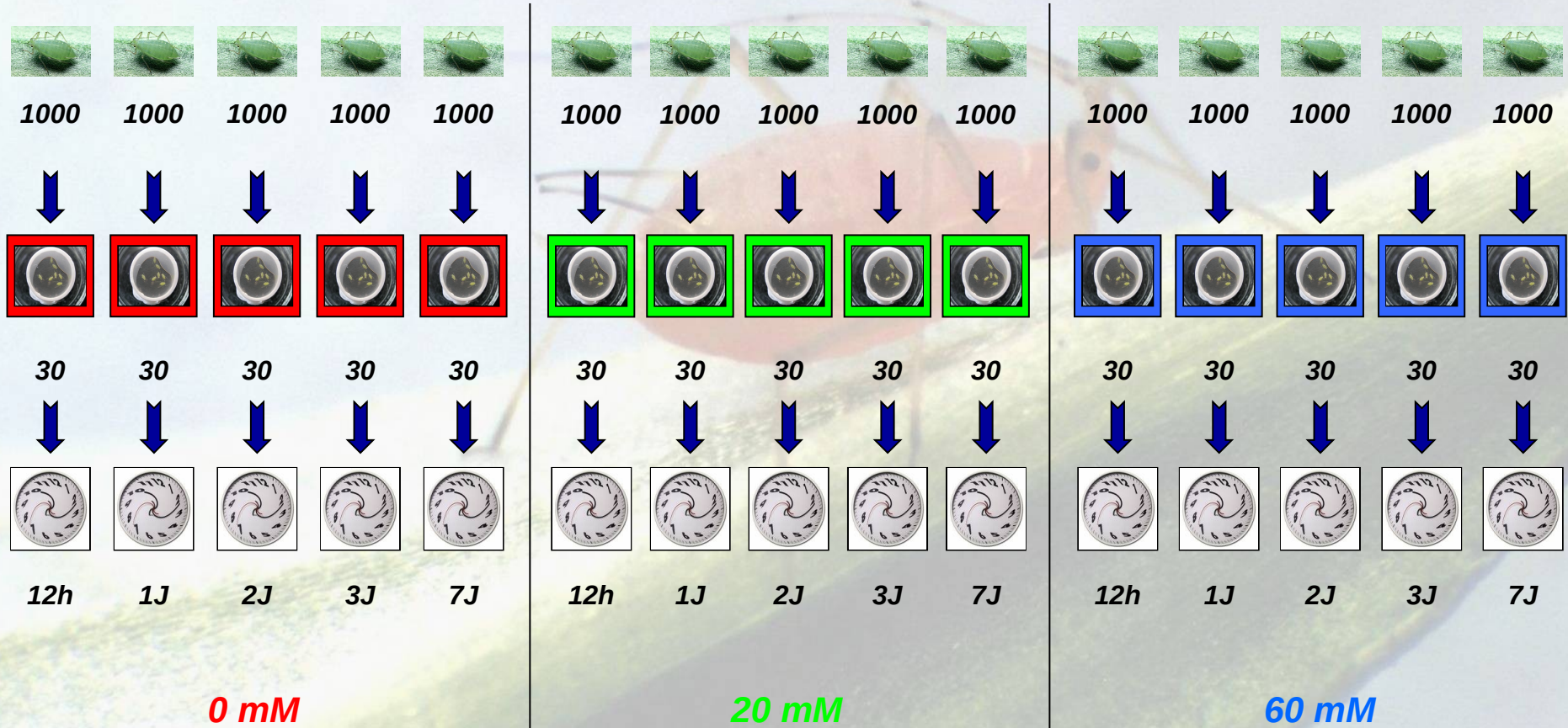


ABC : test Tukey-Kramer HSD (toutes les comparaisons) seuil à 5%

La réponse moléculaire...



Stress nutritionnel 0 - 20 - 60 mM Leu



Par réplication de pLeu ?

A. Etude sur l'ADNg

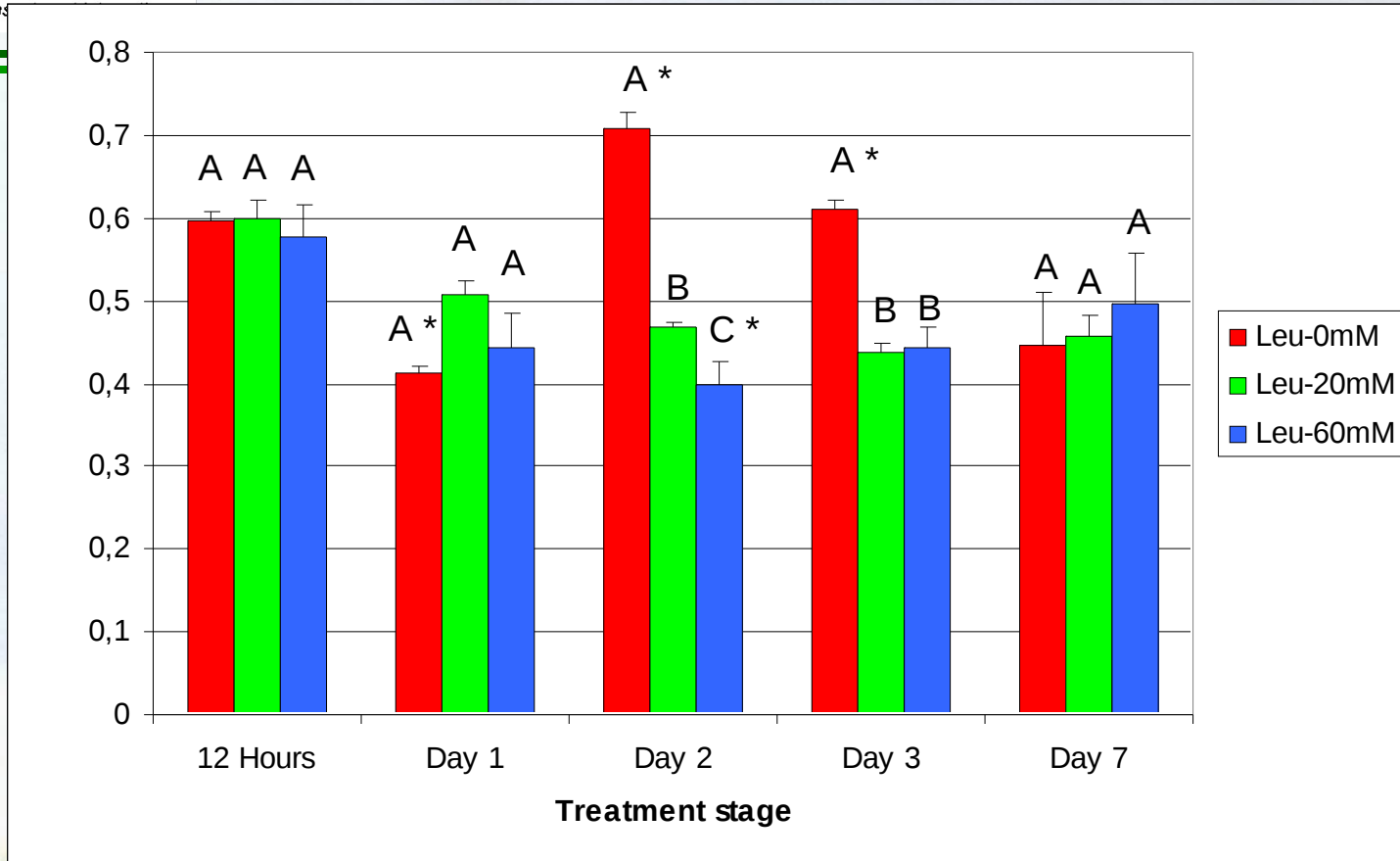
➔ **Objectif :** Détermination du nombre de plasmides pLeu/chromosome à l'état basal et dans les deux conditions tests

➔ **Méthode :** PCR quantitative 96 puits

➔ **Nombre de gènes testés :** 3 (*leuA*, *leuC*, *yqhA*) répartis tout le long du plasmide

➔ **Normalisation :** par rapport au gène chromosomique *atpA*

➔ **pLeu copie =**
$$\frac{6.02 \times 10^{23} \text{ (copy/mol)} \times \text{Masse d'ADN (g)}}{\text{Taille fragment (pb)} \times 660 \text{ (g/mol/pb)}}$$



ABC : test Tukey-Kramer HSD (toutes les comparaisons) seuil à 5%

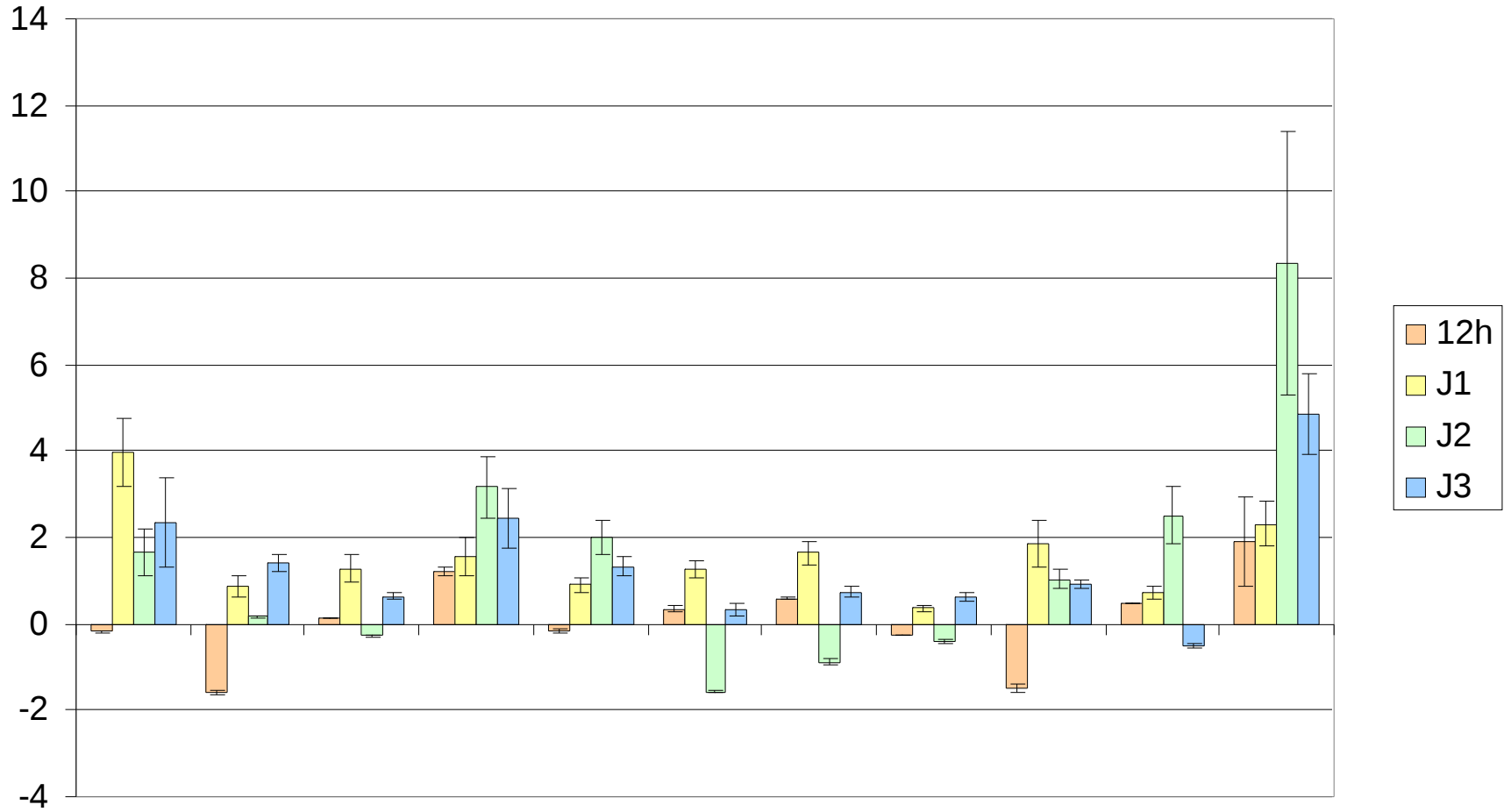
***** : test de Dunnet (comparaison / leu20) seuil à 5%

Par régulation transcriptionnelle ?

B. Etude sur les ARN

- ➔ **Objectif** : Mesure du niveau d'expression des tous les gènes de *pLeu* et de gènes chromosomiques impliqués dans la voie de biosynthèse de la leucine
- ➔ **Méthode** : RT-PCR en temps réel (96 puits)
- ➔ **Nombre de gènes testés** : 11 gènes tests (*leuABCD*, *repA1*, *repA2*, *yqhA*, *ilvIH*, *leuS*, *aceE*) + 3 gènes de normalisation (*atpA*, *rpmC*, *rplX*)
- ➔ **Normalisation** : détermination du meilleur gène de normalisation avec "BestKeeper" (Pfaffl et al 2004) et normalisation avec "REST" (Pfaffl et al 2002)

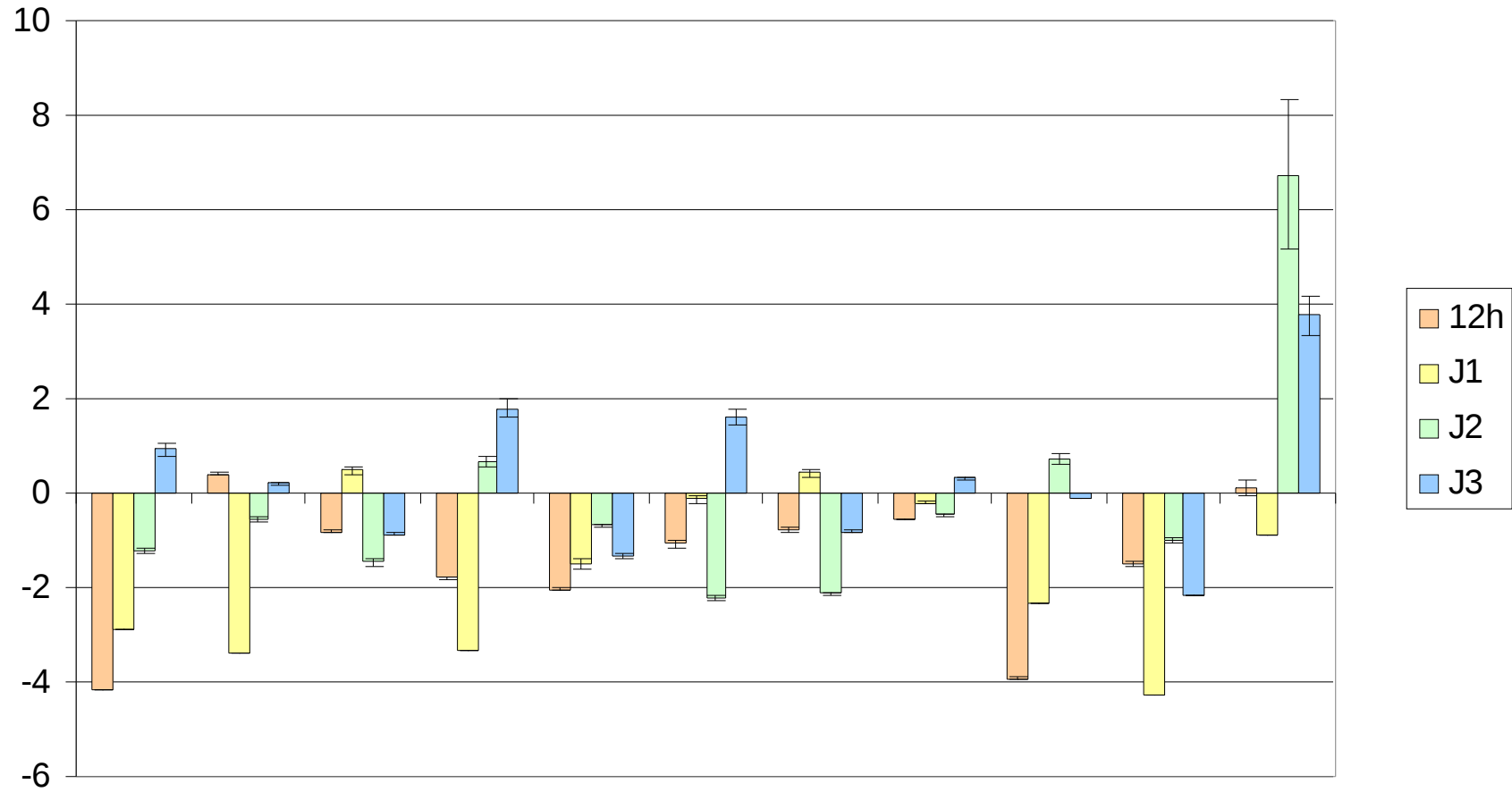
Déplétion en leucine



Voie biosynthèse leucine

Plasmide pLeu

Excès en leucine

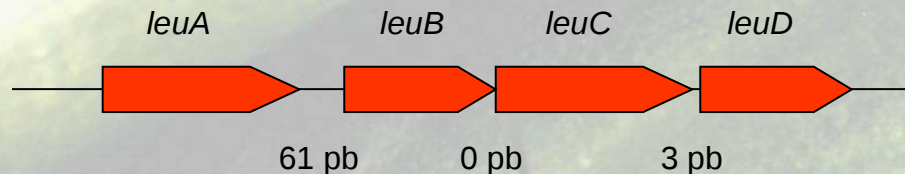


Voie biosynthèse leucine

Plasmide pLeu

Par régulation transcriptionnelle ?

- ➔ *Réponses transcriptomiques cohérentes avec les stress imposés*
Test exact de Fisher (ilvIH, leuABCD) : $p\text{Val} < 2 \times 10^{-3}$
- ➔ *Certaines réponses sont importantes et suivent une cinétique*
- ➔ *Particularité de yqhA, surexprimé dans les 2 conditions leu0/leu20 et leu60/leu20, notamment à partir de J2*
- ➔ *Les données semblent montrer que leuA n'est plus en opéron ou qu'il possède une régulation supplémentaire indépendante de leuBCD*



Le groupe

- H. Charles
- José Viñuelas (F. Calevro, JM Fayard)
– Thèse en cours
- G. Duport, G. Febvay, S. Laroche, Y. Rahbé, A. Rabatel
- (*S. Colella, aphid genome expression*)
- (*L. Brinza, L. Cottret, bioinformatics*)

