



HAL
open science

Régulation transcriptionnelle des aquaporines en réponse au déficit hydrique chez le Peuplier

David Cohen, Rémy Merret, Irène Hummel, Emilie Tisserant, Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot

► To cite this version:

David Cohen, Rémy Merret, Irène Hummel, Emilie Tisserant, Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot. Régulation transcriptionnelle des aquaporines en réponse au déficit hydrique chez le Peuplier. Réunion du groupe "Xylème-Eau-Croissance", Nov 2009, Talence, France. 36 p. ⟨hal-02814663⟩

HAL Id: hal-02814663

<https://hal.inrae.fr/hal-02814663v1>

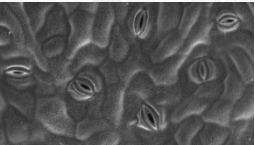
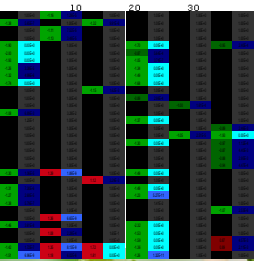
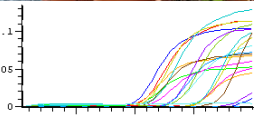
Submitted on 6 Jun 2020

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

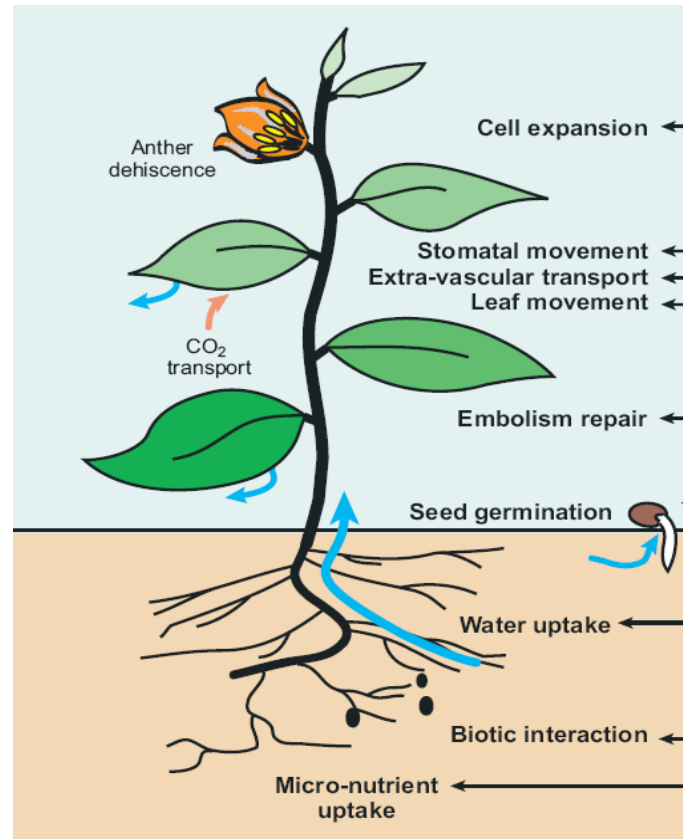


Financé par
ANR

Régulation transcriptionnelle des aquaporines en réponse au déficit hydrique chez le Peuplier

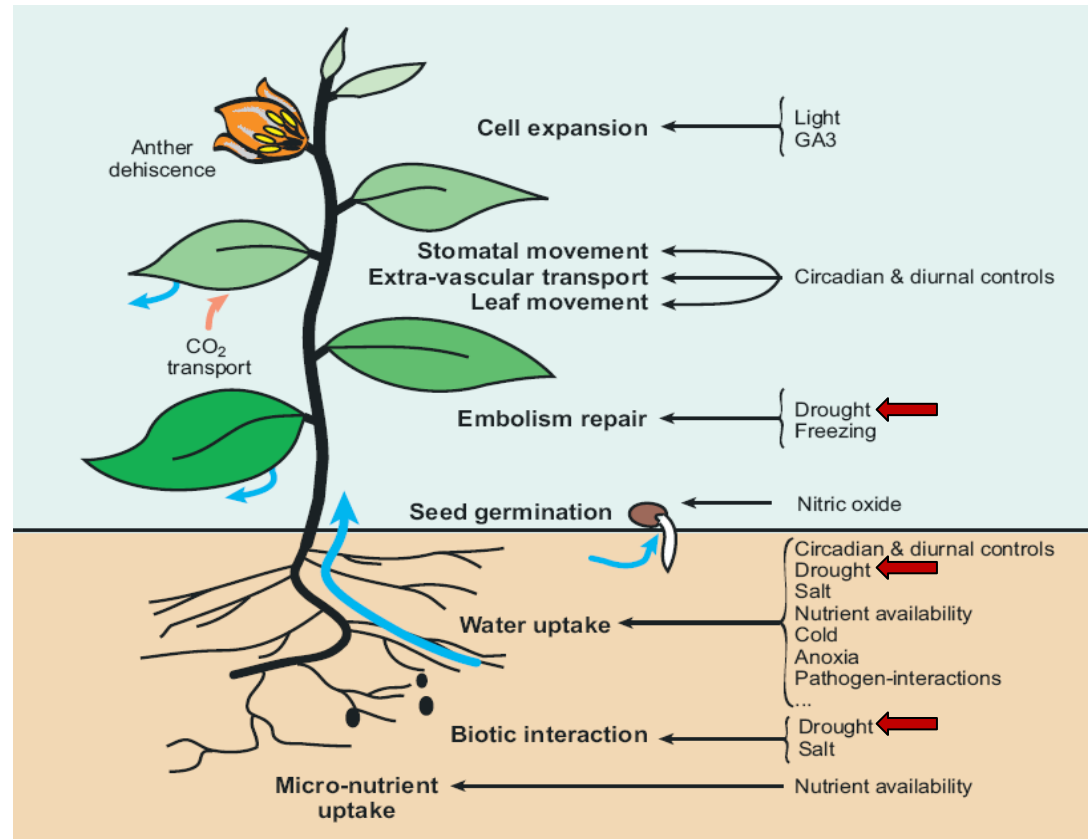
D. Cohen, R. Merret, I. Hummel, E. Tisserant, M-B Bogeat-Triboulot

Fonctions des aquaporines chez les plantes



Facilitation des transferts d'eau
=> absorption, transpiration, croissance, mouvements
Rôle multiple dans l'assimilation du C et N

Fonctions des aquaporines chez les plantes

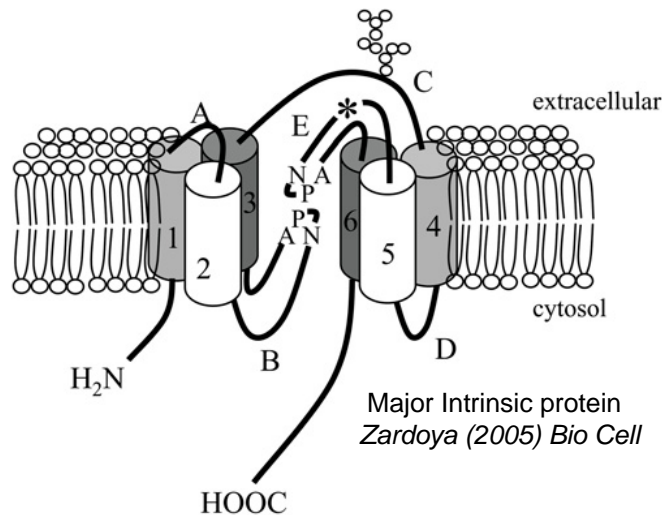


Facilitation des transferts d'eau
 => absorption, transpiration, croissance, mouvements
 Rôle multiple dans l'assimilation du C et N

Régulées en réponse aux stimuli environnementaux

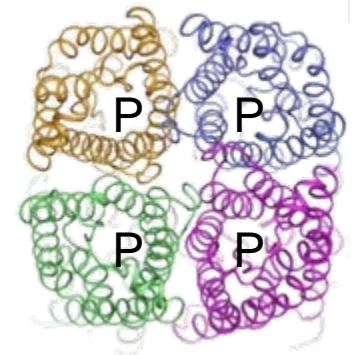
Aquaporines : protéines de 25 à 30 kDa

- Monomère formant un canal dans membranes plasmiques ou intracellulaires
- Transport d'eau et/ou petits solutés (glycerol, urée, ac. borique) ou gaz (NH_3 , CO_2) via le pore central (P).



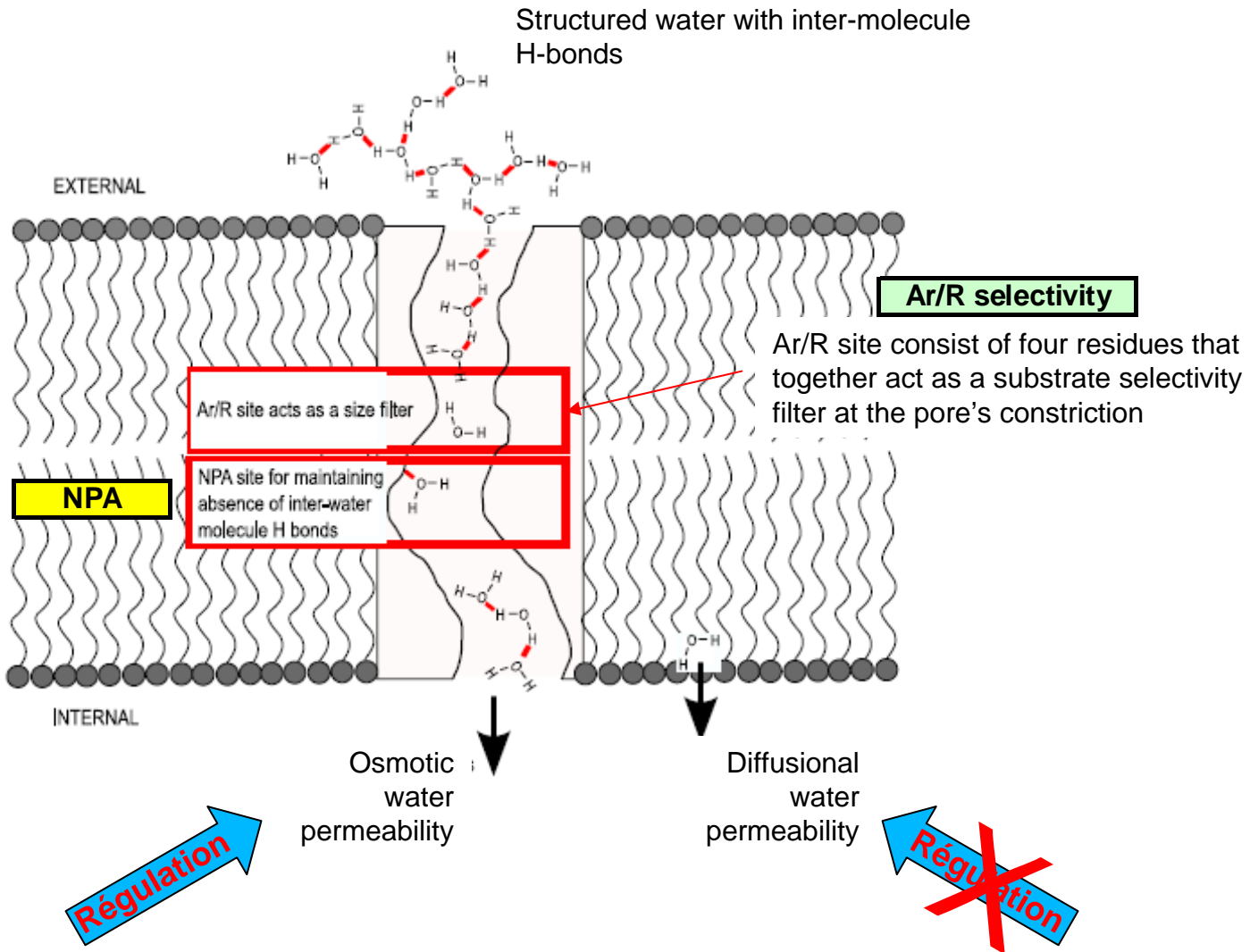
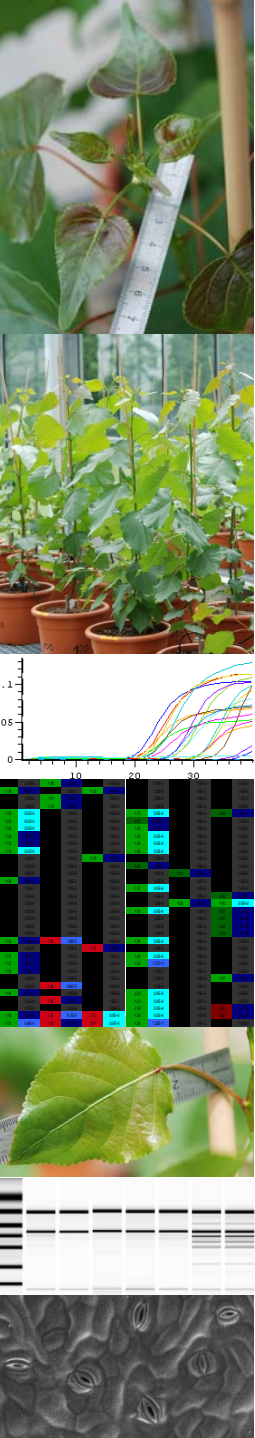
6 domaines transmembranaires connectés par 5 boucles délimitent un pore central (P)
Présence de motifs NPA en interaction et motif Ar/R

- La structure quaternaire de la protéine est un tétramère (interactions hydrophobes entre monomères)



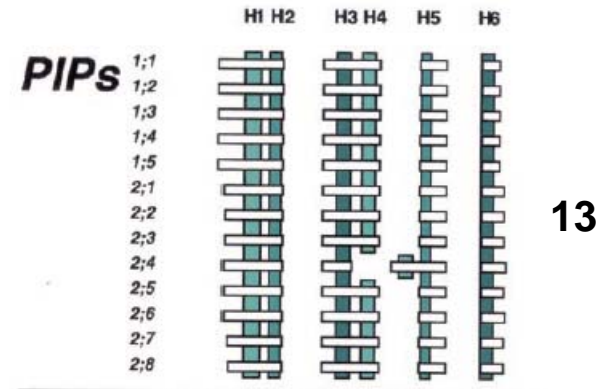
SoPIP2;1 Törnroth et al. (2006) *Nature*

Transport de l'eau via une AQP

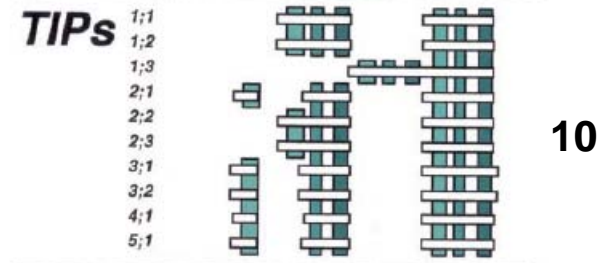


Nomenclature des aquaporines: 4 sous-familles

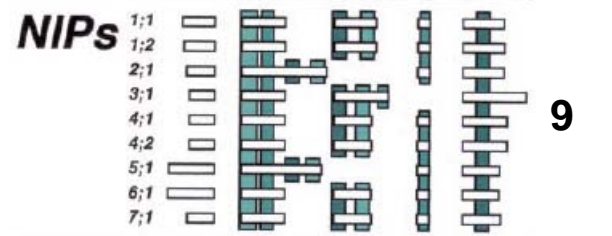
Plasma membrane intrinsic proteins



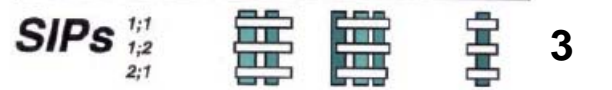
Tonoplast intrinsic proteins



Nodulin-26 like intrinsic proteins



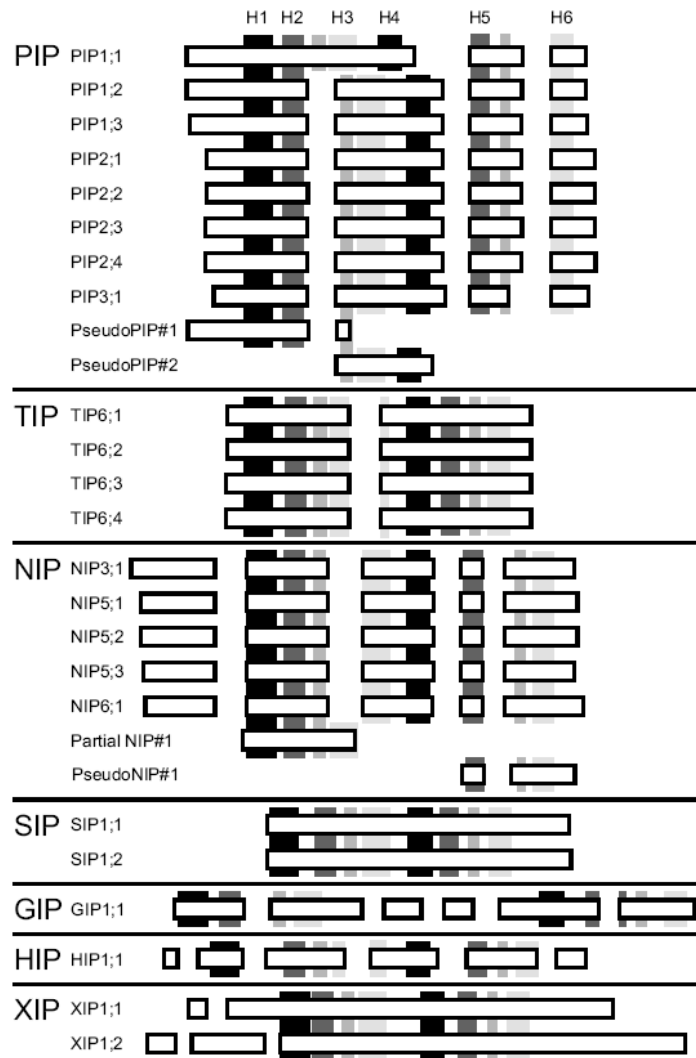
Small basic intrinsic proteins



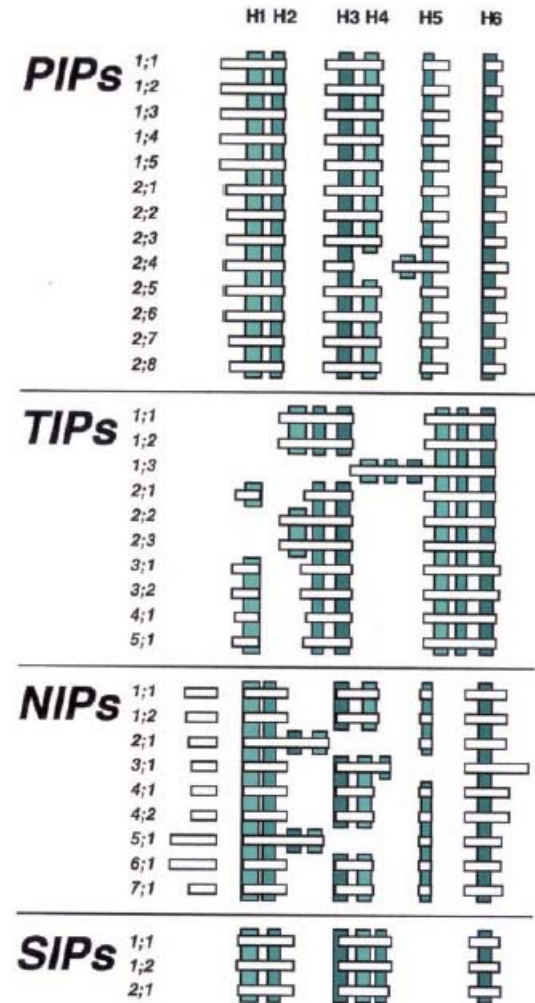
Arabidopsis thaliana, Johanson et al (2001).

Conservation de la structure exon/intron au sein des 4 principales sous-familles d'AQPs

Structure des gènes AQP des différentes sous-familles



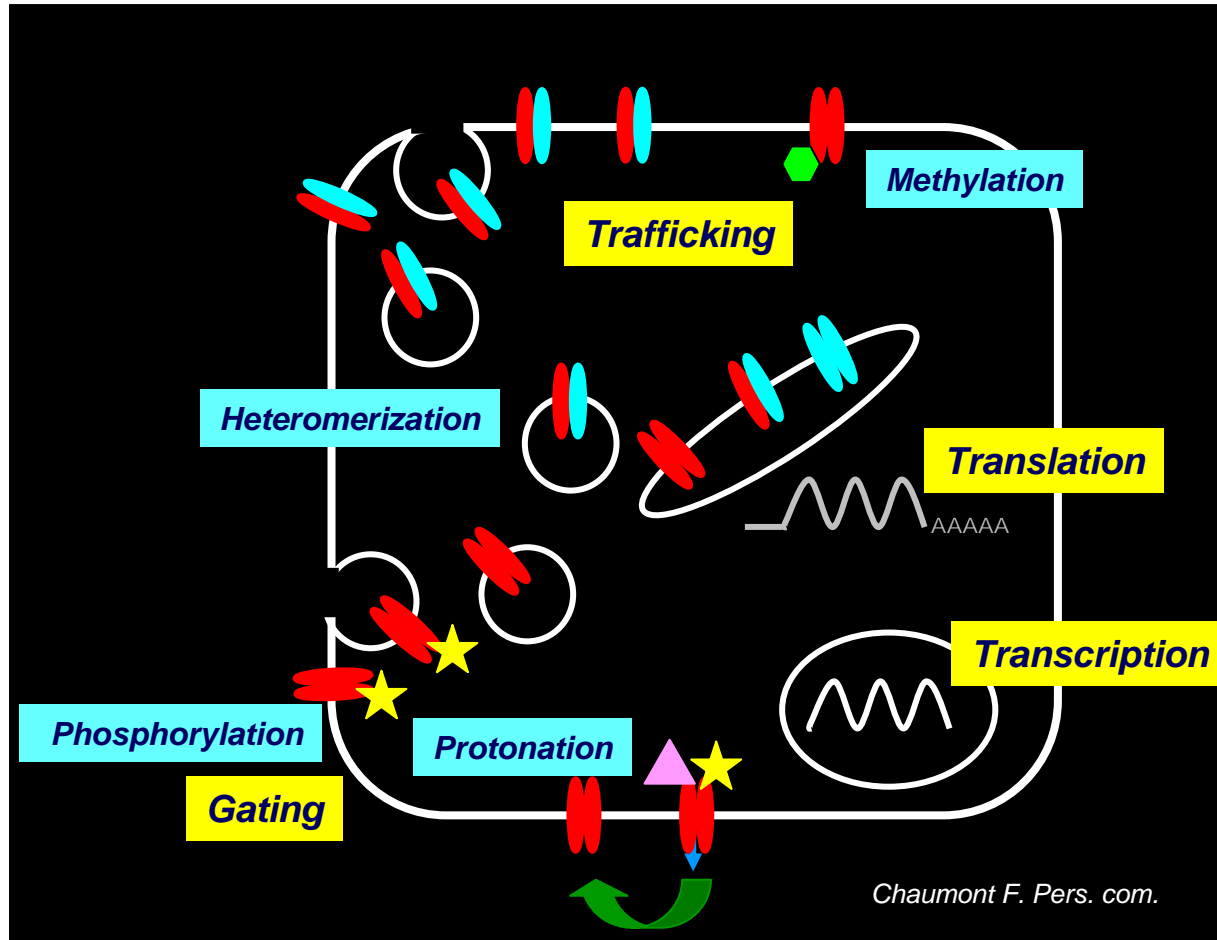
Physcomitrella patens, Danielson et Johanson. (2008)



Arabidopsis thaliana, Johanson et al (2001).

Conservation **inter-spécifique** de la structure exon/intron au sein des 4 principales sous-familles d'AQPs

Régulations des fonctions des AQP

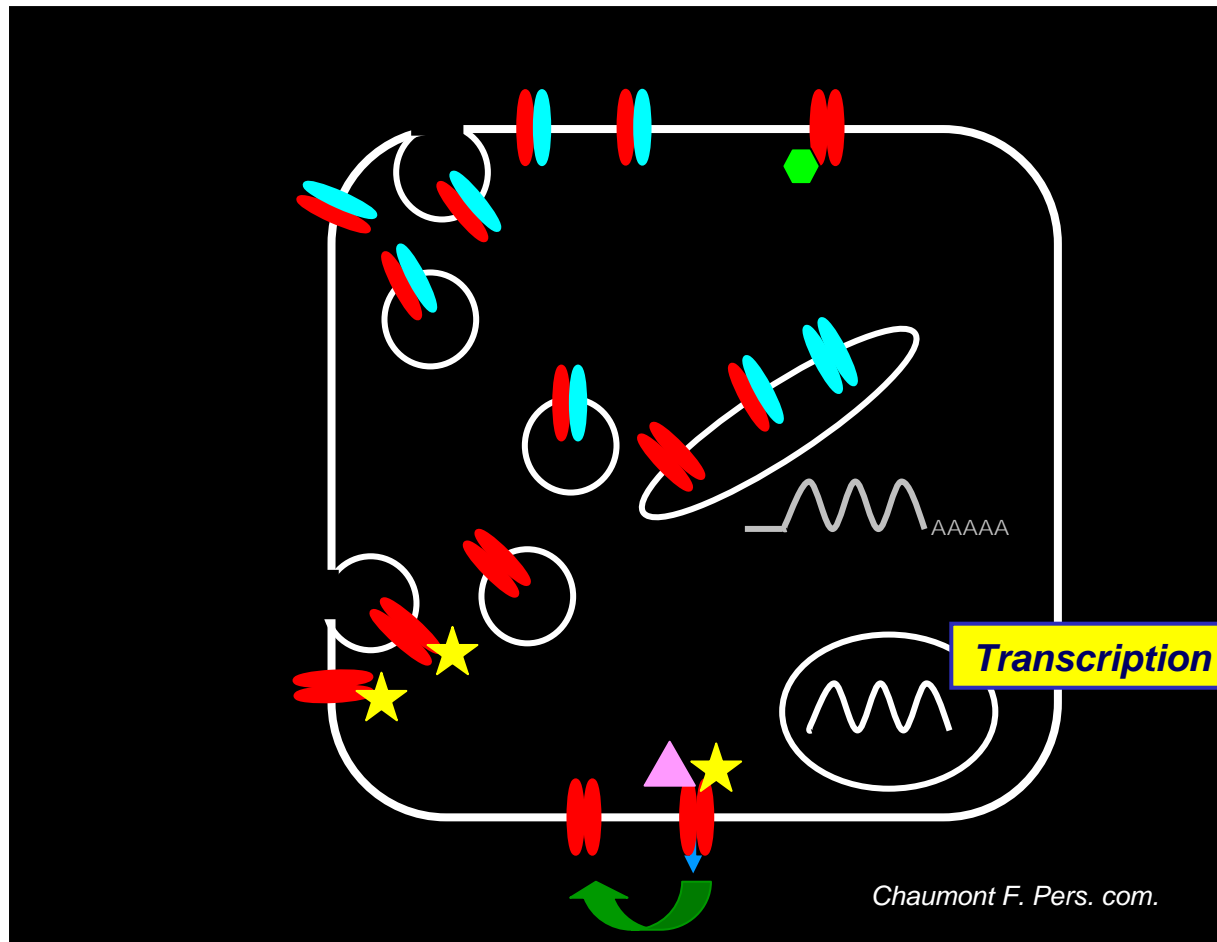
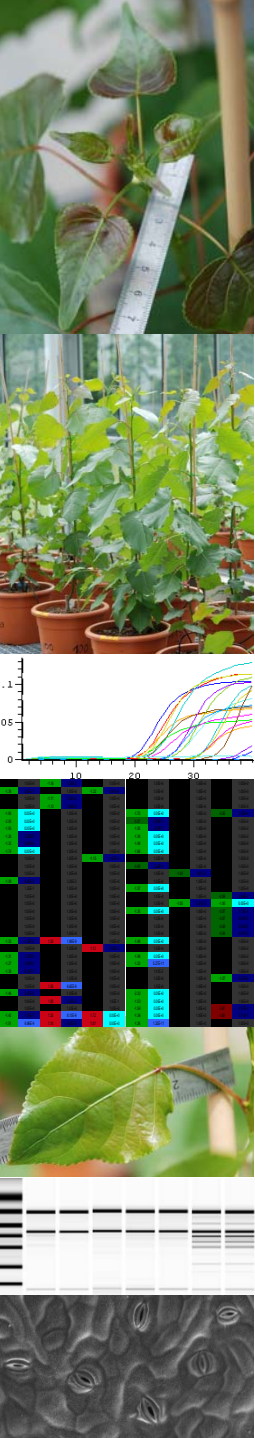


Transcription/traduction (*Hachez et al; 2000*)

Post-traduction (*Guenther et al; 2003, Santoni et al; 2006*)

Ouverture/fermeture du pore (*Törnroth et al; 2006*)

Adressage (*Fetter et al; 2004, Zelazny et al; 2007*)



Régulation transcriptionnelle des aquaporines en réponse au déficit hydrique chez le Peuplier

OBJECTIFS

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

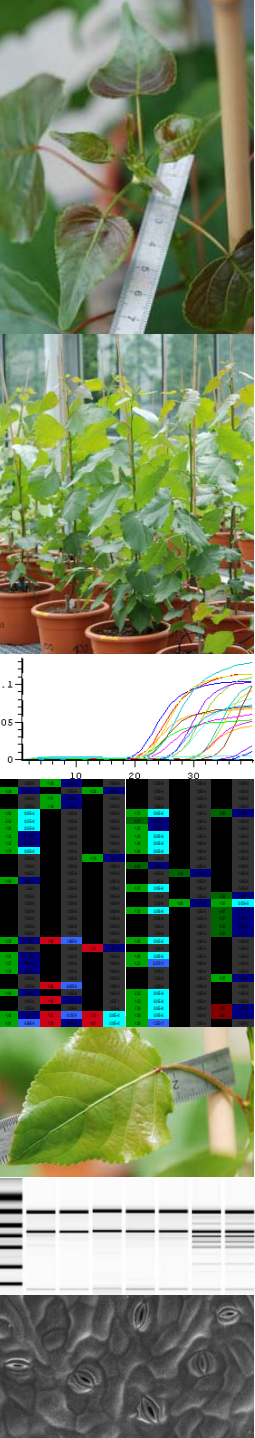
1- Analyse *in silico* des séquences: validation des AQP

Puce génome entier (Affymetrix, Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs

ANR POPSEC: Etude de la réponse à la sécheresse (Nancy, 2007)

3- Patron d'expression des AQP et régulation transcriptionnelle en réponse à la sécheresse chez le peuplier



1- Analyse *in silico* des séquences génomiques: validation des AQP

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

=> *P. trichocarpa* : 63 séquences annotées AQP



51 Séquences
« pleine longueur »

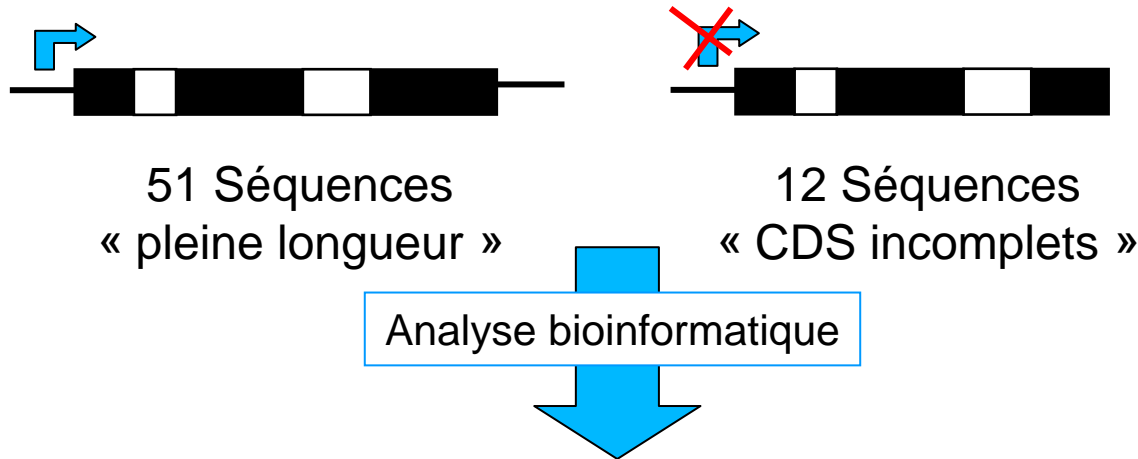


12 Séquences
« CDS incomplets »

1- Analyse *in silico* des séquences génomiques: validation des AQP

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

=> *P. trichocarpa* : 63 séquences annotées AQP

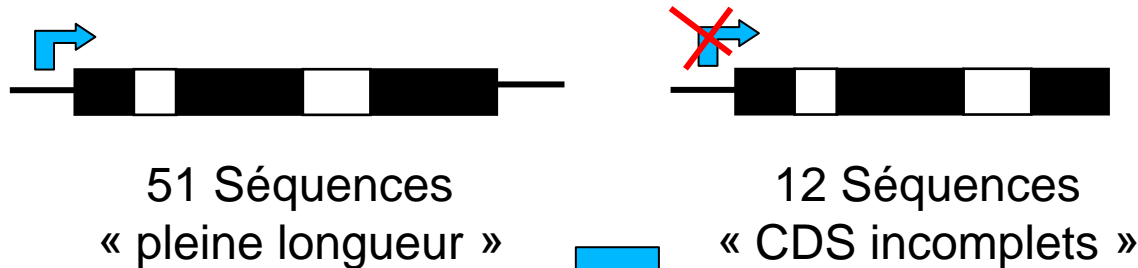


- Recherche d'ESTs chez *Populus* sp. = vérification de l'expression
- Caractérisation des CDS (prédiction exons, introns et UTR)
- Recherche d'artefacts de séquençage et/ou d'assemblage

1- Analyse *in silico* des séquences génomiques: validation des AQP

Génome du peuplier version 1.1 (Tuskan et al., 2006)

=> *P. trichocarpa* : 63 séquences annotées AQP



Analyse bioinformatique

5 pseudogènes
4 séquences redondantes
1 séquence bactérienne

=> **10 séquences invalides**

50 séquences « pleine longueur »
+3 CDS corrigés
+1 séquence non prédite

=> **54 séquences AQP**

| prot | ide. Gen | LB | LE | H2 | H5 | LE1 | LE2 | |
|--------|--------------|---------|---------|----|----|-----|-----|----------|
| PIP1 | AtPIP | | | F | H | T | R | PIP1.1* |
| | | | | F | H | T | R | PIP1.2* |
| | | | | F | H | T | R | PIP1.3* |
| | | | | F | H | T | R | PIP1.4* |
| | | | | F | H | T | R | PIP1.5* |
| PIP2 | | | | F | H | T | R | PIP2.1* |
| | | | | F | H | T | R | PIP2.2* |
| | | | | F | H | T | R | PIP2.3* |
| | | | | F | H | T | R | PIP2.4* |
| | | | | F | H | T | R | PIP2.5* |
| | | | | F | H | T | R | PIP2.6* |
| | | | | F | H | T | R | PIP2.7* |
| | | | | F | H | T | R | PIP2.8* |
| PIP | | | | N | H | T | R | PIP-A |
| | | | | F | H | T | R | PIP-B |
| TIPI | AtTIP1 | | | H | I | A | V | TIPI-1 |
| | | | | H | I | A | V | TIPI-2 |
| | | | | H | I | A | V | TIPI-3 |
| | | | | H | I | A | V | TIPI-4 |
| | | | | H | I | A | V | TIPI-5 |
| | | | | H | I | A | V | TIPI-6 |
| | | | | H | I | A | V | TIPI-7 |
| | | | | H | I | A | V | TIPI-8 |
| TIPIA | AtTIP2 | | | H | I | G | R | TIPIA-1 |
| | | | | H | I | G | R | TIPIA-2 |
| | | | | H | I | G | R | TIPIA-3 |
| | | | | H | I | G | R | TIPIA-4 |
| TIPIB | AtTIP3 | | | H | I | A | R | TIPIB-1 |
| | | | | H | I | A | R | TIPIB-2 |
| | | | | H | I | A | R | TIPIB-3 |
| TIPIII | | | | N | / | G | C | TIPIII-1 |
| | | | | N | / | G | C | TIPIII-2 |
| SIPI | PpSIPI1 | NPT | | A | V | P | N | SIPI-1 |
| | | | | A | V | P | N | SIPI-2 |
| | | | | V | V | P | N | SIPI-3 |
| | | | | I | V | P | S | SIPI-4 |
| SIPII | | NPL | | S | H | G | S | SIPII-1 |
| | | | | T | H | G | F | SIPII-2 |
| NIPI | AtNIP1,2,3,4 | | | W | V | A | R | NIPI-1 |
| | | | | W | V | A | R | NIPI-2 |
| | | | | W | V | A | R | NIPI-3 |
| | | | | W | V | A | R | NIPI-4 |
| | | | | W | A | A | R | NIPI-5 |
| NIPII | AtNIP5,6,7 | NPS NPV | NPS NPV | A | I | G | R | NIPII-1 |
| | | | | A | I | G | R | NIPII-2 |
| | | | | A | V | G | R | NIPII-3 |
| NIP | ZmNIP2 | NPS NPV | NPS NPV | G | S | G | R | NIP-A |
| | | | | T | I | A | R | NIP-B |
| | | | | S | I | A | R | NIP-C |
| XIP | | NPI | | V | V | A | R | XIP1.1* |
| | | | | V | V | A | R | XIP1.2* |
| | | | | I | V | V | R | XIP1.3* |
| | | | | I | V | V | R | XIP-A |
| | | | | A | V | A | R | XIP-B |

=> 5 sous-familles

Peuplier

| |
|--------|
| PIP 15 |
| TIP 17 |
| SIP 6 |
| NIP 11 |
| XIP 5 |

Arabidopsis**

| |
|----|
| 13 |
| 10 |
| 3 |
| 9 |
| 0 |

Maïs***

| |
|----|
| 13 |
| 12 |
| 3 |
| 5 |
| 0 |

**Johanson et al; 2001

***Chaumont et al; 2001

=> Distinction des sous-groupes (signatures et/ou typologie des gènes)

NPA

Ar/R selectivity

Wallace et Roberts; 2004

*Secchi et al 2009

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs



Puce génome entier (Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

Accès à la régulation du transcriptome entier

Analyse conjointe des membres d'une famille multigénique

Accès à plusieurs expérimentations via base de données

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQP

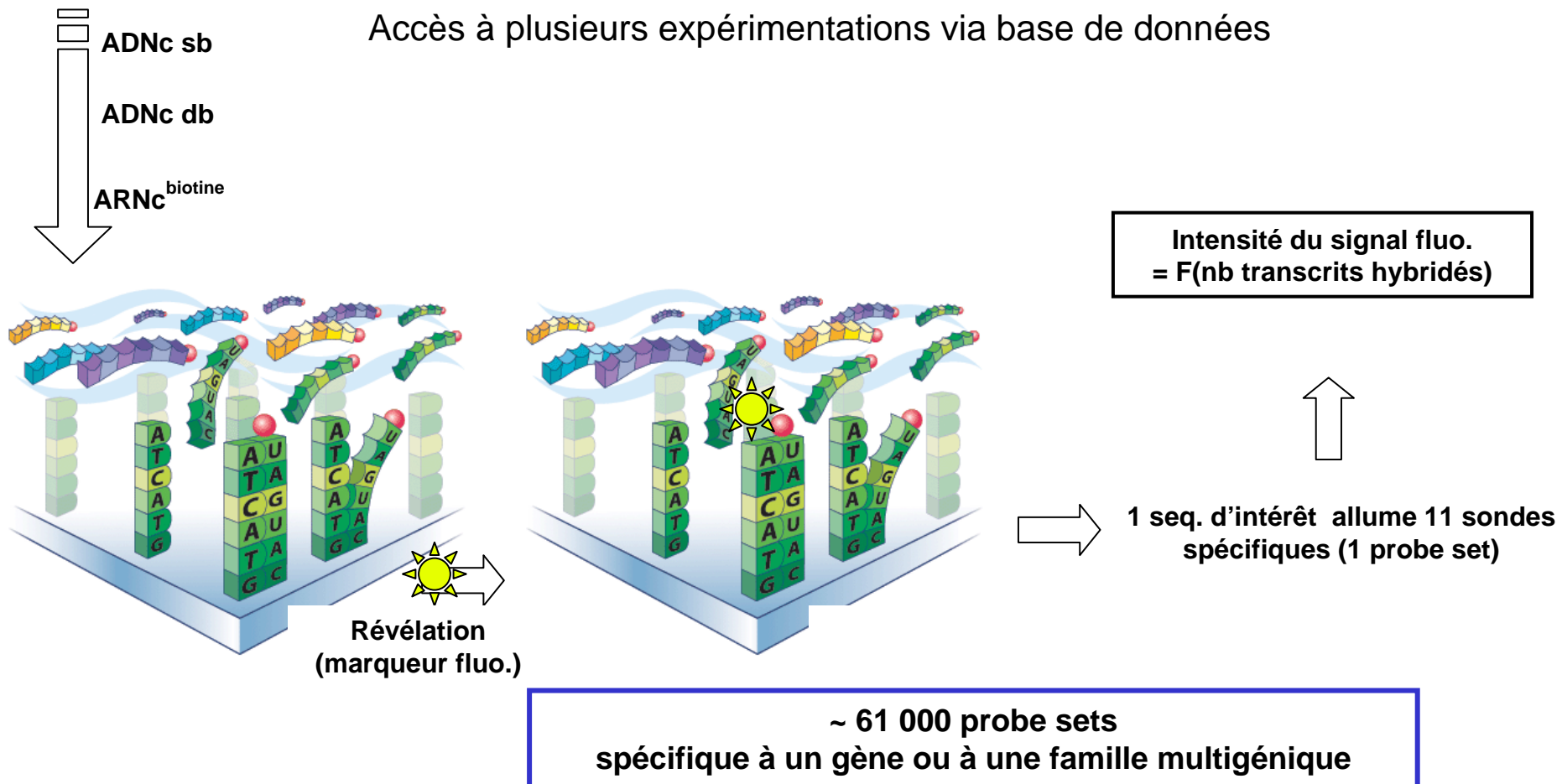


Puce génome entier (Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

Accès à la régulation du transcriptome entier

Analyse conjointe des membres d'une famille multigénique

Accès à plusieurs expérimentations via base de données



2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQP

Extraction des probe sets ciblant les transcrits des 54 AQPs

- Annotation NetAffx
- BLASTn séquences cibles vs séquences AQP (JGI)

=>au maximum 106 probe sets

Annotation NetAffx

| Probe Set Summary | | | |
|--------------------|----------------------|---------|--|
| Probe Set ID | Ptp.3813.1.S1_at | | |
| GeneChip Array | Poplar Genome Array | | |
| Organism | Poplar | | |
| RefSeq | XM_002314165 | | |
| All Transcripts | Partial | 2 Total | |
| | Predicted | 1 Total | |
| Gene | POPTRDRAFT_833283 | | |
| Annotation Grade | A | | |
| Assembly | 2004-06-00 (JGI 1.0) | | |
| Annotation Version | na29 July 13, 2009 | | |
| Gene Ontology | Biological Process | 1 Total | |
| | Cellular Component | 2 Total | |
| | Molecular Function | 1 Total | |
| Orthologs | None | | |

| Transcripts Detected By Ptp.3813.1.S1_at | | | | |
|--|--|--|----------------------------|------------------------------|
| Annotation Grade | A Ptp.3813.1.S1_at was annotated using the Matching Probes based pipeline to a Entrez Gene Identifier using 1 transcript(s). | | | |
| Transcript Assignments | <input checked="" type="checkbox"/> Partial | Description | Matching Probes | Related Probesets by Grade |
| | EF144587 <small>NCBI</small> | Populus trichocarpa clone W501111_H15 unknown mRNA | 11/11 | PtpAffx.117056.1.S1_s_at (A) |
| | XM_002314165 <small>NCBI</small> | Populus trichocarpa aquaporin, MIP family, TIP subfamily, mRNA | 9/11 | PtpAffx.117056.1.S1_s_at (A) |
| <input type="checkbox"/> Predicted | Description | Matching Probes | Related Probesets by Grade | |
| Cross-hybridizing Transcripts (None) | | | | |

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs

Extraction des probe sets ciblant les transcrits des 54 AQPs

- Annotation NetAffx
- BLASTn séquences cibles vs séquences AQP (JGI)

=> au maximum 106 probe sets

Annotation NetAffx

Analyse *in silico* des probe sets

- Détection des séquences inversées
- Hybridation croisée
- Qualité d'hybridation sur *P. trichocarpa*
- Qualité d'hybridation sur ESTs *Populus sp*

=> au maximum 52/54 AQPs

| Probe Set Summary | | | |
|--------------------|----------------------|---------|--|
| Probe Set ID | Ptp.3813.1.S1_at | | |
| GeneChip Array | Poplar Genome Array | | |
| Organism | Poplar | | |
| RefSeq | XM_002314165 | | |
| All Transcripts | Partial | 2 Total | |
| | Eredicted | 1 Total | |
| Gene | POPTDRRAFT_833283 | | |
| Annotation Grade | A | | |
| Assembly | 2004-06-00 (JGI 1.0) | | |
| Annotation Version | na29 July 13, 2009 | | |
| Gene Ontology | Biological Process | 1 Total | |
| | Cellular Component | 2 Total | |
| | Molecular Function | 1 Total | |
| Orthologs | None | | |

| Transcripts Detected By Ptp.3813.1.S1_at | | | |
|--|--|---|-----------------|
| Annotation Grade | A Ptp.3813.1.S1_at was annotated using the Matching Probes based pipeline to a Entrez Gene Identifier using 1 transcript(s). | | |
| Transcript Assignments | Partial | Description | Matching Probes |
| | EF144587 NCBI | Populus trichocarpa clone W501111_H15 unknown mRNA | 11/11 |
| | XM_002314165 NCBI | Populus trichocarpa aquaporin, MIP family, TIP subfamily, mRNA. | 9/11 |
| | Predicted | Description | Matching Probes |
| Cross-hybridizing Transcripts (None) | | | |

2- Recherche et analyse *in silico* des sondes AQPs



Puce génome entier (Gene Chip Poplar Arrays, 2005)

Mais La majorité des sondes sont dessinées à partir d'ESTs de plusieurs génotypes

Table 1. GenBank® mRNAs and ESTs in dbEST for all *Populus* species, up to April 26, 2005, were included in the design. (UniGene is restricted to *Populus tremula* x *Populus tremuloides*.)

| | |
|---|--------|
| <i>Populus tremula</i> x <i>Populus tremuloides</i> | 65,981 |
| <i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> | 54,660 |
| <i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> x <i>Populus deltoides</i> | 33,134 |
| <i>Populus tremula</i> | 31,288 |
| <i>Populus deltoides</i> | 14,645 |
| <i>Populus balsamifera</i> subsp. <i>trichocarpa</i> x <i>Populus nigra</i> | 14,281 |
| <i>Populus euphratica</i> | 13,903 |
| <i>Populus tremuloides</i> | 12,813 |
| <i>Populus canescens</i> | 10,446 |
| <i>Populus euramericana</i> | 10,157 |
| <i>Populus tomentiglandulosa</i> | 1,127 |
| <i>Populus alba</i> x <i>Populus tremula</i> | 585 |
| <i>Populus alba</i> x <i>Populus glandulosa</i> | 519 |

....Risque d'artefact technique

**Absence de signal =
Pas d'hybridation vs pas d'expression ???**

**tester la compatibilité sonde/séquence cible
Solution = hybridation ADNg des génotypes étudiés**

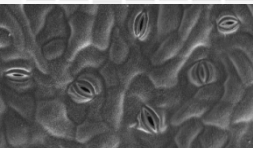
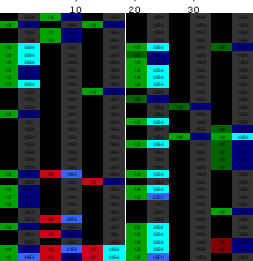
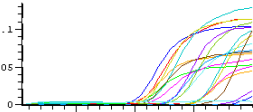
3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

Financé par
ANR



POPSEC: Etude de la réponse à la sécheresse (2007-Nancy)

2 géotypes *Populus deltoïdes x nigra*: Carpaccio (C) et Soligo (S)
Carpaccio + tolérant à la sécheresse (Monclus *et al*; 2006)



3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

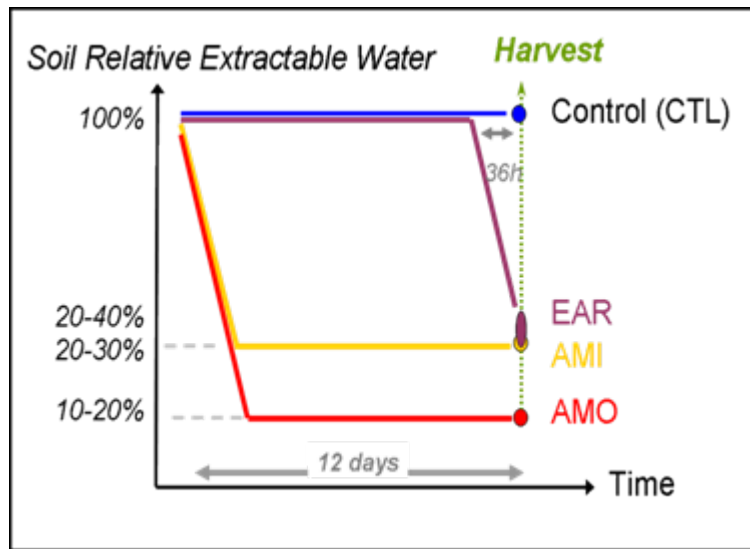
Financé par
ANR

GENOPLANTE

POPSEC: Etude de la réponse à la sécheresse (2007-Nancy)

Gènes potentiellement impliqués
dans l'acclimatation à la sécheresse

2 géotypes *Populus deltoïdes x nigra*: Carpaccio (C) et Soligo (S)
Carpaccio + tolérant à la sécheresse (Monclus *et al*; 2006)



2007

Réponse précoce:

EAR

Réponse long terme :

AMI

AMO

2008 Réponse long terme

2 organes : Feuilles matures, Apex de racines (Feuilles matures en 2008)

3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

Génome du peuplier
54 AQP

| | |
|-----|----|
| PIP | 15 |
| TIP | 17 |
| SIP | 6 |
| NIP | 11 |
| XIP | 5 |

Gene chip poplar
genome array **52 AQP**

| | |
|-----|-----------|
| PIP | 15 |
| TIP | <u>16</u> |
| SIP | 6 |
| NIP | <u>10</u> |
| XIP | 5 |

Hybridation ADNg
Carpaccio et Soligo

72 probe sets

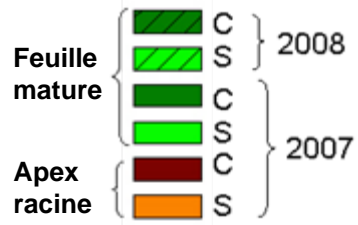
Probe sets redondantes, cad ciblant un même transcrit AQP

=> test ANOVA (Li et al, BMC Genomics 2008)

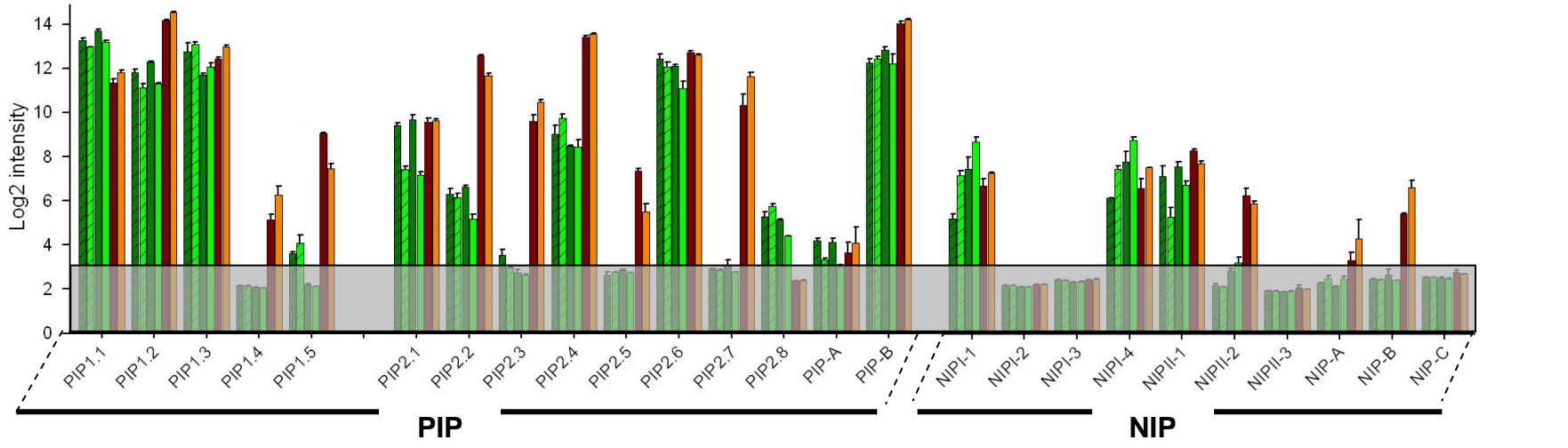
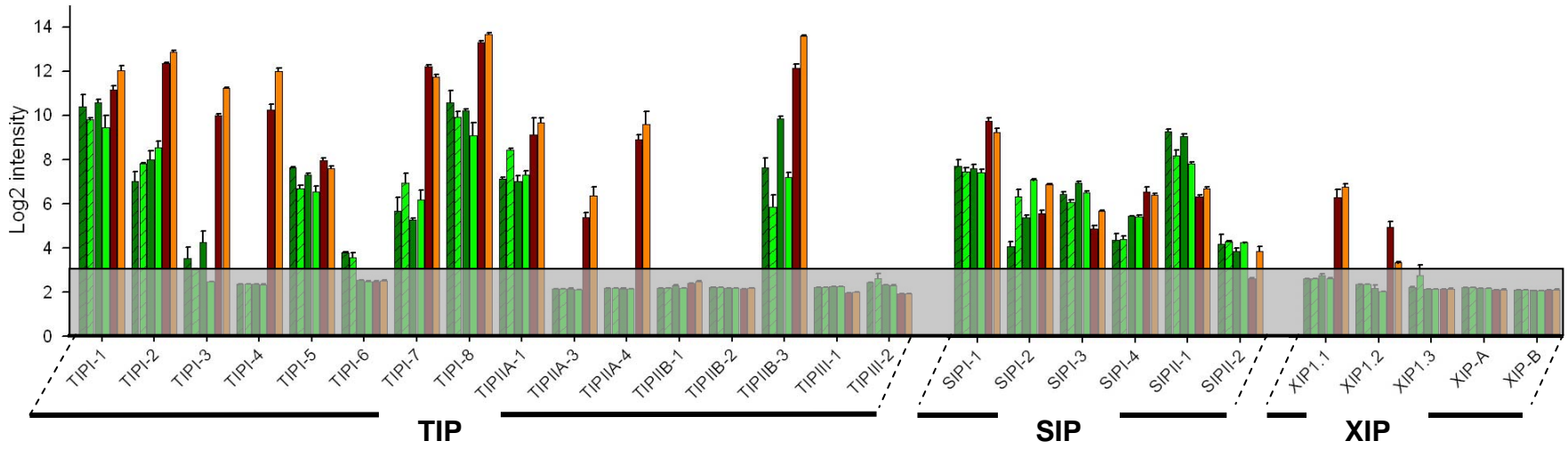
=> consolidation ssi pas d'interaction traitement x probe set

=> une valeur d'expression pour chaque AQP

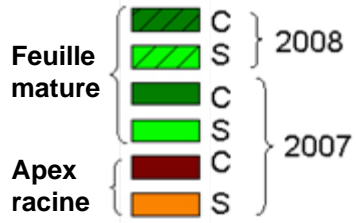
3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier



Patron d'expression des 52 AQPs

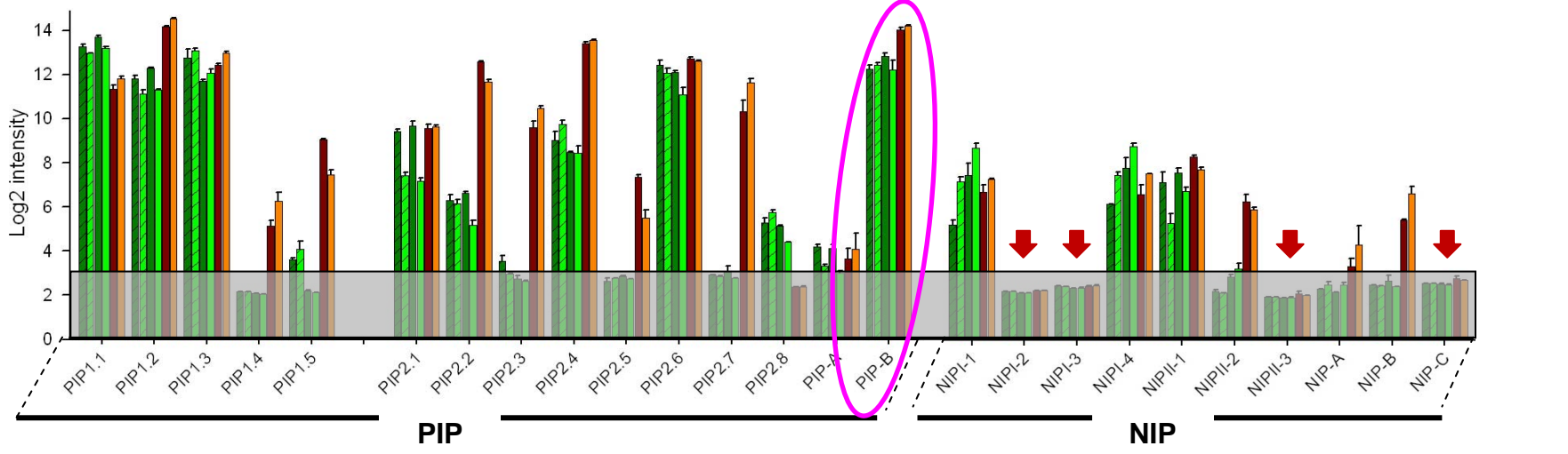
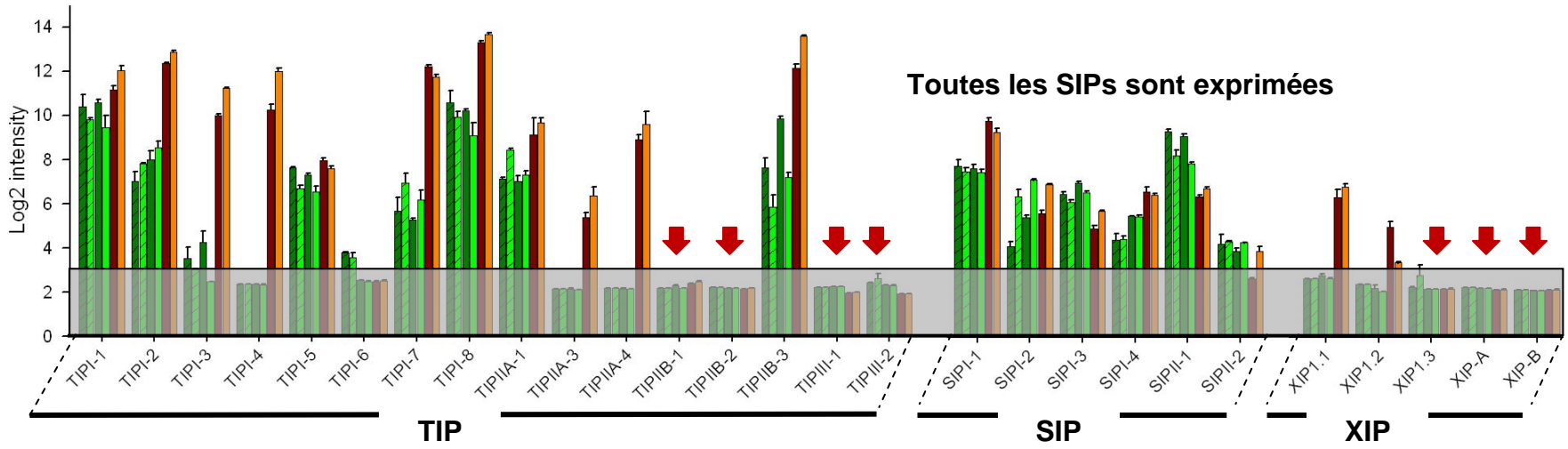


3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

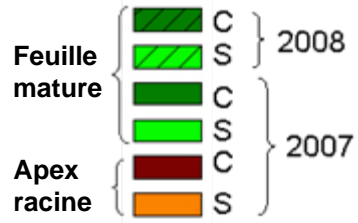


Patron d'expression des 52 AQPs

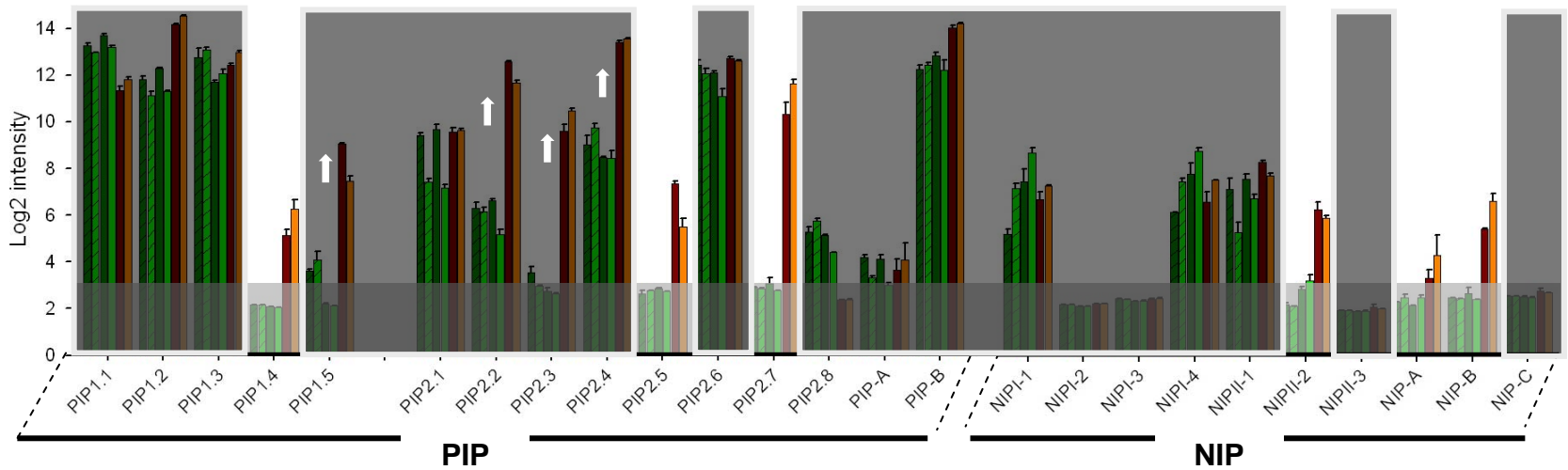
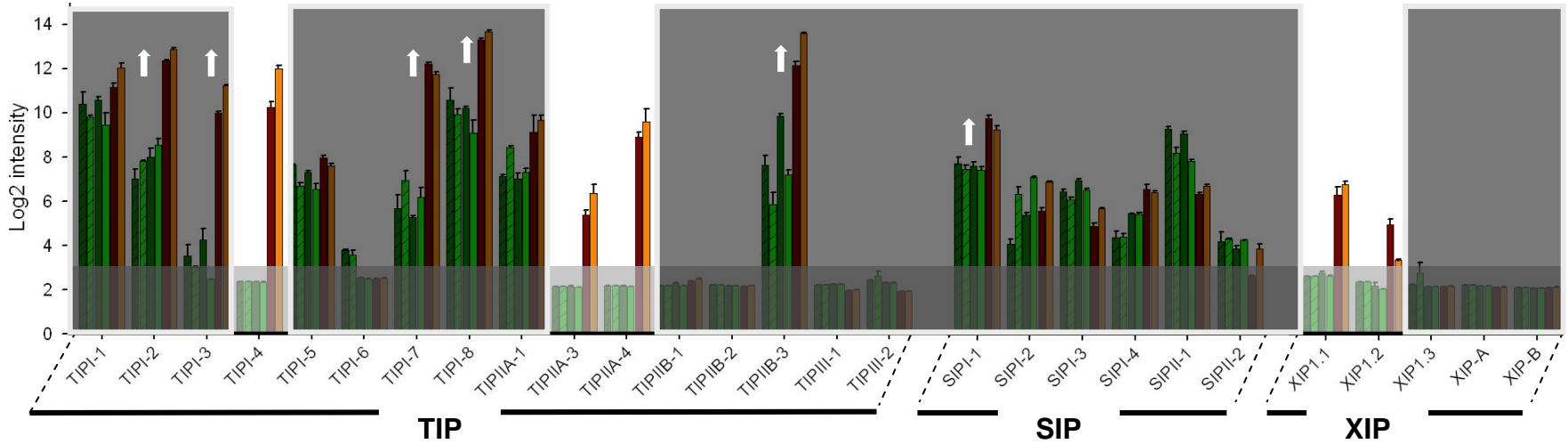
↓ 11 AQPs non-exprimées



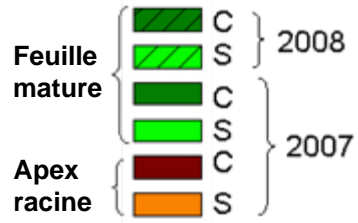
3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier



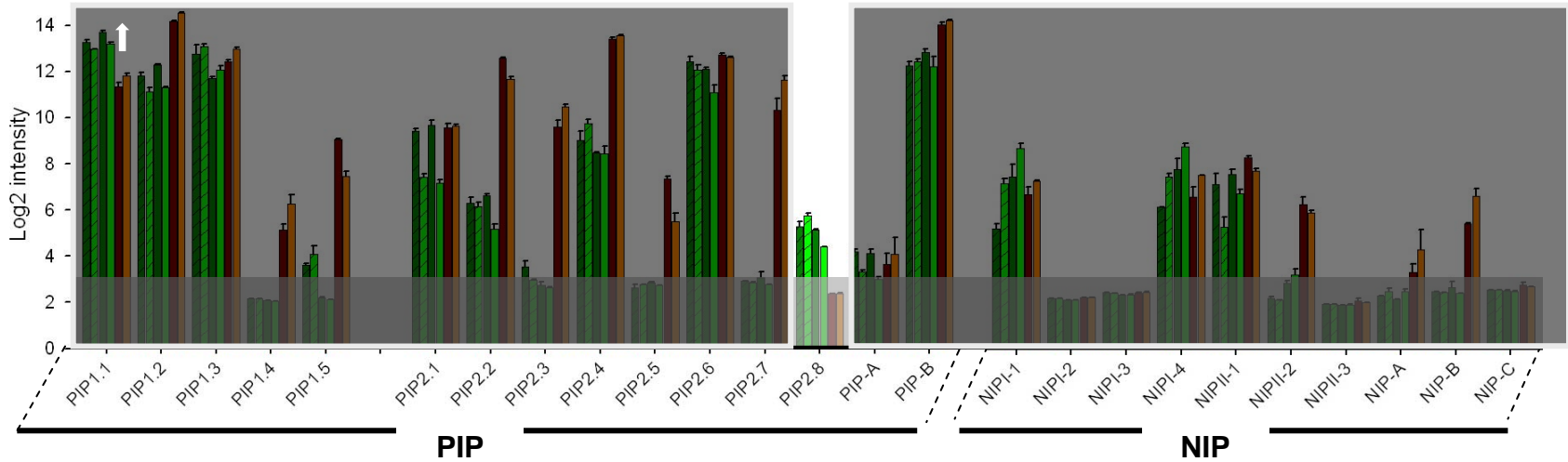
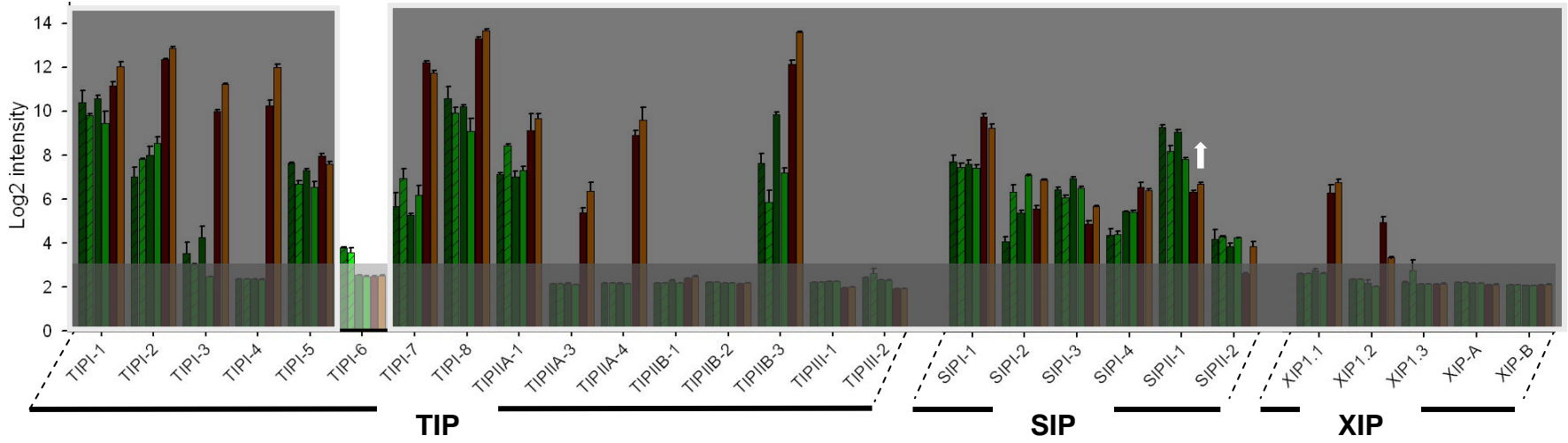
=> Exprimées uniquement dans les apex de racine



3- Expression et régulation en réponse à la sécheresse chez le peuplier

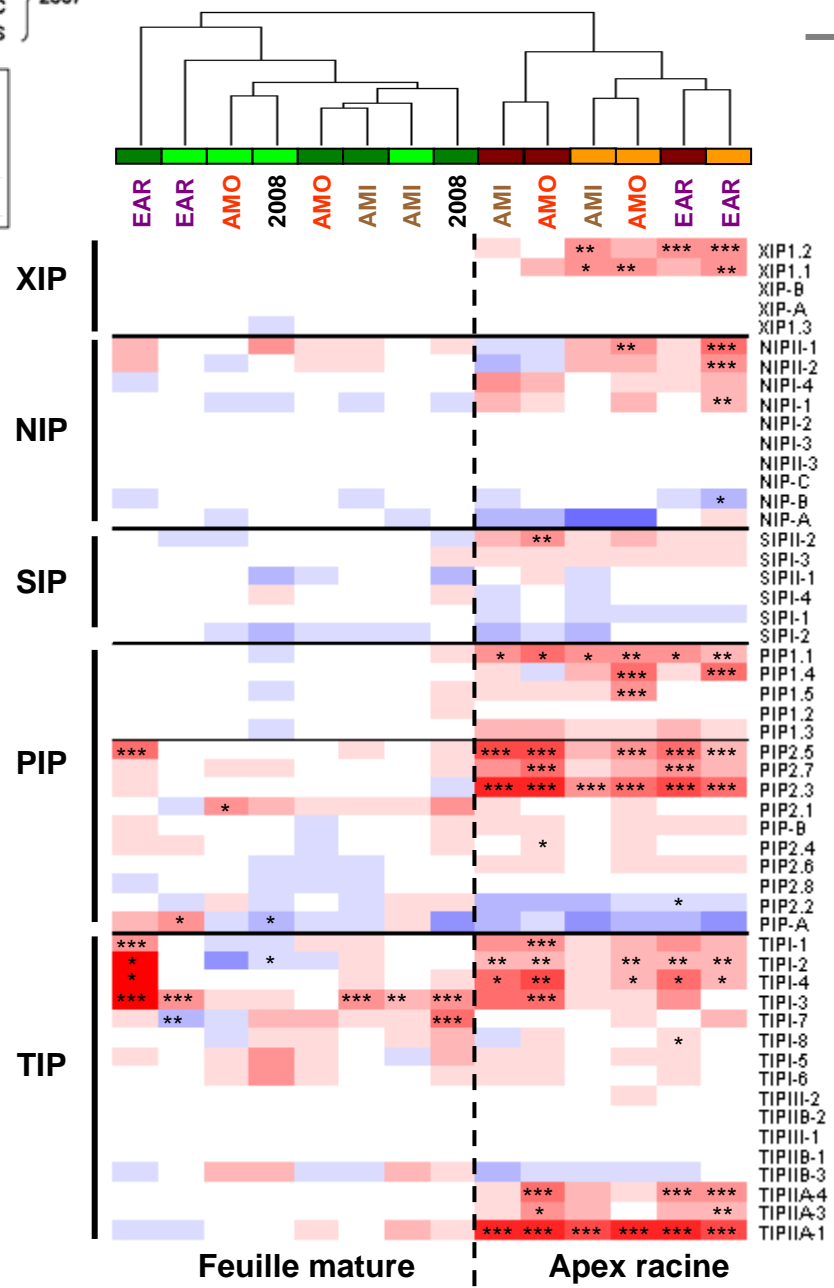


=>Exprimées uniquement dans les feuilles matures



3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier

Feuille mature {
 C } 2008
 S }
 C }
 S }
 Apex racine {
 C } 2007
 S }

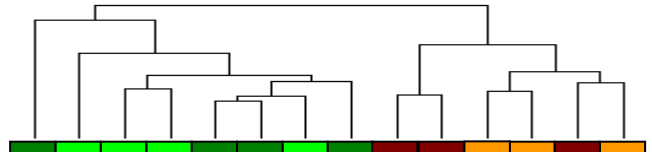
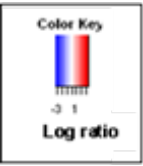
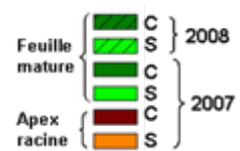


CTL

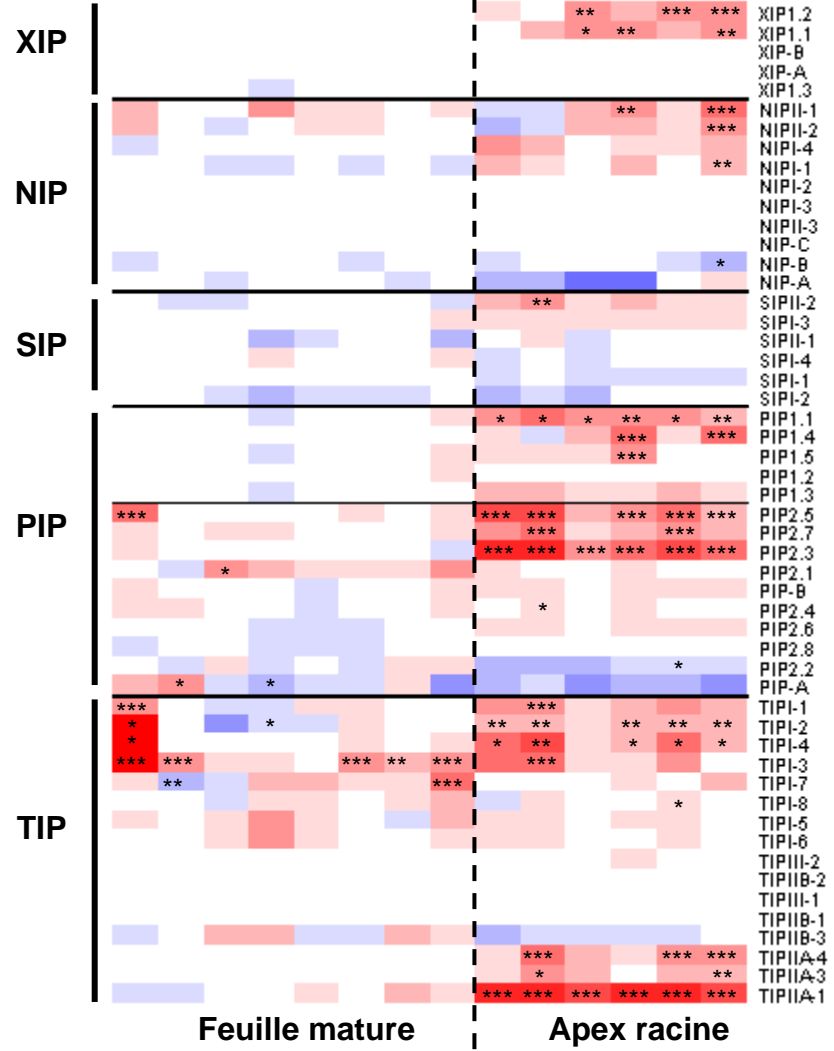


- XIP1.2
- XIP1.1
- XIP-B
- XIP-A
- XIP1.3
- NIP1.1
- NIP1.2
- NIP1.3
- NIP1.4
- NIP1.1
- NIP1.2
- NIP1.3
- NIP1.4
- NIP1.5
- NIP1.6
- NIP1.7
- NIP1.8
- NIP1.9
- NIP1.10
- NIP1.11
- NIP1.12
- NIP1.13
- NIP1.14
- NIP1.15
- NIP1.16
- NIP1.17
- NIP1.18
- NIP1.19
- NIP1.20
- NIP1.21
- NIP1.22
- NIP1.23
- NIP1.24
- NIP1.25
- NIP1.26
- NIP1.27
- NIP1.28
- NIP1.29
- NIP1.30
- NIP1.31
- NIP1.32
- NIP1.33
- NIP1.34
- NIP1.35
- NIP1.36
- NIP1.37
- NIP1.38
- NIP1.39
- NIP1.40
- NIP1.41
- NIP1.42
- NIP1.43
- NIP1.44
- NIP1.45
- NIP1.46
- NIP1.47
- NIP1.48
- NIP1.49
- NIP1.50
- NIP1.51
- NIP1.52
- NIP1.53
- NIP1.54
- NIP1.55
- NIP1.56
- NIP1.57
- NIP1.58
- NIP1.59
- NIP1.60
- NIP1.61
- NIP1.62
- NIP1.63
- NIP1.64
- NIP1.65
- NIP1.66
- NIP1.67
- NIP1.68
- NIP1.69
- NIP1.70
- NIP1.71
- NIP1.72
- NIP1.73
- NIP1.74
- NIP1.75
- NIP1.76
- NIP1.77
- NIP1.78
- NIP1.79
- NIP1.80
- NIP1.81
- NIP1.82
- NIP1.83
- NIP1.84
- NIP1.85
- NIP1.86
- NIP1.87
- NIP1.88
- NIP1.89
- NIP1.90
- NIP1.91
- NIP1.92
- NIP1.93
- NIP1.94
- NIP1.95
- NIP1.96
- NIP1.97
- NIP1.98
- NIP1.99
- NIP1.100

3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier



EAR EAR AMO 2008 AMO AMI AMI 2008 AMI AMO AMI AMO EAR EAR



Patron expression

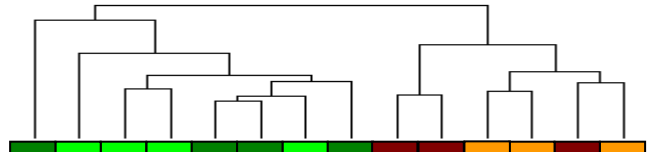
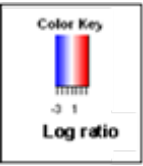


Analyse à l'échelle de la famille

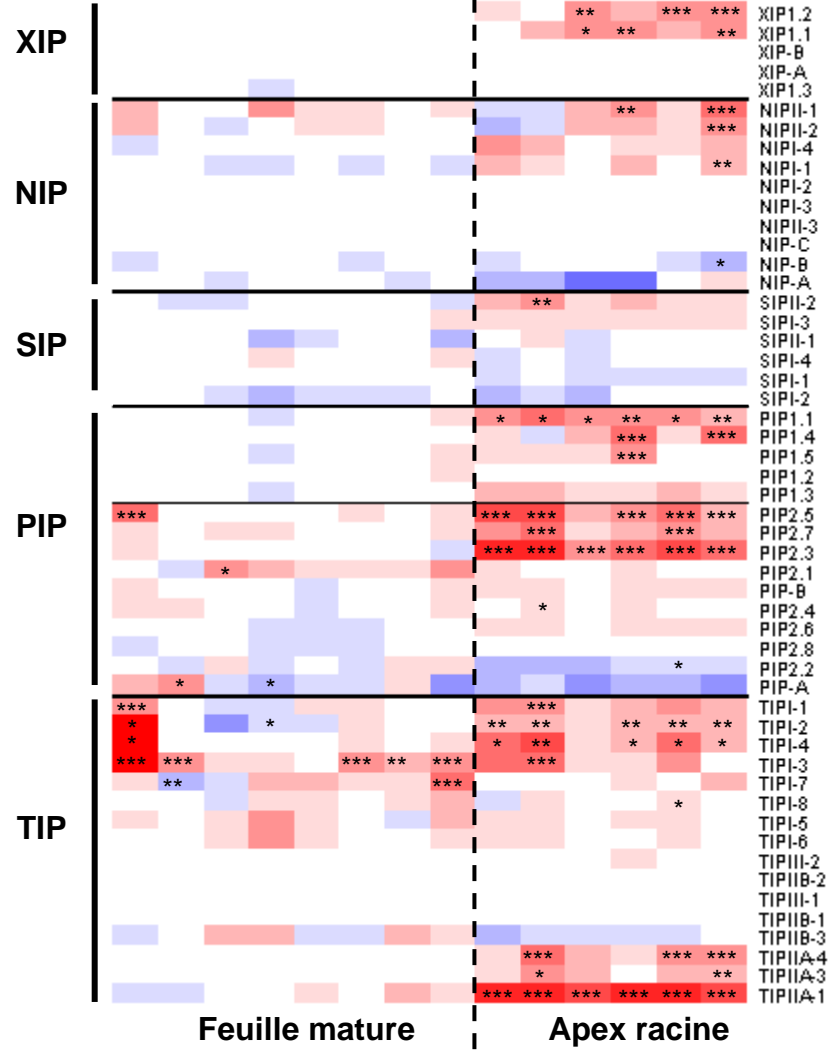
- XIP exprimés et régulés uniquement dans l'apex

3- Régulation des AQP en réponse à la sécheresse chez le peuplier

Feuille mature {
 C
 S } 2008
 C
 S } 2007
 Apex racine {
 C
 S }



EAR EAR AMO 2008 AMO AMI AMI 2008 AMI AMO AMI AMO EAR EAR



Patron expression



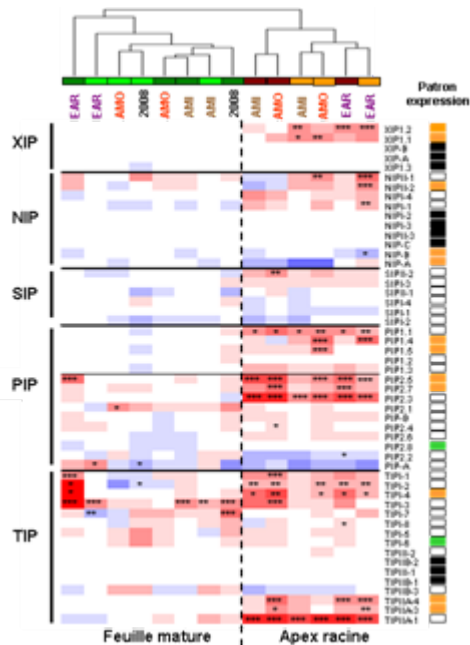
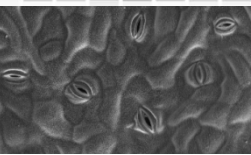
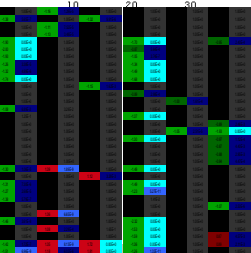
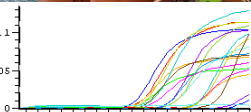
Détection de co-régulations

Répression

Surexpression

- NIP-A, NIP-B (apex)
- PIP2-2, PIPA (apex)
- TIIPIB-3 (apex)

- NIP-4 et NIP-1 (apex)
- PIP2-5, PIP2-3, PIP2-7 (apex)
- TIIPIA-1 (apex)



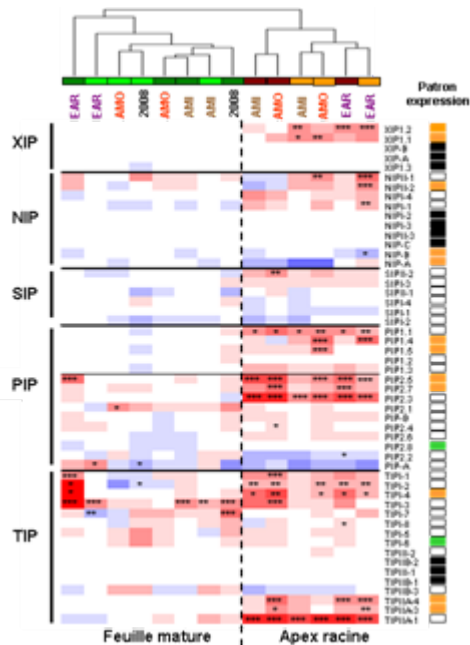
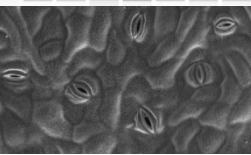
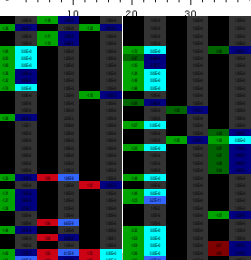
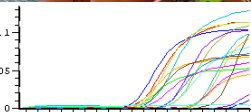
1- Analyse à l'échelle de la famille

2- Détection de co-régulations

3- Détection de AQP candidats
Acclimatation /tolérance à la sécheresse

4- Détection de AQP ni exprimés ni régulés
dans nos conditions

XIP-(A,B,1-3) / NIP(I-2,I-3,II-3,-C), TIP(IIB-1, IIB-2, III-1)



1- Analyse à l'échelle de la famille

2- Détection de co-régulations

3- Détection de AQP candidats
Acclimatation /tolérance à la sécheresse

4- Détection de AQP ni exprimés ni régulés
dans nos conditions

XIP-(A,B,1-3) / NIP(I-2,I-3,II-3,-C), TIP(IIB-1, IIB-2, III-1)

1- Recherche de motifs de cis-régulation dans les promoteurs

2- Analyse de l'expression d'éléments putatifs de trans-régulation

3- Détection d'autres gènes candidats

4- Méta-analyse dans d'autres conditions
(génotype, traitement, organes, tissus, stade de développement)
Par analyse directe des bases de données expression

Remerciements

POPSEC

Dreyer E. (Nancy)
Le Thiec D. (Nancy)
Renou J-P (Evry)
Balzergue S. (Evry)

AQPs

Depardieu C. ()
Courty P-E ()

Quatre principales sous-familles d'aquaporines

