

RESUMES DES PRESENTATIONS ORALES

C1 : Elodie QUEVRAIN

Implication du microbiote intestinal dans la physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques intestinales : exemple de la protéine bactérienne anti-inflammatoire MAM

UMR 7203 UPMC/ CNRS / ENS Laboratoire des Biomolécules

ERL INSERM 1157 Micro-organismes, molécules bioactives et physiopathologie intestinale

Les membres de l'ERL 1157 utilisent une approche translationnelle, de la pratique clinique à la biologie fondamentale, afin de mieux comprendre l'implication du microbiote intestinal dans la physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI).

Au cours des MICI, il a été décrit une dysbiose c'est-à-dire un déséquilibre du microbiote intestinal. Nous nous intéressons aux conséquences fonctionnelles de cette dysbiose. Dans ce contexte, nous explorons la communication chimique existant au sein de l'écosystème bactérien intestinal. Ainsi, le quorum sensing, un mode de communication bactérienne, et son rôle dans l'apparition et le maintien de la dysbiose associée aux MICI sont investigués. La communication « interkingdom », basée sur la production et la détection de molécules du quorum sensing, entre l'hôte et son compartiment microbien, est également au centre de nos préoccupations. Un second objectif de l'équipe est de mettre au point de nouveaux biomarqueurs de la dysbiose associée aux MICI et/ou de nouveaux traitements permettant de lutter contre l'inflammation chronique. C'est pourquoi nous nous intéressons aux molécules produites par l'hôte et modifiées par les bactéries du microbiote (exemple des acides biliaires) mais également aux métabolites bactériens porteurs d'une activité anti-inflammatoire (exemple de la protéine MAM).

La protéine anti-inflammatoire MAM a été identifiée chez la bactérie commensale intestinale *Faecalibacterium prausnitzii*, déficiente chez les patients atteints de MICI. Nous avons montré que cette protéine participe à l'effet anti-inflammatoire de cette bactérie en diminuant l'activation de la voie NF- κ B dans les cellules épithéliales intestinales mais également *in vivo* dans un modèle de colite murine.

C2 : Antoine FAYEULLE

Technologies de sélection et de culture de souches microbiennes pour la mise en œuvre et le suivi de microorganismes dans les domaines agroalimentaires et environnementaux

Sorbonne Universités, Université de Technologie de Compiègne, EA 4297 Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable, Groupe "Activités Microbiennes et Bioprocédés", CS 60319 / 60203 Compiègne Cedex, antoine.fayeulle@utc.fr

L'équipe « Activités Microbiennes et Bioprocédés » (MAB) du laboratoire « Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable » (TIMR) travaille à l'interface des Sciences du Vivant et du Génie des Procédés. Le domaine d'activité de cette équipe concerne en effet le développement, l'optimisation et la validation d'outils visant à maîtriser les activités microbiennes dans le cadre de bioprocédés. Les domaines d'application concernent principalement la bioproduction de molécules d'intérêt dans les domaines de l'agroalimentaire, de la chimie fine ou des énergies renouvelables, et la biodégradation de molécules polluantes impactant les eaux et les sols.

Afin d'atteindre cet objectif, l'équipe est composée d'enseignants-chercheurs aux domaines disciplinaires variés et complémentaires incluant le génie des procédés, les mathématiques, la chimie, l'hydrogéologie, la biologie moléculaire, la microbiologie et les procédés industriels de fermentation. Cette complémentarité des approches permet à l'équipe MAB d'agréger des compétences en rapport avec la sélection de souches et la caractérisation de leurs activités, l'optimisation et le développement de bioprocédés et la mise au point de techniques pour la mesure et la modélisation de l'activité microbienne.

Trois principales thématiques de recherches se détachent des projets menés jusqu'à présent par l'équipe MAB :

- L'étude des activités microbiologiques et des transferts de microorganismes dans les milieux complexes en particulier dans le domaine de la bioremédiation des sols pollués
- Le suivi et la modélisation des activités microbiennes par dosage de composés spécifiques en milieu aqueux
- L'optimisation de milieux et des bioprocédés dans le cadre de bioréacteurs en phases hétérogènes

Les orientations futures envisagées par l'équipe concernent l'utilisation des capacités de biodégradation bactériennes et fongiques en cultures pures et consortia pour différentes applications dont la bioremédiation, et l'utilisation des capacités de bioconversion des microorganismes pour la production de molécules d'intérêt en chimie verte et dans le secteur des énergies renouvelables.

C3 : Marcelino SUZUKI

Des principes de l'écologie microbienne au développement des biotechnologies : l'apport des approches « -omiques » environnementales

Université Pierre et Marie Curie (Paris 6) USR 3579, Observatoire Océanologique de Banyuls, Avenue du Fontaulé, Banyuls-sur-Mer F-66650.

Les avancées récentes en microbiologie environnementale ont permis de mettre en évidence que des micro-organismes d'une grande diversité, dont certains étaient auparavant inconnus, sont responsables de processus qui affectent l'humain et l'environnement. Il est également reconnu aujourd'hui que la communication entre micro-organismes, les interactions entre micro-organismes et hôte, la syntrophie, ainsi que les réponses aux forçages environnementaux sont liées à des phénomènes ayant des implications sociétales majeures, comme en santé humaine, dans la dégradation des polluants, ou encore dans le changement global. Dans ce contexte, nous proposons que la compréhension des bases écologiques des interactions microbiennes permettra de relever ces défis sociétaux et d'accélérer les développements biotechnologiques. Cette connexion est au cœur de nos activités au sein du LBBM. Parce que la compréhension des interactions, de par leur nature, exige l'étude des micro-organismes non cultivés dans les systèmes relativement intacts, nous utilisons des techniques « -omiques » comme principaux outils de travail. Je présenterai un certain nombre de projets actuellement en cours au LBBM qui illustrent la façon dont nos travaux sur les interactions microbiennes par des approches « -omiques » sont utilisés pour comprendre les principes fondamentaux des interactions microbiennes et favoriser un développement biotechnologique.

C4 : Philippe THOMEN

Réponses d'un biofilm soumis à une contrainte de cisaillement

Laboratoire Jean Perrin - Université Pierre et Marie Curie - UMR 8237 CNRS-UPMC

Les communautés bactériennes adhérentes occupent des niches écologiques souvent naturellement exposés à des flux hydrodynamiques et à une large gamme de contraintes mécaniques.

Récemment, nous avons découvert que l'augmentation du cisaillement appliquée pendant la croissance d'un biofilm conduit à une plus grande quantité de biomasse et à une baisse de la compliance. Afin de mieux comprendre la perception de la contrainte physique par la cellule et une possible réponse biologique, nous avons mis en place une stratégie basée sur l'initiation d'un biofilm dans des canaux millifluidiques microfabriqués, permettant le suivi en temps réel de la formation du biofilm par imagerie. Nous avons conçu des canaux de différentes dimensions permettant de couvrir une gamme de valeurs de contrainte de cisaillement à débit constant.

Dans la gamme choisie, nous avons mis en évidence que la contrainte de cisaillement induisait une augmentation du taux de croissance du biofilm. Nous avons évalué l'accessibilité des nutriments dans chaque géométrie de canal, et nous avons effectué une analyse transcriptomique des biofilms cultivés à deux valeurs de contrainte de cisaillement caractéristiques.

Les premiers résultats suggèrent de considérer la distribution de l'oxygène comme un élément essentiel du mécanisme par lequel le cisaillement affecte le développement du biofilm.

C5 : Katia WOSTRIKOFF

Régulations traductionnelles chloroplastiques chez l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*

UMR7141-Physiologie Membranaire et Moléculaire du Chloroplaste, IBPC, Paris 5ème.

Le chloroplaste des microalgues et plantes supérieures dérive de l'endosymbiose d'une cyanobactérie. Cette endosymbiose a été suivie d'un transfert massif de gènes du symbiote au génome de son hôte, conduisant à remanier les règles gouvernant l'expression génétique au sein du chloroplaste. Au cours de cette présentation, nous illustrerons l'apport de l'étude du microorganisme *Chlamydomonas reinhardtii* à la compréhension de l'expression des gènes chloroplastiques et nous présenterons un mécanisme de régulation traductionnelle original, liant la traduction des polypeptides chloroplastiques à leur assemblage au sein de complexes photosynthétiques multimériques.

Processus et mécanismes adaptatifs des microorganismes

Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes (MCAM) UMR 7245 CNRS/MNHN

Les interactions symbiotiques entre microorganismes, sur un continuum entre parasitisme et mutualisme, et les relations entre ces microorganismes et leur environnement, biotique ou abiotique, font intervenir un ensemble complexe de facteurs moléculaires, cellulaires, métaboliques et environnementaux. Ces interactions permettent la perception du milieu, la communication entre individus d'une espèce, la communication entre espèces, et sont également déterminantes dans le jeu des défenses et contre-défenses mises en place dans les situations d'interactions antagonistes. Les recherches de l'unité Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes (MCAM) au Muséum national d'Histoire naturelle portent sur la compréhension aux niveaux moléculaires, cellulaires et métaboliques des processus d'adaptation à leurs environnements de microorganismes procaryotes ou eucaryotes, libres ou parasites. Elles s'appuient sur des modèles conventionnels et non conventionnels (Nématodes, Champignons, Protistes, Eubactéries, Archées, ...) et associent des compétences en microbiologie, chimie, biochimie et biologie dans l'objectif d'explorer la diversité des processus et mécanismes impliqués dans ces capacités adaptatives.

Les facteurs chimiques (métabolites secondaires, peptides, protéines) et les mécanismes qui régulent les interactions des microorganismes entre eux, avec leur milieu, ou avec leur hôte sont caractérisés selon des approches d'écologie chimique. Leurs voies de biosynthèse et les mécanismes de régulation de leur production sont décryptés et leurs rôles écologiques sont explorés.

Ces processus sont étudiés dans différents contextes: dialogues moléculaires bactéries/bactéries chez les éponges marines, champignons/champignons ou bactéries/champignons chez les plantes, bactéries-protazoaires dans le microbiote intestinal, cyanobactéries-ciliés dans les eaux douces, aspects moléculaires et évolutifs de la morphogenèse et de la différenciation parasitaire, chez *Plasmodium* et *Trypanosoma*. Ces questions fondamentales engendrent des retombées sociétales, comme les effets des pressions anthropiques sur les proliférations de cyanobactéries toxiques, ou l'adaptation de bactéries et archées à des environnements extrêmes (milieux hypersalins ou impactés par des métaux lourds). Elles sont à l'origine de stratégies bio-inspirées de conception de molécules d'intérêt pour la société (chimie verte, écologie chimique, écotechnologies, biotechnologies).

C7 : Lucie BITTNER

L'expédition Tara Oceans: une formidable masse de données pour mieux comprendre la pompe à carbone

UMR 7138 CNRS-UPMC, Analyse des données à haut débit en génomique, Institut de Biologie Paris-Seine

La pompe biologique à carbone désigne l'ensemble des processus qui, dans la zone photique des océans, et via la photosynthèse, transforment le carbone atmosphérique puis inorganique dissous en carbone organique. Ce carbone est stocké dans les organismes photosynthétiques et peut subir une série de transformations au sein de la chaîne alimentaire. Aussi, seule une petite fraction de la matière organique produite quitte la couche de surface sous forme de particules, transférant et séquestrant ainsi le carbone de surface vers les couches profondes de l'océan. L'intensité et l'efficacité de la pompe sont directement liées à la composition des communautés planctoniques qui la constituent. Cependant la structure sous-jacente de cet écosystème, de même que les interactions qui conduisent à ce processus restent largement inconnues. Grâce aux larges jeux de données génomiques environnementaux produits par l'expédition Tara Oceans, une vision holistique et novatrice de la pompe biologique à carbone vous sera présentée, vous révélant ainsi l'ensemble de ses acteurs majeurs et leurs interactions dans l'océan.

RESUMES DES POSTERS

Approche intégrative des produits naturels fongique : des gènes aux métabolites et rôles dans l'environnement.

Sévérine AMAND¹, Didier BUISSON¹, Caroline KUNZ^{1,2}, Stéphane MANN¹, Soizic PRADO¹, Sébastien PREVOST¹ et Bastien NAY¹ 1 : MCAM, UMR 7245 CNRS – Muséum National d'Histoire Naturelles, Equipe : Chimie des Produits Naturels Fongiques, 57 rue Cuvier, CP54, 75005 Paris, France ; 2 : UPMC, Université Pierre et Marie Curie, 4 Place Jussieu, 75005 Paris, France. buisson@mnhn.fr, caroline.kunz@upmc.fr

Tous les organismes vivants produisent des molécules qui leur permettent de communiquer et d'interagir entre eux et/ou avec d'autres organismes. Ces communications peuvent être positives ou défensives, et l'écologie chimique a pour but d'étudier les interlocuteurs et les médiateurs mis en jeu lors de ces interactions. Notre activité a pour objectif d'étudier les métabolites secondaires fongiques impliqués dans ces phénomènes. Nous nous intéressons à leur nature chimique grâce à leur isolement et la synthèse organique, à leur origine biologique par l'étude des voies de biosynthèse, à leur rôle et leur devenir par biotransformation, au sein de diverses communautés. Ces différentes approches seront illustrées par des exemples impliquant des micro-organismes endophytes terrestres (maïs – *Acremonium zeae* – pyrrocidines ; conifère - *Paraconiothyrium variable* - oxylipines), marins associés à des macroalgues brunes et des agents de bio-contrôle (*cacaoyer* – *Trichoderma* sp. – viridine). Combès A., Ndoyz, I., Bance, C., Bruzard, J., Djedat, C., Dupont, J., Nay, B. and Prado, S. 2012. Chemical communication between the endophytic fungus *Paraconiothyrium Variable* and the phytopathogen *Fusarium oxysporum*. PLOS One, 7 (10): e47313 Tian, Y, Amand S, Buisson D, Kunz C, Hachette F, Dupont J, Nay B and Prado S. 2014. The fungal leaf endophyte *Paraconiothyrium variable* specifically metabolizes the host-plant metabolome for its own benefit. Phytochemistry, 108, 95-101. Ear, A, Amand S, Blanchard F, Blond A, Dubost L, Buisson D and Nay B. 2015. Direct biosynthetic cyclization of a distorted paracyclophane highlighted by double isotopic labelling of L-tyrosine. Org. Biomol. Chem. 13(12) 3662-3666

P2

Exploring transcriptional networks in an emerging human pathogen: the yeast *Candida glabrata*.

Antonin Thiebaut, Jawad Merhej, Thierry Delaveau, Mathilde Garcia, Gaëlle Lelandais*, Frédéric Devaux. Affiliations: Sorbonne Universités, UPMC Univ. Paris 06, UMR 7238, Laboratoire de biologie computationnelle et quantitative, F-75006, Paris, France. et * Institut Jacques Monod, CNRS, UMR 7592, Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, F-75205 Paris, France

Candida glabrata is a fungal human pathogen which is close to the model yeast *S. cerevisiae*. *Candida glabrata* is accounting for more and more systemic candidemia in immunodepressed patients, with a high mortality rate. Compared with the other most prevalent pathogenic yeast, *Candida albicans*, very little is known about the transcription factors which control the adaptation of *C. glabrata* to varying environments in the human body. In the frame of the CANDIHUB ANR project, we are using genome-wide location analyses and transcriptomics of mutants for particular transcription factors to achieve a large scale view of the transcriptional regulatory networks associated with stress response in this species. This poster is more particularly focused on the results we obtained for the Yap (yeast AP1) family of paralogous regulators, with a special emphasis on Yap7. Our study demonstrated that Yap7 is a new regulator of nitric oxide oxidase, an enzyme which is involved in virulence and survival to innate immune system in a wide range of microorganisms, from bacteria to fungi.

P3

Initiation à la bioinformatique par projet / BioMicCité: La diversité microbienne dans la cité

J. Bernardes^{1,3}, L. Bittner^{2,4}, S. Collin^{2,5}, S. Delmas^{2,3}, M. Garcia^{2,3}, C. Hennequin^{2,6}, I. Lafontaine^{2,3}, E. Laine^{2,3}, H. Richard^{1,3}. 1: Faculté d'Ingénierie, UPMC 2: Faculté de Biologie, UPMC 3: Laboratoire de Biologie Computationnelle et Quantitative – UMR 7238, CNRS, UPMC. 4 Analyse des données à haut débit en génomique -- UMR7138, CNRS-, UPMC. 5 Laboratoire de Génétique et Génomique des Thaumarchées -- UMR7138, CNRS, UPMC. 6 Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Hôpital St Antoine, Service de Parasitologie---Mycologie, Inserm, U1135, CNRS, ERL 8255, UPMC CR7, Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses (CIMI---Paris).

Avec le projet BioMicCité (Biodiversité Microbienne dans la Cité), nous proposons un enseignement interdisciplinaire, au niveau de la L2, combinant biologie, informatique, mathématiques et sciences sociales. Ces disciplines s'articuleront de manière originale et novatrice dans un dialogue permanent entre socle théorique et application pratique, autour d'une thématique centrale : l'analyse des génomes des populations microbiennes (métagénomique) d'un milieu citadin. Les étudiants pourront ainsi s'initier aux nouvelles technologies de séquençage, apprendre à travailler en équipe en simulant un projet de recherche en consortium, apprendre à partager des connaissances, à les mettre en forme et à les présenter (mini-soutenances, wiki).

Diversité et originalité des gènes et des médiateurs du quorum-sensing en milieu marin

Margot Doberva, Didier Stien, Léa Girard, Elodie Blanchet, Yoan Ferandin, Nicole Batailler, Véronique Eparvier, Raphaël Lami LBBM - Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes UPMC - Observatoire de Banyuls

Le quorum-sensing est un mécanisme qui permet aux cellules microbiennes d'évaluer leur densité de population et de coordonner leurs activités physiologiques. Avec environ de 5×10^5 cellules par millilitre d'eau de mer, la densité des cellules procaryotes marines est généralement considérée comme insuffisante pour permettre à ces dernières de communiquer par quorum-sensing. Pourtant, quelques études pionnières ont montré l'existence de gènes et de molécules impliqués dans cette communication chimique chez les bactéries marines. Notre approche est basée sur une étude de métagénomiques marins, le criblage d'une souchothèque d'environ 2000 isolats (issus de lagunes méditerranéennes, endophytes foliaires, colonne d'eau, et bien d'autres), couplés à l'analyse de profils métaboliques (LC/MS/MS et UHPLC/HRMS) pour identifier les médiateurs impliqués. Nous avons pu mettre en évidence une large diversité de gènes impliqués dans le quorum-sensing en mer, éloignée de celle connue à partir des séquences référencées dans les banques de données. Les profils chimiques ont révélé l'existence de plusieurs genres et espèces de bactéries marines qui n'étaient pas connus pour communiquer par quorum-sensing. Une large diversité d'acyl-homosérines lactones (les molécules médiatrices du quorum-sensing) a aussi été mise en évidence. Certaines d'entre elles semblent être inédites. L'ensemble de ces données montre l'importance des processus de communication chimique en écologie microbienne marine, et ouvre la voie à une exploration fonctionnelle du rôle de cette communication. Nous débutons l'exploration de ces problématiques en particulier par la coculture de souches d'intérêt et des approches de RNAseq.

Activité et diversité des procaryotes planctoniques dans la dynamique de dégradation de macroalgues

D. Lamy¹, C. Hubas¹, J.M. Mortillaro¹, N. Thiney¹, V. Point¹, A. Lacassagne¹, J. Caparros^{2,3}, I. Obernosterer^{2,3} 1 :UMR BOREA, UPMC/MNHN/CNRS 7208/IRD-207/UCBN, 61 rue Buffon, 75005 Paris 2 :UPMC Université Paris 06, UMR 7621, LOMIC, UMS 2348, Observatoire Océanologique, Banyuls/mer, France 3 :CNRS, UMR 7621, LOMIC, Observatoire Océanologique, Banyuls/mer, F-66650

L'activité et la diversité des procaryotes planctoniques dans la dynamique de dégradation de deux espèces de macroalgues ont été suivies en microcosmes et comparées à des expériences sans macroalgue. Les macroalgues contribuent significativement à la formation du pool de matière organique (MO) des écosystèmes marins côtiers et sont donc susceptibles de constituer une ressource majeure dans les réseaux trophiques pélagiques. Les objectifs étaient de déterminer (i) si la dégradation des macroalgues conduit à des apports de MO de quantité et qualité différentes pour les procaryotes et (ii) dans quelle mesure ces différents apports de MO conduisent à des assemblages et des métabolismes différents des communautés procaryotiques. Les analyses des acides gras et des sucres de la MO particulaire (MOP) montre des différences significatives de la qualité et de la quantité de MOP entre les traitements. La MOP générée dans les microcosmes avec macroalgues a conduit à un développement bactérien plus important que dans les microcosmes contrôle et une forte stimulation des activités enzymatiques de dégradation. Les procaryotes dégradent activement la MOP apportée au milieu par les macroalgues et la transforment en carbone organique dissous (COD), à priori non totalement labile puisque la concentration en COD augmente dans les traitements avec macroalgues alors qu'elle reste faible et constante dans les contrôles. Les différences d'activités enzymatiques pourraient s'expliquer par des communautés procaryotiques de structures différentes entre les traitements et au cours du temps. Ces résultats montrent que la nature et la qualité de la MO sont des facteurs structurants pour les assemblages des procaryotes et leurs capacités métaboliques. Mots-clés : activités enzymatiques, diversité bactérienne, MOP, acides gras, sucres

Role of oxylipins produced during the interaction between the endophytic fungus *Paraconiothyrium variabile* and the phytopathogen *Fusarium oxysporum*

Margot Bärenstrauch¹, Bastien Nay¹, Soizic Prado¹ and Caroline Kunz ^{1,2} 1 : Muséum National d'Histoire Naturelle, UMR 7245 MCAM, CNRS, 57 rue Cuvier (CP 54), 75005 Paris, France 2 : Université Pierre et Marie Curie, 4 Place Jussieu, 75005 Paris, France.

Endophytic fungi have been shown to establish mutualistic associations with their host plants and conferring fitness benefits such as tolerance to biotic stresses. In many cases, compounds isolated from endophytic fungi are fungicidal or antibacterial thus supporting the idea that they play a role in the host plant defence. We studied and identified the fungal diversity of *Cephalotaxus harringtonia*, an Asian conifer tree of medical importance. We focused on the isolated endophyte *Paraconiothyrium variabile*, as it showed a strong antagonism towards *Fusarium oxysporum* known as an ubiquitous fungal phytopathogen. We identified competition-induced oxylipin production, which provoked a negative modulation of beauvericin biosynthesis, one of the most potent mycotoxins of *F. oxysporum* (Combès et al. 2012). We started to study the exact role of these oxylipins, identified as 13-oxo-9,11-octadecadienoic acid and 13-hydroperoxy- 9,11-octadecadienoic acid, in the antagonistic interaction between *F. oxysporum* and *P. variabile* by constructing oxylipin mutants in the endophyte *P. variabile*. Study of these mutants will clarify the origin of the competition-induced oxylipins, their role in the observed antagonism and the negative regulation of beauvericin production in the pathogen *F. oxysporum*. Combès, A., Ndoyz , I., Bance, C., Bruzard, J., Djediat, C., Dupont, J., Nay, B. and Prado, S. 2012. Chemical communication between the endophytic fungus *Paraconiothyrium Variabile* and the phytopathogen *Fusarium oxysporum*. PLOS One, 7 (10): e47313

Halocin C8, an antimicrobial peptide produced by halophilic archaea belonging to *Natrinema* and *Haloterrigena* genera

Alison Besse, Alyssa Carré-Mlouka, Manon Vandervennet, Jean Peduzzi, Sylvie Rebuffat Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes UMR7245 CNRS-MNHN, Sorbonne Universités, France

Les archées halophiles sont des microorganismes procaryotes appartenant à la famille des Halobacteriaceae, vivant dans des conditions de forte salinité (jusqu'à 5,2 M de NaCl). Ces microorganismes colonisent les environnements hypersalins et synthétisent des peptides antimicrobiens appelés halocines, qui pourraient leur conférer un avantage sélectif sur leurs compétiteurs. Parmi les peptides antimicrobiens d'archées halophiles décrits, on distingue l'halocine C8, initialement purifiée à partir de la souche halophile chinoise *Natrinema* sp. AS7092. Pour cette souche, avait été identifié un groupe de gènes putatifs, composé du gène proC8 codant un précurseur mûr en peptide actif et une protéine d'immunité conférant une protection à la souche productrice, ainsi que de gènes de régulation et de transport (Sun et al., 2005). Par des approches complémentaires de recherche de gènes *in silico* et d'amplification PCR à l'aide d'amorces spécifiques, cette étude montre que le gène proC8 est retrouvé chez d'autres archées halophiles. La présence du gène proC8, ainsi que du groupe de gènes environnants, est restreinte et systématiquement retrouvée chez des souches appartenant à deux genres phylogénétiquement très proches : *Natrinema* et *Haloterrigena*. La présence de ce locus génétique a été corrélée à une étude transcriptionnelle et à des tests d'activité antimicrobienne contre une collection de souches appartenant à ces deux genres, suggérant que l'halocine C8 est exprimée dans des conditions de compétition. Cette étude présente des résultats qui déboucheront sur une meilleure compréhension des compétitions microbiennes dans les environnements hypersalins et du rôle écologique des halocines. Mots clés: écologie microbienne, écosystèmes hypersalins, archées halophiles, halocine C8, *Natrinema*, *Haloterrigena* Sun C, Li Y, Mei S, Lu Q, Zhou L, Xiang H (2005) A single gene directs both production and immunity of halocin C8 in a haloarchaeal strain AS7092. *Mol Microbiol.* 57(2) :5

The transcriptomic landscape of the *Chlamydomonas* chloroplast as revealed by sRNAseq and stranded-RNAseq.

Marina Cavauiuolo, Yves Choquet, Richard Kuras, Francis-André Wollman, Olivier Vallon. UMR7141, CNRS/UPMC, IBPC, Paris, France

Regulation of gene expression is a dynamic process controlled by a number of mechanisms going from RNA synthesis to degradation. In the chloroplast of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* regulation of transcript accumulation is mainly post-transcriptional and involves gene specific stabilizing factors and ribonucleases that cooperate in maintaining the steady state levels of RNA abundance from mRNA maturation and stabilization to decay. We used Illumina strand-specific RNA sequencing of long RNA to explore both sense and antisense transcription of the chloroplast genome and small RNA sequencing of short RNAs (10-nt to 40-nt) to estimate RNA decay under transcriptional and translational inhibition. Strand-specific RNA sequencing indicated that the chloroplast genome is heavily transcribed: the higher RNA levels were produced from the sense strand, but a low-abundance generation of antisense RNAs was present. By smallRNAseq, we found highly abundant short RNAs in correspondence to the 5'ends of mRNAs representing footprints of stabilizing factors as previously shown. Interestingly, short RNAs mapping to coding sequences originate nearly equally from both strands and mapped to the same regions. When chloroplast transcription was inhibited with rifampicin, antisense short RNAs were disappearing more rapidly compared to the sense. In contrast, when cells were treated with lincomycin, an inhibitor of chloroplast translation initiation, the abundance of antisense short RNAs was increased. This suggests that they are processing products of double-stranded RNA molecules generated in the absence of ribosomes by the pairing of the sense RNA, much more abundant, with an antisense RNA. Our results suggest that antisense RNAs precursors, whether produced as transcriptional noise or as read-through from genes, are rapidly degraded in the cells by a variety of mechanisms. They may have a function in controlling stability or translation of the sense RNA through base pairing.

Microborer colonization of the skeleton of a scleractinian coral, across its life stages.

Anaïs Massé (MCAM UMR7245 CNRS-MNHN), Isabelle Domart-Coulon (MCAM UMR7245 CNRS-MNHN), Aline Tribollet (IPSL-LOCEAN UMR7159 CNRS-UPMC-MNHN-IRD)

The biogenic dissolution of carbonates by filamentous microborers (chlorophycea, fungi and cyanobacteria) is a major destructive force of coral reefs. However, in living stony corals, the diversity, distribution and role of these endolithic microorganisms drilling galleries inside the calcareous skeleton isn't known properly yet. Specifically, their sequence of colonization has not been investigated across coral development, from larval settlement and metamorphosis to primary polyp and budding colony. Colonies of the branching *Pocillopora damicornis* contain a high abundance of microborers in the basal part of branches, where the skeleton is bare of tissues, while their distribution appear as diluted in the healthy, actively growing, tissue-covered branch tips. These results confirm that, in adults, the factor which controls the colonization of skeletons by microborers is the coral growth speed. For the first time, microborers have been detected in the early life stages of the coral *Pocillopora damicornis*, in 7 days old primary polyp settled on carbonate skeleton from *Porites* coral exposed for 2-7 months to endolith colonization, while they were few or absent in recruits settled on calcite and plastic/glass, respectively. At the juvenile stage, the substrate is the main factor controlling the colonization of skeletons by microborers. Morphologically, the observed filaments were classified as *Ostreobium* sp. (Chlorophycea) which is the major agent of carbonate dissolution, and as fungi. Genetic markers (*Ostreobium* *rbcl* gene and fungal ITS2 region) PCR-amplified from DNA extracts confirmed their presence in living colony adults, and are being tested in early recruits. Microscopically, microborers were observed in contact with coral tissue either in the early stages or in adults, suggesting interactions between microborers and the coral host. Perspectives include studying the nature of microborer-coral interactions, with potential metabolite exchange between partners. Such a study is of key interest in the current context of global change, which impacts the early stages of coral development, and the microborer communities.

La saline de Sfax, un milieu extrême : source de nouveaux peptides antimicrobiens?

Fadoua Ghanmi, Alyssa Carre-Mlouka, Jean Peduzzi, Sami Maalej et Sylvie Rebuffat. Museum National d'Histoire Naturelle Laboratoire Chimie

La saline de Sfax est un milieu hypersalin s'étendant sur une superficie de 24 hectares, localisé dans la zone centrale de la côte est de Tunisie. Dans ce travail, nous avons isolé, identifié, et caractérisé des souches d'archées halophiles produisant des peptides antimicrobiens (halocines), afin de mieux comprendre leur rôle dans les interactions microbiennes au sein des milieux hypersalins. Deux étangs salins de la saline de Sfax (TS18, 390 g.L⁻¹ NaCl et M1, 200 g.L⁻¹ NaCl) ont été choisis pour l'échantillonnage. Trente-cinq souches de procaryotes halophiles ont été isolées et caractérisées, dont 11 ont présenté une activité antimicrobienne. Parmi ces souches, trois produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique. A l'aide de PCR et RT-PCR avec des amorces spécifiques de gènes d'halocines connus, nous avons démontré que les souches *Hbt. salinarum* ETD5 et ETD8 codaient et exprimaient le gène de l'halocine S8, un peptide de 3,6 kDa préalablement purifié d'une souche non identifiée, nommée S8a. Le peptide naturel a été purifié à partir de cultures de la souche *Hbt. salinarum* ETD5. Après purification bioguidée sur colonne de Phényl-Sépharose, les fractions actives ont été analysées et ont révélé deux bandes protéiques de 8 et 14 kDa présentant une activité antimicrobienne. L'analyse par séquençage N-terminal et spectrométrie de masse a permis d'identifier ces deux protéines. La bande de 8 kDa correspond à l'halocine S8 qui selon les données obtenues, subirait une maturation post-traductionnelle protéolytique différente de celle initialement décrite dans la littérature aboutissant à un peptide de 3,6 kDa. Le clonage et le séquençage du gène codant le précurseur de l'halocine S8 démontrent que la séquence est identique chez les deux souches ETD5 et S8a. La bande de 14 kDa correspond à une forme tronquée en partie N-terminale de l'enzyme Mn-superoxyde dismutase (SOD) de 19 kDa, bien connue chez les archées halophiles. Il pourrait s'agir d'évolution divergente d'un gène codant deux protéines distinctes, ou d'une double fonction pour une même protéine différenciellement maturée. L'ensemble de ce travail permettra de mieux connaître les molécules intervenant dans les interactions microbiennes dans les milieux hypersalins, des milieux extrêmes susceptibles de révéler des structures et des modes d'action originaux.

P11

Parcours de Master 2 "Microbiologie, Environnement, Santé" (UPMC-MNHN).

Joux Fabien - Laboratoire d'Océanographie Microbienne

L'étude des microorganismes de l'environnement, leur rôle dans le fonctionnement des écosystèmes, leur impact en santé humaine et leur potentiel de valorisation biotechnologique est plus que jamais d'actualité. Le parcours de Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé (MES) » vise à répondre aux demandes grandissantes des laboratoires académiques et des entreprises dans des domaines variés comme la recherche fondamentale, la valorisation des microorganismes dans l'industrie, les écotechnologies, l'évaluation du risque sanitaire dans l'environnement en général et dans les milieux aquatiques en particulier, le diagnostic environnemental, l'analyse de l'anthropisation des milieux ... Le parcours s'appuie sur des connaissances et des compétences dispensées en écologie microbienne, en écotoxicologie, en biochimie, en biologie moléculaire, en bioinformatique et en chimie. Le parcours MES bénéficie : - d'une complémentarité de compétences des enseignants chercheurs de l'UPMC et du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris dans le domaine de la microbiologie (incluant les microorganismes eucaryotes), de sa diversité, de son impact sur les écosystèmes (eau et sol principalement), - de l'utilisation de plateformes analytiques performantes de l'Observatoire Océanologique de Banyuls et du MNHN, - de l'intervention de professionnels dans le domaine de la valorisation de biomolécules microbiennes et l'évaluation du risque sanitaire dans l'environnement.

Prokaryotic Surface Layers: Bioremediation, Biomineralization, and Biosignatures

Adrienne Kish¹, Jennyfer Miot², Carine Lombard¹, Sylvain Bernard², Séverine Zirah¹, Chakib Djediat¹, Virginie Chapon³, Laurie Piette³, François Guyot² 1 :Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes (MCAM), UMR 7245 CNRS/MNHN 2 :Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, CNRS/MNHN/UPMC UMR 7590, IRD 206 3 :DSV-IBEB-SBVME-LIPM, CNRS/CEA UMR 6191

Proteinaceous surface layers (S-layers) are highly ordered, paracrystalline structures commonly found in prokaryotic cell envelopes that augment their structural stability and contribute to interactions with metals in the environment. S-layer proteins are among the most abundant biopolymers on Earth, representing 15% of all cellular proteins in bacterial cells. The survival advantages provided by S-layers have likely contributed their maintenance by prokaryotes from all major phylogenetic divisions despite the high metabolic costs of producing such an organic exoskeleton. These rigid 2-dimensional arrays of identical proteins are capable of self-assembly, both on cell surfaces, and in solution in vitro as cell-free S-layer ghosts. S-layers are capable of adsorbing metals and radionuclides based on the pore sizes and symmetry of the 2-D array (square, oblique, or hexagonal), their amino acid composition, and protein post-translational modifications, leading to their potential use in bioremediation of heavy metal contaminants in polluted zones as well as the nano-patterning of materials. In addition, S-layers from cyanobacteria have been described as the nucleation site of carbonate and sulfate minerals including fine-grained gypsum ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), calcite (CaCO_3), strontianite (SrCO_3) and celestite (SrSO_4). Over twenty years have passed since these pioneering studies, and yet the mechanisms of S-layer mineralization remain poorly constrained. We have studied the interactions between S-layer proteins and heavy metals/radionuclides in both bacterial and archaeal model systems. We have characterized the S-layer of the metallo-tolerant bacterium *Lysinibacillus* sp. HG17 isolated by the MCAM team from a mercury-contaminated environment, and characterized the role of the S-layer in both bioremediation of heavy metals/radionuclides as well as in preservation of the biosignatures of the S-layer structure upon diagenetic conditions after biomineralization. In addition, using *Sulfolobus acidocaldarius* DSM639, a hyperthermophilic archaeon native to metal enriched environments and possessing a reduced cell envelope composed only of a S-layer and plasma membrane, we describe a passive process of Fe phosphate nucleation and growth within the S-layer pore spaces of both cells and cell-free S-layer ghosts during incubation in a Fe-rich medium, independently of metabolic activity. This process followed five steps, culminating with the early stages of S-layer fossilization via growth of the extracellular mineralized layer and the mineralization of cytosolic face of the cell membrane below the S-layer. At more advanced stages of encrustation, encrusted outer membrane vesicles are formed, likely in an attempt to remove damaged S-layer proteins. The S-layer structure remains strikingly well preserved even upon the final step of encrustation. The fine features of S-layers described in the present study may thus constitute pertinent biosignatures to be looked for in the geological record, as long as they would be preserved upon diagenetic or metamorphic conditions. Our work continues to focus on the evolution, preservation, and functional role of S-layers with a particular interest in metal/microbial interactions.

Biotransformations microbiologiques et synthèse organique : Sélection de micro-organismes actifs par approche combinatoire

Fromentin Y. ; Pakora, G. ; Olivera H. ; Joyeau R. ; Bance C. ; Nay, B. et Buisson D.

Sorbonne Universités, Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, Laboratoire Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes (MCAM), UMR 7245 CNRS-MNHN, CP 54, 57 rue Cuvier, 75005 Paris, France

buisson@mnhn.fr

Les biotransformations microbiologiques ont un rôle clé dans la nature. Les microorganismes sont capables de transformer une grande variété de molécules naturelles ou non, suivant une grande diversité de réactions. Leur utilisation comme biocatalyseurs est très ancienne, mais connaît actuellement un essor important. D'une part, parce que les catalyseurs impliqués sont des enzymes qui permettent des réactions de hautes sélectivités et d'autres part ils sont éco-compatibles. Cependant ces propriétés associées à la spécificité de substrat impliquent, pour chaque réaction envisagée, la sélection d'une activité enzymatique efficace. Plusieurs approches ont été développées soit par sélection de micro-organismes soit par sélection de gènes. Alors que l'approche génomique se focalise sur l'activité cherchée, l'approche micro-organismes permet de mettre en évidence diverses activités.

Nous nous sommes attachés à optimiser la sélection de micro-organismes en cherchant à diminuer le nombre d'essais donc le nombre d'analyses et ainsi obtenir un gain de temps. Dans la méthode mise au point, les micro-organismes sont cultivés individuellement puis incubés en mélange suivant des distributions combinatoires.

L'approche a été développée pour la génération de diversité moléculaire autour de molécules actives (Guttiférone¹, Sinoménine²), pour l'étude des transformations environnementales de médicaments (furosémide³) et de bio-fongicide (viridine). Elle a permis de diviser par trois le nombre d'essais et de mettre en évidence des réactions inattendues.

¹ Fromentin Y, Grellier P, Wansi JD, Lallemand MC and Buisson D. Yeast-Mediated Xanthone Synthesis through Oxidative Intramolecular Cyclization. Org. Lett. 2012, 14: 5054-5057.

² Joyeau R, Planchon M, Abessolo J, Aissa K, Bance C and Buisson D. Combinatorial approach to the selection of active microorganisms in biotransformation. Application to sinomenine. J. Mol. Cat. Enz.B 2013, 85-85, 65-70.

³ Laurence C, Rivard M, Martens T, Morin C, Buisson D, Bourcier S, Sablier M and Oturan MA. Anticipating the fate and impact of organic environmental contaminants: A new approach applied to the pharmaceutical furosemide. Chemosphere 2014, 113, 193-199.

Investigating transport and deposition mechanisms of bacteria through porous media

Hongjuan Bai, Nelly Cochet, André Pauss, Edvina Lamy (Université de Technologie de Compiègne)

The investigation of the transport and retention of bacteria in porous media has a great practical importance in environmental applications, such as protection of the surface and groundwater supplies from contamination, risk assessment from microorganisms in groundwater, and soil bioremediation. While bacteria transport in homogeneous porous media has extensively been studied, one drawback associated with the current body of literature is the limited number of studies examining the pore size distribution of the porous media and its effect on bacteria transport and retention. Recent publications have demonstrated that pore size can strongly affect the transport and retention of colloidal particles in heterogeneous porous media constituted by mixing of sands with different grain size or macropore insertion on the homogenous sand. Conversely to inert colloids, differences in bacteria cell properties like cell geometry, hydrophobicity and motility may greatly affect the transport in porous media. Though, a number of studies performed in homogenous sandy media have demonstrated their role in transport and deposition, another limitation of the current literature is the lack of studies examining the couple effect of cell properties and pore size distribution of the porous media. Laboratory tracer and bacteria transport experiments were performed in three porous media with distinct pore size distribution in order to investigate and quantify water and bacteria transport process under steady state flow conditions. A conservative solute was used as water tracer, and this work was restricted to the study of physical non-equilibrium mechanisms. A gram negative motile *Escherichia coli*, a commonly used indicator organism, and gram negative non-motile *Klebsiella* sp., detected in environmental sources such as surface water, soil and plants, were selected for the transport experiments. HYDRUS-1D code was used to simulate tracer and bacteria elution curves and to identify transport parameters by inverse modelling. To account for preferential flow and bacteria transport in such heterogeneous porous media, a two-region model known as the MIM (M-mobile/ IM-immobile water) transport model was used to model tracer and bacteria experimental elution. Results obtained through both laboratory experiments and numerical simulations outlined non-uniform flow pathways, which were dependent on both grain/pore size as well as pore size distribution of the porous media. Bacteria transport pathways were different from the tracer aqueous transport, due to size exclusion of bacteria from smaller pore spaces and bacteria motility. Bacteria retention was greatly influenced by pore network geometry and cell properties.

Biosynthèse de peptides de type méthanobactines chez les bactéries non-méthanotrophes

Carine Lombard, Zhilai Hong, Kevin Robic, Yanyan Li : Unité Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes, UMR 7245 Muséum national d'Histoire naturelle/CNRS, Sorbonne Universités, 75005 Paris, France

Les méthanobactines sont des peptides ribosomiques sécrétés par les bactéries méthanotrophes et possédant des groupements fonctionnels originaux comme des hétérocycles et des thioamides issus de modifications post-traductionnelles. Ce sont les seuls exemples de chalcophores actuellement décrits, complexant le cuivre avec une forte affinité. Ils jouent un rôle essentiel dans la physiologie des bactéries méthanotrophes, qui ont un fort besoin en cuivre afin d'accomplir l'oxydation du méthane ou méthanol par l'action d'une monooxygénase dépendante du cuivre. Des systèmes génétiques apparentés aux méthanobactines ont été identifiés chez les bactéries non-méthanotrophes par l'exploration des génomes. Nous nous sommes intéressés à comprendre la diversité structurale, le rôle fonctionnel ainsi que le mécanisme de biosynthèse de ces peptides de type méthanobactines. En nous focalisant dans un premier temps sur un peptide modèle chez *Pseudomonas extremaustralis*, nous avons utilisé les approches *in vivo* et *in vitro* pour caractériser deux enzymes clés impliquées dans la formation des hétérocycles.

Microborer colonization of the skeleton of a scleractinian coral, across its life stages

Anaïs Massé (MCAM UMR7245 CNRS-MNHN), Isabelle Domart-Coulon (MCAM UMR7245 CNRS-MNHN), Aline Tribollet (IPSL-LOCEAN UMR7159 CNRS-UPMC-MNHN-IRD)

The biogenic dissolution of carbonates by filamentous microborers (chlorophycea, fungi and cyanobacteria) is a major destructive force of coral reefs. However, in living stony corals, the diversity, distribution and role of these endolithic microorganisms drilling galleries inside the calcareous skeleton isn't known properly yet. Specifically, their sequence of colonization has not been investigated across coral development, from larval settlement and metamorphosis to primary polyp and budding colony. Colonies of the branching *Pocillopora damicornis* contain a high abundance of microborers in the basal part of branches, where the skeleton is bare of tissues, while their distribution appear as diluted in the healthy, actively growing, tissue-covered branch tips. These results confirm that, in adults, the factor which controls the colonization of skeletons by microborers is the coral growth speed. For the first time, microborers have been detected in the early life stages of the coral *Pocillopora damicornis*, in 7 days old primary polyp settled on carbonate skeleton from *Porites* coral exposed for 2-7 months to endolith colonization, while they were few or absent in recruits settled on calcite and plastic/glass, respectively. At the juvenile stage, the substrate is the main factor controlling the colonization of skeletons by microborers. Morphologically, the observed filaments were classified as *Ostreobium* sp. (Chlorophycea) which is the major agent of carbonate dissolution, and as fungi. Genetic markers (*Ostreobium* *rbcl* gene and fungal ITS2 region) PCR-amplified from DNA extracts confirmed their presence in living colony adults, and are being tested in early recruits. Microscopically, microborers were observed in contact with coral tissue either in the early stages or in adults, suggesting interactions between microborers and the coral host. Perspectives include studying the nature of microborer-coral interactions, with potential metabolite exchange between partners. Such a study is of key interest in the current context of global change, which impacts the early stages of coral development, and the microborer communities.

Heterologous Production of Novel Lasso Peptides from Actinobacteria

Jimmy MEVAERE¹, Christophe GOULARD¹, Haiyan MA^{1,2}, Séverine ZIRAH¹, Sergey ZOTCHEV³, Sylvie REBUFFAT¹, Yanyan LI¹ 1 :Unité Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes, UMR 7245 Muséum national d'Histoire naturelle/CNRS, Sorbonne Universités, 75005 Paris, France 2 :Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, China 3 :Department of Biotechnology, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway [jimmy.mevaere@mnhn.fr]

Lasso peptides are a group of bioactive, ribosomally synthesized and posttranslationally modified peptides produced by bacteria. They possess an unusual interlocked structure which confer them extraordinary compactness and stability. Their ability to interact with protein targets of pharmaceutical importance and the potential to be used for epitope grafting spark interest in the discovery of new lasso peptides. Genome mining has revealed that Actinobacteria are a rich source of such peptides, which has yet to be exploited. Heterologous expression is a strategy of choice that has been successful in *E. coli* for lasso peptides from Proteobacteria. In this study, we aimed at developing heterologous expression methods of actinobacterial lasso clusters in *Streptomyces* hosts, in order to produce the related peptides in large quantity. Our data showed that combining strategies such as the use of inducible promoters, coexpression of positive regulators as well as screening of suitable *Streptomyces* hosts and culture conditions is promising to unlock lasso peptides production.

Mots-Clés : lasso peptides, heterologous expression, actinobacteria, *Streptomyces*.

Revisiting the compensatory changes in Photosystem I and Photosystem II antenna size upon State Transitions in *Chlamydomonas reinhardtii*: is the correlation as weak as recently reported?

Nawrocki WJ., Santabarbara S., Mosebach L., Wollman F.-A., Rappaport F. IBPC, (CNRS/UPMC), Paris
Physiologie Membranaire et Moléculaire du Chloroplaste (UMR7141)

Photosynthetic organisms are often exposed to varying environmental conditions. Among the responses to these fluctuations several regulatory mechanisms take place and are often presented as poising the balance of the excitonic fluxes sustained by the two photosystems. State transitions are a reversible, short-term response to the over-reduction of the plastoquinone pool whereby a fraction of the peripheral light-harvesting complexes II (LHCII) are disconnected from photosystem II and, according to Delosme et al. (1996 [Biochim. Biophys. Acta 1273:150?158]), migrate to the non-appressed region of the thylakoids where they connect to photosystem I. This canonical view, which has prevailed until recently, has been questioned by several reports which, consistently, concluded that the fraction of LHCII that effectively connects to photosystem I was relatively minor and that most of the LHCII that were disconnected from photosystem II remained unbound to any photochemical trap. According to these studies, the antenna size of photosystem I would thus hardly increase whereas that of photosystem II would decrease up to two-fold. Here we revisit this issue by the combinations of several time-resolved spectroscopic methods allowing the specific assessment of the photosystems absorption cross-section.

Biochemical and spectroscopic evidence that *E. coli* NR reacts with the three endogenous respiratory quinones.

E. Pilet^{1,2}, J. Rendon¹, M. Seif Eddine¹, Z. Fahs^{1,3}, F. Seduk³, F. Biaso¹, L. Sylvi³, M. Hajj Chehade^{4,5}, F. Pierrel^{4,5}, B. Guigliarelli¹, A. Magalon³, S. Grimaldi¹ 1 Aix-Marseille Université, CNRS, Unité de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines (UMR7281), F-13402 Marseille, France 2 Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Biologie (UFR927), F-75005 Paris, France 3 Aix-Marseille Université, CNRS, Laboratoire de Chimie Bactérienne (UMR7283), F-13402 Marseille, France 4 Université Grenoble Alpes, Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Microorganismes (LAPM), F-38000 Grenoble, France 5 Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), LAPM, F-38000 Grenoble, France

Quinones are essential building blocks that shuttle electrons and protons between respiratory complexes, a process dedicated to energy harvesting and its conversion into a transmembrane chemiosmotic potential. *Escherichia coli* naturally synthesizes 3 different quinones, namely the benzoquinone ubiquinone (UQ-E°=+113 mV) and the naphthoquinones menaquinone (MK-E°=-74 mV) and demethylmenaquinone (DMK-E°=+36,-9 mV), that differentiate mostly by their midpoint redox potential. Our recent results (1) show that demethylmenaquinol (DMKH₂) is a good substrate for nitrate reductase A (NarGHI) in nitrate respiration in *E. coli* in contrast with previous study (2). The influence of methyl group at position 2 of the naphthoquinone ring was assessed via kinetic studies with quinol analogs on NarGHI. EPR-monitored redox titrations of NarGHI-enriched membrane vesicles reveal that endogenous demethylmenasemiquinone (DMSK) intermediates are stabilized in the enzyme. The measured midpoint potential of the DMK/DMKH₂ redox couple in NarGHI is about -70 mV at pH 7.5, a value significantly lower than that previously measured for unbound species (3) whereas our previous studies on MK and UQ (4, 5) gave similar value as in solution. High resolution pulsed EPR experiments showed that DMSK is formed in the QD site as the other semiquinones. Moreover, our EPR studies reveal unusual hyperfine characteristics for the semi quinone radicals that are contrasted with those of other protein-bound semiquinones. Overall, our results provide the first characterization of a protein-bound DMSK and allow for comparison for distinct use of three physiological quinones at a single Q-site in NarGHI. Reference: 1. Rendon et al. *Biochem .Biophys .Acta. Bioenergetics*, 2015, 847 (8), 739. 2. Wissenbach et al., *Arch. Microbiol.*, 1992, 158, 68-73. 3. Infossi et al. *Int .Jour. Hydrog .Energ.*, 2010, 35, 10778. 4. Grimaldi et al. *J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 4662-70. 5. Arias-Cartin et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 5942-43.

Chronic exposure of river sediments to environmentally relevant levels of tetracycline affects bacterial communities but not denitrification rates

Céline ROOSE-AMSALEG, Chen YAN, Anne-Marie HOANG, Anniet LAVERMAN, UMR Metis

L'objectif de ce travail était de rechercher un effet de la tétracycline (TC) sur le processus de dénitrification et les bactéries qui en sont responsables. Des sédiments d'un petit affluent suburbain de la Seine ont été soumis à une expérience de réacteurs en flux continu, permettant de reproduire au laboratoire des conditions favorables à la dénitrification. Ainsi, les sédiments ont été exposés à diverses concentrations de TC (0,5 ; 20 et 10 000 $\mu\text{g L}^{-1}$) pendant 2 semaines. Par ailleurs, la diversité des communautés bactériennes sédimentaires a été explorée par PCR-DGGE de l'ADNr 16S. Enfin, la résistance à la TC (2 à 128 mg L⁻¹) des communautés cultivables enrichies en dénitrifiantes a été évaluée. Quelle que soit la concentration de TC appliquée, les taux de dénitrification restent inchangés. En revanche, des changements s'opèrent dans la composition des communautés microbiennes totales dès les plus faibles concentrations et s'amplifient avec la concentration ; le nombre de taxons restant constant. Par ailleurs, si aucune activité dénitrifiante n'est développée par les communautés enrichies, au 1er jour d'exposition, une activité dénitrifiante est notée au bout de 7 jours mais en présence de seulement 2 mg L⁻¹ de TC. Cette étude nous permet de conclure à un impact environnemental d'un antibiotique sur des communautés fonctionnelles alors même que le processus semble non affecté probablement en raison d'une redondance fonctionnelle. Des travaux supplémentaires seront effectués pour tâcher de comprendre d'où vient cette résistance/adaptation des bactéries dénitrifiantes aquatiques.

Thaumarchaeal topIB encodes a functional eukaryotic-type topoisomerase and can be used to screen all clades of Thaumarchaea

Narimane DAHMANE¹, Stéphane DELMAS¹, Nicole DESNOUES², Sylvie COLLIN¹, Stephan EBERHARD¹, Patrick FORTERRE^{2,3}, Danièle GADELLE³ and Guennadi SEZONOV¹ 1 :Génétique et génomique des Thaumarchées, Sorbonne Universités, UPMC Univ. Paris 06, Institut de Biologie Paris-Seine, UMR 7138, IBPS Evolution, F-75005, Paris, France. 2 :Institut Pasteur Unité Biologie Moléculaire du Gène chez les Extrêmophiles, 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, France. 3 :Univ. Paris-Sud, Institut de Génétique et Microbiologie, Unité Biologie Moléculaire du Gène chez les Extrêmophiles, CNRS UMR 8621, Orsay 91406, France.

Topoisomerase IB (TopIB) plays essential roles in eukaryotes by controlling DNA topology. This enzyme was thought to be present only in eukaryotes, despite the existence of shorter versions of the protein in some bacteria and viruses. topIB homologs have been found in all Thaumarchaeota (Ta) genomes sequenced to date, but information on the activities of the proteins these genes encode are missing. Interestingly, in Archaea topIB is only found in Ta genomes^{1,2}, making this gene the most conserved marker of this phylum. Not all Ta are ammonia-oxidizers (AOA), as some species lack the amoA gene encoding for the α subunit of the ammonia-monooxygenase. Therefore, while amoA gene amplification allows a very specific identification and quantification of AOA, the use of topIB as a marker would encompass the entire diversity of Ta in environmental samples. In this study we characterized the *Calditerrivibrio nitroreducens* TopIB (Cs-TopIB) protein, and designed degenerate primers for topIB to screen for Ta.

Cytoplasmic Control of Sense-Antisense Messenger RNA Pairs

Claire Torchet, Albertas Navickas, Lionel Benard Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR8226, Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire des Eucaryotes, Institut de Biologie Physico-Chimique, 13 Rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, France CNRS, UMR8226, Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire des Eucaryotes, Institut de Biologie Physico-Chimique, 13 Rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, France

Transcriptome analyses have revealed that convergent gene transcription can produce many 3'-overlapping mRNAs in diverse organisms. Only a few studies have examined the fate of 3'-complementary mRNAs in double-stranded RNA-dependent nuclear phenomena, but nothing is known about the cytoplasmic destiny of 3'-overlapping messengers or their impact on gene expression. Here, we demonstrate that the complementary tails of 3'-overlapping mRNAs can interact in the cytoplasm and promote post-transcriptional regulatory events including no-go decay (NGD) in *Saccharomyces cerevisiae*. Genome-wide experiments confirm that these messenger-interacting mRNAs (mimRNAs) form RNA duplexes in wild-type cells and thus have potential roles in modulating the mRNA levels of their convergent gene pattern under different growth conditions. We show that the post-transcriptional fate of hundreds of mimRNAs is controlled by Xrn1, revealing the extent to which this conserved 5'-3' cytoplasmic exoribonuclease plays an unexpected but key role in the post-transcriptional control of convergent gene expression.

Reconstructing the evolution of gene repertoire in the Lachancea yeasts : ORFans and novel genes

Nikolaos Vakirlis, Veronique Sarilar, Cecile Neuveglise, Christian Brion, Joseph Schacherer, Gilles Fischer, Ingrid Lafontaine Laboratory of Computational and Quantitative Biology

Every evolutionary lineage harbors orphan genes (ORFans) that lack homologues in other lineages. In numerous different species, ORFans have been shown to include fully functional novel genes and are therefore considered evolutionarily important. Here we present a comprehensive in silico analysis of the repertoire of ORFans in an entire yeast clade, the Lachancea. We devised a novel classification method allowing to select ORFans most likely to correspond to real genes. Conversely, we report that new genes emerge at a constant rate and are distributed uniformly on the genome. Our analysis provides unprecedented insight into new gene emergence in a densely sampled eukaryotic clade.

Incorporation of ^{13}C labelled root-shoot residues in soil in the presence of *Lumbricus terrestris*: An isotopic and microbial approach

Alix Vidal (1), Céline Roose-Amsaleg (1), Laurence Millot-Cornette (1), Thomas Lerch (2), Marie Alexis (1), Thanh Thuy Nguyen Tu (1), Véronique Vaury (2), Sylvie Derenne (1), Katell Quenea (1) (1) UMR Milieux environnementaux, transferts et interactions dans les hydrosystèmes et les sols (METIS), UMR 7619, UPMC, CNRS, EPHE, 4 place Jussieu, F-75252 Paris, France (2) UMR IEES-Paris, UMR 7618, UPMC, CNRS, INRA, ENS, IRD, AgroParisTech, UPEC, 4 place Jussieu, F-75252 Paris, France

Litter from plant biomass deposited on soil surface can either be mineralized or transferred into the soil as organic compounds, depending on numerous biotic factors. Many studies have focused on the origin of organic matter, with a particular attention to the fate of root and shoot litter (Mambelli et al., 2011). It is generally admitted that roots decompose at a slower rate than shoots, resulting in a higher carbon sequestration in soil for compounds originating from roots (Rasse et al., 2005). Earthworms play a central role in litter decomposition and carbon cycling, ingesting both organic and mineral compounds which are mixed, complexed and dejected in the form of casts. Their action is generally associated with a modification of the microbial community and activity in soil (Postma-Blaauw et al., 2006). The simultaneous impact of earthworms and root-shoot on soil carbon cycling is still poorly understood. This study aimed at defining the rate of incorporation of root and shoot litter with or without earthworms. A mesocosm experiment was set up to follow the incorporation of ^{13}C labelled Ryegrass root and shoot litter in the soil, in the presence of earthworms (*Lumbricus terrestris*). Soil samples were collected at 0-20 and 40-60 cm, as well as surface casts, at the beginning and after 1, 2, 4, 8, 24 and 54 weeks of experiment. Organic carbon content and $\delta^{13}\text{C}$ values were determined for all the samples with Elemental Analysis $\delta^{13}\text{C}$ Isotope Ratio Mass Spectrometry. The metabolic diversity of the microbial community was characterized using the Biolog[®] EcoPlate[®]. The DNA was extracted using the PowerSoil[®] DNA extraction Kit (MolBio) in the soil and cast samples, after one year of experiment and quantified with the Quant-iT[™] dsDNA High-Sensitivity Kit to estimate microbial abundance. Roots and shoots were continuously incorporated in the 0-20 cm soil layer during the year of experiment, the carbon from labelled litter (Clab) reaching 11.4 % after 54 weeks. On the contrary, no significant incorporation was observed in the 40-60 cm layer. An earthworm effect on litter incorporation was observed in casts from the very first weeks of experiment (Clab from 34.8 to 51.4 % after 2 weeks) and in soil after 24 weeks. Earthworms accelerated root and shoot decomposition in soil. Roots decomposed at a slower rate compared to shoots. However, after one year, earthworms erased the difference between residue types in casts and to a lesser extent in soil, revealing their capacity to decompose both roots and shoots. After one year, the metabolic activity of cultivable bacteria, expressed in average well color development, was higher in the casts containing roots or shoots (1.7 Optical Density - OD) and the mesocosms containing roots (1.5 OD), compared to soil controls (0.9 OD). Microbial DNA quantities were around two fold higher in the soil containing earthworms and in casts compared to other mesocosms.

Mambelli, S., Bird, J.A., Gleixner, G., Dawson, T.E., Torn, M.S., 2011. Relative contribution of foliar and fine root pine litter to the molecular composition of soil organic matter after in situ degradation. *Org. Geochem.* 42, 1099-1108. Postma-Blaauw, M.B., Bloem, J., Faber, J.H., van Groenigen, J.W., de Goede, R.G.M., Brussaard, L., 2006. Earthworm species composition affects the soil bacterial community and net nitrogen mineralization. *Pedobiologia* 50, 243-256. Rasse, D., Rumpel, C., Dignac, M.-F., 2005. Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilisation. *Plant Soil* 269, 341-356.

Post-transcriptional regulation of the chloroplast ATP synthase subunit in *Chlamydomonas*: molecular functions of TDA1 and MDA1

Stefania Viola, Stephan Eberhard, Francis-André Wollman, Yves Choquet Laboratoire de Physiologie Membranaire et Moléculaire du Chloroplaste-UMR7141, IBPC, CNRS-Université Pierre et Marie Curie (UPMC-Paris VI), Paris, France

In chloroplasts, photosynthetic protein complexes are made of subunits encoded by both nuclear and chloroplast genes. A finely-tuned co-ordination of these two genetic compartments is thus necessary for the functional assembly of these complexes. In the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, this fine tuning depends on a tight post-transcriptional regulation of chloroplast gene expression. This control is carried out by gene-specific, nuclear-encoded Regulators of Organellar Gene Expression (ROGEs) required for the stabilization/maturation (M factors) or translation (T factors) of their target mRNA. Known ROGEs mostly target the 5'-UTR of specific transcripts and form high-molecular-weight mRNAs-protein complexes. Two ROGEs, MDA1 and TDA1, regulate the expression of the chloroplast *atpA* gene, encoding ATP synthase subunit γ . MDA1 controls the stability of the *atpA* mRNA, while TDA1 regulates its translation or its storage into non-polysomic complexes when not translated. Both factors belong to the Octotrico Peptide Repeat (OPR) protein family. In the case of TDA1, the OPR repeats-containing C-terminal domain is sufficient to activate the translation of the *atpA* mRNA, while its N-terminal domain would be involved in its storage when not translated. Using *Chlamydomonas* strains expressing tagged versions of the full-length TDA1 protein or of its constituent domains we investigated the mechanism(s) involved in the switch between storage and translation of the *atpA* transcript. The analysis of the components of the TDA1-containing complexes will reveal its functional partners.

Characterization of Rubisco assembly-dependent regulation in *Chlamydomonas reinhardtii*

Wojciech Wietrzynski, Francis-André Wollman and Katia Wostrikoff. Laboratoire de Physiologie Membranaire et Moléculaire du Chloroplaste-UMR7141, IBPC, CNRS-Université Pierre et Marie Curie (UPMC-Paris VI), Paris, France

Playing a pivotal role in the global carbon cycle Ribulose 1,5-biphosphate Carboxylase/Oxygenase (RuBisCO) appears as one of the key enzymes of the photosynthesis-driven life on Earth. Due to its environmental and economic importance it became the object of extensive, bioengineering research. Nonetheless, one of the difficulties standing against this effort is the as yet unraveled mechanism of its assembly. Synthesis of the RuBisCO requires expression and proper assembly of eight chloroplast encoded Large (LS) and eight nuclear encoded Small (SS) subunits. Owing to the dual genetic origins of its two subunits the stoichiometric formation of RuBisCO in the chloroplast needs to be finely tuned. It has been previously demonstrated that accumulation of LS and SS is dependent coordinated process ? as SS is being degraded in the absence of LS while LS translation is being hampered if SS is not present¹. Moreover, several proteins: whether assembly factors, chaperonins or gene expression factors have been showcased to act during synthesis and holoenzyme formation. One of these factors is MRL1 ? a PPR protein required for the stabilization of the *rbcl* transcript. It has been found in high molecular weight complexes within the chloroplast stroma which might contain other, unknown proteins taking part in LS biogenesis². Using *Chlamydomonas reinhardtii* as a model microalga we are trying to highlight the sophisticated process of RuBisCO assembly with the emphasis on MRL1-dependent LS expression and its autoregulation. Preliminary analysis of the MRL1 coimmunoprecipitation aiming at discovery of its putative partners is presented. 1. Khrebtukova, I. Spreitzer, R. J. (1996); Elimination of the *Chlamydomonas* gene family that encodes the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; PNAS, 47 19474-9. 2. Johnson, X. et al. (2010); MRL1, a conserved Pentatricopeptide repeat protein, is required for stabilization of *rbcl* mRNA in *Chlamydomonas* and *Arabidopsis*; Plant Cell, 1, 234-48.

Exploration du système toxine-antitoxine VagCD de *Klebsiella pneumoniae*

Marion Duprilot, Aurore Bousquet, Nathalie Genel, Dominique Decré, Guillaume Arlet. UPMC CR7
UMRS CIMI Paris INSERM U1135 Equipe 13

Objectifs

Les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques, et en particulier les entérobactéries, sont devenues un problème majeur de santé publique, en raison de leur importante capacité de diffusion communautaire et nosocomiale. *Klebsiella pneumoniae* joue un rôle central dans la résistance. Les plasmides sont des éléments clés dans la diffusion des gènes de résistances. Ils contiennent des systèmes spécifiques qui contribuent à leur maintien dans la population bactérienne ; les systèmes toxine-antitoxine (TA) en sont un exemple. Ce travail s'est concentré sur l'étude d'un système TA, le système toxine-antitoxine VagCD. Celui-ci est présent sur des plasmides porteurs de MDR. Il a été démontré qu'un de ses homologues présent sur les plasmides de virulence constitue un vrai système toxine-antitoxine. Les objectifs étaient d'explorer la variabilité génétique de ce système chez *K. pneumoniae* et, d'étudier l'action toxique de VagD chez d'autres hôtes bactériens : *Escherichia coli*, puis d'autres entérobactéries fréquemment retrouvées en clinique.

Matériels et méthodes

Les systèmes VagCD étudiés ont été obtenus à partir d'une collection parfaitement caractérisées de *K. pneumoniae*; les plasmides utilisés pour le clonage sont : pUC19 pour les antitoxines *vagC* et pBAD43 pour les toxines *vagD*. Après digestion et ligation, des transformants de *E. coli* TOP10 ont été obtenus par électroporation. Les plasmides ont ensuite été transférés chez des souches cliniques sauvages de différentes entérobactéries (*Proteus mirabilis*, *Citrobacter koseri*, *C. freundii*, *Enterobacter cloacae*). L'étude de l'activité toxique de VagD et de son antidote VagC a été réalisée sur gélose, en milieu liquide, par réplique et croissance sur lame.

Résultats

Deux systèmes ont été identifiés : VagCD1 présent sur les plasmides résidents de *K. pneumoniae* (IncFIIK) et VagCD2 sur des plasmides IncR. Les études de toxicité sur les transformants TOP10 pBAD43-*vagD* ont confirmé la toxicité de VagD. Après induction de l'expression de la toxine lors d'épreuves de croissance en milieu liquide, une diminution de 4 log de la population bactérienne suggère une activité bactéricide. La croissance normale des transformants TOP10 pUC19-*vagC* + pBAD43-*vagD* démontrent l'effet antitoxique de VagC. Enfin, VagCD semble être un système TA fonctionnel chez toutes les autres espèces d'entérobactéries testées, excepté *P. mirabilis*.

Conclusion

Ce travail a montré que le système VagCD est bien un système TA. Sa présence sur de nombreux plasmides de multirésistance permet d'envisager qu'il puisse constituer dans l'avenir une cible intéressante pour développement de molécules «anti dissémination».

P28

Distribution microbienne au sein des écosystèmes terrestres : impact fonctionnel sur le cycle de l'azote et de la matière organique.

iEES Paris : J. Leloup, T. Srikhantasami, JC Lata, X. Raynaud, J. Gignoux, S. Barot, T. Lerch, N. Nunan
LEM-Lyon: X. Le Roux UMR Agroécologie Dijon: L. Ranjard et PA Maron

Projet BIOPESTMIP : Conception de matériaux à reconnaissance moléculaire pour délivrer des biopesticides aux cultures et étude de leur biodégradabilité par voie microbiologique

Nicolas LE GOFF(1,2), Antoine FAYEULLE(2), José KOVENSKY(3), Karsten HAUPT(1), Claude SARDE(2), Eric GRAND(3), David LESUR(3), Aude FALCIMAIGNE-CORDIN(1)

(1) Laboratoire de Génie Enzymatique et Cellulaire (GEC) FRE 3580 /UTC, (2) Laboratoire de Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable (TIMR) EA4297 /UTC, (3) Laboratoire de Glycochimies des Antimicrobiens et des Agroressources (LG2A) FRE 3517 / UPJV

La France a fondé ses systèmes de production agricole sur l'utilisation de pesticides en vue d'une augmentation de la productivité et s'en retrouve aujourd'hui très dépendante en tant que 3ème consommateur mondial. Une des voies proposées pour la diminution de la consommation de pesticides est le développement de l'utilisation de biopesticides. Cependant, les formulations utilisant des protéines comme principe actif sont encore rares actuellement, notamment du fait du manque d'agents stabilisateurs permettant d'augmenter la stabilité des enzymes durant le stockage et le transport et d'optimiser l'activité enzymatique en conditions environnementales défavorables. Ce projet vise à développer des polymères à empreintes moléculaires (MIP) permettant l'encapsulation de biopesticides applicables sur des cultures et d'identifier des micro-organismes capables de dégrader ces polymères vecteurs. L'objectif final est d'augmenter l'efficacité et la durée d'action des biopesticides sur les phytopathogènes tout en évitant d'impacter l'environnement avec des matériaux difficilement dégradables. La stratégie expérimentale du projet consiste ainsi à étudier les voies métaboliques microbiennes impliquées dans la biodégradation des polymères utilisés pour la synthèse de MIP pour ensuite synthétiser des MIP biodégradables capables de vectoriser les biopesticides d'intérêt et enfin vérifier l'applicabilité de ces matériaux pour délivrer le biopesticide aux phytopathogènes.

Transport d'antibiotiques assisté par ultrasons chez *Escherichia coli*: une recherche prospective vers une application thérapeutique

Kamal Mawada, Lafayette Stéphanie, Urbach Wladimir, Taulier Nicolas & Benabdelhak Houssain

Sorbonne Universités, UPMC, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, UMR CNRS_7371 INSERM_1146, 15 rue de l'Ecole de Médecine Bâtiment A 3^{ème} étage, 75006 Paris, France.

De nombreuses études ont montré que l'application des ultrasons à basse fréquence (US) améliore le passage de molécules bioactives à travers les membranes cellulaires. Il a été ainsi possible d'augmenter l'activité bactéricide des antibiotiques contre des cultures bactériennes planctoniques, ainsi que sur des biofilms *in vitro et in vivo*. Certaines études avancent l'hypothèse que les ultrasons pourraient perturber la membrane cellulaire « sono-perméabilisation » et par conséquent augmenter efficacement la concentration de l'antibiotique autour de sa cible bactérienne. Si l'interaction mécanique des ultrasons avec des membranes cellulaires a été caractérisée *in vitro et in vivo*, à ce jour aucune recherche n'a porté sur l'interaction du champ acoustique avec des transporteurs ou canaux transmembranaires.

Ce projet de recherche vise à maîtriser un nouveau concept thérapeutique basé sur l'utilisation des ultrasons comme un adjuvant dans l'antibiorésistance. En effet, nos résultats préliminaires *in vivo* sur un modèle bactérien montrent que les ultrasons de faible intensité modulent le transport des antibiotiques à travers les porines OmpF et OmpC d'*Escherichia coli*. La maîtrise des paramètres acoustiques pourrait être exploitée pour accroître l'efficacité des antibiotiques.

Nous proposons d'étudier et optimiser les conditions de l'interaction des US avec le système de pompe à efflux AcrAB-TolC d'*E. coli* impliqué dans la résistance aux antibiotiques, en particulier l'érythromycine. L'action synergique des US/érythromycine sera caractérisée *in vivo* sur des souches bactériennes exprimant ou pas le système d'efflux. Le projet prévoit des mesures d'activité de transport *in vitro* en présence des ultrasons après reconstitution dans un système de protéoliposomes.

Références :

- Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Rev. 2015 Apr;28(2):337-418. doi: 10.1128/CMR.00117-14. Review
- Yu H, Chen S, Cao P. Synergistic bactericidal effects and mechanisms of low intensity ultrasound and antibiotics against bacteria: Ultrason Sonochem. 2012 May;19(3):377-82. doi: 10.1016/j.ultsonch.2011.11.010 review.

Protéases Rhomboïdes, Nouvelles Cibles Thérapeutiques Bactériennes

À la Recherche du Substrat Perdu !

Sisattana Nathalie², Vergnac Amandine², Rigottier-Gois Lionel³, Dezi Manuela², Juillard Vincent³, Taulier Nicolas¹, Serror Pascale³, Picard Martin² & Benabdelhak Houssain¹

¹Sorbonne Universités, UPMC, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, UMR CNRS_7371 INSERM_1146, 15 rue de l'Ecole de Médecine Bâtiment A 3^{ème} étage, 75006 Paris.

²Université Paris Descartes, Laboratoire de Cristallographie & RMN Biologiques, UMR CNRS_8015, Faculté de Pharmacie, 4 avenue de l'observatoire, 75270 Paris cedex 6.

³Micalis - UMR 1319 INRA - AgroParisTech, Microbiologie de l'alimentation au service de la santé, Domaine de Vilvert, Bâtiment 442, 78352 Jouy-en-Josas, France.

Les membranes cellulaires constituent les principaux sites des voies de signalisation et forment une barrière contre l'infection de cellules humaines par des agents pathogènes. Ce projet de recherche vise à caractériser une nouvelle famille de protéases intramembranaires, appelées rhomboïdes. Ces peptidases à sérine catalysent le clivage des protéines membranaires intégrales, engendrant ainsi l'émission d'un signal cellulaire. Cette réaction contrôle diverses fonctions biologiques, y compris la régulation d'un facteur de croissance épidermique (*Drosophila melanogaster*), la fusion mitochondriale (*Saccharomyces cerevisiae*), l'invasion parasitaire (*Plasmodium falciparum*) et la génération de quorum-sensing (*Providencia stuartii* bactérie pathogène opportuniste). Chez l'homme, les protéases rhomboïdes sont potentiellement impliquées dans diverses maladies telles que le Parkinson, l'Alzheimer, le diabète de type II et le cancer (pour revues Rathe P. 2013 ; Bergbold and Lemberg, 2013 ; Urban and Dickey 2011).

Malgré leur présence dans les trois domaines du vivant, l'identité de séquence entre les rhomboïdes est faible. Cependant, cette famille d'enzymes conserve une topologie membranaire globale composée de six ou sept segments transmembranaires ainsi que certains acides aminés impliqués dans la catalyse. Chez les procaryotes, le rôle de cette famille d'enzymes et leurs substrats restent inconnus, à l'exception de AarA « RhoPS », une rhomboïde de *P. stuartii* qui active un transporteur protéique (TatA) qui libère une molécule signal non identifiée impliquée dans le quorum-sensing (Rathe P. 2013).

Récemment, nous avons étudié le rôle d'une protéase rhomboïde et son implication dans la virulence d'une bactérie pathogène à Gram positif. Nous avons montré *in vivo* que la virulence de la souche délétée du gène codant pour cette protéase membranaire est fortement atténuée dans un modèle murin. Ces résultats soulèvent la possibilité excitante pour ces protéases d'être des nouvelles cibles thérapeutiques bactériennes. Nous proposons d'étendre cette étude à des rhomboïdes orthologues chez des bactéries pathogènes opportunistes pour l'Homme.

Références bibliographiques (pour revues) :

-Rather P (2013) Role of rhomboid proteases in bacteria. Biochim Biophys Acta. Dec;1828(12):2849-54. doi: 10.1016/j.bbamem.2013.03.012

-Bergbold N and Lemberg MK (2013). Emerging role of rhomboid family proteins in mammalian biology and disease. Biochim Biophys Acta. Dec;1828(12):2840-8. doi: 10.1016/j.bbamem.2013.03.025

-Urban S, Dickey SW (2011). The rhomboid protease family: a decade of progress on function and mechanism. Genome Biol., 12(10):231.

Biochemical analysis of the dynamic interaction between auxiliary proteins and core components of the CEF supercomplex

Felix Buchert, Fabrice Rappaport, Francis-André Wollman

Institut de Biologie Physico-Chimique, UMR 7141 CNRS-UPMC, 13 rue P et M Curie, 75005 Paris, France. buchert@ibpc.fr

Most of the energy in the kingdom of life relies on photosynthesis which allows the transient storage of solar energy as carbohydrates thanks to carbon dioxide fixation via the Calvin-Benson cycle [1]. To ensure the assimilation of fixed carbon, ATP and NADPH serve as energy currencies and are produced by photosynthetic electron transfer. Depending on environmental cues two indispensable modes exist, termed linear (LEF) and cyclic electron flow (CEF) [2]. While LEF provides ATP and NADPH, CEF balances out an increased demand for ATP and plays a photoprotective role. When respiration is inhibited in *Chlamydomonas reinhardtii* under anoxia, the intracellular reducing power increases, and thereby the plastoquinone pool is reduced. Thus, intracellular ATP/NADPH ratio is lowered and CEF is promoted. During CEF, electrons reenter the electron transport chain either at the plastoquinone pool or at the stromal side of the cytochrome *b₆f* complex. When switching between LEF and CEF, structural rearrangements of membrane proteins occur which were supported by isolation of a CEF supercomplex from *Chlamydomonas reinhardtii* [3]. The supercomplex consists of photosystem I, cytochrome *b₆f*, light harvesting complexes from both photosystems, and various auxiliary proteins of which the functional role still remains elusive. In the solubilized state the isolated supercomplex is rather instable and, so far, no structural information is available.

Here, we examine the effect of the detergent concentration during the rate-zonal centrifugation step using sucrose density gradients. We found that cytochrome *b₆f* complex was detected in lower density fractions if the detergent concentration of the sucrose gradient was above $3 \times \text{CMC}$. This observation was partially prevented if crosslinkers were applied in vivo and in situ, prior solubilization of CEF supercomplex. The homobifunctional intramembrane crosslinker had a spacer arm length of 12 Å. Additionally, the auxiliary CEF supercomplex protein anaerobic response 1 (ANR1) [4] appeared to be crosslinked to cytochrome *b₆f* complex, suggesting close spatial localization in the CEF supercomplex.

[1] Arnon, D. I. (1959) Conversion of light into chemical energy in photosynthesis, *Nature* **184**, 10-21.

[2] Foyer, C. H., Neukermans, J., Queval, G., Noctor, G., and Harbinson, J. (2012) Photosynthetic control of electron transport and the regulation of gene expression, *Journal of experimental botany* **63**, 1637-1661.

[3] Iwai, M., Takizawa, K., Tokutsu, R., Okamuro, A., Takahashi, Y., and Minagawa, J. (2010) Isolation of the elusive supercomplex that drives cyclic electron flow in photosynthesis, *Nature* **464**, 1210-1213.

[4] Terashima, M., Petroustos, D., Hudig, M., Tolstygina, I., Trompelt, K., Gabelein, P., Fufezan, C., Kudla, J., Weinl, S., Finazzi, G., and Hippler, M. (2012) Calcium-dependent regulation of cyclic photosynthetic electron transfer by a CAS, ANR1, and PGRL1 complex, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**, 17717-17722

L'azote et la résistance à *Botrytis cinerea* chez *Arabidopsis thaliana*

Marie-Christine SOULIE^{1,2}, Julia COURTIAL^{1,2}, Déborah BARBE^{1,2}, Thierry CHARLES¹ et Mathilde FAGARD¹

1-Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, INRA Centre de Versailles-Grignon, route de St Cyr 78026 Versailles.

2-Sorbonne Universités, UPMC Univ. Paris 06, UFR 927 F-75005, 75252 Paris cedex 05.

marie-christine.soulie@upmc.fr

tel :01 30 83 37 75

Le statut nutritionnel d'une plante joue un rôle majeur lors d'une infection par un pathogène. L'apport azoté peut, en particulier, faire évoluer l'interaction soit vers la sensibilité soit vers la résistance de l'hôte suivant le pathosystème étudié (Huber et Thompson, 2007, Annual Rev. Phytol.). De manière générale, les champignons biotrophes envahissent plus facilement leur hôte lorsque l'apport en nitrate est élevé alors que l'inverse a été observé lors d'une infection par un champignon nécrotrophe. Toutefois la situation est plus complexe avec le champignon nécrotrophe *Botrytis cinerea*. En effet, suivant la plante hôte testée, le nitrate peut être favorable ou non à l'envahissement par *Botrytis*, la nature de l'inoculum (mycélium ou spores) ainsi que la variabilité d'agressivité observée au sein des isolats naturels jouant aussi un rôle important (Lecompte et al 2010, Plant Pathol.). La nutrition azotée de la plante pourrait donc avoir un impact soit au niveau des facteurs de pouvoir pathogène du champignon, soit au niveau des réactions de défense de la plante. Une première étude a été réalisée chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* avec deux souches d'agressivité différentes. Il s'avère que la limitation en azote rend les plantes plus résistantes au mycélium, cette limitation en azote n'ayant pas d'effet sur l'infection par spores (Fagard et al 2014, J. Exp. Bot). Pour tenter de mieux comprendre les mécanismes mis en place lors de l'établissement de la sensibilité ou de la résistance de l'hôte en fonction de la nutrition azotée, l'analyse de l'expression de gènes d'une part du pouvoir pathogène du champignon (toxines et enzymes pectinolytiques) et d'autre part de défense de la plante a été réalisée.