

# Sciences agronomiques et écologiques (CSD 7)

**Vers une génomique fonctionnelle chez les dinoflagellées :**  
*constructions d'outils génétiques et applications  
au métabolisme des polysaccharides de réserves*

Steven Ball

**Pathogenicity and Regulation in the plant  
pathogen *Ralstonia solanacearum***

Christian Boucher

**Génétique de la spéciation et sélection chez la souris :**  
**une approche génomique de l'introgession différentielle  
dans une zone hybride et de la coalescence des gènes.**

Pierre Boursot

**Functional Genomics in  
*Marine Diatoms***

Chris Bowler

**Expression génique dans les cellules  
proliférantes d'*Alexandrium catenella*  
produisant des floraisons toxiques**

Yves Collos

le programme

biologie

**Méthodes d'inférence Statistique  
*en Génétique des Populations***

Jean-Marie Cornuet

**Etude multidisciplinaire des interactions signal  
*Nod / LysM récepteurs kinases dans la  
symbiose Rhizobia Légumineuses***

Julie Cullimore

**The evolution of information  
*use in ecology***

Étienne Danchin

**Variabilité du protéome et adaptation :  
*relations entre concentrations des enzymes de la glycolyse,  
flux glycolytique et valeur sélective chez la levure***

Dominique De Vienne

**Post-genomic approach to sexual development  
*in fungi with the model system  
Podospora anserina***

Robert Debuchy

**Physiologie, diversité et évolution des  
*interactions hôte-parasitoïde***

Jean-Michel Drezen

le programme  
blanc

**Rice microRNAs: identification of novel genes  
controlling development and adaptation to biotic stresses  
in a model cereal**

Manuel Echeverria

**Génomique fonctionnelle et comparative des  
régions non codantes : évolution de la  
régulation génique chez les chordes**

Hector Escriva

**Stress oxydant, vieillissement  
et longévité chez les oiseaux**

Bruno Faivre

**Le chromosome 3B : un modèle d'étude de la structure,  
de l'évolution et de l'expression du génome de blé**

Catherine Feuillet

**Dynamics of the endocytosis of the plant  
receptor kinase *SRK* involved in  
self-pollen rejection**

Thierry Gaude

**Functional and structural  
characterisation of the *Arabidopsis*  
*APC/cyclosome***

Pascal Genschik

le programme blanc

**Impact des Elements Transposables sur la Régulation des Gènes**  
*(Impact of Transposable Elements on Gene regulation)*

Marie-Angèle Grandbastien

**Interactions entre les oiseaux et les bactéries :**  
*aspects écologiques et évolutifs*

Philipp Heeb

**Etude de l'adaptation des polychètes Alvinellidae aux conditions de**  
*stress thermique et oxydatif de l'environnement hydrothermal profond*

Didier Jollivet

**Analyse fonctionnelle d'une nouvelle classe**  
*d'ARN polymérase spécifiques aux plantes et impliquées dans la formation*  
*d'hétérochromatine par les ARNs interférants : Approches*  
*biochimique, génétique et génomique*

Thierry Lagrange

**Les protéines de l'hôte dans le cycle infectieux d'un virus de plante à ARN(+):**  
*relations entre structure et fonction*

Olivier Le Gall

**Vers une génomique fonctionnelle du développement du cnidaire**  
*Clytia hemisphaerica et du cténaire Pleurobrachia pileus*

Michaël Manuel

**Identification of plant Components involved in the perception  
by *Arabidopsis* of *Ralstonia solanacearum*, a bacterial pathogen**

Yves Marco

**Characterization of anti-microbial peptides  
in nodules of the galeoid legumes**

Peter Mergaert

**Evolution, Biosynthèse et Régulation des Phycobilisomes  
chez les *Cyanobactéries Marines* du Genre *Synechococcus***

Frédéric Partensky

**Génomique comparative et structurale des virus  
et plasmides d'*Archaea hyperthermophiles* des sources hydrotherma-  
les océaniques : implication dans l'évolution des génomes  
et des fonctions biologiques**

Joël Querellou

**Molecular characterization of a novel  
carotenoid-derived branching inhibitor using the moss,  
*Physcomitrella patens*, as a bioassay**

Catherine Rameau

**Evolutions génétiques et culturelles  
au sein de la famille humaine**

Michel Raymond

le programme

blanc

**Analysis of “mastermind” genes at the origin  
of exploration behaviour. Analysis of pleiotropy under their control**

Alain Robichon

**Biosynthèse compartimentée des terpénoïdes  
chez les plantes : régulation et inhibition**

Hubert Schaller

**Le carpelle virtuel : construction  
d’un modèle prédictif du développement de  
l’organe reproducteur femelle de la fleur**

Jan Traas

**Biogenèse de l’appareil photosynthétique:  
une approche génomique chez *Chlamydomonas reinhardtii***

Olivier Vallon

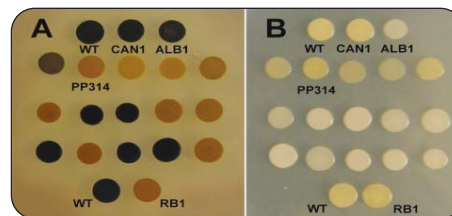
**Marine Invertebrate Recruitment  
Assessed by Genomics and Ecology - a case study with  
the invasive species *Crepidula fornicata***

Frédérique Viard

le programme  
blanc

# Vers une génomique fonctionnelle chez les *inoflagellées* : constructions d'outils génétiques et applications au métabolisme des polysaccharides de réserves

Steven Ball



Colonies sauvages et mutantes de *Cryptocodinium cohnii*

BALL Steven, UMR8576 CNRS-USTL (Lille1) MOREAU Hervé UMR 7128 CNRS-Université ParisVI-Observatoire Océanologique de Banyuls

<b>Acronyme</b>	GenoFonctDinoFI	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dinoflagellés</li> <li>• Alvéolés</li> <li>• Amidon</li> <li>• Homothallisme</li> <li>• Endosymbiose secondaire</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	24 mois		
<b>Financement</b>	100 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 16,4 Autres IT : Recrutés : 18		

## Résumé

Le projet vise à mettre au point des techniques d'analyse génétique permettant de valider la dinoflagellée hétérotrophe *Cryptocodinium cohnii* comme modèle d'étude représentatif d'un groupe d'organisme particulièrement important du plancton (zoo et phytoplancton). Nous avons depuis 15 ans étudié la biosynthèse des polysaccharides de réserve chez les algues vertes unicellulaires. Ces études ont permis des progrès notables dans notre compréhension de la biogénèse du grain d'amidon. Nous avons montré récemment que la structure de l'amidon accumulé par *Cryptocodinium cohnii* a, plus encore que sa cousine parasite apicomplexe

*Toxoplasma gondii*, une structure virtuellement identique à celle qui caractérise les algues vertes et les plantes supérieures). Nous avons donc proposé d'appliquer les stratégies génétiques maîtrisées chez *Chlamydomonas reinhardtii* au dinoflagellé *Cryptocodinium cohnii* et d'isoler à haut débit des mutants affectés dans la polymérisation de l'amidon. Nous avons également proposé d'établir les techniques d'analyse génétique de croisements homothalliques chez les dinoflagellées.

le programme blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

L'établissement de techniques génétiques de croisements et de sélection de mutants chez les dinoflagellées constitue un des points forts du projet. Il serait souhaitable de pouvoir coupler cet atout considérable pour les études fonctionnelles à des ressources génomiques qui soient à la hauteur. L'énormité du génome des dinoflagellées (parmi les sinon le plus gros génomes eucaryotes connus) interdit pour l'instant le séquençage génomique. Les ressources de type ESTs ne sont pas accessibles ou le sont sous conditions (cession de propriété de résultats etc). Les quelques ressources disponibles sont de plus notoirement insuffisantes. Ceci constitue un verrou à l'approfondissement moléculaire nécessaire des résultats de l'analyse génétique et de la sélection de mutants.

## Résultats majeurs

Au cours de ce projet ANR, nous sommes parvenus à sélectionner 40 mutants présentant des déficiences diverses pour la synthèse de l'amidon. Nous avons mis au point les conditions d'obtention de croisements fertiles chez la souche homothallique de référence et obtenu des ségrégations génétiques parfaitement maîtrisables et reproductibles. Les déficiences enzymatiques ont pu être précisées dans deux cas. Dans un de ces cas le produit du gène muté a pu être identifié et l'ADNc correspondant cloné. Les déficiences co-ségrègent avec les mutations lors des croisements et des souches double mutantes ont pu être analysées. Les résultats valident la voie à UDP-glucose comme voie de synthèse d'amidon chez les dinoflagellées et établissent l'analyse génétique chez ce groupe important de microorganismes eucaryotes.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Coppin A, Varre JS, Lienard L, Dauvillée D, Guerardel Y, Sayer-Gobillard MO, Buleon A, Ball S, Tomavo S (2005) Evolution of plant-like crystalline storage polysaccharide in the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* argues for a red alga ancestry. *J Mol Evol* 60:257-267
- Deschamps P, Haferkamp I, Dauvillée D, Haebel S, Steup M, Buléon A, Putaux JL, d'Hulst C, Gould S, Maier U, Neuhaus E and Ball S. (2006) The nature of the periplastidial pathway of amylose synthesis in the cryptophyte *Guillardia theta*. *Eukaryot Cell* 5, 954-963
- Haferkamp I, Deschamps P, Ast M, Jeblick W, Maier U, Ball S and Neuhaus E. (2006) Molecular and biochemical analysis of periplastidial starch metabolism in the cryptophyte *Guillardia theta*. *Eukaryot Cell* 5, 964-971
- Plancke C, Colleoni C, Deschamps P, Dauvillée D, Nakamura Y, Haebel S, Ritte G, Steup M, Buléon A, Putaux JL, Dupeyre D, d'Hulst C, Ral JP, Loffelhardt W, Ball SG. (2008) Pathway of cytosolic starch synthesis in the model glaucophyte *Cyanophora paradoxa*. *Eukaryot Cell* 7, 247-257
- Deschamps P, Moreau H, Worden AZ, Dauvillée D, and Ball SG. (2008). Early Gene Duplication within Chloroplastida and its correspondence with Relocation of Starch Metabolism to Chloroplasts. *Genetics* 178: 2373-2387
- Deschamps P, Guillebeault D, Devassine J, Dauvillée D, Haebel S, Steup M, Buléon A, Putaux JL, Colleoni C, Devin A, Plancke C, Tomavo S, d'Herelle E, Moreau H, and Ball S. (2008) The heterotrophic dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii* defines a model genetic system to investigate cytoplasmic starch synthesis. *Eukaryot Cell* 7, 872-880

### Conférences

#### Invitées

- 5 Juin 2005 Gordon Research Conference « The Chemistry of Polysaccharides » Séminaire inaugural "CLEAR WATER BAY Hong-Kong ».
- September 19, 2006 Plant Biotech Denmark Non-Food Application Symposium Danish Institute of Agricultural Sciences. "Towards an understanding of the starch pathway: evolution and function"
- 15 mai 2007 Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis — Université de Séville — "Metabolic Symbiosis and the Birth of the Plant Kingdom"
- September 10 2007 Probing evolution of the starch pathway reveals the metabolic symbiosis mechanism between the plastid and its host. Opening session of the "10th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis" Gmunden- Austria
- October 5 2007 "probing evolution of the starch metabolism pathway in the plant kingdom" Starch Round Table — San Antonio Texas

#### Colloques 3



# Pathogenicity and Regulation in the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*

Christian Boucher



Symptômes au champ de flétrissement bactérien sur tomate causés suite à une infection par *Ralstonia solanacearum*

BOUCHER Christian, Laboratoire des Interactions Plantes Microorganismes, UMR441 INRA, UMR2594 CNRS  
CIERCO-AYROLLES Christine, Laboratoire de Biométrie et Intelligence artificielle, UPR875 INRA

<b>Acronyme</b>	PATHOREGULOM	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005		
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	240 000 €	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Pathogénie</li><li>• Régulation génique</li><li>• Bactérie Phytopathogène</li><li>• <i>Ralstonia solanacearum</i></li><li>• Banque de mutants</li></ul>
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 40,3 Autres IT : 24 Recrutés : 52,4 Doctorants : 24		

## Résumé

Le projet avait pour objectif d'analyser la cascade des régulations géniques impliquées dans le contrôle de la pathogénie chez la bactérie phytopathogène *Ralstonia solanacearum* et en particulier d'élucider la nature des régulons placés sous la dépendance des activateurs transcriptionnels codés par les gènes *hrpG* et *hrpB* sachant que ces deux gènes agissaient en cascade. Un des objectifs était d'identifier d'éventuels sous-régulons dans le régulon *hrpB* et d'identifier par ailleurs un éventuel ensemble de gènes placés sous la dépendance spécifique de

*hrpG* et donc indépendants de *hrpB*. Le projet incluait également une analyse fonctionnelle des nouveaux sous-ensembles de gènes ainsi définis. Un aspect plus exploratoire du projet était la prédiction *ab initio* à partir de la séquence génomique d'éventuels ARNc régulateurs dans cette bactérie. Le projet incluait enfin, la construction d'une banque de mutants étiquetés de *R. solanacearum* induits par insertion aléatoire d'un dérivé du transposon Tn5.

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Analyse fonctionnelle rendue difficile compte tenu du grand nombre de gènes placés dans un même régulon et a nécessité le développement d'une stratégie adaptée. Mise au point de la méthodologie de séquençage sur l'ADN génomique du site adjacent au point d'insertion du transposon applicable en routine sur de grandes séries de mutants.

Développement d'outils méthodologiques pour la prédiction des ARN régulateurs chez une bêta-protéobactérie à haut G+C% (67%).

## Résultats majeurs

Identification du régulon HrpG-spécifique.

Identification de la fonction biochimique d'un certain nombre des gènes du régulon hrpG (biosynthèse d'éthylène et d'auxine, production de catalase, d'enzymes hydrolytiques des composants de la paroi végétale).

Identification d'une voie de synthèse d'un nouveau type de molécule signal dans le quorum sensing.

Mise en ligne sur site web d'un millier de mutants disponibles pour la communauté scientifique (environ 5000 mutants restent à analyser et seront mis progressivement en ligne).

Développement d'un outil de prédiction des ARNnc et identification d'une dizaine de candidats.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Valls M, Genin, S, Boucher C. (2006) Integrated regulation of the type III secretion system and other virulence determinants in *Ralstonia solanacearum*, *PLoS Pathogens* Aug;2(8):e82
- Delaspre F, Nieto Peñalver CG, Saurel O, Kiefer P, Gras E, Milan A, Boucher C, Genin S, Vorholt JA. 2007 The *Ralstonia solanacearum* pathogenicity regulator HrpB induces 3-hydroxy-oxindole synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 104(40):15870-5.
- Marie-Josée Cros, Erika Sallet, Annick Moisan, Christine Cierco-Ayrolles and Christine Gaspin, 2007. Visualizing and exploring genomic information for non-protein-coding RNA identification using ApolloRNA, *Nature Protocol*, 10.1038/nprot.2007.285
- Marie Poueymiro, Sébastien Cunnac, Laurent Deslandes, Anne-Claire Cazale-Noel, Patrick Barberis, Christian Boucher and Stéphane Genin. : Two Type III secretion system effectors from *Ralstonia solanacearum* GM1000 determine host range specificity on tobacco (soumis à *Mol Plant Microb Interact*)

### Conférences

#### Invitées

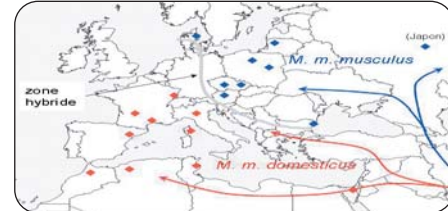
- Valls M, Angot A, Occhialini, Cunnac S, Poueymiro M, Barberis P, Guidot A, Peeters NP, Boucher C, Genin S (2005) *Ralstonia solanacearum* TypeIII-dependant pathogénésis : genomic approaches and identification of plant targets 12th international congress on molecular plant microbes interactions Merida Mexico
- S. Genin, N. Peeters, M. Poueymiro, A. Angot, F. Delaspre, C. Nieto-Peñalver, O. Saurel, A. Milan, M. Valls, P. Barberis, J. Vorholt, C. Boucher (2007) Coordinated expression of Type III Secretion System-dependent effectors, small diffusible molecules and phytohormone analogues in the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. 13th international congress on molecular plant-microbe interactions ; Sorrento Italy

Colloques : 5

# Génétique de la spéciation et sélection chez la souris : une approche génomique de l'introgession différentielle dans une zone hybride et de la coalescence des gènes

Pierre Boursot

Institut des Sciences de l'Evolution (UMR5554 CNRS-Université Montpellier 2)



Voies de colonisation des sous-espèces de souris domestique menant à l'hybridation secondaire, et origine des échantillons séquencés. Rouge = domesticus, Bleu = musculus. Ligne grise : position de la zone hybride

**Acronyme** SpecGenomic  
**Edition** 2005  
**Durée du projet** 36 mois  
**Financement** 180 000 €  
**Personnels (H-m)** C + EC + IR : 36  
Autres IT : 46  
Recrutés : 12

**Discipline** Sciences agronomiques et écologiques

**Mots clés**

- Spéciation
- Sélection
- Hybridation
- Coalescence
- Souris

## Résumé

La souris domestique (*Mus musculus*) est notre modèle pour tester le rôle de la sélection naturelle dans l'évolution de l'isolement reproductif et donc la spéciation. Les deux sous-espèces européennes sont issues d'un ancêtre commun au Moyen Orient depuis où l'une (*domesticus*) a colonisé le bassin méditerranéen et l'Europe occidentale, tandis que l'autre (*musculus*) a colonisé l'Europe centrale et le nord de l'Asie. En Europe elles forment une zone hybride dont l'étude a montré une barrière au flux génique provenant d'incompatibilités génétiques à de nombreux locus. Nous avons une double approche: (i) chercher les régions du génome ayant divergé par sélection entre les sous-espèces, ce qui se traduit par un faible polymorphisme intraspécifique par rapport à la divergence

interspécifique. (ii) vérifier que ces régions sont celles qui introgressent le moins à travers la zone hybride, et que donc l'isolement reproductif est le résultat de la sélection naturelle. Pour le point (i) nous utilisons les données de SNPs de quelques génomes sauvages disponibles pour identifier des régions génomiques à patrons de coalescence contrastés entre les sous-espèces. Nous vérifions ces prédictions par reséquençage sur un meilleur échantillon. Pour le point (ii) nous caractérisons des SNPs définis en (i) dans la zone hybride naturelle. Nous établissons ainsi le lien entre l'influence de la sélection sur la divergence et ses conséquences sur l'isolement reproductif, et donc la spéciation.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

L'augmentation très rapide de la quantité de données de reséquençage de génomes de souris rendues publiques pendant la durée du projet a amené plusieurs fois à reconsidérer totalement la stratégie de recherche. Le recrutement d'un post-doc avec une formation adéquate s'est avéré difficile et n'a pu se faire qu'avec retard. De plus le départ prématuré du post-doc avant la fin du projet rend sa finalisation difficile. Le recrutement de thésard s'est aussi avéré difficile en raison de la procédure complexe d'obtention des allocations ministérielles et n'a pas pu se faire en phase avec ce projet de 3 ans. L'ANR a toutefois accordé une prolongation de 6 mois à la durée du contrat. Nous avons également rencontré des difficultés d'accès aux moyens techniques de séquençage et génotypage massifs.

## Résultats majeurs

La plupart des jeux de données de SNPs disponibles ont un fort biais de découverte les rendant impropres à la caractérisation de la diversité naturelle. Toutefois en utilisant des données de reséquençage non biaisées nous avons pu estimer le long du génome les variations du rapport entre polymorphisme intra et divergence interspécifique. Nous avons vérifié ces prédictions par reséquençage de 70 régions sur une vingtaine d'échantillons (Figure 1), et trouvé un bon accord général. Nous trouvons des régions génomiques à histoires très contrastées, depuis une extrême différenciation sans polymorphisme, jusqu'à une ségrégation de lignées ancestrales partagées. Nous montrons également une forte incidence de flux géniques entre sous-espèces, dont certains récents et probablement favorisés par la sélection. L'analyse de la zone hybride est en cours.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Boursot, P., and K. Belkhir. 2006. Mouse SNPs for evolutionary biology: Beware of ascertainment biases. *Genome Res.* 16:1191-1192.

### Conférences

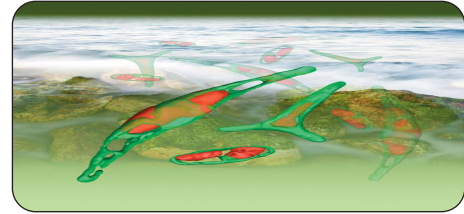
#### Invitées

- Conférence Jacques Monod « Evolutionary Genomics », Roscoff, Mai 2007.

#### Colloques :

# Functional Genomics in Marine Diatoms

Chris Bowler



The pleiomorphic marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*

UMR8186 Biologie Moléculaire des Organismes Photosynthétiques, Dept de Biologie, Ecole Normale Supérieure, Paris

<b>Acronyme</b>	FuncGenMarDiat	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Functional genomics</li><li>• Diatom</li><li>• Cell cycle</li><li>• Genome</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	120 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR :		
	Autres IT :		
	Recrutés :		

## Résumé

The most significant photosynthetic eukaryotes in the marine environment are the diatoms, which contribute around 40% of marine primary production, thereby providing approximately one fifth of the oxygen we breathe. Knowledge about diatom biology is currently being revolutionized by the availability of two complete genome sequences, from the centric diatom *Thalassiosira pseudonana* and the pennate diatom *Phaeodactylum tricornutum*. Unlike *T. pseudonana*, *P. tricornutum* can be routinely transformed and a range of reverse genetics tools

have been developed. The current project is utilizing these resources to begin comprehensive functional genomics approaches in *P. tricornutum*, specifically the generation of a physical map of the genome, to facilitate genome assembly and classical genetics approaches, and the development of fluorescent subcellular markers. Such resources are leading to new insights about diatom evolution and about their basic biology.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Development of forward genetics in *Phaeodactylum*.

## Résultats majeurs

The whole genome sequence from *P. tricornutum* is now publicly available at HYPERLINK "<http://genome.igi-psf.org/Phatr2/Phatr2.home>". More than 130,000 ESTs derived from cells grown in 16 different conditions have been generated. A digital gene expression database has been created at HYPERLINK "<http://www.biologie.ens.fr/diatomics/EST3>" To facilitate studies of diatom genes using transgenic approaches, a set of Gateway compatible pDEST vectors have been constructed for the expression of chimeric genes in *P. tricornutum*. Using these vectors, GFP fusions have been generated for visualization of specific subcellular structures. These are now being used to visualize cellular events in real time during the diatom cell cycle. A protocol for gene knockout based on RNAi has also been developed.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Vardi, A., Formiggini, F., Casotti, R., De Martino, A., Ribalet, F., Miralto, A. and Bowler, C. A stress surveillance system based on calcium and nitric oxide in marine diatoms. *PLoS Biol.*, 4: e60 (2006).
- Vardi, A., Bidle, K. D., Kwitny, C., Hirsh, D. J., Thompson, S. M., Callow, J. A., Falkowski, P. and Bowler, C. A diatom gene regulating nitric-oxide signaling and susceptibility to diatom-derived aldehydes. *Curr. Biol.* 18 : 895-899 (2008).
- Allen, A. E., LaRoche, J., Maheswari, U., Lommer, M., Schauer, N., Lopez, P. J., Finazzi, G., Fernie, A. R., and Bowler, C. Whole-cell response of the pennate diatom *Phaeodactylum tricornutum* to iron starvation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 10438-10443 (2008).
- Bowler, C et al. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature*, 456: 239-244 (2008).
- Maheswari, U., Mock, T., Armbrust, E. V., and Bowler, C. Update of the Diatom EST Database: a new tool for digital transcriptomics. *Nucl. Acids Res.* Published on line Nov 23, 2008 (2009).
- Bowler, C., Karl, D. M., and Colwell, R. R. Major challenges for a new oceanography. *Nature*, under revision (2009).

**Brevets :** 1 en préparaton

### Conférences

#### Invitées

- October 2006 - International Marine Genomics Conference, Sorrento (Italy)
- March 2007 - The 2007 Virgin Islands Ecogenomic Symposium on Aquatic Cells and Molecules, St John (USA)
- May 2007 - EMBO Conference 'From Basic Genomics to Systems Biology,' Ghent (Belgium)
- May 2008 - 25th Annual Missouri Symposium: Plant Photobiology, Missouri (USA)
- June 2008 - Gordon Research Conference on Photosynthesis, Mount Holyoke (USA)

**Colloques :** 17

# Expression génique dans les cellules proliférantes d'*Alexandrium catenella* produisant des floraisons toxiques

Yves Collos



Floraison exceptionnelle (« eau rouge ») d'*Alexandrium catenella* en novembre 2004 dans la Crique de l'Angle de la lagune de Thau (Hérault) (photo A. Vaquer, ETDA-Ecolag, CNRS)

COLLOS Yves, Ecosystèmes Lagunaires (UMR 5119 CNRS) Université Montpellier II, PASTOUREAUD, Annie IFREMER, Laboratoire Environnement Ressources / Languedoc-Roussillon

Acronyme	XpressFlorAl
Edition	2005
Durée du projet	24 mois
Financement	210 000 €
Personnels (H-m)	C + EC + IR : 30,8 Autres IT : 2,4 Recrutés : 43

Discipline  
Mots clés

Sciences agronomiques et écologiques

- Phytoplancton
- Dynamique de développement
- Dinoflagellé toxique
- Expression génique
- Librairie d'EST

## Résumé

**A**lexandrium catenella est une micro-algue marine de la classe des Dinophycées (les dinoflagellés), qui peut former des floraisons massives et soudaines dans les zones côtières. Elle produit des toxines paralysantes dont l'accumulation dans les bivalves filtreurs rend ces derniers dangereux pour la consommation. Ces organismes posent donc des problèmes liés de santé publique et socio-économiques dans les zones aquacoles où ils se développent, telles dans la lagune de Thau (Hérault). Le projet XpressFlorAl a été conduit pour analyser l'expression génique (production des ARN messagers) dans les cellules en relation avec la dynamique de développement de l'organisme, en particulier pendant la phase d'initiation du développement, ceci afin de mieux comprendre les causes

des développements à partir des phénomènes se passant à l'échelle cellulaire et moléculaire.

Le premier volet du projet visait à la quantification de l'expression génique dans les cellules d'*A. catenella*, ce qui a été réalisé pour trois gènes encodant l'ARNr 5.8S, l'enzyme RubisCO et la protéine PCNA. Le second volet cherchait à mettre en évidence des gènes exprimés plus spécifiquement dans les cellules en prolifération ; il a été conduit avec le séquençage d'une librairie d'expression de cellules en phase d'initiation du développement.

le programme blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

### Résultats majeurs

Des dosages par PCR quantitative en temps réel ont été mis au point et testés pour les trois gènes cibles (ARNr 5.8S, RubisCO et protéine PCNA). En culture, un pic d'expression a été observé dans les cellules une journée avant la période de croissance maximale de la phase exponentielle.

Les fragments de plus de 20000 gènes différents ont été séquencés, incluant plus de 3000 gènes eucaryotes connus dont les 2/3 encore non référencés chez les dinoflagellés. La plus grande partie encode des fonctions non connues (~ 42%), du métabolisme (~ 22%) et de la photosynthèse (~ 11%). La plupart des autres gènes concerne des fonctions de régulation : cycle cellulaire, transcription et traduction, adressage et régulations post-traductionnelles, transporteurs et trafic intracellulaire.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Nishitani G., Nagai S., Masseret E., Lian C., Yamaguchi S., Yasuda N., Itakura S., Grzebyk D., Berrebi P., Sekino M. (2007) Development of compound microsatellite markers in the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* (Dinophyceae). *Plankton Benth. Res.* 2(3): 128–133

### Conférences

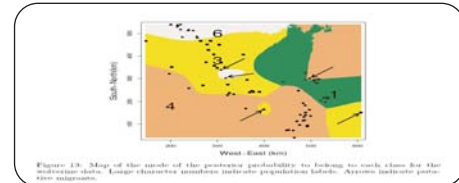
Invitées

Colloques : 3



# Méthodes d'inférence Statistique en Génétique des Populations

Jean-Marie Cornuet



APPLICATION DE GENELAND A DES DONNEES REELLES – Distribution a posteriori des populations du Glouton *Gulo gulo* au Montana (US)

CORNUET Jean-Marie, INRA ENSAM UMR 1098 GUILLOT Gilles Unité de Mathématiques et Informatique Appliquées UMR 518 INRA-INAPG-ENGREF  
ROBERT Christian, Centre de Recherche en Mathématique de la Décision Université Paris-Dauphine

**Acronyme** MISGEPOP  
**Edition** 2005  
**Durée du projet** 36 mois  
**Financement** 200 000 €  
**Personnels (H-m)** C + EC + IR : 127,8  
Autres IT :  
Recrutés : 26

**Discipline** Sciences agronomiques et écologiques

**Mots clés**

- Inférence statistique
- Génétique des Populations
- Histoire évolutive
- Flux de gènes
- Logiciels

## Résumé

Ce projet rassemblant mathématiciens et généticiens des populations a pour objectif de développer de nouvelles méthodes d'inférence statistique pour l'analyse des données moléculaires récoltées sur des individus. Certaines de ces méthodes permettent d'analyser des scénarios évolutifs complexes, d'autres prennent en compte de façon explicite l'aspect spatial (échantillons géoréférencés). Dans le premier cas, l'inférence porte sur les paramètres des scénarios qui caractérisent l'histoire démographique. Deux approches sont développées. La première combine un algorithme d'échantillonnage préférentiel pour estimer la vraisemblance des données, avec un algorithme d'exploration de l'espace des paramètres. La seconde approche est fondée sur l'utilisation de

statistiques résumées calculées à partir de données simulées (approche ABC pour Approximate Bayesian Computation). Pour les analyses spatialement explicites, une première approche consiste à décrire la structure tridimensionnelle (espace 2D+temps) de l'arbre généalogique des gènes échantillonnés. Une seconde approche consiste à repérer les limites géographiques des populations par la quantification des ruptures aux flux de gènes. Toutes ces méthodes ont été largement améliorées et testées au cours du projet et les plus abouties ont été mises à la disposition de la communauté scientifique sous la forme de logiciels conviviaux (GENELAND et DIYABC).

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Les logiciels d'inférence évolutive existants n'envisageaient qu'un seul scénario (en général très simple), obligeant les utilisateurs à extraire de leurs données, un sous-ensemble susceptible de « coller » au scénario du logiciel et donc potentiellement à une perte importante de la puissance des analyses. De plus, l'approche utilisée était généralement une MCMC incluant en paramètre de nuisance la généalogie des gènes. La très grande dimensionnalité de l'espace des paramètres pouvait rapidement conduire à des problèmes de mélangeance des chaînes de Markov.

Parmi les méthodes permettant d'assigner des individus à des populations, aucune ne prenait explicitement en compte la position géographique des individus échantillonnés.

## Résultats majeurs

Concernant l'inférence sur les limites géographiques entre populations, des améliorations importantes ont été obtenues sur de nombreux points : cas des faibles différenciations, prise en compte des allèles nuls, correction du biais d'ascertainment, invariance de la vraisemblance par permutation des labels de population, ... mise à disposition d'un logiciel convivial (GENELAND, déjà cité 68 fois).

Concernant l'inférence sur les scénarios évolutifs, les progrès les plus importants concernent l'approche ABC et la mise à disposition du premier logiciel (DIYABC) permettant l'analyse de scénarios complexes et la comparaison statistique de différents scénarios. Sur le plan théorique, nous avons pu faire le lien entre l'ABC et la PMC (approche ABC-PMC qui devrait accélérer fortement les analyses).

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- PASCUAL M, CHAPUIS MP, MESTRES F, BALANYÀ J, HUEY RB, GILCHRIST GW; L SERRA, ESTOUP A. (2007) Introduction history of *Drosophila subobscura* in the New World: a microsatellite based survey using ABC methods. *Mol. Ecol.* 16 :3069-3083.
- FRANÇOIS O., ANCELET S. & GUILLOT G. (2007) Bayesian clustering using hidden Markov random fields in spatial population genetics. *Genetics* 174: 805-816, 2006.
- GUILLOT G. (2008) Inference of structure in subdivided populations at low levels of genetic differentiation. The correlated allele frequencies model revisited. *Bioinformatics*, 24:2222-2228.
- DOUC, R., GUILLIN, A., MARIN, J.-M. & ROBERT, C.P. (2007) Convergence of adaptive mixtures of importance sampling schemes, *Annals of Statistics*, 35, 1, 420-448
- GUILLOT G., SANTOS F. & ESTOUP A. (2008) Analysing georeferenced population genetics data with Geneland : a new algorithm to deal with null alleles and a friendly user interface. *Bioinformatics*, 24:1406-1407.
- CORNUET J.-M., SANTOS F., BEAUMONT M.A., ROBERT C.P., MARIN J.-M., BALDING D.J., GUILLEMAUD T., ESTOUP A. (2008) Inferring population history with DIYABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics*, 24: 2713 - 2719.

### Conférences

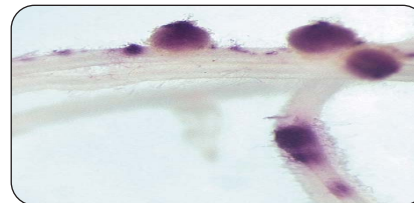
#### Invitées

- CORNUET J.M. Journée évolution organisée par la Société Française de Statistique et la Société Française de Probabilité. Institut Henri Poincaré (Paris) ,7 avril 2008
- GUILLOT G. Mini course in Landscape Genetics, Lisbon, Museum of Natural History, May 2008
- GUILLOT G. Annual Meeting of the Society of Molecular Biology and Evolution, Barcelona, June 2008
- ROBERT C.P. World meeting of ISBA, Hamilton Island (Australia), 20--27 July 2008
- ROBERT C.P. Workshop Bioinformatics, Genetics and Stochastic Computation: Bridging the Gap, Banff International Research Station, July 1--5 2007

Colloques : 5

# Etude multidisciplinaire des interactions signal Nod / LysM récepteurs kinases dans la symbiose Rhizobia-Légumineuses

Julie Cullimore



Nodules et activation d'un gène marqueur obtenus après complémentation du mutant nfp

Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes, (UMR CNRS 2594 et INRA 441) - Annick BARRE, Surfaces Cellulaires et Signalisation chez les Végétaux (UMR CNRS 5546 et Université Paul Sabatier) - Anne IMBERTY, Centre de recherche sur les Macromolécules Végétales, (CNRS UPR 5301) - Jean-Marie BEAU, Laboratoire de Synthèse de Biomolécules ICMO (UMR CNRS 8182 et Université de Paris-Sud)

**Acronyme** Coral reefs  
**Edition** 2005  
**Durée du projet** 36 mois  
**Financement** 500 000 €  
**Personnels (H-m)** C + EC + IR : 300  
Autres IT : 37  
Recrutés : 107

**Discipline** Sciences agronomiques et écologiques

**Mots clés**

- Symbiose Rhizobia-Légumineuses
- Lipo-chito-oligosaccharides
- Facteurs Nod
- Récepteurs
- *Medicago truncatula*

## Résumé

Les bactéries appelées Rhizobia induisent des nodosités fixatrices d'azote sur les racines des Légumineuses. Cette symbiose, d'un grand intérêt économique et écologique, est contrôlée par des signaux bactériens, de type lipo-chito-oligosaccharides (LCOs), appelés facteurs Nod (NF). Ces facteurs sont responsables de la spécificité d'hôte et récemment ils ont été utilisés à des fins agronomiques. Chez la légumineuse modèle *Medicago truncatula*, deux gènes codant des récepteurs présumés des NF ont été identifiés. Ces gènes, NFP et LYK3, codent des récepteurs kinases, LysM-RLKs, dont les domaines extracellulaires LysM sont prédits pour reconnaître et interagir avec les NF. Nos

principaux objectifs sont la caractérisation biochimique, structurale et fonctionnelle de NFP et LYK3 pour élucider les mécanismes de la perception des NF et les bases moléculaires de la spécificité d'hôte de cette symbiose. Pour atteindre ces objectifs, nous avons réuni les expertises complémentaires de quatre partenaires français dans une approche multidisciplinaire très ciblée, incluant la synthèse chimio-enzymatique de LCOs, des études structurales et biochimiques des interactions LCO-protéines, la génétique végétale et la physiologie moléculaire.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

### Résultats majeurs

De nouveaux analogues des facteurs Nod des symbiontes de la luzerne et du soja ainsi que des ligands photoactivables ont été synthétisés, puis caractérisés pour leurs activités biologiques. Les domaines LysM du récepteur NFP ont été produits dans des systèmes d'expression hétérologue ou par synthèse peptidique, et leur interaction avec le facteur Nod a été étudiée. L'analyse structure-fonction de NFP et LYK3 a montré l'importance des motifs des parties intracellulaires pour la transmission du signal et des parties extracellulaires pour leur localisation dans la membrane plasmique et pour la reconnaissance des facteurs Nod. Les études de modélisation et d'ancrage moléculaire suggèrent que chaque domaine LysM de NFP et LYK3 est susceptible d'interagir avec une molécule de facteur Nod. Cependant, une stratégie d'échange de domaines a récemment montré que le domaine LysM2 de NFP joue un rôle clé pour la perception du facteur Nod, contrôlant l'infection et la nodulation chez *Medicago truncatula*. Ces approches multidisciplinaires nous ont donc permis de progresser dans la compréhension de la perception de cette molécule clé pour la mise en place d'une symbiose d'un grand intérêt agronomique.

### Production scientifique depuis le début du projet

#### Publications ACL/brevets

- Mulder L., Lefebvre B., Cullimore, J.V., Imberty, A. (2006). LysM domains of *Medicago truncatula* NFP protein involved in Nod factor perception. Glycosylation state, molecular modelling and docking of chito oligosaccharides and Nod factors. *Glycobiology* 16: 801-809.
- Arrighi J.F., Barre A., Ben Amor B., Bersoult A., Campos Soriano L., Mirabella R., de Carvalho-Niebel F., Journet E.P., Ghérandi M., Huguet T., Geurts R., Dénarié J., Rougé P., and Gough C. (2006). The *Medicago truncatula* lysin motif receptor kinase gene family includes NFP and new nodule-expressed genes. *Plant Physiology* 142: 265-279.
- Smit P, Limpens E, Geurts R, Fedorova E, Dolgikh E, Gough C, Bisseling, T (2007). *Medicago* LYK3, an entry receptor in rhizobial Nod factor signaling. *Plant Physiol.* 145: 183-191.
- Grenouillat N., Vauzeilles B., Beau J.-M. (2007). Lipid analogs of the nodulation factors using the Ugi/Passerini Multi Component Reactions: Preliminary studies on the carbohydrate monomer, *Heterocycles*, 73: 891-901.
- Rougé P, Nerinckx W, Gough C, Bono C, Barre A (2008). Docking of chitin oligomers and Nod factors on LysM lectin domains of the LysM-RLK receptors as a first recognition step for the establishment of the *Medicago truncatula*-*Rhizobium* symbiosis. In *The Molecular Immunology of Complex Carbohydrates Vol 3*, sous-presses.

#### Conférences

##### Invitées

- 7th European Nitrogen Fixation Conference, 22-26 juillet, 2006, Aarhus, Danemark. Genetic and molecular dissection of Nod factor signalling and rhizobial infection in *Medicago truncatula*. (Clare Gough avec partenaires 1 et 2) ACS XI - French-American Chemical Society Symposium, 4-7 juin 2006, Paris, France. Synthesis of Nodulation Factor Analogs active on Soybean. (Cédric Chauvignac et Jean-Marie Beau) 15th International Nitrogen Fixation Meeting, 21-26 janvier 2007, Le Cap, Afrique du Sud. Nod factor perception in *Medicago truncatula*. (Julie Cullimore). XIX International Symposium on Glycoconjugates, Satellite MICC-3 Symposium, 8-12 juillet 2007, Taiwan. Docking of chitin oligomers and Nod factors on LysM lectin domains of the LysM-RLK receptors as a first recognition step for the establishment of the *Medicago truncatula*-*Rhizobium* symbiosis (Pierre Rougé). Année Internationale de la planète Terre, 9ème colloque pluridisciplinaire d'Orsay, 20 mars 2008. Les microbes en communication avec les plantes pour le secours de la planète. (Jean-Marie Beau)

Colloques : 10

# The evolution of information use in ecology

Étienne Danchin



Même contexte: étudiant en train de suivre une batterie d'expériences.

Étienne DANCHIN, UMR5174 CNRS-UPS. Toulouse. 14 - Jean CLOBERT, Station d'Écologie Expérimentale du CNRS à Moulis USR 2936, - Thibaud MONNIN, Laboratoire Fonctionnement et Évolution des systèmes, UMR7625 CNRS-UPMC. - Gabriele SORCI, Laboratoire BioGéoSciences, CNRS UMR 5561.

<b>Acronyme</b>	EVO-INF-ECOL	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	• Ecologie générale
<b>Durée du projet</b>	36 mois		• Biodiversité • Ecophysiologie animale
<b>Financement</b>	389 999,820 €		• Modélisation des systèmes complexes
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 108		• Sociologie • Anthropologie • Psychologie
	Autres IT :		• Communication
	Recrutés : 36		

## Résumé

Recent studies in behavioral ecology have underlined the overlooked central place of learning in generating heritability of behavior. Thus, non-genetically acquired information may be involved in the mechanisms generating heritability of some behavioral patterns formerly thought to be only genetically coded. Such a major discovery calls for a general theory of information in a biological context. The aim of this project is thus to integrate modeling and experimental approaches to elucidate the role of information in evolutionary ecology and its ecological and evolutionary consequences. The innovative aspect of this project is to place information as the central aspect of individual adaptation and behavior. In doing so we will not only consider how individuals respond to information but also how the quality of this information can be modulated by social and density-dependent processes. Our theoretical approach is based on an adaptive dynamics analysis of strategies for information use (generation and/or interpretation as the case may be). Our empirical approaches stem from natural and sexual selection, while integrating the fundamental social dimension of information. We will look at the

effects of the use of various types of information using several integrated approaches by asking several questions. First, what is the nature of information and how it is interpreted by individuals? We will address these questions by studying communication in a sexual selection context and how acquired knowledge modulates dispersal decisions. Secondly, what feedback processes operate on the information that is available and what are consequences? We will work out conditions for such communication *sensu lato* and show how arbitrary symbols may acquire meaning. We will apply these ideas to collective decisions in social insects: why is there redundancy of information in insect societies, what sort of redundancy, and what are the consequences when there are discrepancies between usually concordant information? The role of coded information will be highlighted by studying the evolution of communication between trophic levels. Lastly, we ask what are the consequences in terms of evolution.

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

We are now writing a paper providing our « information driven approach of evolution ». The main challenge of this approach is the identification of the various sources of inheritance (genetic, epigenetic, parental effects, Habitat inheritance, culture) and to design methods to estimates, those components for different components of fitness.

## Résultats majeurs

1- La mise en évidence du processus de 'mate choice copying' chez un insecte non social et du fait que cette forme d'influence sociale implique la capacité de généralisation de l'information à des catégories de phénotypes. Un article est soumis à Nature. : Méry, F., Varela, S. A. M., Danchin, É., Blanchet, S., Parejo, D., Coolen, I. and Wagner, R. H. Public versus personal information for mate copying in an invertebrate.

2- En s'appuyant sur un protocole d'insémination artificielle, associé à une manipulation de la condition physique des mâles, il a été démontré que les femelles peuvent utiliser l'expression des caractères sexuels secondaires pour évaluer la qualité de la semence et obtenir des bénéfices en terme de fécondation des oeufs.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Lyon, B.E., Chaine, A.S. and Winkler, D.W. (2008) A matter of timing. *Science* 321: 1051-1052.
- Loiseau, C., Zoorob, R., Garnier, S., Birard, J., Federici, P., Julliard, R., Sorci, G. 2008. Antagonistic effects of a Mhc Class I allele on malaria infected house sparrows. *Ecology Letters* 11: 258-265.
- Chaine A.S. and Lyon B.E. (2008) Intra-sexual selection on multiple plumage ornaments in the lark bunting. *Anim. Behav.* 76: 657-667.
- Baude, M., Dojz, I. and Danchin, É. Inadvertent social information in foraging bumblebees: effects of flower distribution and implications for pollination. *Animal Behaviour*, in press.
- Danchin, E. and Wagner, R. H. 2009. "Inclusive Heritability": combining genetic and non-genetic information to study animal behavior and culture. *Oikos*, in press.

### Conférences

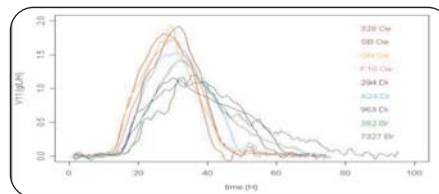
#### Invitées

- Sorci, G. 2009. Adaptive context-dependent information transfer during mate choice. Sur invitation « Max Planck symposium Evolutionary Biology » Berlin March 2009.
- Monnin T (2008) Nest inheritance in the social wasp *Polistes dominulus*. XXIII International Congress of Entomology, Durban, Afrique du Sud, 6-12 juillet 2008.
- Van Baalen, M. 2007. Communication and Kin Selection. Sur invitation, « Mathematical Models in Evolution and Ecology 2007 » (University of Sussex, 20 - 21 septembre 2007).
- Clobert, J. 2007. Dispersion et information. University of Lund, Suède.
- Danchin, É. Inclusive heritability: Behaviour as a major vector of information inheritance. Invited seminar. School of Biological and Chemical Sciences, Queen Mary University of London. September 2008.

Colloques : 33

# Variabilité du protéome et adaptation : relations entre concentrations des enzymes de la glycolyse, flux glycolytique et valeur sélective chez la levure

Dominique de Vienne



Fermentations-Adaptalevure

de VIENNE Dominique, Université Paris-Sud, UMR de Génétique Végétale INRA/UPS/CNRS/AgroParisTech - BELY Marina, Université Bordeaux 2, Laboratoire d œnologie générale. Université Bordeaux 2. - AIGLE Michel, Université Bordeaux 2, Institut de Biochimie et Génétique Cellulaires (IBGC), CNRS-Université Bordeaux 2.

<b>Acronyme</b>	Adaptalevure	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecologie microbienne</li> <li>• Modélisation des systèmes complexes</li> <li>• Microbiologie</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	24 mois		
<b>Financement</b>	120 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 57,6 Autres IT : Recrutés : 23,5		

## Résumé

L'objectif de ce projet est la recherche de nouveaux critères de capacité adaptative, en utilisant la glycolyse et la fermentation chez la levure comme système modèle, et en s'intéressant conjointement à trois niveaux d'intégration cellulaire : enzymatique, métabolique, et la croissance cellulaire. Dans une collection de souches de *Saccharomyces cerevisiae* œnologiques, de brasserie et de boulangerie, nous rechercherons si, et dans quelle mesure, la sélection humaine a influencé la concentration des enzymes de la glycolyse et de la fermentation, les éventuelles corrélations entre concentrations, la valeur du flux glycolytique, et la croissance cellulaire. L'analyse des relations entre ces différents niveaux nous permettra d'identifier les enzymes qui ont pu être les cibles

privilégiées de la sélection humaine, et qui peuvent ainsi être de bons indicateurs des capacités adaptatives de cette espèce. Les mesures de concentrations enzymatiques seront réalisées par protéomique quantitative, les mesures de flux glycolytique via la vitesse de production de  $CO_2$ , complétées par un dosage au cours du temps de différents métabolites entrants et sortants, et les vitesses de croissance par des mesures de taille de populations. Au-delà du modèle levure, ce type d'approche montrera comment peut se réaliser l'ajustement évolutif d'une grande fonction physiologique.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Scientifiques. Nous avons mis en évidence l'existence de souches tétraploïdes dans la collection de souches de levure industrielles. Ce résultat, qui fait par ailleurs l'objet d'une publication soumise, a fortement retardé le développement de souches diploïdes homozygotes.

Organisationnels. Les deux personnes les plus impliquées dans le projet (en hommes-mois) ont eu un congé de maternité durant la période du contrat.

## Résultats majeurs

L'analyse du niveau de ploïdie chez 26 souches de levures, ainsi que des études de ségrégations, ont montré qu'une partie d'entre elles étaient des autotétraploïdes présentant une hérédité tétrasomique, et qu'elles étaient génétiquement isolées des souches diploïdes. Ceci suggère qu'il existe au moins deux espèces de levures domestiques. D'autre part sur un échantillon de 12 souches nous avons étudié la variabilité génétique et plastique de traits d'« histoire de vie », et avons mis en évidence deux stratégies extrêmes, qualifiées de « cigales » (consommation rapide du glucose, grande taille de cellule et faible capacité biotique) et de « fourmis » (consommation lente du glucose, petite taille de cellule, et forte capacité biotique). Ces stratégies dépendent de l'origine des souches et du milieu.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Spor A., Wang S., Dillmann C., de Vienne D., Sicard D. (2008). "Ant" and "Grasshopper" Life-History Strategies in *Saccharomyces cerevisiae*. PLoS ONE 3(2): e1579. doi:10.1371/journal.pone.0001579.

### Conférences

#### Invitées

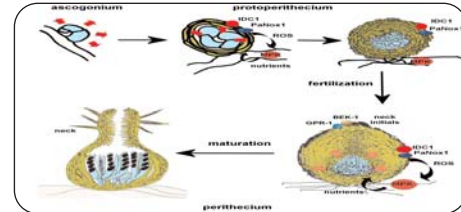
- Sicard D., Spor A., Wang S., Nidelet T., Simon J., Dillmann C., de Vienne D. Variation of life-history traits in natural and industrial populations of *Saccharomyces cerevisiae*. ICY 2008, the 12th International Congress on Yeasts, 11-15 aout 2008, Kiev, Ukraine.

Colloques : 6



# Post-genomic approach to sexual development in fungi with the model system *Podospora anserina*

Robert Debuchy



Echanges entre le mycelium et l'enveloppe de la fructification. (D'après R. Debuchy, V. Berteaux-Lecellier et P. Silar, article de revue soumis).

DEBUCHY Robert, Institut de Génétique et Microbiologie, Univ Paris-Sud, UMR8621 Univ Paris-Sud / CNRS -  
CLAVÉ Corinne, Institut de Biochimie et Génétique cellulaire, UMR5095 Univ Bordeaux2/CNRS - DELACROIX Hervé, Centre de Génétique Moléculaire, CNRS, UPR 2167

<b>Acronyme</b>	SexDevMycol	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Champignon filamenteux</li> <li>• Développement sexué</li> <li>• Mating type</li> <li>• Peroxysomes</li> <li>• Signalisation</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	510 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 251,6 Autres IT : 94,5 Recrutés : 36		

## Résumé

Les champignons filamenteux ont un rôle écologique essentiel car ils participent à la santé des sols (saprobes) et des plantes (mycorhiziens ou phytopathogènes). Ils sécrètent des mycotoxines, à l'origine de médicaments ou posant des problèmes de santé publique. Plusieurs espèces sont utilisées pour des applications industrielles ou donnent des infections systémiques graves chez les personnes immunodéprimées. L'importance des champignons filamenteux dans la biosphère commence à apparaître, mais leur biologie et les mécanismes moléculaires de leur reproduction sexuée sont très peu connus. Le projet SexDevMycol explore le développement sexué des champignons en utilisant le système modèle *Podospora anserina*. Ses avantages sont la disponibilité sa

séquence génomique, un cycle de reproduction rapide (8 jours), la facilité de l'approche génétique et une connaissance cytologique détaillée des événements de différenciation dans la fructification. Nous avons analysé les aspects suivants de sa reproduction sexuée : signalisation intra- et inter-cellulaire, le rôle des mating types, des peroxysomes et de l'incompatibilité végétative en utilisant une combinaison de méthodes génétiques, cytologiques, d'analyse bioinformatique du génome et d'analyse du transcriptome. Nos résultats confirment le rôle de la signalisation redox, montrent la complexité de la régulation par les mating types et mettent en évidence un contrôle de la méiose par un composant peroxysomal.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

### Résultats majeurs

Exploration des 3 voies "MAP kinase" et leurs relations avec les NAPH oxydases: mise en évidence des rôles majeurs des voies PaMpk1 et PaMpk2, absence de rôle de la voie PaMpk3; identification de trois nouveaux gènes de la voie PaMPK1 impliqués dans le développement de l'enveloppe de la fructification. Identification et caractérisation du gène mei4 de *P. anserina* impliqué dans la méiose Identification par des approches transcriptomiques des gènes cibles des facteurs de transcription des types sexuels. Analyse transcriptomique du développement sexué des fructifications, en time-course de la fécondation à la formation des ascospores. Mise en évidence du rôle de certaines protéines du complexe d'import des protéines dans la matrice des peroxysomes dans l'engagement en méiose.

### Production scientifique depuis le début du projet

#### Publications ACL/brevets

- Peraza-Reyes L, Zickler D, Berteaux-Lecellier V.  
The peroxisome RING-finger complex is required for meicyte formation in the fungus *Podospora anserina*.  
*Traffic*. 2008 Nov;9(11):1998-2009. Epub 2008 Aug 9.  
PMID: 18785921 [PubMed - in process]
- El-Khouiry R, Sellem CH, Coppin E, Boivin A, Maas MF, Debuchy R, Sainsard-Chanet A.  
Gene deletion and allelic replacement in the filamentous fungus *Podospora anserina*.  
*Curr Genet*. 2008 Apr;53(4):249-58. Epub 2008 Feb 12.  
PMID: 18265986 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Jamet-Vierny C, Debuchy R, Prigent M, Silar P.  
IDC1, a pezizomycotina-specific gene that belongs to the PaMpk1 MAP kinase transduction cascade of the filamentous fungus *Podospora anserina*.  
*Fungal Genet Biol*. 2007 Dec;44(12):1219-30. Epub 2007 Apr 19.  
PMID: 17517525 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Malagnac F, Klapholz B, Silar P.  
PaTrx1 and PaTrx3, two cytosolic thioredoxins of the filamentous ascomycete *Podospora anserina* involved in sexual development and cell degeneration.  
*Eukaryot Cell*. 2007 Dec;6(12):2323-31. Epub 2007 Oct 12.  
PMID: 17933907 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Coppin E, Silar P.  
Identification of PaPKS1, a polyketide synthase involved in melanin formation and its use as a genetic tool in *Podospora anserina*.  
*Mycol Res*. 2007 Aug;111(Pt 8):901-8. Epub 2007 Jun 5.  
PMID: 17707627 [PubMed - indexed for MEDLINE]

#### Conférences

##### Invitées

- Robert Debuchy, 25th Fungal Genetics Conference, 16-22 mars 2009, Asilomar, CA, USA
- Philippe Silar, 25th Fungal Genetics Conference, 16-22 mars 2009, Asilomar, CA, USA
- Robert Debuchy, 24th Fungal Genetics Conference, 20-25 mars 2007, Asilomar, CA, USA
- Fabienne Malagnac, INRA, 19 mai 2006

##### Colloques : 4

# Physiologie, diversité et évolution des interactions hôte-parasitoïde

Jean-Michel Drezen



Guêpe parasitoïde en train de pondre dans sa chenille hôte et d'y introduire les particules virales qui vont lui permettre d'induire une immunosuppression permettant le développement de sa descendance.

DREZEN Jean-Michel, Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, CNRS UMR 6035, Université François Rabelais (Tours) - VOLKOFF Anne-Nathalie, UMR INRA BIVI, Biologie intégrative et Virologie des Insectes, Centre de Recherche de Montpellier - POIRIÉ Marylène, UMR ROSE, Réponse des Organismes aux Stress Environnementaux, Centre de Recherche de Sophia-Antipolis - PRÉVOST Geneviève, Laboratoire de Biologie des Entomophages, Université de Picardie.

<b>Acronyme</b>	Evparasitoïd	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Stratégies Parasitaires</li><li>• Guêpes endoparasitoïdes</li><li>• Facteurs de Virulence</li><li>• Venins</li><li>• Polydnavirus</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	510 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 196 Autres IT : 56 Recrutés : 71		

## Résumé

La réussite ou l'échec d'un parasite à se développer dans un hôte dépend à la fois du système immunitaire de l'hôte et de la stratégie développée par le parasite pour échapper à la réponse de l'hôte. Des dizaines de milliers d'espèces de micro-guêpes -parasites de lépidoptères et de diptères- sont impliquées dans de telles interactions complexes avec leurs hôtes impliquant de très fortes pressions de sélection car l'issue est la mort d'un des deux partenaires. Pourtant la physiologie et l'évolution de ces interactions hôte-parasitoïdes est encore mal

connue. Le projet Evparasitoïd a pour but (i) d'identifier les facteurs de virulence injectés dans l'hôte par les parasites, (ii) de déterminer les bases moléculaires déterminant la spécificité de la virulence contre les différentes espèces d'hôtes, (iii) de déterminer l'origine des associations entre les guêpes parasitoïdes et leurs virus symbiotes qui sont utilisés comme vecteurs de transfert de gènes dans l'hôte afin d'y exprimer des protéines de virulence permettant la réussite du parasitisme.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Les approches génomiques basées sur l'analyse des ARN messagers permettent d'identifier les molécules impliquées dans l'interaction et de fournir les premières hypothèses de travail. La difficulté majeure est de faire réellement le lien entre les approches génomiques et la physiologie de l'interaction. Nous avons au cours du projet réussi à démontrer le rôle physiologique d'un facteur produit dans les glandes à venin d'une micro-guêpe (toxine GAP).

## Résultats majeurs

- La mise en évidence de l'existence d'une réponse transcriptomique de l'hôte lépidoptère à l'infection par des polydnavirus (Barat-Houari et al., BMC Genomics, 2006).
- La caractérisation moléculaire de la première interaction protéine-protéine entre un facteur de virulence de parasitoïde et sa cible chez la drosophile, montrant un phénomène d'utilisation convergente de toxines GAP par des bactéries pathogènes et des guêpes pour supprimer les défenses immunitaires de leurs hôtes (Colinet et al., Plos Pathogen 2007).
- La démonstration de la nature virale des particules injectées par les guêpes braconides : elles sont produites par une machinerie nudivirale (Bézier et al, Science sous presse).

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Gene expression profiling of *Spodoptera frugiperda* hemocytes and fat body using cDNA microarray reveals polydnavirus-associated variations in lepidopteran host genes transcript levels. Barat-Houari M, Hilliou F, Jousset FX, Safer L, Deleury E, Rocher J, Ravallec M, Galibert L, Delobel P, Feyereisen R, Fournier P, Volkoff AN. BMC Genomics 2006 7:160
- Genetic interactions between the parasitoid wasp *Leptopilina boulardi* and its *Drosophila* hosts Dubuffet A., Dupas S., Frey F., Drezen J.M., Poirié M. and Carton Y. Heredity 2006 98, 21-27.
- Convergent use of RhoGAP toxins by eukaryotic parasites and bacterial pathogens. Colinet D., Schmitz A., Depoix D., Crochard D. and Poirié M. PloS Pathogens 2007 3(12): e203.
- Variation of success of *Leptopilina boulardi* in *Drosophila yakuba*: the mechanisms explored. Dubuffet A., Doury G., Labrousse C., Drezen J.M., Carton Y. and Poirié M. Dev. Comp. Immunol. 2008 32: 597-602.
- Viral cystatin evolution and 3D structure modelling: a case of directional selection acting on a viral protein involved in a host-parasitoid interaction. Céline Serbielle, Shafinaz Chowdhury, Samuel Pichon, Stéphane Dupas, Jérôme Lesobre, Enrico O. Parisima, Jean-Michel Drezen, Elisabeth Huguet MC Biology 2008 6: 38 doi 10.1186/1741-7007-6-38
- Insights into symbiotic virus evolution: polydnavirus of braconid wasps derive from an ancestral nudivirus. Bézier A, Annaheim M, Herbinère J, Wetterwald C, Gyapay G, Bernard-Samain S, Wincker P, Roditi I, Heller M, Belghazi M, Pfister-Wilhem R, Periquet G, Dupuy C, Huguet E, Volkoff N, Lanzrein B, Drezen JM. Science sous presse.

### Conférences

#### Invitées

- Conférence Jacques Monod "Invertebrate immunity: the post-genomic era" (Roscoff, 2006) *Drosophila* parasitoid interactions: virulence mechanisms, inter-specific variability and host specificity. M. Poirié. Un virus associé à des guêpes parasitoïdes ciblant le système des lépidoptères J.-M. Drezen
- J.-M. Drezen - XIth International congress of Parasitology (Glasgow, 2006) (keynote speaker of the polydnavirus session) « Bracovirus genome and evolution »
- J.-M. Drezen - 7th International Workshop on the Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera, (Kolymari, Crète 2006) « Bracovirus genome and evolution »;
- M. Poirié - European Small GTPase Meeting (Umea, Suède, 29-31 Août 2007). « Specific targeting of *Drosophila* Rac GTPases by the parasitoid wasp *Leptopilina boulardi*. »
- J.-M. Drezen - Society for Invertebrate Pathology Meeting (Québec, Canada, 2007) The sequencing of the integrated form of CcBV: one locus or several loci?

#### Colloques : 10

# Rice microRNAs: identification of novel genes controlling development and adaptation to biotic stresses in a model cereal

Manuel Echeverria



Structure du précurseur codant osa-miR159a.2, un nouveau mode d'expression de miRNA chez les plantes.

ECHEVERRIA Manuel, UMR 5096 LGDP, UPVD-CNRS-IRD - GUIDERDONI Emmanuel, UMR PIA 1096 CIRAD - MOREL, Jean Benoît, UMR BGPI, CIRAD-INRA-ENSAM

<b>Acronyme</b>	GynoGenomPop	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RNomics</li> <li>• MicroRNAs</li> <li>• Développement</li> <li>• Gene silencing</li> <li>• Pathogènes</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	340.000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 112 Autres IT : 88 Recrutés : 44		

## Résumé

Ce projet a démarré en 2005 avec comme but principal d'identifier des miRNAs de riz qui contrôleraient le développement (partenaires 1 et 2) ou l'adaptation à l'infection du riz par deux pathogènes, le virus RYMV (partenaire 1) et le champignon Magnaporthea grisea (partenaire 3). Ce projet était constitué de trois étapes :

1- Construction et séquençage de banques cDNAs dérivées de petit RNAs et identification de nouveaux miRNAs chez le riz

2- Analyse fonctionnelle et identification de miRNAs qui contrôlent diverses étapes du développement chez le riz.

3- Etude de l'effet des pathogènes virus RYMV (partenaire 1) et champignon Magnaporthe grisea (partenaire 3) sur la biogenèse et l'expression des miRNAs.

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

- 1) Nous n'avons pas réussi à mettre au point des microarrays pour l'étude de l'expression globale des miRNAs chez le riz. Aujourd'hui on sait que ceci est un problème général et de ce fait cette technique n'est pas vraiment adaptée à la détection de l'expression des miRNAs chez les plantes.
- 2) Nous n'avons pas réussi à identifier des miRNAs qui seraient spécifiquement induits ou inhibés par l'infection par Magnaporthe. Devant ce résultat négatif le partenaire 3 a démarré une analyse systématique de l'effet de l'infection sur toutes les protéines impliquées dans les voies impliquées dans la biogenèse des miRNAs et des siRNAs.

## Résultats majeurs

- 1) Annotation de l'ensemble des gènes codants des miRNA chez le riz.
- 2) Identification de 6 nouveaux miRNAs chez le riz.
- 3) Identification de nouveaux modes d'expression de miRNAs chez les plantes.
- 4) Identification et caractérisation fonctionnelle d'un miRNA qui contrôle la réponse au phosphate chez le riz.
- 5) Identification de deux nouveaux miRNAs exprimés spécifiquement dans les graines
- 6) Création de riz transgéniques et phénotypage des riz transgéniques qui surexpriment la protéine du virus RYMV P1 supresseur de PTGS.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- 1) Tanaka, T, ... B. Piegu, Echeverria, M (2008) The Rice Annotation Project Database (RAP-DB): 2008 update. *Nucleic Acids Res* 36, D1028-1033
- 2) Brown, JW, Marshall, DF & Echeverria, 2008M. Intronic noncoding RNAs and splicing. *Trends Plant Sci.* 13, 335-342.
- 3) S Lacombe, H Nagasaki, C Santi, D Duval, B Piégu, M Bangratz, JC Breitler, E Guiderdoni, C Brugidou, J Hirsch, X Cao, C Brice, O Panaud, W Karlowski, Y Sato and M Echeverria. « Identification of precursor transcripts for 6 novel miRNAs expands the diversity on the genomic organisation and expression of miRNA genes in rice". *BMC Plant Biology* (in press)

### Conférences

#### Invitées

- 1) Christophe Brugidou, 4th International Rice Functional Genomic Symposium, Montpellier, 9-11 Octobre 2006 Invited by Dr. M. Delseny. "Characterisation of Rice Yellow Mottle Virus silencing suppressors and their implications in the identification of new miRNAs and siRNAs in rice".
- 2) Manuel Echeverria Frontier Research in Model Plants Workshop, Academia Sinica, Taipei, 11-12 october 2007, Taiwan. Invited by Dr. Yue-le Hsing "Identification and characterisation of novel microRNAs controlling rice development"
- 3) Christophe Brugidou. Invited by Dr B. San Segundo. Workshop on Plant Functional Genomics: from model plants to real crops, Barcelona, October 21-22, 2008. "Characterisation of the P1 silencing suppressor protein of rice yellow mottle virus (RYMV) and development of tools for biotechnology.

Colloques : 3

# Génomique fonctionnelle et comparative des régions non codantes : evolution de la regulation genique chez les chordes

Hector Escriva



Amphioxus juvenile

Hector ESCRIVA, CNRS/Paris VI - Vincent LAUDET, Ecole Normale Supérieure de Lyon - Pierre PONTAROTTI, CNRS/Université d'Aix Marseille I

<b>Acronyme</b>	GenFuncCompRég	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Non coding elements</li><li>• Evolution</li><li>• Amphioxus</li><li>• FGF</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	100 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 40 Autres IT : 18 Recrutés :		

## Résumé

La découverte de vastes régions non codantes avec des fonctions régulatrices conservées parmi les vertébrés, mais pas chez les invertébrés comme l'ascidie, pose en nouveaux termes la question de l'évolution des voies de régulation géniques chez les chordés. Pour détecter de telles régions régulatrices, en particulier à proximité de gènes impliqués dans la mise en place de l'axe antéro-postérieur, nous avons analysé le génome du céphalochordé amphioxus, qui au contraire des ascidies partage avec les vertébrés des mécanismes moléculaires liés à la mise en place de cet axe. Certaines des régions homologues ont été clonées et séquencées chez l'amphioxus. La comparaison des séquences non codantes entre amphioxus et vertébrés nous a permis de découvrir des régions conservées.

Les régions conservées ont été caractérisées in vivo ultérieurement, montrant leur fonctionnalité chez l'amphioxus et la souris. Notre approche, en se servant de la relative simplicité du modèle amphioxus, couplée à la conservation de processus fondamentaux avec les vertébrés, nous a permis d'étudier aussi les fonctions des gènes codant pour des FGF pour ainsi mieux reconstituer les voies de signalisation impliquées dans la mise en place de l'axe antéro-postérieur.

le programme blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Les points difficiles du projet ont été au niveau technique, d'une part la mise au point des techniques de micro-injection des embryons d'amphioxus, et d'autre part le clonage de certains gènes de l'amphioxus méditerranéen. Nous continuons aujourd'hui avec la mise au point des micro-injections mais cette fois-ci chez des embryons d'amphioxus méditerranéen.

## Résultats majeurs

Nous avons démontré que certaines régions non codantes des génomes des chordes sont extrêmement bien conservées. Ces régions (CNEs), ainsi que les gènes qui les entourent (régions synténiques) sont conservés entre les vertébrés et l'amphioxus suggérant des fonctions très importantes. Nous avons montré que certains de ces régions conservées (CNEs) contrôlent l'expression des gènes et ceci d'une manière conservée entre l'amphioxus et les vertébrés.

D'autre part nous avons cloné et nous sommes en train d'étudier la fonction des gènes codants pour des facteurs FGF et leur récepteur chez l'amphioxus.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- L.Z. HOLLAND, R. ALBALAT, K. AZUMI, E. BENITO-GUTIEREZ, M.J. BLOW, M. BRONER-FRASER, F. BRUNET . . . . 20 authors . . . V. LAUDET . . . 34 authors . . . N. SATOH and P.W. HOLLAND The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology. *Genome Research* 2008 18, 1100-1111
- Levasseur A , Pontarotti P, Poch O, Thompson JD Strategies for Reliable Exploitation of Evolutionary Concepts in High Throughput Biology . *Evolutionary Bioinformatics* 2008 : 4 121-137
- J. Garcia-Fernández, S. D'Aniello, H. Escriva. Organizing chordates with an organizer. *Bioessays*, 2007. 29(7):619-24
- M. Schubert, H. Escriva, J. Xavier-Neto, V. Laudet. Amphioxus and tunicates as evolutionary model systems: from paleontology to phylogenomics. *Trends in Ecology and Evolution*. 2006. 21(5):269-77
- Mathilde Paris, Hector Escriva, Michael Schubert, Frédéric Brunet, Julius Brtko, Valérie Vivat, Jean-Pierre Cravedi, Jean-Paul Renaud, Nicholas D. Holland and Vincent Laudet. Amphioxus postembryonic development reveals the homology of chordate metamorphosis, *Current Biology*, 2008, 18(11):825-30
- Lopez Rascol V, Pontarotti P and Levasseur A. Ancestral animal genomes reconstruction. *Current Opinion in Immunology* . 2007 Oct;19(5):542-6

### Conférences

#### Invitées

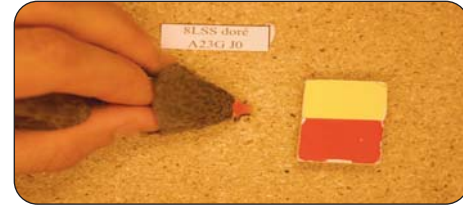
- M. Paris, H. Escriva, M. Schubert, F. Brunet, J. Brtko, F. Ciesielski, D. Roeklin, V. Vivat-Hannah, E.L. Jamin, J.P. Cravedi, T.S. Scanlan, J.P. Renaud, N.D. Holland and V. Laudet. Euro Evo-Devo, 2nd meeting of the EED, Ghent (Belgium), 29/07-01/08 2008
- S. Bertrand, F. Campo-Paysaa, A. Camasses, J. Garcia-Fernandez, H. Escriva. Euro Evo-Devo, 2nd meeting of the EED, Ghent (Belgium), 29/07-01/08 2008
- H. Escriva, I Congreso de la Sociedad Española de Biología Evolutiva, Tarragona, Spain, 27-29 September 2007
- H. Escriva, "International Symposium of Comparative Genomics and Immunology -An Amphioxus Story", Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou, China, 11-13 December, 2005

#### Colloques : 10



# Stress oxydant, vieillissement et longévité chez les oiseaux

Bruno Faivre



Acquisition standardisée de photographie chez le diamant mandarin pour mesurer la couleur du bec

FAIVRE Bruno, Laboratoire Biogéosciences, UMR CNRS uB 5561 RICQUIER Daniel -

Faculté Necker Enfants Malades, UPR CNRS 9078, Paris PROST Josiane, Université de Bourgogne, UPRES Lipides et Nutrition, Dijon

<b>Acronyme</b>	STRESS OX & AGE	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Vieillissement</li><li>• Stress oxydant</li><li>• Traits d'histoire de vie</li><li>• Compromis adaptatifs</li><li>• Oiseaux</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	290 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 32.4 Autres IT : 3 Recrutés : 42		

## Résumé

Le projet a pour objectif d'explorer les conditions du vieillissement chez les oiseaux en considérant plus particulièrement un mécanisme couramment avancé pour expliquer ce phénomène, à savoir le stress oxydant, en liaison avec une perception d'ordre évolutionniste supposant par exemple l'existence de compromis adaptatifs ou d'effets pléiotropes. Le premier volet envisage de manière descriptive, certains déterminants majeurs de la balance redox au cours de l'existence des individus, et expérimentalement, l'influence au cours de la vie des individus, de composés anti-oxydants ou au contraire de la production endogène de radicaux oxygénés sur les déterminants de la balance redox et d'autres fonctions biologiques majeures. Le deuxième volet du projet est dédié à l'influence possible des conditions périnatales (disponibilités des ressources,

pression antigénique, ...) sur le vieillissement et la longévité, et plus largement aux effets à plus ou moins long terme de l'environnement périnatal. Relativement à ce thème nous avons notamment exploré les conséquences différées de la disponibilité précoce en ressources d'une part, et d'un état inflammatoire précoce chronique d'autre part, sur le stress oxydant, le vieillissement et plus largement sur l'état des individus au cours de la suite de leur vie. Enfin le troisième volet vise à explorer l'héritabilité des défenses anti-oxydantes en population naturelle à partir d'une expérience d'adoption croisée. Les deux premiers objectifs ont été traités sur des diamants mandarins captifs (et ponctuellement la tourterelle turque en population naturelle) et le troisième en population naturelle sur les Mésanges bleue et charbonnière.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Les principales difficultés associées à ce projet sont d'ordres techniques et organisationnels. La difficulté technique essentielle repose sur le développement d'une méthode de mesure spécifique de l'expression de la protéine découplante Av UCP, impliquée dans la régulation de la production de ROS. De nombreux efforts ont été mis en œuvre pour cela en surmontant de nombreuses difficultés techniques. Ce qui a été fait, mais nous avons constaté que cette protéine ne s'exprime pas (ou pas de manière détectable chez le Diamant mandarin). L'autre difficulté est de concilier la mise en place de suivis longitudinaux sur le moyen terme, qui par définition ne peuvent donner des résultats qu'en toute fin de programme, et la production de résultats valorisables à court terme.

## Résultats majeurs

Parmi les résultats associés au premier volet, nous avons constaté que les diamants mandarins âgés ne présentent pas d'altération des caractères sexuels secondaires alors qu'ils présentent des capacités anti-oxydantes moindres. Cependant, les caractères sexuels caroténoïdes-dépendants fléchissent comme les capacités anti-oxydantes après un challenge immunitaire. Ceci conduit à discuter l'honnêteté de ces caractères en fonction de l'âge (Cote et al soumis). De plus, lors d'une expérience où nous avons contrôlé la disponibilité en anti-oxydants (caroténoïdes) sur une durée de deux ans, les individus qui ont présenté une moindre augmentation des caroténoïdes plasmatiques relativement à celle de la couleur du bec avec l'âge sont ceux qui ont survécu plus longtemps (manuscrit en préparation). Pour le deuxième volet du programme, nous avons observé qu'en créant des conditions périnatales contraignantes (i) en termes de ressources, le rattrapage de croissance qui en est issu lors de l'émancipation se répercute négativement sur les défenses anti-oxydantes ultérieures des individus (Alonso-Alvarez et al 2007), et (ii) en terme de contexte antigénique en population naturelle (sur la Tourterelle turque), la survie est amoindrie à l'émancipation, apparemment suite à une prédation accrue (résultat "surprenant" qui n'était pas parmi nos prédictions initiales, Eraud et al sous presse).

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Alonso-Alvarez C., Bertrand S., Faivre B. & Sorci G. (2007). Increased susceptibility to oxidative damage as a cost of accelerated somatic growth in zebra finches. *Functional Ecology* 21 : 873-879.
- Eraud C., A. Dorie, A. Jacquet & Faivre B. (2008). The crop milk a potential new route for carotenoid-mediated parental effects. *Journal of Avian Biology* 39 : 247-251.
- Bouillaud F. (sous presse). UCP2, not a physiologically relevant uncoupler but a glucose sparing switch impacting ROS production and glucose sensing. *Biochimica et Biophysica Acta*.
- Eraud C., Jacquet A. & Faivre B. (sous presse). Survival Cost of an Early Immune Soliciting in Nature. *Evolution*.
- Sorci G. & Faivre B. (sous presse). Inflammation and oxidative stress in vertebrate host-parasite systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*.

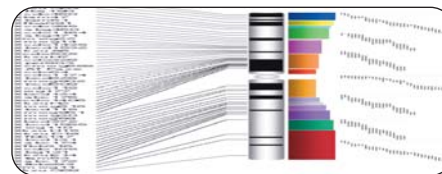
### Conférences

Invitées

Colloques :

# Le chromosome 3B : un modèle d'étude de la structure, de l'évolution et de l'expression du génome de blé

Catherine Feuillet



Représentation schématique de la carte physique intégrée du chromosome 3B de blé tendre

Catherine FEUILLET, INRA, «génétique, diversité et écophysiologie des céréales» (GDEC), Clermont-Ferrand - Jacques DAVID, UMR INRA 1097, Diversité et Génomes des Plantes Cultivées, Montpellier - Isabelle BONIN, UMR INRA CNRS UPS INAPG, Génétique Végétale, Le Moulon - Olivier PANAUD, Laboratoire CNRS, Génome et Développement des Plantes, Perpignan

<b>Acronyme</b>	EXEGESE-BLE	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Blé</li><li>• Cartographie physique</li><li>• Recombinaison</li><li>• Déséquilibre de liaison</li><li>• Génétique comparée</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	657 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 155 Autres IT : 61,2 Recrutés : 80,5		

## Résumé

L'amélioration de la qualité et du rendement du blé dans un contexte d'agriculture durable est une préoccupation internationale majeure. Des progrès rapides et significatifs dans la connaissance de la biologie de la plante ainsi que dans la gestion et l'exploitation de la diversité des ressources génétiques sont nécessaires pour atteindre ces objectifs. En permettant une meilleure connaissance de l'organisation structurale, de la régulation fonctionnelle et de l'évolution du génome de blé, les analyses génomiques peuvent contribuer à soutenir ces efforts. Le projet EXEGESE-BLE visait à construire la carte physique du plus grand des chromosomes de blé, le chromosome 3B, et à l'exploiter comme modèle pour étudier:

- l'organisation de l'espace génique et les duplications ancestrales des génomes de céréales
- la distribution de la recombinaison et son impact sur l'évolution des gènes et des génomes
- la portée du déséquilibre de liaison et l'analyse de la diversité de ressources génétiques
- les mécanismes de réarrangements qui ont façonné le génome au cours de son évolution au travers d'analyses comparatives intraspécifiques et interspécifiques d'un locus de résistance situé sur le bras court du chromosome 3B

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Le projet était organisé en trois volets principaux dont les deux premiers ont complètement atteint leurs objectifs et ont même été au-delà dans certains cas. Par contre le volet 3 a vu son orientation un peu modifiée par rapport à l'objectif initial en relation avec l'accès à une séquence complète de 3Mb chez le blé dans le cadre d'un projet Genoplante (SMART) et les difficultés du partenaire 4 à achever son projet sur le riz. Le travail s'est donc plus focalisé sur l'analyse et l'exploitation (dans le volet 2 en particulier: recombinaison, DL, diversité) de la séquence de la région cible chez le blé avec un début des analyses comparées avec les autres génomes de céréales pour étudier les mécanismes de réarrangements (but initial) seulement.

## Résultats majeurs

Construction de la première carte physique d'un chromosome de blé : 1006 contigs (300kb à 4Mb) couvrant 800 Mb (80% du génome) du chromosome 3B. Seul 40 % du génome de blé est organisé en îlot de gènes. Sept duplications du génome de blé sont conservées avec le riz. Un nouveau modèle d'évolution des génomes des graminées a été élaboré à partir de ces données. Environ 90 % des événements de recombinaison ont lieu dans 1/5 du bras court. Les gènes situés dans la partie distale ont un GC\* plus élevé que dans le reste du chromosome. La recombinaison joue un rôle sur l'enrichissement de la teneur en GC. Pas de DL à l'échelle du chromosome 3B et à l'échelle d'un bin (3BL7, 200 Mb) et une portée maximale de 500 kb.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Paux E, Roger D, Badaeva E, Gay G, Bernard M, Sourdille P and Feuillet C (2006). Characterizing the composition and evolution of homoeologous genomes in hexaploid wheat through BAC-end sequencing on chromosome 3B. *Plant Journal* 48: 463-474.
- Paux E, Legeai F, Guilhot N, Adam-Blondon AF, Alaux M, Salse J, Sourdille P, Leroy P and Feuillet C. (2007) Physical mapping in large genomes: accelerating anchoring of BAC contigs to genetic maps through in silico analysis. *Funct. Integr. Genomics*, 8:29-32.
- J Salse, S Bolot, M Throude, V Jouffe, Piegu B, U Masood, T Calcagno, Cooke R, Delseny M, C Feuillet (2008) Identification and characterization of shared duplications between rice and wheat provide new insight into grass genome evolution. *Plant Cell*, 20: 11-24
- Haudry A, Cenci A, Guilhaumon C, Paux E, Poirier S, Santoni S, David J and Glémin S (2008) Mating system and recombination affect molecular evolution in four Triticeae species. *Genet. Res.*, 90: 97-109
- Paux E, Sourdille P, Salse J, Sainenac C, Choulet F, Leroy P, Korol A, Michalak M, Kianian S, Spielmeier W, Lagudah E, Somers D, Kilian A, Alaux M, Vautrin S, Bergès H, Eversole K, Appels R, Safar J, Simkova H, Dolezel J, Bernard M and Feuillet C (2008) A physical map of the 1-Gigabase bread wheat chromosome 3B. *Science*, 322:101-104.
- Sainenac C, Falque M, Martin O, Paux E, Feuillet C and Sourdille P (2009) Detailed Recombination Studies along Chromosome 3B Provide New Insights on Crossover Distribution in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Accepted with minor revisions in *Genetics*

### Conférences

#### Invitées

- C. Feuillet: 7th Plant GEM meeting, Albena (Bulgaria), Septembre 2008. Keynote speaker: A glimpse into the impossible: physical mapping and comparative analyses of the giant hexaploid wheat genome
- C. Feuillet: 11th International Wheat Genetics Symposium, Brisbane (Australia), Août 2008, Invited Speaker. "The Big B of Bread wheat – 3B – exploring the structure, function, and evolution of the hexaploid wheat genome"
- C. Sainenac: 11th International Wheat Genetics Symposium, Brisbane (Australia), Août 2008, selected from Abstract "Recombination analysis on bread wheat chromosome 3B"
- F. Choulet: Plant And Animal Genome meeting, San Diego (USA), Janvier 2008, IWGSC workshop, invited speaker: "Sequencing and analysis of megabase-sized genomic regions from wheat"
- A. Cenci: ITMI, Israel, Avril 2007, invited speaker: "Interspecific genetic fluxes in the evolution of Triticeae"

Colloques : 6

# Dynamics of the endocytosis of the plant receptor kinase SRK involved in self-pollen rejection

Thierry Gaude



(A) Le rejet des grains de pollen à la surface des papilles stigmatiques. (B) Rejet d'un grain de pollen observé en microscopie électronique à balayage. (C) Cellules de racine d'*Arabidopsis thaliana* transgénique exprimant une forme fluorescente (en vert) de la protéine SNX1.

GAUDE Thierry, UMR 5667 CNRS-INRA-ENS-Université Lyon 1, Reproduction et Développement des Plantes -

PARIS Nadine, UMR 5004 CNRS-INRA-SupAgro-Université de Montpellier 2, Biochimie et Physiologie Moléculaire des Plantes

**Acronyme** ENDOSRK

**Edition** 2005

**Durée du projet** 36 mois

**Financement** 240 000 €

**Personnels (H-m)** C + EC + IR : 64,8  
Autres IT : 25,2  
Recrutés : 63

**Discipline** Sciences agronomiques et écologiques

**Mots clés**

- Auto-incompatibilité
- Récepteur kinase
- Endocytose
- Trafic intracellulaire

## Résumé

Chez les mammifères, la plupart des récepteurs tyrosine (RTK) kinase sont régulés par endocytose. L'internalisation des RTK implique la mono-ubiquitination des récepteurs suivie de leur trafic vers les différents compartiments endocytiques. Parmi les diverses protéines impliquées, les "sorting nexins" (SNX) interagissent directement avec les RTK au niveau de l'endosome précoce. Nous avons montré qu'un récepteur kinase végétal, le "S locus Receptor Kinase" (SRK) contrôlant la réponse d'auto-incompatibilité (AI) chez les crucifères, était capable de se lier à des protéines de type "sorting nexins". Le but de ce projet est de déterminer le rôle de l'ubiquitination et de l'endocytose dans la régulation des

récepteurs kinase végétaux en étudiant l'internalisation de SRK. Le projet se compose de deux axes de recherche. Le premier, réalisé chez le chou fourrager, modèle historique d'étude de l'AI chez les crucifères, consiste (i) à déterminer si SRK est ubiquitinée au cours de la réponse d'AI, et (ii) à identifier les protéines qui interagissent avec SRK par une approche combinant co-immunoprécipitation et spectrométrie de masse. Le second réside à mettre en place un nouveau modèle d'étude de l'AI chez la plante *Arabidopsis thaliana* afin de réaliser une analyse dynamique de l'internalisation de SRK par imagerie du vivant.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Le faible niveau d'expression de SRK dans les tissus végétaux a constitué un obstacle dans la détermination de son ubiquitination et dans l'approche de co-immunoprécipitation. Ceci nous a incités à développer une nouvelle approche de localisation in situ de SRK par immunocytochimie. Une autre difficulté majeure a été de réintroduire le caractère d'AI chez *A. thaliana*, cette espèce étant autofertile suite à la perte des gènes d'auto-incompatibilité au cours de l'évolution. De très nombreuses constructions ont été testées (ADNc, séquences génomiques, addition de diverses étiquettes fluorescentes, etc.) pour obtenir des arabettes auto-incompatibles.

## Résultats majeurs

Nous avons confirmé que la mise en place de la réponse d'AI s'accompagne d'un fort niveau d'ubiquitination des protéines dans les tissus femelles où SRK se trouve exprimée. Cependant, l'ubiquitination de SRK n'a pu être démontrée avec certitude. L'étude immunocytochimique révèle de manière inattendue que le récepteur SRK, à l'état basal ou après activation, est localisé de façon discontinue et peu abondante à la membrane plasmique alors qu'il s'accumule dans des compartiments intracellulaires de nature endosomale. Après de nombreuses tentatives, nous avons enfin pu réintroduire le caractère d'AI chez *A. thaliana*. Ceci nous permet de disposer d'un nouveau modèle pour l'analyse de l'AI.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

Remarque: Il s'agit des publications de l'équipe du coordinateur du projet ANR Blanc ENDOSRK dont certaines ne sont pas en lien direct avec le projet ANR mais dont les résultats et le matériel produit ont été utilisés pour la réalisation du projet ANR.

- Jaillais, Y., Fobis-Loisy, I., Miege, C., Rollin, C., and Gaudé, T. (2006). AtSNX1 defines an endosome for auxin-carrier trafficking in Arabidopsis. *Nature* 443, 106-109.
- Jaillais, Y., Santambrogio, M., Rozier, F., Fobis-Loisy, I., Miege, C., and Gaudé, T. (2007a). The retromer protein VPS29 links cell polarity and organ initiation in plants. *Cell* 130, 1057-1070.
- Fobis-Loisy, I., Chambrier, P., and Gaudé, T. (2007b). Genetic transformation of Arabidopsis lyrata: specific expression of the green fluorescent protein (GFP) in pistil tissues. *Plant Cell Rep* 26, 745-753.
- Jaillais, Y., Fobis-Loisy, I., Miege, C., and Gaudé, T. (2008). Evidence for a sorting endosome in Arabidopsis root cells. *Plant J* 53, 237-247.

### Conférences

#### Invitées

- T. Gaudé, "Contrôle de la sexualité chez les plantes à fleurs: les systèmes d'auto-incompatibilité", Séance Commune de l'Académie d'Agriculture de France et de l'Académie des Sciences, 29 novembre 2006, Paris.
- T. Gaudé, "Traffick jam of auxin carriers causes severe defects in plant development"; *Plant Hormones in Action*, Maratea, Italie, 18-20 Juin 2007
- Jaillais Y., Santambrogio, M., Pourcher M., Rozier F., Fobis-Loisy I., Miège C. and Gaudé T., 2008: The retromer complex is a key player in PIN trafficking during plant development. *FASEB 2008 Summer Research Conferences*, Vermont Academy, Saxtons River, Vermont, EU, 10-14 Août.
- Jaillais Y., Pourcher M., Santambrogio M., Fobis-Loisy I., Miège C. and Gaudé T., 2008: Protein trafficking through sorting endosomes in Arabidopsis root cells. 9th *International Congress of Cell Biology (ICCB)*, Seoul, Korea, 7-10 octobre.
- Pourcher M., Jaillais Y., Santambrogio, M., Fobis-Loisy I., Miège C. et Gaudé T., 2008: Role of the sorting nexin (SNX) gene family in Arabidopsis development. *Colloque Franco-Japonais*, Tsukuba, Japon, 20-22 octobre.

#### Colloques :

# Functional and structural characterisation of the Arabidopsis APC/cyclosome

Pascal Genschik



Ten week-old APC6 RNAi knockdown Arabidopsis plant.

GENSCHIK Pascal Institut de Biologie Moléculaire des Plantes UPR2357 du CNRS  
KONDOROSI Eva Institut des Sciences du Végétal UPR2355 du CNRS

**Acronyme** Aracyclosome

**Edition** 2005

**Durée du projet** 36 mois

**Financement** 430 000 €

**Personnels (H-m)** C + EC + IR : 55,8

Autres IT : 14,4

Recrutés : 67

**Discipline** Sciences agronomiques et écologiques

**Mots clés**

- Ubiquitin
- Proteolysis
- Cyclosome
- Cell cycle
- Arabidopsis

## Résumé

The ubiquitin-26S proteasome pathway is a key regulatory mechanism in all eukaryotes, which ensures that specific protein functions are turned off at the right time and in the right place. This mechanism consists of a cascade of three enzymes among which ubiquitin-protein ligases (E3s) play a prominent role in the specific recognition of target proteins for degradation. The Anaphase Promoting Complex or Cyclosome (APC/C) is the largest and most complex E3 ligase known so far. The function of the APC/C as a cell cycle regulator has been extensively studied in yeast and mammalian cell culture, but not that far in plant. The aim of the project is to uncover the role of APC/C in plants, not only in cycling

cells but at the level of an entire organism, by the identification of APC/C regulated biochemical pathways as well as cellular processes including cell cycle, endoreduplication and plant signalling pathways. Expression data and constitutive in planta activity indicate that the APC/C remains active in most post-mitotic cells that undergo differentiation. Different and complementary approaches including loss-of-function mutants, production of transgenic plants, protein-protein interaction assays and subcellular localisation have been developed to achieve this goal and led to important findings in this field.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

The project was designed with different and complementary approaches in order to overcome some difficulties found with regard to the APC complex study. For example, loss-of-function mutants of the core APC subunits are lethal in Arabidopsis and strategies to obtain hypomorphic mutants were elaborated. Moreover, in Arabidopsis, APC activators belong to multigenic family (3 CCS52 and 5 CDC20 isoforms), which can result in redundancy difficulties. In addition, yeast-two-hybrid strategy to identify novel substrates failed in mammals and is overall risky.

## Résultats majeurs

In order to understand the structure of the APC/C, different protein-protein interaction studies were performed and resulted in a general view and a more elaborated model on how the APC/C, the activators and substrates interact together. Expression and subcellular localisation analyses of different APC/C subunits and activators were carried out to understand when and where the APC is active in the plant. Moreover, the study of cyclin-GUS reporter lines allowed us to follow the activity of the APC/C during the entire plant development and showed that this complex remains active in most differentiated cells as illustrated in fully expanded leaves. Surprisingly, the CD20s known as mitotic regulators were also active in non-dividing cells. The necessity to maintain the APC/C activity in post-mitotic cells is supported by the developmental defects in knock out mutants and RNAi lines of APC/C subunits and activators. As a major function, the role of the APC/C in regulation of endoreduplication cycles and cell sizes has been demonstrated. Moreover APC/C knockdown mutant lines indicate a role in plant vasculature development and organisation. Identification of target proteins of the APC/C complex by yeast two-hybrid screens was consistent with both the mitotic and post-mitotic functions of the APC/C.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Mergaert P., Uchiumi T., Alunni B., Evanno G., Cheron A., Catrice O., Mausset A.E., Barloy-Hubler F., Galibert F., Kondorosi A., Kondorosi E. (2006) Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the Rhizobium-legume symbiosis. PNAS 103:5230-5.  
\* This paper is not directly related but demonstrates common differentiation path for eukaryotic and prokaryotic cells via endoreduplication.
- Bortolamiol D., Pazhouhandeh M., Marrocco K., Genschik P., Ziegler-Graff V. (2007) The Plovervirus F box protein PO targets ARGONAUTE1 to suppress RNA silencing. Curr Biol. 17:1615-21.  
\* This paper is on an unrelated project, but took advantage of resources developed in the frame of this program.
- Genschik P. and Criqui M.C (2007) The UPS : an engine that drives the cell cycle. In : « Cell Cycle Control and Plant Development ». D. Inzé ed, Annual Plant Reviews, vol 32, Blackwell Publishing, 87-113.
- Pérez-Pérez J.M., Serralbo O., Vanstraelen M., Gonzalez C., Criqui M.C., Genschik P., Kondorosi E., Scheres B. (2008) Specialization of CDC27 function in the Arabidopsis thaliana anaphase-promoting complex (APC/C). Plant J. 53 :78-89.
- Lammens T., Boudolf V., Kheibarshekan L., Zalmas L.P., Gaamouche T., Maes S., Vanstraelen M., Kondorosi E., La Thangue N.B., Govaerts W., Inzé D., De Veylder L. (2008) Atypical E2F activity restrains APC/CCCS52A2 function obligatory for endocycle onset. PNAS 105:14721-14726

### Conférences

#### Invitées

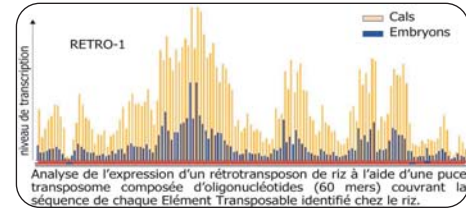
- November 02-05, 2008 : P. Genschik The Frontiers of Plant Biology 2008 Lijiang (China).
- July 22-27, 2008 : E. Kondorosi: 19th International Conference of Arabidopsis Research, Montreal, (Canada)
- September 24-27, 2008 : P. Genschik 10th FISV congress Riva del Garda (Italie).
- July 06-10, 2008 : P. Genschik SEB Meeting 2008 (The Society for Experimental Biology) Marseille.
- June 04-08, 2008 : P. Genschik Conférences Jacques-Monod « Fine tuning of plant signaling pathways » Roscoff (France)

#### Colloques : 2



# Impact des Elements Transposables sur la Régulation des Gènes (Impact of Transposable Elements on Gene regulation)

Marie-Angèle Grandbastien



La puce "Transposome" de riz

Marie-Angèle GRANDBASTIEN, Laboratoire de Biologie Cellulaire, IJPB, INRA-Versailles - Jean-Marc DERAGON et Olivier PANAUD, Laboratoire Génome et Développement des Plantes (LGDP), Université de Perpignan - Boulos CHALHOUB, Unite de Recherche en Génomique Végétale (URGV), INRA-Evry

<b>Acronyme</b>	ITEGE	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Elément transposable</li><li>• Expression génique</li><li>• Régulation transcriptionnelle</li><li>• Régulation post-transcriptionnelle</li><li>• Plantes supérieures</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	510 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 88,8 Autres IT : 47,8 Recrutés : 95		

## Résumé

Les Eléments Transposables (ETs) sont des facteurs centraux dans la création de variation fonctionnelle. Ils peuvent modifier la fonction des gènes et créer des spécificités tissulaires et des promoteurs alternatifs. De plus, ils répondent à des stimuli particuliers, cette réponse modifiant à son tour l'expression de gènes adjacents. Cette image nouvelle suggère que les ETs se placent au coeur de réseaux régulateurs complexes permettant la modulation fine de l'expression génique. L'objectif du projet ITEGE est de réaliser une première évaluation de la contribution des ETs à la diversité régulatrice des gènes végétaux. Il vise à établir

une revue globale des associations entre gènes et ETs chez quatre plantes modèles (arabidopsis, riz, tomate et blé), et à étudier les modifications d'expression géniques qui en résultent, ainsi que les mécanismes moléculaires utilisés. Ce projet regroupe quatre des principaux laboratoires français reconnus pour leurs compétences sur les ETs de plantes, et combine des approches bioinformatiques et transcriptomiques. Il représente la première analyse à grande échelle de ce type chez les plantes, et démontre un impact massif des ETs sur l'expression des génomes végétaux.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Les principaux points de blocage se sont situés au niveau de: i) la difficulté à exploiter les données transcriptomiques ETs en raison de la nature répétée et variable de leurs séquences, ii) la difficulté à identifier des polymorphismes d'insertion orthologues sur la base des séquences génomiques publiques disponibles et iii) des difficultés à valider des stratégies expérimentales de détection globale de co-transcrits ETs/gènes. Cette dernière difficulté n'a pas pu être surmontée, mais les deux premiers problèmes ont été résolus par validation expérimentale systématique des données bioinformatiques, et design d'outils transcriptomiques mieux adaptés.

## Résultats majeurs

Le projet ITEGE a consisté en la mise en place d'approches génomiques globales et a démontré une présence importante des ETs dans le transcriptome des plantes, incluant un grand nombre de co-transcrits entre ETs et séquences géniques. Ces co-transcrits sont exprimés différemment en fonction des conditions et notamment en réponse à des stress génomiques ou externes. Le projet ITEGE a également permis un recensement de la composante ET qui était mal connue pour certaines espèces (répertoire d'ETs de tomate, évaluation des insertions de rétrotransposons de riz et d'ETs de blé), et des conditions d'expression de nombreux ETs. En outre, le projet ITEGE a permis le développement de stratégies et d'outils novateurs, comme un pipe-line d'annotation permettant de corrélérer polymorphismes d'insertion et modifications d'expression génique, ou des puces « Transposome ». Enfin, le projet ITEGE a permis le développement de bases de données, comme la base Retroyza ( [HYPERLINK "http://www.retrozyza.org"](http://www.retrozyza.org) [www.retrozyza.org](http://www.retrozyza.org)), contenant toutes les copies des rétrotransposons à LTR du riz, associées à une annotation fonctionnelle, et devenue la base de données ETs de référence de l'International Rice Genome Sequencing Project (IRGSP).

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- C. Chaparro, R. Guyot, A. Zuccolo, B. Piégu and O. Panaud (2007). Retroyza, a database of rice LTR-retrotransposons. *Nucleic Acids Research*, 35 (Database issue): D66-70
- T. Wicker, F. Sabot, A. Hua-Van, J. Bennetzen, P. Capy, B. Chalhoub, A. Flavell, P. Leroy, M. Morgante, O. Panaud, E. Paux, P. SanMiguel and A. Schulman (2007). A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nature Reviews Genetics*, 12:973-982.
- Rice Annotation Project, Tanaka T et al. ... Chaparro C, Piégu B, Panaud O and Echeverria M (2008). The Rice Annotation Project Database (RAP-DB) (2008) update. *Nucleic Acid Research* (Database issue):D1028-33
- Deragon, J.M., Casacuberta, J.M. and Panaud, O. (2008) Plant Transposable Elements. *Genome Dynamics*, 4 : 69-82
- Pouch-Pélissier MN, Pélissier T, Elmayer T, Vaucheret H, Boko D, Jantsch MF, Deragon JM. (2008) SINE RNA induces severe developmental defects in *Arabidopsis thaliana* and interacts with HYL1 (DRB1), a key member of the DCL1 complex. *PLoS Genet*. 2008 Jun 13;4(6):e1000096
- Charles M, Belcram H, Just J, Huneau C, Viollet A, Couloux A, Seguren B, Carter M, Huteau V, Coriton O, Appels R, Samain S, Chalhoub B (2008) Dynamics and differential proliferation of transposable elements during the evolution of the B and A genomes of wheat. *Genetics* (in press)

### Conférences

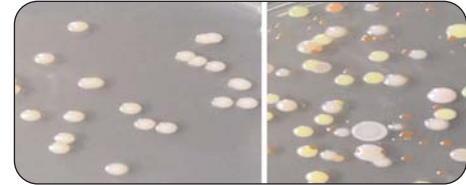
#### Invitées

- J-M Deragon (2007) The overproduction of SINE RNA is associated to severe developmental defects in *Arabidopsis thaliana*. RIBOREG-ESF Workshop on Molecular mechanisms involving non-protein coding RNAs (March 2007 Carry-le-Rouet, France)
- J-M Deragon (2007) Structure and cellular function of SINE RNAs. FASEB Mobile Elements in Mammalian Genomes meeting (June 2007 Tucson USA)
- O Panaud (2007) An evolutionary perspective of plant transposome: the dynamics of rice LTR-retrotransposons". National Institute of Genetics, Mishima, Japon, mai 2007
- B Chalhoub (2007) Genetic and transcriptome modifications induced by polyploidy in the wheat species (*Triticum* and *Aegilops*) model. International Conference on Polyploidy, Heterosis and Epigenetics. Beijing (Chine), 21-23 mai 2007

Colloques : 13

# Interactions entre les oiseaux et les bactéries : *aspects écologiques et évolutifs*

Philipp Heeb



Dans de l'eau de bains où les oiseaux ne se sont pas baignés (A) on observe une diversité bactérienne plus faible que dans l'eau de bain utilisée par les oiseaux (B, photo: G. Czirik)

HEEB Philipp, Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR 5174 CNRS,

Université Paul Sabatier, Toulouse - LAMBRECHTS Marcel, Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive. UMR 5175 Montpellier France

<b>Acronyme</b>	Oiseaux&Bact	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ecologie comportementale</li><li>• Ecologie microbienne</li><li>• Sélection sexuelle</li><li>• Ecologie Evolutive</li><li>• Investissement parental</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	220 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 15,75 Autres IT : 7,6 Recrutés : 38		

## Résumé

L'évolution des vertébrés a eu lieu en présence d'innombrables micro-organismes qui les colonisent. Ces micro-organismes peuvent avoir soit des effets bénéfiques, neutres ou négatifs et peuvent exercer des pressions de sélection sur leurs hôtes conduisant à l'évolution de traits adaptés pour leur faire face. Les oiseaux possèdent de riches communautés bactériennes sur le plumage et transmettent horizontalement ces bactéries dans l'eau qu'ils utilisent pour prendre leur bain. Les nids contiennent aussi de riches communautés bactériennes. Dans ce projet nous avons examiné la fonction de l'apport de plantes aromatiques dans les nids de mésanges bleues. Nous avons démontré que l'addition de plantes aromatiques dans les nids a un effet positif sur la croissance et le développement des jeunes. Au moyen d'analyses microbiennes, on a déterminé que cet effet était

du à une réduction des charges bactériennes présentes sur les jeunes mésanges. Chez les oiseaux la glande uropygiale est une glande exocrine dont les sécrétions sont utilisées pour des fonctions d'entretien du plumage. Lors d'une expérience avec des canards colverts il a été démontré qu'une réduction de l'accès aux sécrétions de la glande uropygiale diminue la qualité du plumage en modifiant la structure, la coloration et les capacités hydrofuges des plumes. Contrairement aux prédictions, les propriétés anti-bactériennes des sécrétions des glandes, n'ont pas provoqué de modifications des charges bactériennes sur le plumage des oiseaux.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Installation d'un nouveau laboratoire de microbiologie au sein du laboratoire Evolution et diversité biologique (EDB). Développement et pérennisation d'une nouvelle thématique en "écologie microbienne" au sein du laboratoire EDB (toujours en cours).

## Résultats majeurs

Nous avons démontré qu'en incluant des plantes aromatiques dans leurs nids, les mésanges bleues réduisent la charge bactérienne de leurs jeunes induisant ainsi une meilleure croissance des jeunes. En prenant des bains, les oiseaux contaminent l'eau des bains fournissant ainsi un mode de transmission horizontal bactérien. La fonction des bains des oiseaux est de modifier la structure des communautés bactériennes sur le plumage. Les sécrétions de la glande uropygiale chez les canards colverts protègent le plumage d'une dégradation mais ne modifient pas les densités bactériennes sur le plumage. Etant donné les propriétés anti-bactériennes de ces sécrétions nos résultats sont inattendus et soulèvent de nouvelles questions.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Mennerat, A. (2008). Blue tits (*Cyanistes caeruleus*) respond to an experimental change in the aromatic plant odour composition of their nest. *Behavioural Processes*, 79: 189-191.
- Mennerat, A., Perret, P., Bourgault, P., Blondel, J., Gimenez, O., Thomas, D.W., Heeb, P., M.M. Lambrechts (in press). Aromatic plants in nests of blue tits: positive effects on nestlings. *Animal Behaviour*.
- Mennerat, A., Perret, P., Caro, S.P., Heeb, P., M.M. Lambrechts (2008) Aromatic plants in blue tit *Cyanistes caeruleus* nests: no negative effect on blood-sucking *Protocalliphora* blow fly larvae. *Journal of Avian Biology* 39: 127-132

### Conférences

#### Invitées

- P.Heeb (Conférencier invité, Université de Bristol, UK, Prof. Innes Cuthill)
- P.Heeb (Présentation Orale, Société Française d'écologie microbienne)
- P. Heeb a agi en tant que Co-organisateur d'un symposium sur les interactions entre les oiseaux et les bactéries au 24ème International Ornithological Congress (IOC 2006), Hambourg, 13-19 Août 2006. (en association avec le Prof. E.H. Burtt, Université de Ohio Wesleyan University)

Colloques : 3

# Etude de l'adaptation des polychètes Alvinellidae aux conditions de stress thermique et oxydatif de l'environnement hydrothermal profond

Didier Jollivet



Photographie d'*Alvinella pompejana* sur la paroi d'une cheminée hydrothermale

JOLLIVET Didier (Coord.), UMR CNRS-UPMC 7144, Adaptation et Diversité en Milieu Marin, Station Biologique de Roscoff. - LECOMPTE Odile, IGBMC (CNRS/INSERM/Pasteur), Strasbourg

<b>Acronyme</b>	AdaptAlvinStres	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Transcriptome</li><li>• Adaptation</li><li>• Stress oxydatif</li><li>• Thermostabilité</li><li>• Evolution des protéines</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	120 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 72 Autres IT : 10 Recrutés : 6		

## Résumé

L'annélide polychète *Alvinella pompejana* occupe le pôle le plus chaud de l'environnement hydrothermal profond (40-60°C). Un programme de séquençage d'environ 9 000 ADNc complets (100 000 lectures) a été réalisé au Génoscope chez cette espèce auquel on a adjoint 10 000 ESTs chez une espèce proche vivant dans un environnement plus froid : *Paralvinella grasslei*. Le présent projet avait pour objectif de :

rechercher l'existence de signatures moléculaires de la thermophilie eucaryote chez *A. pompejana*, mettre au point la première puce à ADNc chez les Alvinellidae, outil puissant pour étudier par la suite la réponse du ver aux fluctuations de l'environnement, caractériser les protéines associées à la réponse

au stress oxydatif et, obtenir une première série de protéines recombinantes à partir des banques actuellement disponibles pour tester in vitro la thermostabilité des molécules.

Au cours de ces 4 années, une double approche de transcriptomique et protéomique comparée a été retenue en s'appuyant sur (1) une analyse in silico des séquences codantes orthologues après annotation au sein des locotrophozoaires (annélide + bivalve) et entre espèces d'Alvinellidae, (2) la mise au point de puces à ADN et l'étude de l'expression d'une série de gènes dans un contexte expérimental, et (3) la surexpression de protéines recombinantes clés de la réponse au stress thermique et oxydatif et leur étude cristallographique.

le programme blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Au cours de ce projet, quelques difficultés ont été rencontrées d'une part, avec le désistement de l'équipe Rabilloud (CEA, Grenoble) dans l'étude protéomique des spots de gels 2-D et, d'autre part, avec la déprogrammation 2 années consécutives de la campagne MESCAL au cours de laquelle nous projetions d'effectuer plusieurs séries d'expérimentations sur les polychètes Alvinellidae en conditions de pression simulée à différentes températures et niveaux d'oxygénation. Des retards, d'ordre technologique ont également été rencontrés dans le repiquage des banques ADNc issues du Génoscope et dans la mise au point de techniques de purification des protéines recombinantes à Strasbourg et à Roscoff. Ces problèmes ne nous ont pas permis d'effectuer le volet expérimental que nous projetions de mettre en œuvre au cours de cette ANR. Cette partie sera réalisée dans le cadre de l'ANR Blanche BALIST coordonnée par B. Shillito (UPMC) au cours des 4 prochaines années.

## Résultats majeurs

L'ensemble des séquences obtenues par le Génoscope sur les espèces *A. pompejana* et *P. grasslei* a été assemblé, annoté et intégré dans une banque relationnelle. L'analyse in silico des séquences orthologues d'*A. pompejana* et *P. grasslei* a permis de montrer un net biais du GC3 en faveur d'*A. pompejana* et des enrichissements en alanine, lysine et tyrosine avec des profils d'hydrophobicité augmentés. De plus, les protéines d'*A. pompejana* sont significativement enrichies en lysine, arginine et cystéines par rapport aux autres lophotrocozoaires. Une puce ADNc a été construite et testée à partir des 3000 unigènes de *P. grasslei* et une puce Oligo issue des séquences d'*A. pompejana* est en cours de construction. La protéomique comparée a révélé une régulation différentielle de l'expression protéique à l'hypoxie et la température, notamment les globines, hsp et les protéines du cytosquelette. Enfin, plusieurs protéines recombinantes ont pu être surexprimées donnant lieu à une première étude sur la thermostabilité des molécules et à un premier cristal.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications AGL/brevets

- Lecompte, O., Poch, O., Bigot, Y., Conti, E., Cormier, P., Dietrich, J., Duchiron, F., Gagnière, N., Gaill, F., Higuët, D., Hourdez, S., Jollivet D., Knoops, B., Lallier, F., Lallier, M., Leize-Wagner, E., Moras, D., Pradillon, F., Rees, J-F., Vandorsselaer, A., Ravaux, J., Shillito, B., Thierry, J.-C. & Zal, F. 2006. *Alvinella* Consortium: a large scale sequencing project at the French Genoscope. *InterRidge News*. 14:27-28.
- Tanguy, A., Jollivet, D., Shillito, B., Lecompte, O. 2008. Study of the molecular response to thermal challenge of the hydrothermal annelid *Paralvinella grasslei*. *Clark M. S., A. Tanguy, D. Jollivet, F. Bonhomme, B. Guinand, F. Viard*. 2008. *Ecology issues and Genomics*. In : *Genomics of Marine Species*, chapter 4, sous presse.
- Boutet, I., Shillito, B., Jollivet, D., Moraga, D. & Tanguy, A., 2008. Molecular identification of differentially regulated genes in response to temperature in the hydrothermal vent species *Bathymodiolus thermophilus* and *Paralvinella pandorae*. *BMC Genomics*, accepté.
- Geanard B., Marie B., Loumaye E., Knoops B., Legendre P., Zal F. & Rees JF (2008) Living in a hot redox soup : the antioxidant defense arsenal of the hydrothermal worm, *Alvinella pompejana*. *Deep-Sea Res.*, accepté.

### Conférences

#### Invitées

- Poch O. 2007. Insights from cDNA analysis of the thermotolerant deep-sea worm, *Alvinella pompejana*. Conférence Jacques Monod, 9-13 juin 2007, Roscoff
- Jollivet, D., Boutet-Tanguy, I., Tanguy, A., Mary, J., Lecompte, O., Segurens, B., Weissenbach, J. & Poch O. 2007. Premières signatures moléculaires de l'adaptation thermique chez le polychète *Alvinella pompejana* par analyse du transcriptome. Axe « Génomique & Chimie bleue » Kick off Meeting GIS Europôle Mer, 5-6 juillet 2007, Roscoff.

Colloques : 7

# Analyse fonctionnelle d'une nouvelle classe d'ARN polymérase spécifiques aux plantes et impliquées dans la formation d'hétérochromatine par les ARNs interférants : Approches biochimique, génétique et génomique.

Thierry Lagrange



Le double mutant pollVa/IVb présente un retard de floraison.

LAGRANGE Thierry, LGDP, Perpignan - COLOT Vincent, CNRS et ENS

Acronyme	RNA Pol IV
Edition	2005
Durée du projet	36 mois
Financement	510 000 €
Personnels (H-m)	C + EC + IR : 88 Autres IT : 42 Recrutés : 60

Discipline Sciences agronomiques et écologiques

Mots clés

- Silencing
- siRNA
- ARN Polymerase IV
- Argonaute
- TGS

## Résumé

L'analyse de la séquence du génome d'*Arabidopsis thaliana* a révélé la présence de plusieurs gènes nucléaires codant pour de nouvelles grandes sous-unités d'ARN polymérase de type nucléaire. Récemment, plusieurs groupes, dont notre équipe, ont caractérisé ces gènes et ont montré qu'il existe en fait deux formes d'ARN polymérase IV chez les plantes (PollVa et PollVb). Elles se sont révélées être différemment impliquées dans une nouvelle voie de RNA silencing, nommée RdDM (pour RNA-directed DNA Methylation), qui contrôle la formation d'hétérochromatine sur les séquences répétées du génome. Cette nouvelle voie de régulation qui aboutit à la synthèse d'une classe particulière de petits ARN interférants (siRNA) jouerait un rôle dans la stabilité des régions répétées du

génome et dans la répression des éléments transposables. Notre projet ANR porte sur l'analyse moléculaire et fonctionnelle du système transcriptionnel PolIV chez *Arabidopsis*. En particulier, notre projet se propose: (1) de caractériser les composants des holoenzymes PollVa et PollVb; (2) de comprendre les déterminants moléculaires qui contribuent à la diversification fonctionnelle des deux formes de PolIV; (3) d'identifier les cibles in vivo de PollVa et PollVb; (4) de déterminer l'ensemble des modifications chromatiniennes qui en sont dépendantes.

le programme blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Pour les expériences de ChIP-chip qui visent à rechercher les cibles à un niveau génomique des deux formes de PolIV, l'utilisation d'anticorps dirigés contre les grandes sous-unités de PolIVa et PolIVb n'a pas donné de résultats probants. Pour contourner le problème, nous avons produit des plantes qui expriment des formes étiquetées des grandes sous-unités de PolIVa et PolIVb, et utilisé des anticorps anti-Flag pour immunoprécipiter les complexes chromatinien. Cette approche ne nous a pas permis de détecter une association de PolIV sur ces cibles génomiques.

## Résultats majeurs

En collaboration avec S. Jacobsen, nous avons montré qu'AGO4 reconnaît l'holoenzyme PolIVb via sa CTD, et nous avons élucidé l'organisation sub-nucléaire des protéines de la voie RdDM (Li et al., Cell 2006; Li et al., PLoS Genet, 2008). Plus récemment, nous avons montré que la CTD de PolIVb est cruciale pour la diversification fonctionnelle de cette enzyme et identifié le motif WG/GW comme site de fixation de AGO4 (El-Shami et al., Genes & Dev. 2007). Finalement, nous avons caractérisé de nouvelles sous-unités de PolIVb et le site catalytique de cette enzyme (Lahmy et al., PNAS, sous-pressé). Une analyse génomique des modifications chromatinien dans les mutants PolIV a été aussi réalisée (Colot, soumis).

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Li, C. F., Pontes, O., El-Shami, M., Henderson, I. R., Bernatavichute, Y. V., Chan, S. W.-L., Lagrange, T., Pikaard, C. S. and Jacobsen, S. E. (2006). An ARGONAUTE4-containing nuclear processing center co-localized with Cajal bodies in Arabidopsis thaliana. Cell 126 : 93-106.
- El-Shami, M., Pontier, D., Lahmy, S., Braun, L., Picart, C., Vega, D., Hakimi, M.-A., Jacobsen, S. E., Cooke, R. and Lagrange, T. (2007). Reiterated WG/GW motifs form functionally and evolutionarily conserved ARGONAUTE-binding platforms in RNAi-related components. Genes & Dev. 21 : 2539-2544.
- Li, C. F., Henderson, I. R., Song, L., Federoff, N., Lagrange, T. and Jacobsen, S. E. (2008). Dynamic regulation of ARGONAUTE4 within multiple nuclear bodies in Arabidopsis thaliana. PLoS Genet. 4 : e27.
- Yu, B., Bi, L., Zheng, B., Ji, L., Chevalier, D., Agarwal, M., Ramachandran, V., Li, W., Lagrange, T., Walker, J.C., and Chen, X. (2008) The FWA domain proteins DAWDLE in Arabidopsis and SNIP1 in humans act in small RNA biogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105 : 10073-10078.
- Lahmy, S., Pontier, D., Cavel, E., Vega, D., El-Shami, M., Kanno, T., and Lagrange, T. Functional analysis of PolIV(PolIVb) : additional plant-specific subunit and active site requirement for RNA-directed DNA methylation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA sous presse.

### Conférences

#### Invitées

- 6th Symposium on Post-Transcriptional Regulation of Plant Gene Expression. Carry-le-rouet. Mai 2007.
- 1st Languedoc Roussillon-Catalogne meeting on Plant Integrative Biology. Banyuls sur mer, France, Decembre 2007.-
- Conférence Jacques-Monod. « Fine tuning of plant signalling pathways ». Roscoff Juin 2008

#### Colloques : 4



# Les protéines de l'hôte dans le cycle infectieux d'un virus de plante à ARN(+): relations entre structure et fonction

Olivier Le Gall



Jeune laitue infectée par le potyvirus de la mosaïque (LMV)

Olivier LE GALL, UMR 1090 Génétique - Diversité - Pouvoir Pathogène INRA-Univ. Bordeaux 2 - Bernard GALLOIS, Unité de Biophysique Structurale, UMR 5471 CNRS-Univ. Bordeaux 1

<b>Acronyme</b>	Poty4E	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Génétique des plantes</li><li>• Génomique</li><li>• Microbiologie moléculaire</li><li>• Biologie structurale</li><li>• Microbiologie</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	24 mois		
<b>Financement</b>	380 000 €		
<b>Personnels ((H-m)</b>	C + EC + IR : 90 Autres IT : 70 Recrutés : 25		

## Résumé

Les virus sont des parasites obligatoires qui dépendent de facteurs de leur hôte pour accomplir leur cycle. Malgré une importance tant cognitive qu'appliquée à la protection des cultures, ces facteurs restent très mal connus dans le cas de virus de plante. Nous les avons recherchés et étudiés dans le cas des potyvirus, le genre viral le plus important économiquement chez les plantes, pour lequel il était connu au démarrage du projet que le facteur d'initiation de la traduction, eIF4E (cap-binding protein) est recruté pour le cycle viral dans un processus (« 4E-dépendant », 4ED) non élucidé.

Notre premier objectif était d'établir une liste des protéines de l'hôte recrutées dans le processus 4ED, par des approches croisées de biochimie et de génétique dans

la laitue et dans la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. Au moins un autre facteur cellulaire a été identifié.

Notre second objectif était d'identifier les facteurs viraux impliqués dans 4ED, en exploitant la variabilité virale naturelle et par génétique inverse. Un nouvel acteur de 4ED a été identifié (CI), et la capacité de HcPro à interagir avec VPg dont on sait qu'elle-même interagit avec eIF4E en fait un autre candidat. La qualité des interactions, protéines seules ou en mélanges, a été mesurée et des conséquences évolutives sont encore en cours d'investigation.

le programme blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Absence de cristallisation du facteur eIF4E, seule ou en complexe. Cette propriété imprévisible est un pré-requis incontournable à l'élucidation de la structure 3D d'une protéine. Nous avons tout de même progressé en mutagenèse sur la base d'une structure prédite.

Devancés par des collègues dès le début du projet sur l'un de nos objectifs (l'étude des interactions entre protéines in vivo par BiFC), nous avons abandonné cette partie. Très grande difficulté à identifier un candidat de post-doc.

## Résultats majeurs

- Recrutement d'eIF4G pour le processus infectieux, en coordination avec eIF4E ; VPg favorise l'interaction eIF4E-eIF4G et défavorise l'interaction eIF4E-coiffe
- La protéine CI intervient (comment ???) dans le processus 4E-dépendant
- Plusieurs interactions démontrées entre protéines virale et de l'hôte : VPg-eIF4E-eIF4G (non nouveau), CI-eIF4E (nouveau), HcPro-eIF4E (nouveau), CI-VPg (nouveau)
- Caractérisation phénotypique et génotypique croisées d'isolats viraux nombreux et divers
- La réussite de l'infection n'est pas corrélée à la qualité de l'interaction VPg-eIF4E
- Première analyse fonctionnelle par mutagenèse dirigée d'un eIF4E de plante ; la capacité d'un eIF4E à être recruté peut être dissociée de ses fonctions dans la traduction des ARNm.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Thivierge, K., Nicaise, V., Dufresne, P.J., Cotton, S., Laliberte, J.-F., Le Gall, O. and Fortin, M.G. (2005) Plant virus RNAs - Coordinated recruitment of conserved host functions by (+) ssRNA viruses during early infection events. *Plant Physiology* 138, 1822-1827.
- Michon, T., Estevez, Y., Walter, J., German-Retana, S. and Le Gall, O. (2006) The potyviral virus genome-linked protein VPg forms a ternary complex with the eukaryotic initiation factors eIF4E and eIF4G and reduces eIF4E affinity for a mRNA cap analogue. *FEBS Journal* 273, 1312-1322.
- Nicaise, V., Gallois, J.-L., Chafai, F., Allen, L.M., Schurdi-Levraud, V., Browning, K.S., Candresse, T., Caranta, C., Le Gall, O. and German-Retana, S. (2007) Coordinated and selective recruitment of eIF4E and eIF4G factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Letters* 581, 1041-1046.
- Roudet-Tavert, G., Michon, T., Walter, J., Delaunay, T., Redondo, E. and Le Gall, O. (2007) Central domain of a potyvirus VPg is involved in the interaction with the host translation initiation factor eIF4E and the viral protein HcPro. *Journal of General Virology* 88, 1029-1033.
- German-Retana, S., Walter, J., Doublet, B., Roudet-Tavert, G., Nicaise, V., Lecampion, C., Houvenaghel, M.-C., Robaglia, C., Michon, T. and Le Gall, O. (2008) Mutational analysis of plant cap-binding protein eIF4E reveals key amino acids involved in biochemical functions and potyvirus infection. *Journal of Virology* 82, 7601-7612.

### Conférences

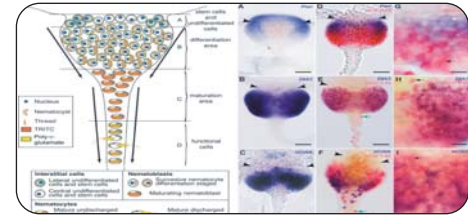
#### Invitées

- Le Gall, O. (2005) How can knowledge about the molecular bases of plant disease and disease resistance help engineering of resistance in crops? International Symposium on Plant Biotechnology of Temperate fruit Crops and tropical Species. Daytona Beach, FL, oct. 2005.
- Decroocq, V., Revers, F., Lansac, M., Le, H., Sicard, O. and Le Gall, O. (2006) Towards the identification of host factors involved in the infection cycle of potyviruses in *Arabidopsis thaliana*. 157th SGM meeting. Warwick, UK, April 2006.
- Le Gall, O. (2006) Prospects for the implementation of knowledge-based strategies for virus control in crops. Congrès de la Société Pauliste de Phytopathologie. Botucatu, SP, 14-16 Février 2006.
- Le Gall, O. (2008) Innate immunity in plants. Noah's ark and the immune system: immunity in living things from the sky, the water, and the earth. Collège de France, Paris, 08 April 2008.

Colloques : 10

# Vers une génomique fonctionnelle du développement du cnidaire *Clytia hemisphaerica* et du cténaire *Pleurobrachia pileus*

Michaël Manuel



Ordered expression of genes involved in the successive steps of nematogenesis in the *Clytia* tentacle bulb (Elsa Denker, équipe Manuel)

Michaël MANUEL, UMR 7138 « Systématique, Adaptation, Evolution » (CNRS/UPMC/MNH/IRD/ENS)  
Evelyn HOULISTON, UMR 7009 "Biologie du Développement" (CNRS/UPMC)

<b>Acronyme</b>	Genocnidaire	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polarités</li> <li>• Neurogenèse</li> <li>• Évo-dévo</li> <li>• Cnidaires</li> <li>• Cténaires</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	120 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR :		
	Autres IT :		
	Recrutés :		

## Résumé

Le projet visait à développer des ressources transcriptomiques et expérimentales sur deux nouveaux modèles animaux extérieurs aux Bilateria : le cnidaire *Clytia hemisphaerica* (hydrozoaire, leptothécate) et le cténaire *Pleurobrachia pileus*. La position clé de ces deux groupes à la base de l'arbre des métazoaires les rend incontournables pour comprendre l'évolution des mécanismes du développement. Notre projet programmé sur trois ans (2005-2008) visait à (i) obtenir et d'analyser des données sur le transcriptome de *Clytia* et *Pleurobrachia* (respectivement environ 90 000 et 40 000 ESTs, et séquençage d'environ 8000 unigènes en pleine longueur pour *Clytia*) et (ii) étudier chez nos deux organismes modèles l'expression et la fonction de gènes régulateurs identifiés au sein de ces

collections de transcrits, potentiellement pertinents du point de vue des mécanismes de l'ovogenèse, des polarités ovocytaire et embryonnaire, et de la neurogenèse. Ces objectifs impliquait un gros effort de mise au point expérimentale (hybridations in situ, techniques de suractivation ou d'inhibition de l'expression des gènes par injection d'ARN synthétiques ou de morpholinos...). Les résultats publiés ont déjà hissé nos deux organismes modèles au premier plan à l'échelle internationale, dans le domaine de l'évo-dévo des animaux non-Bilateria.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Les techniques d'inactivation ou de surexpression de gènes fonctionnent bien au niveau des ovocytes et embryons de *Clytia* mais restent à mettre au point sur les adultes. Le modèle *Pleurobrachia* pose des problèmes du point de vue de la disponibilité du matériel (cultures impossibles, abondance fluctuante dans le plancton), ce qui n'a pas permis d'aborder les fonctions des gènes dans la durée du projet.

## Résultats majeurs

Parmi les résultats majeurs issus de ce projet on peut mentionner :

la mise en évidence une origine ancienne (chez l'ancêtre commun cnidaire/Bilateria) des fonctions de la kinase *Mos* au cours de l'ovogenèse.

La mise en évidence de déterminants maternels localisés dans l'œuf de la polarité embryonnaire chez *Clytia* (le ligand *CheWnt3* et deux récepteurs de type *Frizzled*).

La description des aspects cellulaires et moléculaires de la nématogenèse chez *Clytia*.

L'étude de l'expression des gènes *Hox* chez *Clytia* et des gènes *Sox* chez *Pleurobrachia*.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Denker, E., Manuel, M., Leclère, L., Le Guyader, H. & Rabet, N. 2008. Ordered progression of nematogenesis from stem cells through differentiation stages in the tentacle bulb of *Clytia hemisphaerica* (Hydrozoa, Cnidaria). *Developmental Biology*, 315: 99-113.
- Jager, M., Quéinnec, E., Chiori, R., Le Guyader, H. & Manuel, M. 2008. Insights into the early evolution of SOX genes from expression analyses in a ctenophore. *Journal of Experimental Zoology part B Molecular and Developmental Evolution*. Epub ahead of print.
- Momose, T. & Houlston, E. 2007. Two oppositely localised *Frizzled* RNAs as axis determinants in a cnidarian embryo. *Plos Biology*, 5(4) : e70.
- Momose, T., Derelle, R. and Houlston, E. 2008. A maternally localised Wnt ligand required for axial patterning in the cnidarian *Clytia hemisphaerica*. *Development* 135 2105-2113.
- Amiel, A., Leclère, L., Robert, L., Chevalier, S. & Houlston, E. Conserved functions for *Mos* in eumetazoan oocyte maturation revealed by studies in a cnidarian. *Current Biology* in press
- Chiori, R., Jager, M., Denker, E., Wincker, P., Dasilva, C., Le Guyader, H., Manuel, M. & Quéinnec, E. Are Hox Genes Ancestrally Involved in Axial Patterning? Evidence from the Hydrozoan *Clytia hemisphaerica* (Cnidaria). *PLoS One* in press

### Conférences

#### Invitées

- Michaël Manuel, Novembre 2008 : « 8th International Congress on the Biology of Stem Cells », à Paris. Titre: "Early evolution of stem cells: insights from non-bilateria animals".
- Michaël Manuel, Juillet-Août 2008 : Euro Evo-Devo, à Ghent, Belgique. Titre : « Evolutionary origin of neurosensory cells and their differentiation from stem cells : insights from gene expression studies in a ctenophore and a cnidarian »
- Tsuyoshi Momose, 15-16 janvier 2008, NAIST Global COE International Symposium on Developmental Biology, à Nara au Japon.

#### Colloques : 7

# Identification of plant Components involved in the perception by *Arabidopsis* of *Ralstonia solanacearum*, a bacterial pathogen

Yves Marco



Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes, UMR CNRS/INRA 2594/441

<b>Acronyme</b>	ICARE	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Résistance végétale</li><li>• Interactions biotiques</li><li>• Effecteurs bactériens</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	200 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 49.8 Autres IT : 7,2 Recrutés : 30		

## Résumé

Une meilleure compréhension de l'étape initiale de perception d'un agent pathogène par un végétal constitue l'objectif principal de ce projet. Au delà de l'interaction directe ou indirecte entre la protéine végétale et la protéine d'avirulence microbienne, de nombreux travaux suggèrent l'existence d'autres composantes végétales impliquées dans la formation d'un complexe multiprotéique. RRS1-R, protéine de résistance atypique conférant la résistance à la bactérie phytopathogène, *Ralstonia solanacearum*, ainsi que PopP2, la protéine d'avirulence de ce microorganisme présentant des similarités avec des membres d'une famille de cystéine protéase, constituent les outils de choix pour la réalisation de ce programme. Ces protéines, isolées dans notre équipe,

interagissent entre elles et sont localisées au niveau du noyau de la cellule, ce qui constitue une autre originalité de ce système. Ce projet concerne la caractérisation de protéines interagissant avec PopP2, la recherche de leur fonction dans l'élaboration des réponses de la plante par la modulation de leur expression ainsi que des modifications dont elles pourraient faire l'objet par PopP2. Dans ce contexte, cette étude est abordée par des approches de double hybride chez la levure, de génétique inverse ainsi que par des approches biochimiques.

le programme blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

### Résultats majeurs

Des avancées significatives ont été réalisées dans l'identification et la caractérisation fonctionnelle de protéines interagissant avec PopP2 et qui pourraient participer à l'élaboration d'un complexe de perception RRS1-R/PopP2. Parmi ces protéines appelées PIPs (PopP2 Interacting Partners) figurent 2 protéines de fonction inconnue, 2 facteurs de transcription de type bZip et une protéase à cystéine, RD19. Nous avons pu montrer que RD19, initialement adressée vers la vacuole, est relocalisée vers le noyau en présence de PopP2. Une approche de type FLIM a permis de démontrer une interaction physique se produisant au niveau du noyau entre RD19 et PopP2. De plus, RD19 s'est avérée être une composante clé nécessaire à la résistance médiée par RRS1-R. Par ailleurs, une analyse transcriptomique visant à étudier l'effet de PopP2 in planta a permis d'identifier des gènes spécifiquement régulés par la présence conjointe de PopP2 et RRS1-R. Cette analyse devrait, à terme, permettre d'élucider les voies de signalisation impliquées dans le développement de la résistance à *R. solanacearum*.

### Production scientifique depuis le début du projet

#### Publications ACL/brevets

- Bernoux, M., Timmers, T., Jauneau, A., Briere, C., de Wit, P.J., Marco, Y., and Deslandes, L. (2008). RD19, an Arabidopsis cysteine protease required for RRS1-R-mediated resistance, is relocalized to the nucleus by the *Ralstonia solanacearum* PopP2 effector. *Plant Cell* 20, 2252-2264.

#### Conférences

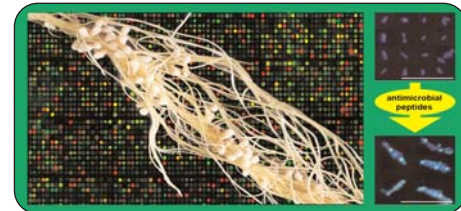
##### Invitées

- Analysis of Compatibility Pathways in Plant-Microbe-Interactions Germany, Giessen. 2007.

Colloques : 4

# Characterization of anti-microbial peptides in nodules of the galegoid legumes

Peter Mergaert



Transcriptome analysis of gene expression in nodules (left) allowed the identification of antimicrobial peptides produced by symbiotic cells that control the differentiation of the endosymbionts (right).

Institut des Sciences du Végétal (ISV) CNRS

Acronyme	Nod-anti-myc
Edition	2005
Durée du projet	36 mois
Financement	180 000 €
Personnels (H-m)	C + EC + IR : 34,2 Autres IT : 5,4 Recrutés : 36

**Discipline** Sciences agronomiques et écologiques

- Mots clés**
- Plant-microbe interactions
  - Legume
  - Rhizobium
  - Antimicrobial peptides
  - Bacterial differentiation

## Résumé

Central in the Rhizobium-legume symbiosis are the symbiotic nodule cells housing the nitrogen fixing rhizobia. These intracellular rhizobia, called bacteroids, are present by hundreds per symbiotic cell. For any eukaryotic cell, being in so close contact with such a high number of bacteria is a particular situation which leads to cellular responses and in the legume *Medicago truncatula*, the symbiotic cells induce the nitrogen fixing bacteroids in a terminally differentiated state: they have fragilized membranes, they are strongly enlarged provoked by genome endoreduplication and they have lost the capacity for division and production of offspring. During this ANR project, we demonstrated that the symbiotic cells in *M. truncatula* nodules produce a large amount and

diversity of peptides resembling anti-microbial peptides. These peptides are targeted to the bacteroids and certain are transported in the cytosol of the bacterial endosymbiont. The peptides have in vitro anti-microbial activity and provoke features of terminal bacteroid differentiation. In the legume *Lotus japonicus* terminal bacteroid differentiation does not exist but in transgenic *L. japonicus* nodules expressing *M. truncatula* peptides, bacteroids have features of terminal differentiation like in *M. truncatula*. We conclude from our observations that the symbiotic nodule cells induce bacteroids in a terminally differentiated state by the production of anti-microbial peptides.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

The nodule antimicrobial peptides were found to be extremely difficult to produce. During this project, we tested various systems including bacterial, yeast, plant cell and animal cell systems. After numerous failures, we obtained satisfying results with the yeast *Kluyveromyces lactis*.

## Résultats majeurs

- We demonstrated that legume nodule cells can exert a strict control on their endosymbionts population by inducing them in a terminally differentiated state and they do so by the massive production of antimicrobial peptides.
- We identified a new class of antimicrobial peptides. These peptides represent an extreme molecular diversity with several hundred peptides produced by one plant species.
- In light of the large number of legume species, we can expect that the diversity of peptides can be one or several orders of magnitude higher. These peptides can be explored in the future in order to identify interesting biological activities for plant or animal/human healthcare.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications AGL/brevets

- Mergaert, P., Uchiumi, T., Alunni, B., Evanno, G., Cheron, A., Catrice, O., Mausset, A.-E., Barloy-Hubler, F., Galibert, F., Kondorosi, A., and Kondorosi, E. (2006). Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in *Rhizobium-legume* symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 5230-5235.
- Alunni, B., Kevei, Z., Redondo-Nieto, M., Kondorosi, A., Mergaert, P., and Kondorosi, E. (2007). Genomic Organization and Evolutionary Insights on GRPs and NCRs, Two Large Nodule-Specific Gene Families in *Medicago truncatula*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20, 1138-1148.
- Maunoury, N., Kondorosi, A., Kondorosi, E., and Mergaert, P. (2008). Cell biology of nodule infection and development. In: "Nitrogen Fixation: Origins, applications, and research progress (Vol. 7). Leguminous Nitrogen-Fixing Symbioses", E.K. James, J.I. Sprent, M.J. Dilworth, W.E. Newton (eds.). Springer, pp. 153-189 [ISBN-10: 1-4020-3545-4].
- Brown, S., Catrice, O., Siljak-Yakovlev, S., Mergaert, P., and Satiat-Jeunemaître, B. (2009) Le cycle et l'endoréplication chez les végétaux. Dans : Cycle cellulaire et cytométrie en flux. X. Ronot, D. Grunwald, J-F. Mayol, (eds.) Tec & Doc - Lavoisier, Paris, in press.

### Conférences

#### Invitées

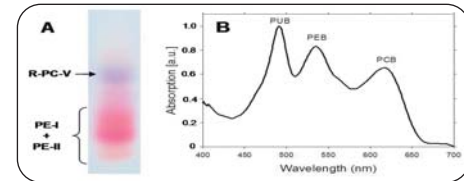
- "XIII International congress On Molecular Plant-Microbe Interactions", Sorrento (Italy), July 21-27 2007.
- Society for General Microbiology, 161st meeting. Edinburgh (U.K.), 3-6 September 2007.
- "EMBO Members Workshop Frontiers of Molecular Biology", Barcelona (Spain), 26-29 october 2007.
- "8th European Nitrogen Fixation Conference", Gent (Belgium), 30 August-3 September, 2008.
- European Science Foundation – European Molecular Biology Organization (ESF-EMBO) symposium on "Bacterial Networks (BACNET/08)", Sant Feliu de Guixols (Spain), 13-18 September, 2008.

Colloques : 12



# Evolution, Biosynthèse et Régulation des Phycobilisomes chez les Cyanobactéries Marines du Genre *Synechococcus*

Frédéric Partensky



Isolement et caractérisation d'une nouvelle phycocyanine (nommée R-PC-V) chez *Synechococcus* sp. WH8102. (A) Séparation des phycobiliprotéines natives par focalisation isoélectrique (PEI et PEII = phycocérythines I et II). (B) Spectre d'absorption de la R-PC V.

Frédéric PARTENSKY, UMR 7144, Station Biologique de Roscoff

Jean-Claude THOMAS, Ecole Normale Supérieure, Département de Biologie, FRE 2910 CNRS

Ghada AJLANI, CEA Saclay, Département de Biologie Joliot-Curie, URA 2096 CNRS-C

<b>Acronyme</b>	PhycoSyn	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Génomique</li> <li>• Cyanobactéries marines</li> <li>• Lumière</li> <li>• Complexes pigments-protéines</li> <li>• Évolution</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	300 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 68,4 Autres IT : 9 Recrutés : 36		

## Résumé

Les cyanobactéries du genre *Synechococcus* sont des procaryotes capables de photosynthèse oxygénique. Elles capturent la lumière solaire (photons) grâce à des phycobilisomes, des assemblages de protéines (allophycocyanine, phycocyanine et/ou phycocérythrine), fixant chacune un ou plusieurs types de chromophores. La grande variabilité structurale de ces complexes protéines-pigments permet aux cellules de *Synechococcus* de s'adapter aux différentes qualités de lumière de l'environnement (eaux côtières vertes, eaux bleues du large, etc.). Le projet PhycoSyn, qui vise à étudier ces complexes, comporte 2 volets : 1) Un volet génomique comparative qui consiste à analyser et comparer le répertoire de gènes impliqué dans la biosynthèse des phycobilisomes entre les

11 génomes de *Synechococcus* marins actuellement disponibles (représentatifs des différents types pigmentaires), le but étant de comprendre l'évolution de la structure et la pigmentation de ces complexes; et 2) un volet génétique microbienne, biochimie et transcriptomique qui vise à étudier la fonction de plusieurs nouveaux gènes de phycobilisomes d'intérêt. Certaines souches ayant la capacité de varier la chromophorylation de leur phycobilisomes pour s'adapter à un changement de qualité de la lumière (bleu/vert), nous avons également entrepris de d'étudier les bases génétiques et biochimiques de ce phénomène d'adaptation chromatique.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

La principale difficulté technique que nous avons rencontrée au cours des deux ans passés a été la mutagenèse, qui s'est avérée beaucoup plus difficile à mettre en œuvre que nous l'espérons, car notre souche modèle de *Synechococcus* marin a développé une résistance naturelle à des doses importantes de kanamycine (un antibiotique classiquement utilisé pour cette technique) et présentait de forts taux de recombinaison non-homologue. A cause de ces problèmes techniques, nous n'avons pas pu obtenir de mutants de gènes de phycobilisomes. Nous avons donc adopté avec succès une approche hétérologue (expression de gènes de *Synechococcus* marins chez *Escherichia coli*) qui nous a permis de surexprimer et caractériser deux nouvelles enzymes.

## Résultats majeurs

En comparant 11 génomes de *Synechococcus* marins nous avons pu annoter tous les gènes de biosynthèse des phycobilisomes (Six et al., 2007). L'analyse phylogénétique des gènes codant pour les "bras" des phycobilisomes suggère qu'ils ont été transférés latéralement entre lignées, ce qui est confirmé par la composition nucléotidique anormale de la région génomique où ces gènes sont rassemblés (Dufresne et al. 2008). Par ailleurs, nous avons montré que le processus d'adaptation chromatique résulte d'un changement spécifique de la chromophorylation de la phycoérythrine II (Everroad et al. 2006). Enfin nous avons caractérisé la première phycobiliprotéine trichromatique et 2 nouvelles enzymes impliquées dans la chromophorylation des phycobiliprotéines (Blot et al., soumis).

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Dufresne A., Ostrowski M., Scanlan D.J., Garczarek L., Mazard S., Palenik B., Paulsen I., Tandeau de Marsac N., Wincker P., Dossat C., Ferriera S., Johnson J., Post A.F., Hess W.R. et Partensky F. (2008) Unraveling the genomic mosaic of a ubiquitous genus of marine cyanobacteria. *Genome Biology* 9, R90, 16 pp.
- Six C., Thomas J.-C., Garczarek L., Ostrowski M., Dufresne A., Blot N., Scanlan D.J. & Partensky F. (2007) Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* - a comparative genomics study. *Genome Biology* 8, R259, 22 pp.
- Everroad C., Six C., Partensky F., Thomas J.-C., Holtzendorff J. et Wood A.M. (2006) Biochemical bases of type IV chromatic adaptation in marine *Synechococcus* spp. *Journal of Bacteriology*. 188:3345-3356
- Thomas J. C., Ughy B., Lagoutte B., Ajlani G. (2006) A second isoform of the ferredoxin : NADP oxidoreductase generated by an in-frame initiation of translation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 103: 18368-18373.

### Conférences

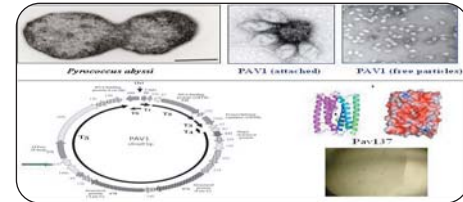
#### Invitées

- Dufresne A., Ostrowski M., Scanlan D.J., Garczarek L., Hess W.R. et Partensky F. (2008) The role of lateral gene transfer in light niche adaptation of marine *Synechococcus*. 7th European Workshop on the Molecular Biology of Cyanobacteria (Cyano2008), 31 août-4 sept. 2008, Ceske Budejovice, République Tchèque
- Partensky F. (2007) Light-harvesting Complexes in Marine Picocyanobacteria : New Insights from Comparative Genomics. Workshop on the Implications and Opportunities of the Marine Genomics Revolution. 28-30 October 2007, St. George's, Bermuda

#### Colloques : 13

# Génomique comparative et structurale des virus et plasmides d'Archaea hyperthermophiles des sources hydrothermales océaniques : implication dans l'évolution des génomes et des fonctions biologiques

Joël Querellou



Séquence montrant *Pyrococcus abyssi* en division, PAV1 le premier virus d'euryarchée, sa carte génomique et la protéine 137 de PAV1

QUERELLOU Joel, Ifremer, UMR 6197 LMEE, - FORTERRER Patrick, Institut de Génétique et Microbiologie UMR 8621 - Orsay - VAN TILBEURGH Herman, Institut de Biochimie et de Biophysique Moléculaire et Cellulaire – UMR 8619 - Orsay

<b>Acronyme</b>	GENOARCHAEA	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Virus;</li> <li>• Plasmides;</li> <li>• Archaea;</li> <li>• Hyperthermophile;</li> <li>• Génomes</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	145 600 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 39,6 Autres IT : Recrutés : 30		

## Résumé

L'adaptation des communautés microbiennes aux conditions extrêmes régnant au niveau des sources hydrothermales océaniques, leur évolution et leur diversification sont probablement rendues possibles grâce aux plasmides et virus hébergés, aussi nombreux que divers, et qui, par leur propriétés de transfert, jouent un rôle majeur dans la plasticité des génomes de leurs hôtes. Ces éléments génétiques présentent une diversité génomique extrêmement importante puisque plus de 90% des protéines encodées n'ont aucun homologue dans les génomes viraux ou cellulaires. Les virus et plasmides des microorganismes hyperthermophiles représentent donc un immense réservoir de nouvelles

structures protéiques et de nouvelles fonctions biologiques. Nous proposons un projet de génomique comparative et structurale qui consistera à décrypter, à analyser puis à confronter une grande quantité de génomes d'éléments génétiques mobiles (EGM) aux principales espèces d'Archaea hyperthermophiles marines de l'ordre des Thermococcales qui les abritent et dont cinq génomes complets sont disponibles. Ceci devrait apporter des informations inédites sur l'origine et l'évolution des EGM et sur leur implication dans l'évolution et la diversification des génomes.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

La principale difficulté rencontrée sur le plan scientifique porte sur l'isolement de particules virales de Thermococcales. Malgré des efforts considérables, des approches différentes au sein de 2 des 3 unités impliquées dans le projet, le bilan final n'est que de 3 particules virales isolées en fin de projet. Sur le plan organisationnel, le principal problème rencontré est celui de l'insuffisance de financement de personnel technique pour la composante structure 3D du projet. L'ensemble du projet est également confronté à l'obligation pour la première phase, en l'absence de plate-forme automatisée de culture et d'isolement de microorganismes, de passer par des approches manuelles à bas débit et à faible productivité.

## Résultats majeurs

1. Diversité plasmidique considérable chez les Thermococcales
2. Diversité virale apparemment faible
3. Apparemment évident entre plasmides et éléments viraux intégrés
4. L'écrasante majorité des gènes de plasmides et de virus de Thermococcales n'a pas d'homologue détectable
5. Confirmation de l'existence d'un réservoir de nouvelles structures de protéines
6. Hypothèse d'accès aux fonctions via la trajectoire séquences > protéines > structures > fonctions difficile du fait de l'existence de nouveaux folds.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Forterre, P. (2006). Three RNA cells for ribosomal lineages and three DNA viruses to replicate their genomes: a hypothesis for the origin of cellular domain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 3669-3374
- Prieur D, Erauso G, Flament D, Geslin C, Gonnet, M., Le Romancer, M. Lucas, S. & Forterre P (2006). Deep-sea Thermococcales and their genetic elements: plasmids and viruses In: *Extremophiles*, Rainey, F.A. and Oren, A. eds. *Methods in Microbiology* 35, 253-278.
- Soler, N., Justome, A., Quevillon-cheruel, S. Lorieux, F., Le Cam, E., Marguet, E., & Forterre, P. (2007). The rolling-circle plasmid pTN1 from the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus nautilus*. *Mol. Microbiol.* 66, 357-370.
- Le Romancer, M., Gaillard, M., Geslin, C. & Prieur, D. (2007) Viruses in extreme environments. *Rev Environ Sci Biotechnol* 6, 1-3 :17-31.
- Geslin, C, Gaillard, M, Flament, D, Rouault, K, Le Romancer, M, Prieur, D. & Erauso G. (2007). Analysis of the first genome of a hyperthermophilic marine virus-like particle, PAV1, isolated from *Pyrococcus abyssi*. *J Bacteriol.* 189, 4510-4519.
- Soler, N., Marguet, E., Verbavatz, J.M. & Forterre, P. (2008). Virus-Like vesicles and extracellular DNA produced by hyperthermophilic archaea of the order Thermococcales. *Res. Microbiol.*, 159, 390-399

### Conférences

#### Invitées

- Extremophiles 2006, P. Forterre. Viruses, plasmids and the origin of modern life. Brest, France.
- Extremophiles and their applications, 2006, Beijing, China. (J. Querellou, H. Van Tilbeurgh)
- Gordon Research conference, Archaea, 2007, P. Forterre. The universal protein set and the nature of LUCA. Discovery of a novel universal protein essential for genome stability. Proctor Academy, MA, USA
- 161st Meeting Society for General Microbiology, 2007, P. Forterre. The origin of viruses and the transition from the RNA to the DNA world. Edinburgh, UK
- Hidden before your eyes : a symposium to celebrate the 30th anniversary of the discovery of the Archaea. 2007, Forterre, P. Building upon the three domains concept : pending questions on the origin and early evolution of modern life. Urbana, Ill, USA

Colloques : 14

# Molecular characterization of a novel carotenoid-derived branching inhibitor using the moss, *Physcomitrella patens*, as a bioassay

Catherine Rameau



Bourgeon axillaire de pois

RAMEAU Catherine, Institut JP Bourgin, Station de Génétique et Amélioration des Plantes, INRA - Versailles  
CAMARA Bilal, Institut de Biologie Moléculaire des Plantes de Strasbourg, CNRS

<b>Acronyme</b>	QUBRIX	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ramification</li><li>• Méristème</li><li>• Hormone</li><li>• Strigolactones</li><li>• <i>Physcomitrella patens</i></li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	220 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 37,8 Autres IT : 32,4 Recrutés : 42		

## Résumé

L'objectif de ce projet était d'identifier une nouvelle hormone végétale réprimant le démarrage des bourgeons axillaires situés à l'aisselle des feuilles. L'existence de cette nouvelle hormone avait été démontrée il y a une dizaine d'années par la caractérisation physiologique de mutants hyper-ramifiés de pois ramosus (rms). Deux des gènes impliqués dans la biosynthèse de ce composé (RMS1, RMS5) appartiennent à une petite famille de gènes codant pour des Carotenoid Cleavage Dioxygenase ce qui suggérait que le signal était un dérivé de caroténoïdes. En 2005, Matusova et al. démontrent que les strigolactones, molécules produites par les racines des plantes et exsudées dans la rhizosphère, sont aussi des dérivés de caroténoïdes. Elles sont connues pour être impliquées

dans l'induction de la germination de graines de plantes parasites (Striga, Orobanche) et dans la mise en place de la symbiose endomycorhizienne qui concerne plus de 80% des plantes. En collaboration avec le groupe de G. Bécard (Université de Toulouse III/CNRS), nous avons montré que les strigolactones ou des molécules très proches correspondent au signal recherché et ont toutes les caractéristiques d'une hormone végétale classique. L'étude du mutant de mousse *Physcomitrella patens* pour un des gènes de la voie de biosynthèse, Pprms1, obtenu par recombinaison homologue permet une meilleure compréhension de l'origine du contrôle de la ramification chez les plantes vasculaires.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

L'approche « classique » pour identifier une nouvelle hormone est de la purifier à partir d'un organisme par fractionnements, de tester l'activité de chaque fraction et de démontrer l'activité du composé purifié dont la structure a été caractérisée. C'était l'approche envisagée au début de ce projet en utilisant un test biologique basé sur le mutant de *Physcomitrella*. Au fur et à mesure des résultats obtenus chez nos collègues de Toulouse et à Versailles, nous avons focalisé notre travail sur les strigolactones : un article sorti en 2005 (Matusova et al.) montrait que ces molécules étaient des dérivés de caroténoïdes comme le signal de ramification recherché d'où le changement de stratégie opéré au cours du projet.

## Résultats majeurs

- Les strigolactones ou des molécules très proches constituent une nouvelle classe d'hormone végétale qui réprime le démarrage des bourgeons axillaires ; les mutants hyper-ramifiés de pois *rms1* et *rms5* sont déficients en strigolactones et répondent à l'application de la strigolactone synthétique GR24 contrairement au mutant de réponse *rms4*.
- Le génome de la mousse *Physcomitrella patens*, organisme non-vasculaire, contient les homologues des gènes *RMS1*, *RMS5* (biosynthèse) et *RMS4* (réponse) de pois et l'étude du mutant de mousse *Pprms1* suggère que ce gène contrôle l'extension de la colonie en réprimant la ramification des filaments en fonction des conditions environnementales.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Gomez-Roldan V, Feras S, Brewer PB, Puech-Pagès V, Dun EA, Pillot JP, Letisse F, Matusova R, Danoun S, Portais J-C, Bouwmeester H, Bécard G, Beveridge CA, Rameau C, Rochange SF (2008) Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455:189-194

brevets : 1

### Conférences

Invitées

Colloques : 1

# Evolutions génétiques et culturelles au sein de la famille humaine

Michel Raymond



Michel RAYMOND, ISEM, UMR 5554 - Evelyne HEYER, Laboratoire d'Eco-anthropologie et ethnobiologie, Musée de l'Homme

<b>Acronyme</b>	BIOEVOLHUM	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et
<b>Edition</b>	2005	écologiques	
<b>Durée du projet</b>	36 mois	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Biologie des organismes;</li><li>• Sociologie</li><li>• Economie</li><li>• Famille humaine</li><li>• Biologie évolutive</li></ul>
<b>Financement</b>	230 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 46,8 Autres IT : 7,2 Recrutés : Doctorants : 36		

## Résumé

Ce projet se propose d'étudier des traits génétiques ou culturels présents dans la famille humaine, et de comprendre les forces sélectives qui les ont fait évoluer. Trois aspects seront abordés. Tout d'abord la compréhension de l'évolution récente de la famille humaine, au travers de l'enjeu de la dispersion retardée et de la coopération (thème 1). La tendance à coopérer va ensuite être abordée sous un angle plus large (coopération entre non-apparentés), mais toujours dans le cadre familial, comme un résultat possible des conflits au sein de la fratrie et du rang de naissance (thème 2). Enfin, les conflits autour de l'investissement paternel, résultants de l'incertitude de paternité, peuvent

sélectionner des gènes d'expression paternelle ou maternelle phénotypiquement détectables, par exemple des odeurs ou des traits du visage. Cette possibilité, qui ouvre des perspectives intéressantes pour comprendre l'évolution des traits familiaux, constitue le thème 3. Pour l'ensemble des traits étudiés, une modélisation de l'évolution des traits familiaux sera réalisée, afin de formaliser et comprendre leur évolution (thème 4).

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

### Résultats majeurs

Thème 1. La coopération au sein de la famille n'est pas indépendante du rang de naissance, ce qui s'explique par la compétition pour l'investissement parental, et des stratégies parentales de compensation.

Thème 2. Les comportements coopératifs en dehors de la famille s'expliquent en partie par le rang de naissance : les aînés coopèrent moins que les autres catégories de la fratrie.

Thème 3. L'influence de la présence ou de l'absence du père pour l'attribution de la ressemblance par la mère suggère que les mères (inconsciemment) manipulent la perception de la paternité. Après la naissance, la perception de la ressemblance par les pères est en accord avec la ressemblance réelle, et le niveau d'investissement du père est plus important lorsque la ressemblance phénotypique père enfant est élevé (en France & au Sénégal), et ce pour plusieurs indices (testé au Sénégal seulement). L'influence de l'investissement pour la condition physique des enfants varie suivant les sociétés étudiées : au Sénégal, la ressemblance physique, via l'augmentation du niveau d'investissement paternel reçu, a probablement une influence positive sur le développement physique de l'enfant.

Thème 4. en cours .

Dans leur ensemble, les résultats de cette recherche amélioreront la compréhension de l'évolution de la vie en famille chez l'Homme

### Production scientifique depuis le début du projet

#### Publications ACL/brevets

- Alvergne, A., Faurie, C. & Raymond, M. (2007) Differential facial resemblance of young children to their parents: who do children look like more? *Evolution and Human Behavior* 28, 135-144.  
Cet article a été l'objet d'un dossier de presse par le CNRS, ce qui a donné lieu à une très forte médiatisation.
- Alvergne, A., Huchard, E., Caillaud, C., Ruppli, C., Martinez, L., Cowlshaw, G. & Raymond, M. Human ability to visually recognize kin within primates. *International Journal of Primatology*, sous presse.
- Alvergne, A., Faurie, C. & Raymond, M. Developmental plasticity of human reproductive development: effects of early family environment in modern-day France. *Physiology & Behavior*, sous presse.

#### Conférences

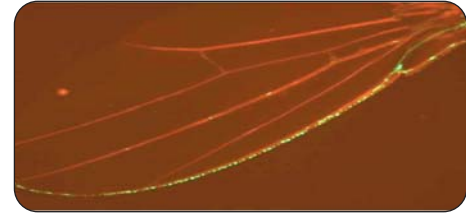
Invitées

Colloques : 12



# Analysis of “mastermind” genes at the origin of exploration behaviour. Analysis of pleiotropy under their control

Alain Robichon



Expression d'un marqueur neuronal fluorescent après recombinaison mitotique dans l'aile de drosophile

Denis TAGU UMR INRA, Agrocampus de Rennes Biologie des Organismes et des Populations appliquée à la Protection des Plantes (BiO3P) - Alain ROBICHON, UMR INRA/CNRS/UNSA (UMR 6243) Sophia Antipolis Université de Nice

**Acronyme** exsidum  
**Edition** 2005  
**Durée du projet** 36 mois  
**Financement** 250 000 €  
**Personnels (H-m)** C + EC + IR : 97  
Autres IT :  
Recrutés : 12

**Discipline** Sciences agronomiques et écologiques

**Mots clés**

- Aphidés,
- Drosophile,
- Gènes « fréquence dépendant »,
- Exploration,
- Signalisation neuronale

## Résumé

Les foraging genes ont été identifiés chez la drosophile. Ils codent pour des isoformes de kinases dépendantes du GMPcyclique et sont des molécules ubiquitaires exprimées dans les neurones du cerveau (mushroom body). Leur expression induite ou leur invalidation par les outils de la génétique permet d'obtenir un « switch » comportemental d'individus sédentaires vers des individus explorateurs. Un gène orthologue a été cloné chez l'abeille. Ce gène lorsque manipulé par la pharmacologie, transforme prématurément les abeilles ouvrières en abeilles exploratrices. Nous postulons que les comportements

d'exploration suscitent l'apparition spécifique de compétences associatives et/ou apprentissage et mémoire associatifs. Le projet consiste à étudier les effets pléiotropes induit par le gène for à l'aide des puissants outils de la génétique chez la drosophile. Un second volet consiste à analyser ces phénomènes de dispersion chez une espèce parthénogénétique afin d'analyser les mécanismes d'épigénie qui pourrait réguler l'expression des transcrits du gène for.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

En ce qui concerne le modèle puceron (*A.Pisum*), le génome vient juste d’être séquencé et est en cours d’annotation. Ce travail est un effort collectif international mettant en jeu de nombreux laboratoires. Le retard dans la réalisation de ce projet a fait que des données systématiques de génome n’ont pu être disponibles pendant la phase de réalisation du projet ANR actuel. L’année 2009 devrait enregistrer des retombées passionnantes de ces ressources.

## Résultats majeurs

Effort collectif pour le séquençage du génome de puceron (*A.Pisum*). Annotation des familles de gènes. Détermination du catalogue des neuropeptides. Nous avons montré que la division clonale chez cette espèce parthénogénétique conduit à un répertoire de variants soumis à la sélection de l’environnement fluctuant. Par ailleurs nous avons mis en évidence une neurogenèse active dans l’aile adulte de la drosophile juste après l’émergence du stade pupal. Cette neurogenèse apparaît comme une fenêtre de plasticité sous le contrôle de facteurs environnementaux tel la densité de population et du gène « fréquence dépendant » for.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Risper C, Kutsukake M, Doublet V, Hudaverdian S, Legeai F, Simon JC, Tagu D, Fukatsu T. *Mol Biol Evol.* 2008 25:5-17.
- Jaubert-Possamai S, Le Trionnaire G, Bonhomme J, Christophides GK, Risper C, Tagu D. *BMC Biotechnol.* 2007 28:7:63 •
- Gauthier JP, Legeai F, Zasadzinski A, Risper C, Tagu D. *Bioinformatics.* 2007 23:783-4.
- Exploratory behaviour in NO-dependent cyclase mutants of *Drosophila* shows defects in coincident neuronal signalling  
Sylvette Tinette, Lixing Zhang, Amélie Garnier, Gilbert Engler, Sophie Tares, Alain Robichon  
*BMC neurosciences* September 2007 8:65
- Approach to systematic analysis of serine/threonine phosphoproteome using beta elimination and subsequent side effects: intramolecular linkage and/or racemisation  
Sylvette Tinette, René Feyerreisen and Alain Robichon  
*Journal of Cellular Biochemistry* 2007, 100:875-882

### Conférences

#### Invitées

Colloques : 12

# Biosynthèse compartimentée des terpénoïdes chez les plantes : régulation et inhibition

Hubert Schaller

SCHALLER Hubert, IBMP UPR2357 CNRS Université Louis Pasteur -  
BACH Thomas, IBMP UPR2357 CNRS Université Louis Pasteur -  
ROHMER Michel, Faculté de Chimie UMR7177 Université Louis Pasteur



Biosynthèse compartimentée des terpénoïdes chez les plantes: régulation et inhibition.

<b>Acronyme</b>	TERPENE	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Terpénoïdes</li> <li>• Biosynthèse</li> <li>• Flux métaboliques</li> <li>• Compartimentation</li> <li>• Protéomes</li> </ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	510 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 68,4 Autres IT : Recrutés : 89		

## Résumé

Les terpénoïdes (ou isoprénoïdes) représentent une catégorie de produits naturels très vaste et très diversifiée. On y trouve les stéroïdes, des composants indispensables à l'architecture membranaire, des stéroïdes au fort pouvoir régulateur de la croissance et du développement végétal, des pigments associés à la machinerie photosynthétique, des molécules intervenant dans la modification post-traductionnelle des protéines (prénylation), ainsi que de nombreux produits qualifiés de métabolites secondaires ou produits naturels. Des molécules comme le taxol ou l'artémisine par exemple sont des substances de premier plan à cause de leurs propriétés pharmacologiques et par conséquent de l'intérêt industriel que cela représente. À la diversité des structures et des fonctions des terpénoïdes est

associée une grande unité des schémas biosynthétiques. En effet, chacun de ces terpénoïdes est synthétisé à partir d'un précurseur à cinq atomes de carbone, l'isopentényl diphosphate. Les plantes fabriquent ce précurseur dans deux compartiments cellulaires : le cytosol et les plastes, selon deux voies de biosynthèse distinctes, la voie du mévalonate et la voie du méthylérythritol phosphate, respectivement. Le but de TERPENE est d'apporter sur le plan fondamental une contribution à l'étude de la compartimentation de la production de terpénoïdes en utilisant la plante *Arabidopsis thaliana* et les cellules de *Nicotiana tabacum* BY2, deux modèles pour la biologie, la biochimie et la chimie moléculaires.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

TERPENE est prolongé jusqu'au 15-07-2009. Cette prolongation est importante pour la finalisation du projet. Les verrous ou points durs scientifiques ou technologiques, que l'on peut voir comme des ralentisseurs dans l'avancement du projet, sont essentiellement des changements de méthodologies (approches expérimentales, choix et accès à l'instrumentation) imposés par les résultats de l'expérimentation. Les verrous ou points durs organisationnels rencontrés dans le cadre de TERPENE sont d'une part le remplacement de chercheurs post-doctorant (CDD) recrutés sur des emplois académiques ou industriels, et d'autre part, les difficultés (dans l'exécution des tâches) liées à des travaux de réfection ou de maintenance lourde de locaux.

## Résultats majeurs

Nous avons caractérisé des lignées d'*Arabidopsis thaliana* dans lesquelles l'inhibition génétique de la biosynthèse de précurseurs de stéroïdes est accompagnée d'un albinisme. L'inventaire du transcriptome et du protéome de ces plantes ainsi que l'analyse de l'origine biosynthétique des métabolites qu'elles accumulent sont réalisés dans le cadre du projet TERPENE. D'autre part, nous avons visualisé au moyen d'un senseur particulier dérivé de la protéine fluorescente verte exprimée dans les cellules de tabac cultivées *in vitro* la prénylation des protéines, puis cherché à déterminer l'origine biosynthétique de la partie prénylée de ces protéines en incorporant des précurseurs marqués par des isotopes stables ( $^{13}\text{C}$  ou  $^2\text{H}$ ) et en analysant la distribution du marquage dans les isoprénoïdes.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Allelic mutant series reveal distinct functions for *Arabidopsis* cycloartenol synthase 1 in cell viability and plastid biogenesis. Elena Babychuk, Pierrette Bouvier?Navé, Vincent Compagnon, Masashi Suzuki, Toshiya Muranaka, Marc Van Montagu, Sergei Kushnir, and Hubert Schaller. PNAS 105, 3163-3168 (2008).
- Synthesis and activity of two trifluorinated analogues of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate. O. Meyer, C. Grosdemange-Billiard, D. Tritsch & M. Rohmer. Tetrahedron Lett. 48, 711-714 (2007).
- Diversity in isoprene unit biosynthesis: the methylerythritol phosphate pathway in bacteria and plastids. M. Rohmer, Pure Appl. Chem. 79, 739-751 (2007).
- A unique function for a member of an ancient and highly conserved cytochrome P450 family: from essential sterols to plant defense. X. Qi, S. Bakht, B. Qin, M. Leggett, A. Hemmings, F. Mellon, J. Eagles, D. Werck-Reichhart, H. Schaller, A. Lesot, R. Melton, A. Osbourn. PNAS 103, 18848-53 (2006).
- methylglutaryl CoA synthases. F. Pojer, J.-L. Ferrer, S.B. Richard, D.A. Nagegowda, M.-L. Chye, T.J. Bach and J.P. Noel PNAS 103, 11491-11496 (2006)
- A cytosolic *Arabidopsis thaliana* D-xylulokinase catalyzes the phosphorylation of 1-deoxy-D-xylulose into a precursor of the plastidial isoprenoid pathway. A. Hemmerlin; D. Tritsch, M.A. Hartmann, K. Pacaud, J.F. Hoeffler, A. Van Dorsselaer, M. Rohmer & T.J. Bach. Plant Physiol. 142, 441-457 (2006).

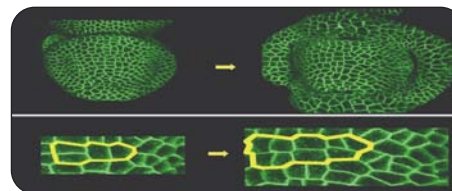
### Conférences

Invitées

Colloques : 30

# Le carpelle virtuel : construction d'un modèle prédictif du développement de l'organe reproducteur femelle de la fleur

Jan Traas



Jeunes fleurs in vivo

Laboratoire de Reproduction et Développement des Plantes, - INRA/CNRS/ENS-Lyon/UCB Lyon 1 - MORVAN, Michel, LIP, CNRS/ENS-Lyon -  
GODIN Christophe, Virtual Plants, INRIA, Montpellier

**Acronyme**      Carpelle virtuel  
**Edition**        2005  
**Durée du projet** 36 mois  
**Financement**    510 000 €  
**Personnels (H-m)** C + EC + IR : 66  
                          Autres IT : 12  
                          Recrutés : 72

**Discipline**    Sciences agronomiques et écologiques

**Mots clés**

- Développement floral
- Carpelle
- Imagerie
- Réseaux de régulation génétique
- Modélisation

## Résumé

Le carpelle est le précurseur du fruit chez les plantes à fleurs et est de ce fait, d'une importance socio-économique majeure. Les phases précoces du développement du carpelle ont un rôle crucial sur la morphologie finale. L'objectif du projet proposé était donc de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires qui gouvernent le développement précoce du carpelle. Dans ce but, nous avons utilisé des approches expérimentales, d'imagerie et de modélisation. Nous avons tout d'abord collecté des données morphométriques de la croissance du carpelle en utilisant de l'imagerie en temps réel et reconstruit en 4D les stades précoces du développement du carpelle. En parallèle, nous avons collecté des

données concernant les profils d'expression d'une vingtaine de gènes qui jouent un rôle central dans la mise en place de l'organe. Ces informations ont été combinées avec des données présentes dans la littérature afin de construire le réseau d'interaction de gènes à la base du développement du carpelle. En parallèle, des outils permettant la modélisation de tissus ont été développés. Ces outils ont permis, de produire un premier modèle du très jeune primordium floral, sous forme de tissus virtuels.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

- Au départ nous avons envisagé d'utiliser les données de transcriptomique pour développer des modèles de régulation génétiques. Ces données étant trop bruitées pour les modélisateurs, cet aspect a été abandonné.
- Une autre difficulté était liée à la rigidité intrinsèque du langage C++ qui favorise la sécurité, la cohérence et la vitesse d'exécution mais au détriment de la vitesse de développement.
- Il n'a pas été possible, comme on l'avait envisagé au départ, de visualiser le carpelle vivant jusqu'aux stades tardifs. Pour cette raison, nous nous sommes limités aux stades précoces.

## Résultats majeurs

- Nous avons adapté les techniques d'observation, puis digitalisé et extrait des données quantitatives sur le nombre et la taille des cellules.
- Les déterminants de la morphogenèse ont été formalisés en utilisant une approche tensorielle de la mécanique. Ceci a conduit à une première version du modèle des tissus végétaux.
- Les connaissances connues sur 30 gènes ont été rassemblées dans une base de données et nous avons établi un modèle Booléen du réseau de régulation.
- Nous avons généré et analysé des lignées qui présentent une expression anormale de gènes impliqués dans le développement carpellaire.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Jacques Demongeot, Adrien Elena & Sylvain Sené 2008. Robustness in Regulatory Networks: a Multi-Disciplinary Approach *Acta Biotheoretica*, 56(1-2): 27-49, 2008
- Nathanaël Prunet, Patrice Morel, Anne-Marie Thierry, Yuval Eshed, John L. Bowman, Ioan Negrutiu and Christophe Trehin, (2008). REBELOTE, SQUINT, and ULTRAPETALA1 Function Redundantly in the Temporal Regulation of Floral Meristem Termination in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 20:901-919
- Szymon Stoma, Mikael Lucas, Jérôme Chopard, Marianne Schaedel, Jan Traas and Christophe Godin (2008) Flux-Based Transport Enhancement as a Plausible Unifying Mechanism for Auxin Transport in Meristem Development *PLoS Comput. Biol.* 4(10): e1000207

### Conférences

#### Invitées

- CSHL conference, Plant genomics, Cold Spring Harbor, US, mars 2009
- FESP congrès Tampere, Finland, août 2008
- HFSP meeting 2008, Berlin, Allemagne, juillet 2008
- International Conference on Plant Growth Substances, Puerto Vallarta, Mexico, juillet 2007
- Garnett meeting, Norwich, UK, septembre 2007.

#### Colloques :

# Biogenèse de l'appareil photosynthétique: une approche génomique chez *Chlamydomonas reinhardtii*

Olivier Vallon



Chlamydomonas, la « levure verte »

Institut de Biologie Physico - Chimique, CNRS

<b>Acronyme</b>	Génome Chlamy	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Biologie cellulaire</li><li>• Microbiologie</li><li>• Photosynthèse</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	300 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : Autres IT : Recrutés : 50		

## Résumé

Pour mieux comprendre la biogenèse de l'appareil photosynthétique, nous utilisons l'algue verte modèle *Chlamydomonas reinhardtii*, mettant à profit les nouveaux outils de génomiques disponibles dans cet organisme modèle.

VOLET 1. Nous avons généré une banque de 36 mutants de photosynthèse qui est systématiquement complétée avec une banque de cosmides organisée en pools. Le but est d'identifier le gène muté, qui peut être soit une sous-unité d'une enzyme de la photosynthèse, soit un facteur de régulation ou d'assemblage.

Volet 2. Nous voulons mettre en place une méthode de ciblage de gènes nucléaires, utilisant la recombinaison homologue. Nous avons commencé par

réparer une mutation discrète dans PETC, codant pour la protéine de Rieske du complexe cytochrome b6f, indispensable à la photosynthèse. Nous cherchons maintenant à l'inactiver, avec diverses constructions où des marqueurs de sélection (résistance à un antibiotique) sont placés dans un intron de PETC, soit en phase (fusion traductionnelle) soit sous contrôle de leur propre promoteur. Ces marqueurs sont encadrés de sites LoxP, et leur excision a été obtenue par expression transitoire de Cre recombinase.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Multiplexage du crible des mutants : on a pu monter jusqu'à 4 mais pas plus.

La banque de cosmides utilisée s'est avérée incomplète et partiellement redondante.

Recombinaison homologue : les rendements chutent quand on augmente la non-homologie entre chromosome et ADN transformant. La recombinaison illégitime domine, mais nous pouvons rechercher les événements de RH grâce à une caméra de fluorescence.

## Résultats majeurs

Volet 1. Après criblage de 13 des mutants, nous avons pu identifier le gène lésé dans 8 cas. Il s'agit dans certains cas de gènes déjà connus (TCA1, MCA1, PCY1), mais trois nouveaux gènes ont été identifiés, ouvrant de nouvelles perspectives dans la compréhension de la biogenèse de l'appareil photosynthétique. L'un d'entre eux participe à l'assemblage de l'hème ci au sein du cytochrome b6f. Un autre (une protéine PPR conservée dans toute la lignée verte) est nécessaire à la stabilisation de l'ARNm du gène chloroplastique rbcL. Le troisième intervient d'une façon non encore élucidée dans la biogenèse du cytochrome b6f et est le fondateur d'une nouvelle famille de protéines répétitives spécifique des algues vertes, les CLR (Coxiella-like Repeat).

Volet 2. Nous avons obtenu, en utilisant des plasmides et des BACs modifiés, plusieurs événements de recombinaison homologue qui sont en cours de caractérisation. Nous explorons diverses voies pour augmenter le rendement de la méthode

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Johnson, X., R. Kuras, F.A. Wollman, and O. Vallon. 2007. Gene hunting by complementation of pooled Chlamydomonas mutants. In 14th International Congress of Photosynthesis (ed. J. Allen), pp. in press. Springer, Glasgow, UK-
- S. Merchant, S. Prochnik, O. Vallon, E.H. Harris, S.J. Karpowicz, G.B. Witman, A. Terry, A. Salamov, L.K. Fritz-Laylin, L. Maréchal-Drouard, W.F. Marshall, L.-H. Qu, D.R. Nelson, A.A. Sanderfoot, M.H. Spalding, V.V. Kapitonov, Q. Ren, P. Ferris, E. Lindquist, H. Shapiro, S.M. Lucas, J. Grimwood, J. Schmutz, Chlamydomonas Annotation Team, JGI Annotation Team, I.V. Grigoriev, D.S. Rokhsar, A.R. Grossman  
The Chlamydomonas genome reveals the evolution of key animal and plant functions, Science 2007, Science, 318, 245-50

### Conférences

#### Invitées

- Chlamydomonas Genomics Meeting , Stanford, CA, USA, March 18-19, 2006 : Genome annotation
- 12th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas, Portland, OR, USA May 9-May 14, 2006 : The Chlamydomonas reinhardtii nuclear genome (session chair)  
Molecular basis of homologous recombination in pro- and eukaryotes, Berlin, Allemagne, 03-04.11.2006

Colloques : 7



# Marine Invertebrate Recruitment Assessed by Genomics and Ecology - a case study with the invasive species *Crepidula fornicata*

Frédérique Viard

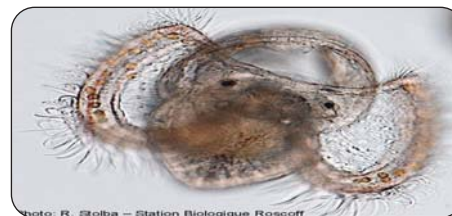


Photo: F. Stoltz - Station Biologique Roscoff  
Larve véligère du gastéropode *Crepidula fornicata*

UMR 7144 UPMC CNRS « Adaptation & Diversité en Milieu Marin »; Station Biologique Roscoff

<b>Acronyme</b>	MIRAGE	<b>Discipline</b>	Sciences agronomiques et écologiques
<b>Edition</b>	2005	<b>Mots clés</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ecosystèmes marins côtiers</li><li>• Cycle benthopélagique</li><li>• Développement larvaire</li><li>• Puce d'expression</li><li>• Invasions biologiques</li></ul>
<b>Durée du projet</b>	36 mois		
<b>Financement</b>	130 000 €		
<b>Personnels (H-m)</b>	C + EC + IR : 22,5 Autres IT : 13,2 Recrutés : 24		

## Résumé

La phase larvaire des invertébrés à cycle de vie benthopélagique joue un rôle fondamental dans le fonctionnement des écosystèmes marins. L'objectif de MIRAGE était de développer des outils génomiques pour étudier le développement larvaire, et en particulier l'étape d'acquisition de la compétence à la métamorphose, étape clé du cycle car permettant le retour à la vie benthique, chez le gastéropode *Crepidula fornicata*. Le choix de ce modèle biologique a été guidé par les connaissances acquises sur ce modèle en termes d'écologie et de développement larvaire (notamment l'existence de tests phénotypiques de l'acquisition de la compétence), son caractère invasif en Europe (la larve jouant un rôle clé dans son expansion) et son appartenance à un genre diversifié en

termes de cycle de vie. L'objectif principal de MIRAGE était d'identifier des gènes dont l'expression est régulée au cours du développement larvaire de *C. fornicata*. Cet objectif a été poursuivi par l'étude de gènes candidats et par la réalisation d'une banque d'ADNc pour construire une puce d'expression. En parallèle, les effets de différents paramètres (température, inducteurs chimiques) ont été analysés afin d'affiner notre compréhension des mécanismes associés à l'acquisition de la compétence et à la métamorphose larvaire. A plus long terme, ce projet a pour ambition d'établir une passerelle entre des approches écologiques et des outils de génomique-transcriptomique.

le programme  
blanc

## Verrous scientifiques et technologiques, ou points durs

Les principaux verrous sont d'ordre méthodologique car le modèle est un organisme « non modèle » choisi sur des critères écologiques. Les points durs à dépasser étaient (i) la maîtrise des élevages permettant d'assurer des larves en quantité suffisante pour élaborer la puce d'expression, (ii) le très faible pourcentage des ESTs reconnues dans les bases de données (les gastéropodes y sont peu représentés et il n'existe qu'un seul génome complet -*Lottia* - paru il y a seulement quelques mois), (iii) des difficultés techniques (ex. panne du spotter). Une difficulté organisationnelle a été rencontrée avec le départ du post-doctorant au cœur du projet (pour une prise d'un poste statutaire dans un autre organisme) à un moment critique (dernière année et premières hybridations sur la puce).

## Résultats majeurs

L'optimisation des conditions d'élevages larvaires chez *Crepidula fornicata* a permis (i) de mener à bien des études fines des effets de la température sur le développement larvaire : les températures rencontrées in situ peuvent faire varier du simple au triple la durée de la phase larvaire pélagique, (ii) de démontrer l'efficacité d'un nouvel inducteur naturel de la métamorphose, le dibromométhane, (iii) de développer une approche « gène candidat » sur le gène *nos* (gène codant pour la nitric oxide synthase) et (iv) d'élaborer une puce d'expression de 2669 unigènes. Les hybridations sur la puce révèlent 140 gènes différemment exprimés au cours du développement larvaire de *C. fornicata*, la plupart non identifiés. Un sous-échantillon de ces gènes est étudié par PCR quantitative.

## Production scientifique depuis le début du projet

### Publications ACL/brevets

- Daguin-Thiébaud, C., Le Cam, S., Viard, F. (in press) Isolation of eleven microsatellite markers in the gastropod *Crepidula convexa* (Gastropod, Calyptraeidae) for parentage analyses. *Molecular Ecology Resources*.

### Conférences

Invitées

Colloques : 4