

PROPOSITION de STAGE de Master 2 Année 2020-2021

TITRE : développement d'un pipeline bioinformatique sous nextflow pour l'exploration du sécrétome anti-microbien des plantes

Stage M1-M2 à pourvoir

Nom, Prénom du Maître de Stage : BOUBAKRI, Hasna

Qualité : MCF

Téléphone : 04.72.44.82.00

E-mail : hasna.boubakri@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant : NAVRATIL, Vincent

Qualité : IR

Téléphone : 04.72.43.29.86

E-mail : vincent.navratil@univ-lyon1.fr

Laboratoire d'accueil : UMR5557 Ecologie microbienne, Equipe « Symbiose actinorhizienne » et PRABI-AMSB (Analyse et Modélisation des Systèmes Biologiques), UCBL

Adresse : Bat Mendel, 16 rue Dubois, Université Lyon1, 69622 Villeurbanne Cedex

Sujet : Nous nous intéressons à l'interaction entre les plantes actinorhiziennes (l'aulne, le filao) et son symbiote bactérien, l'actinobactérie fixatrice d'azote *Frankia*. Contrairement à la symbiose entre les *Rhizobium* et la seule famille des légumineuses, cette symbiose est moins bien étudiée alors qu'elle inclut 8 familles de plantes appelées plantes actinorhiziennes. L'association entre ces deux partenaires conduit à la formation d'un organe/nodule - au niveau des racines - dédié aux échanges trophiques. Au sein de ce nodule, la bactérie y fixe l'azote atmosphérique et fournit des composés azotés à la plante hôte en échange de composés organiques dérivés de son activité photosynthétique. Pour sélectionner puis maintenir son symbiote bactérien dans le nodule, un dialogue se met en place entre les deux partenaires depuis la reconnaissance à l'entrée et au maintien de la bactérie dans le nodule.

Or, il s'avère que des peptides sécrétés par la plante, qualifiés de **peptides antimicrobiens** ou AMPs jouent un rôle important dans cette symbiose. Ainsi des études transcriptomiques et fonctionnelles menées dans l'équipe ont montré une surexpression d'une classe de ces AMPs à savoir les **défensines** de l'aulne et leur rôle dans le confinement de *Frankia* dans la nodosité et dans les échanges trophiques [1, 2]. Tout récemment, c'est une autre classe d'AMPs qui attire notre attention à savoir les « **Lipid Transfer protein** ». Ces derniers semblent jouer un rôle crucial de l'étape de reconnaissance du symbiote jusqu'à la mise en place de la nodosité (travaux en cours). Ainsi, c'est une multitude d'AMPs qui peuvent être produits puisque des centaines de gènes codant ces peptides ont été retrouvés dans le génome d'une légumineuse (*Medicago truncatula*) associée à une autre bactérie fixatrice d'azote à savoir *rhizobium* [3].

Si on élargit à tout le règne végétal, au moins 11 classes d'AMPs ont été décrites dans la littérature [4]. Ces peptides, bien que très divers, présentent des caractéristiques structurales atypiques telles que leur petite taille, leur pl, leur capacité à être sécrétés ou encore leur richesse en certains acides aminés ou la présence de motifs conservés [4].

En termes de valorisation, ces AMPs connaissent un engouement important ces dernières années puisqu'ils fournissent de **nouvelles stratégies de lutte contre les bactéries multi-résistantes**, fléau majeur en santé publique qui va s'accroître drastiquement ces prochaines années selon l'OMS.

Un des objectifs de la collaboration entre le PRABI-AMSB et le LEM est d'exploiter les données génomiques et transcriptomiques de l'aulne acquises pour répondre à deux questions importantes [5,6]. **Quel est le sécrétome peptidique de l'aulne ? Comment est-il modulé lors de la symbiose ?** Le premier objectif de ce stage est de contribuer à répondre à la première question à travers le développement **d'un pipeline bioinformatique qui automatise l'annotation fine des différentes classes du sécrétome peptidique produits par l'aulne (*Alnus glutinosa*)**. Le deuxième objectif du stage est de **valider ce pipeline sur une classe de peptides bien caractérisé** (lipid transfer protein ou defensine) en mettant ces résultats dans une perspective de modulation de la symbiose bactérienne. A terme, l'objectif est de diffuser le pipeline développé à la communauté scientifique à travers un dépôt github dans l'optique **de caractériser rapidement et de manière reproductible les peptides sécrétés chez les plantes**.

Le programme du stage sera le suivant :

- 1- revue bibliographique sur le secretome des plantes, les outils bioinformatiques existants ;
- 2- développement d'un pipeline bioinformatique sous nextflow pour l'annotation du secretome à partir des données RNA-seq (Illumina) et des données génomiques disponibles pour l'aulne ;
- 4- validation du pipeline sur une classe de peptides déjà bien caractérisée (lipid transfer protein ou defensine). Contextualisation des résultats en utilisant les données de réponse transcriptomique de l'aulne au symbionte bactérien *Frankia* ;
- 5- généralisation du pipeline à l'ensemble des classes de peptides antimicrobiens connus.

Références :

1. Carro, L., et al., Alnus peptides modify membrane porosity and induce the release of nitrogen-rich metabolites from nitrogen-fixing Frankia. ISME J, 2015. 9(8): p. 1723-33.
2. Carro, L., et al., Physiological effects of major up-regulated Alnus glutinosa peptides on Frankia sp. ACN14a. Microbiology, 2016. 162(7): p. 1173-84.
3. Van de Velde, W., et al., Plant peptides govern terminal differentiation of bacteria in symbiosis. Science, 2010. 327(5969): p. 1122-6.
4. Padovan, L., M. Scocchi, and A. Tossi, Structural aspects of plant antimicrobial peptides. Curr Protein Pept Sci, 2010. 11(3): p. 210-9.
5. Griesmann, M., et al., Phylogenomics reveals multiple losses of nitrogen-fixing root nodule symbiosis. Science, 2018. 361(6398): p. eaat1743.
6. Hocher, V., et al., Transcriptomics of actinorhizal symbioses reveals homologs of the whole common symbiotic signaling cascade. Plant Physiol, 2011. 156(2): p. 700-11.