

PROPOSITION SUJET de MASTER 2 2023-2024

TITRE : Mécanisme d'action de la protéine associée au nucléoïde LRP, « baromètre physiologique » majeur, chez *Dickeya dadantii*

L'acclimatation des bactéries à des environnements fluctuants passe par une reprogrammation génétique s'exerçant majoritairement au niveau du contrôle de l'initiation de la transcription. Au premier rang des régulateurs transcriptionnels globaux, on trouve les protéines associées au nucléoïde (NAPs), qui influencent à la fois la structure de la chromatine et l'initiation de la transcription (1). **L'objectif de ce projet est d'élucider le mécanisme d'action de la NAP majeure « Leucine responsive Regulator (LRP) » dans la régulation de l'expression génique chez la bactérie phytopathogène *Dickeya dadantii*.**

Chez les bactéries *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*, LRP est impliquée dans le contrôle de l'expression d'au moins 10% du génome bactérien et, en fonction du gène cible, l'activité de LRP peut être modulée ou non par la leucine (2, 3). Une bonne proportion des gènes cibles de cette NAP est associée au métabolisme des acides aminés. Ainsi LRP a été nommée « baromètre » du niveau physiologique de la bactérie (3). LRP est également impliquée dans le contrôle de la virulence chez un grand nombre de pathogènes d'animaux dont *S. enterica*, les *E. coli* enteropathogéniques et *Vibrio cholerae* (1,2). En revanche très peu d'informations sont disponibles sur le rôle de LRP dans la régulation des fonctions d'acclimatation, notamment la carence nutritionnelle, chez les bactéries pathogènes de plante bien que ces dernières soient confrontées de manière très prononcée à ce stress.

Les *Dickeya* pectinolytiques sont responsables de la pourriture molle d'un grand nombre de végétaux (4). Ce symptôme est principalement associé à la production d'une batterie d'enzymes dégradatives des parois végétales. Cependant, une colonisation efficace de la plante requiert d'autres facteurs bactériens parmi lesquels : des facteurs précoces (flagelles, adhésines, ...) permettant l'adhésion de la bactérie à la plante et des systèmes impliqués dans l'adaptation aux conditions hostiles rencontrées dans l'hôte (4). Le succès de l'infection par *D. dadantii* requiert une coordination temporelle de l'expression génique (4). Durant les phases précoces de l'infection, les *Dickeya* doivent avant tout s'acclimater aux conditions des espaces intercellulaires de la plante, un milieu pauvre en nutriment présentant un pH acide. Notre hypothèse est que LRP serait impliquée dans l'acclimatation des *Dickeya* à ces conditions hostiles. Notre objectif est de décrypter les mécanismes utilisés par *Dickeya* impliquant LRP pour se développer durant les phases précoces et induire la phase symptomatique de l'infection.

Des résultats préliminaires ont révélé qu'un mutant dépourvu de la protéine LRP présente une virulence atténuée par rapport à la souche parentale. Sa capacité de production de facteurs de virulence précoces est réduite. Des données de transcriptomiques, obtenus sur des bactéries cultivées dans différentes conditions *in vitro* (composition en nutriments variable, présence ou non de leucine, phase exponentielle et stationnaire de croissance) sont en cours d'analyse. La quantification de l'expression de certains gènes codant des fonctions d'agression indique que LRP exerce un contrôle au niveau de la transcription. **Il conviendra durant ce projet d'étudier la régulation des promoteurs de gènes candidats représentatifs des différentes classes fonctionnelles identifiées dans les analyses de transcriptomiques en utilisant des expériences d'interaction ADN/LRP, essentiellement le retard de migration sur gel. Ces expériences pourront être complétées par des quantifications d'expression dynamique dans des conditions variées via des fusions transcriptionnelles.** Des approches de microbiologie, de génétique moléculaire, de biochimie et d'analyse de données biologiques seront utilisées.

Références Bibliographiques

- 1-Dillon SC & Dorman CJ (2010) Bacterial nucleoid-associated proteins, nucleoid structure and gene expression. *Nat Rev Microbiol* 8: 185-195.
- 2-Kroner, G.M., Wolfe, M.B. and Freddolino, P.L. (2019) *Escherichia coli* Lrp Regulates One-Third of the Genome via Direct, Cooperative, and Indirect Routes. *J. Bacteriol.*, 201, e00411-18
- 3- Ziegler, C.A. and Freddolino, P.L. (2021) The leucine-responsive regulatory proteins/feast-famine regulatory proteins: an ancient and complex class of transcriptional regulators in bacteria and archaea. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 56, 373-400.
- 4-Reverchon S & Nasser W (2013) *Dickeya* ecology, environment sensing and regulation of virulence programme. *Environ Microbiol Rep* 5: 622-636.

Nom, Prénom du Maitre de Stage : Cécile RIBOT

Qualité : MCF Université Lyon 1

Téléphone : 0783775938

E-mail : cecile.ribot@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel : William NASSER

Qualité : Directeur de Recherche CNRS, Directeur de l'UMR5240-MAP

Téléphone : 33 (0) 4 72 43 85 68

E-mail : william.nasser@insa-lyon.fr

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe : MAP UMR5240 CNRS-UCBL-INSA-BayerCropScience
Équipe CRP, responsable Zahar Haichar

Adresse : Campus LyonTech-La Doua , INSA Lyon, Bat. Pasteur, 11 avenue Jean Capelle 69621 Villeurbanne
cedex
