

Interactions hôtes-transposons et biodiversité végétale

Laboratoire de Biologie Cellulaire
Institut Jean-Pierre Bourgin
INRA - Centre de Versailles



Sommaire

Éléments transposables, impact sur les génomes hôtes

Activation par le stress du rétrotransposon Tnt1 du tabac

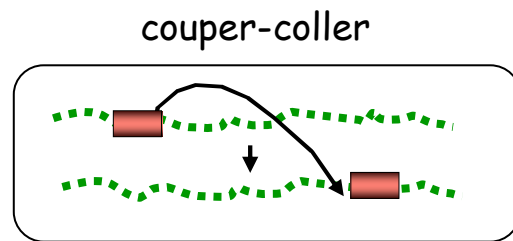
Rétrotransposons comme outils d'analyse de la diversité génétique des Solanacées

Impact de l'allopolyploidie

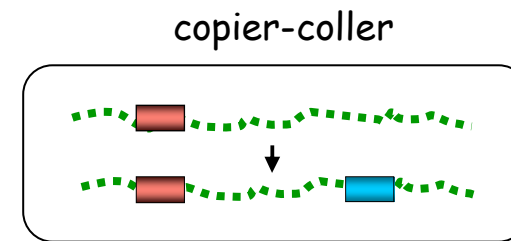
Projets en cours

Eléments Transposables (ETs)

- séquences d'ADN mobiles
- s'insèrent à différents endroits dans le génome
- mutagènes
- activité régulée

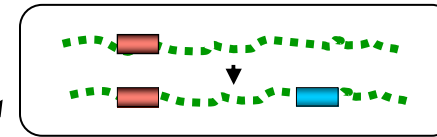
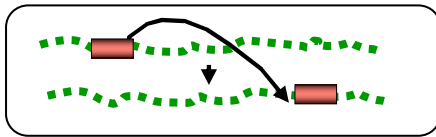


Mutations
instables

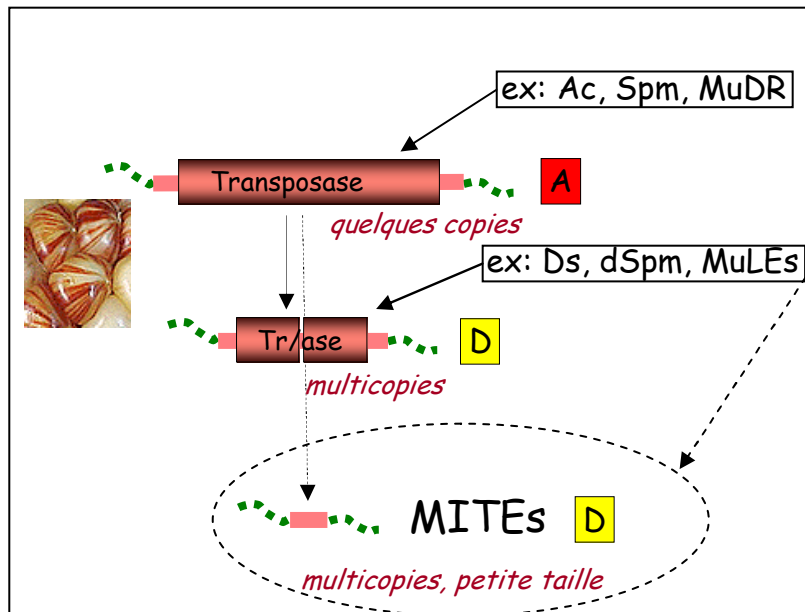


Mutations
stables

Principaux Eléments Transposables des plantes

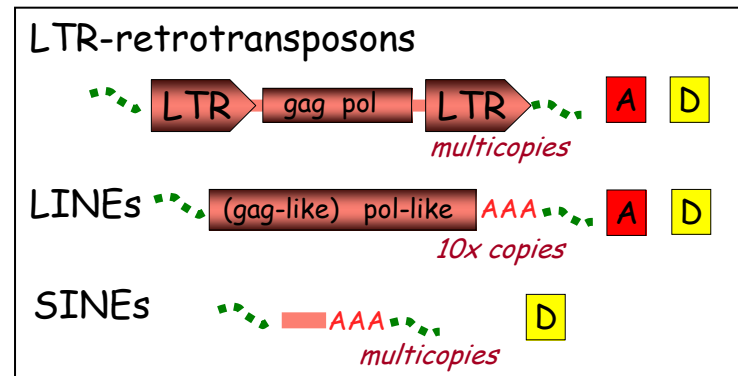


hAT, CACTA, Mariner, PIF...

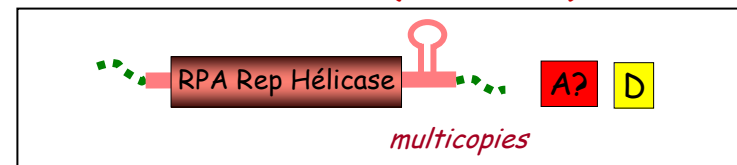


?

Rétroéléments (via ARN)



Hélitrons (via ADN)



Copies autonomes **A** capables de transactiver nombreuses copies défectives **D**



Impact sur les génomes hôtes

Modifications structurales

- mutations, remaniements
- variations tailles génomiques
- diversité inter-lignées

Modifications fonctionnelles

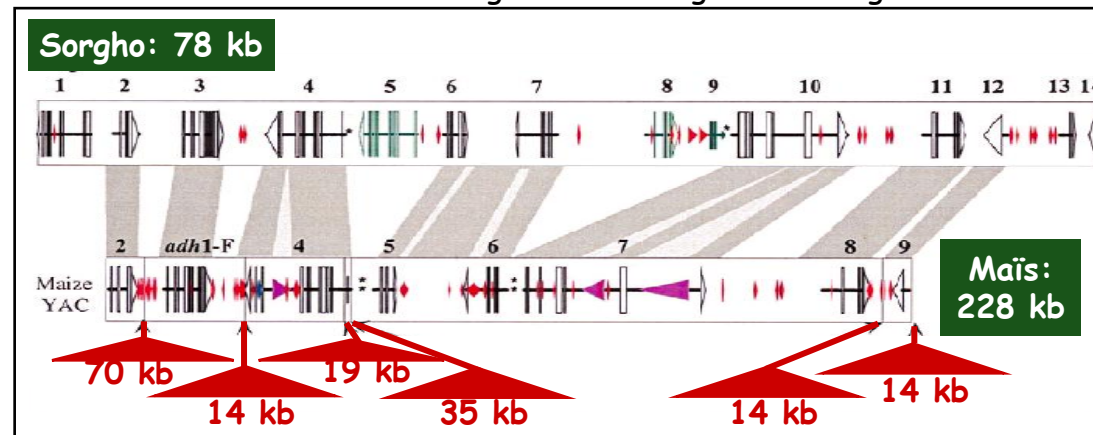
- activation/inactivation gènes adjacents
- nouvelles régulations

liaison

Implication dans la variabilité de taille génomique

maïs (2500 Mb) vs sorgho (750 Mb)

colinéarité de 9 gènes dans région orthologue



Tikhonov et al, PNAS 1999

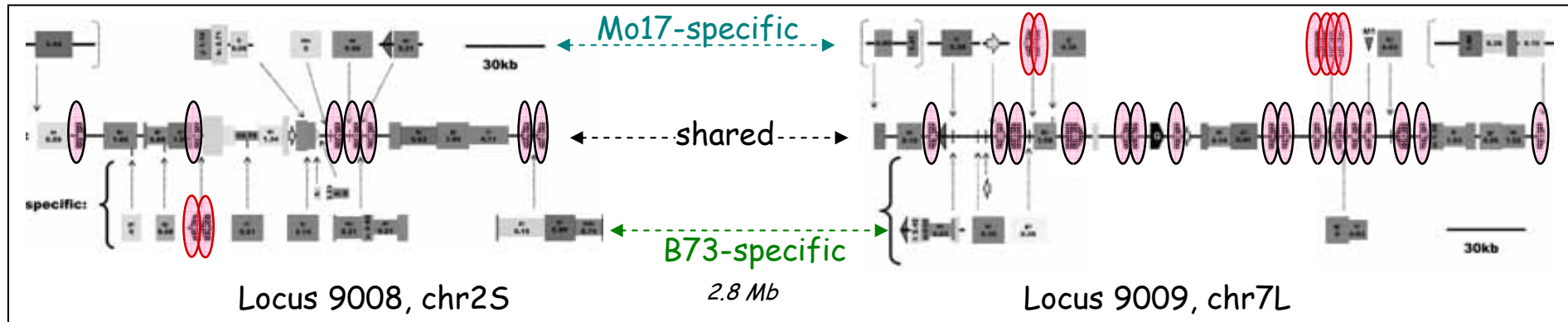
différence de taille (74%)
=
blocs de « nested » rétrotransposons

Implication dans la diversité inter-lignée

Fu and Dooner, PNAS 2002
Lai et al, PNAS 2005
Brunner et al, Plant Cell 2005
Morgante et al, Nat genetics 2005

→ Comparaisons lignées inbred de maïs

○ Gènes



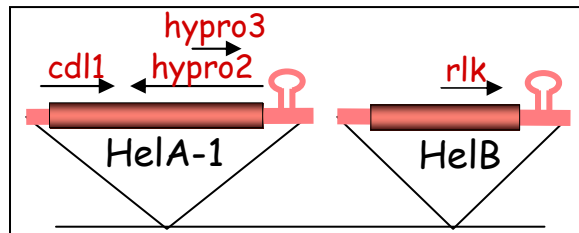
Brunner et al, Plant Cell 2005

Polymorphismes de rétrotransposons
 Polymorphismes de séquences géniques????

50% non-colinéaire

37% gènes non-partagés (localement)

→ Violent la colinéarité avec le riz, fragmentaires
 → insertions plutôt que pertes



McC/B73 et Mo17/B73

Gènes additionnels contenus dans Hélitrons

→ « Transduplication »



Impact fonctionnel ?

encore peu clair, hypothèses contradictoires

Pack-MULEs

- **Evolution nouveaux gènes ?** (*Jiang et al, Nature 2004*)
 - Fusions peuvent être transcrites
 - **Régulation gènes cellulaires?** (*Juretic et al, Genome Res 2005*)
 - souvent frameshifts, codons stop, troncatures
 - 32% antisens
 - taux de substitutions syn/nonsyn -> proches de celui de pseudogènes
- > peu de chances de potentialités codantes
- > potentialités régulatrices pour gènes paralogues (antisens, silencing)?

Une des sources de variabilité allélique pour l'expression génique ?

Impact sur les génomes hôtes

Modifications structurales

Modifications fonctionnelles

- activation/inactivation gènes adjacents
- nouvelles régulations

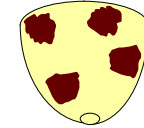
nombreux exemples



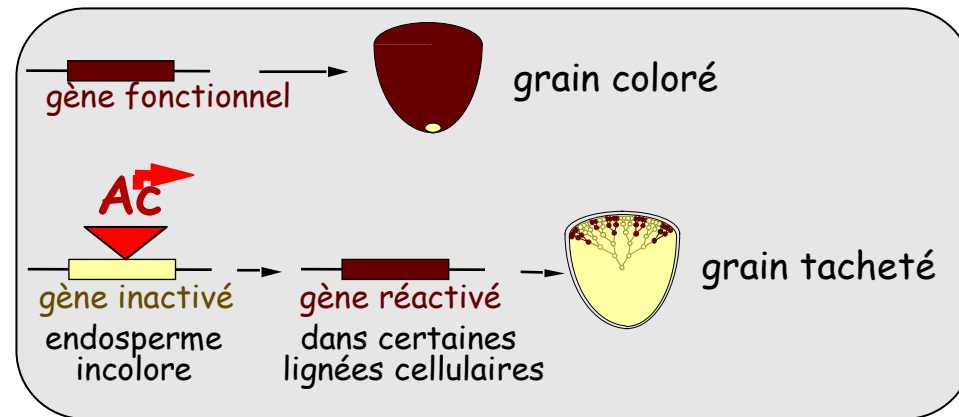
Simple conséquence secondaire
de la nature mutagène des ETs?

Un peu d'histoire....

Cold Spring Harbor, années40's: Barbara McClintock étudie des grains de maïs tachetés



activité des éléments **Ac** et **Ds**
sur gènes de coloration du grain



Trois concepts majeurs:

- 1 secteurs de variégation sont de taille régulière → activité **régulée**
- 2 variégations peuvent être transférées à un autre gène du voisinage → **transposition**
- 3 impact sur l'activité du gène → **CONTROLLING ELEMENTS**

Suite de l'histoire

Régulation + Transposition + Éléments de Contrôle



Présentation in 1951 -> rejet

20 ans

transposition X lois de Mendel
1952: DNA = support hérédité
1953: la double hélice

*L'information génétique est stable
et indépendante de l'environnement*



1969: (Shapiro) Séquences d'Insertion (IS) bactériennes qui se déplacent!

1972: Starlinger et Saedler font le parallèle entre les IS et les Éléments de Contrôle du maïs

1976: Terminologie officialisée « Transposable Elements »



1983: Prix Nobel pour B. McClintock + isolement moléculaire de Ac

CONTROLLING ELEMENTS:

*« Is it a reflection of a process that normally occurs in nuclei?...Is it usually an orderly mechanism, which is related to the control of the process of differentiation? If so, induced disturbances...could give rise to a series of alterations reflected in genic reactions that could markedly alter phenotypic expressions »
(McClintock, 1950)*

En se déplaçant, les Éléments de Contrôle amenaient de nouvelles instructions à la cellule et ses grains tachetés représentaient simplement des processus régulateurs normaux qui s'étaient mis en place au mauvais moment...



Plus intéressant....

ETs sont des entités « vivantes » soumises à régulation stricte de leur expression
Patterns de régulation des ETs vont moduler l'expression cellulaire à large échelle,

Nouveaux promoteurs ou promoteurs alternatifs
+
Régulation épigénétique gènes adjacents

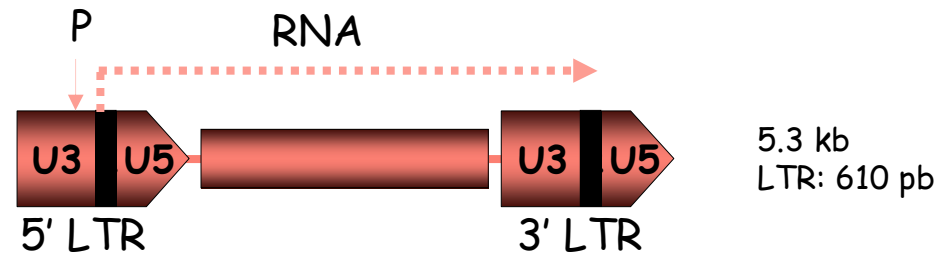
Premier exemple: allopolyploidie chez le blé





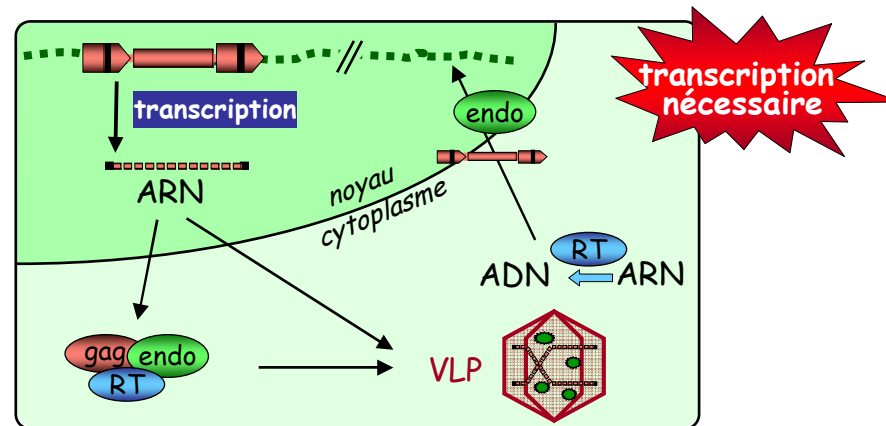
Activation par le stress
du rétrotransposon Tnt1 du tabac

Le rétrotransposon Tnt1A du tabac

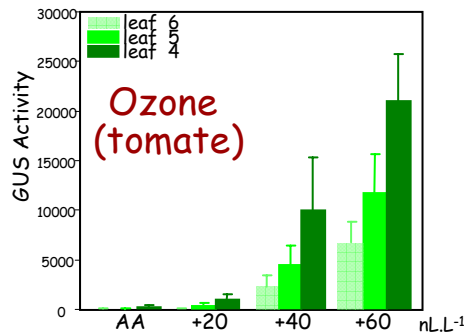
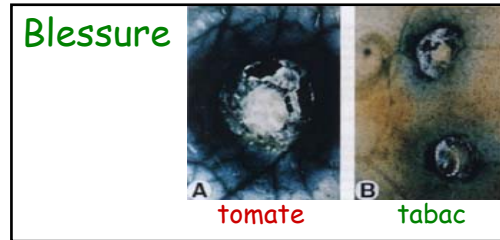


- Tnt1A:**
- isolé après transposition dans gène nitrate réductase
 - exprimé en **réponse au stress**
 - séquences régulatrices dans la LTR

Cycle d'amplification
des rétrotransposons à LTR

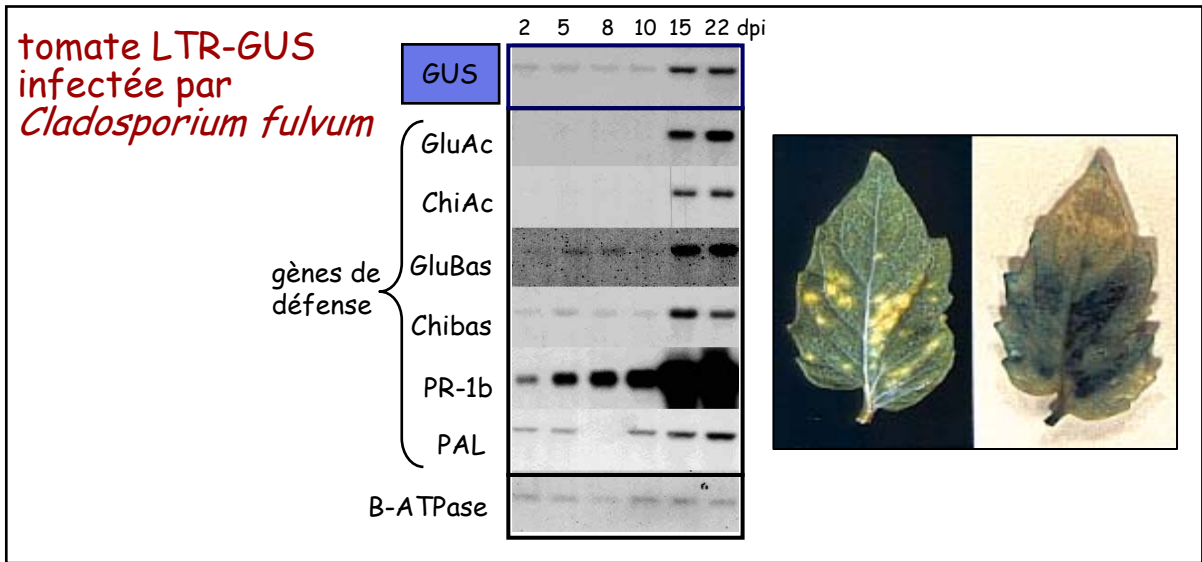


Activation de Tnt1A par le stress



Nathalie POURTAU
Ecologie Moléculaire
Université de Pau

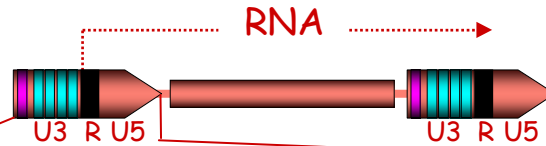
Activation parallèle aux réponses de défense



+ VMT tabac NN
élicitines
peptides d'avirulence
acide salicylique
jasmonate
CuCl₂
.....

Sylvie Pouteau
Corinne Mhiri
20

Motifs régulateurs de type gène de défense



BII involved in activation by microbial factors

U3-> TGATGATGTCCATCTCATTGAAGAAGTATTAGGCATGTGCCTAATAAGAGTTTTCTTTGGTTTGGTAGCCAACCTTGTGACTTGGTTTGGTTGGTAGC
 CAACTTSTTGAAT **BI** **BII** **BII**
 TGAcG CT-ATG CTTGTGCTAAATG TGGTTT CCLACNNNNNNNNCTTGGTTT CCLACNNNNNNNNCT
as1-like HD-motif GGC myc GCCHD-motif GT-motif H-box GP-motif H-box
 ERE ERE GTTTGGTAGCC TTGACC GTTGGTAGCC
 GaCacGT myb ERE W-box myb ERE
 G-box(ABRE)

BII TAGTTTGGTTTGGTAGCCAACCTTGTGAAATTCTTTGGTTGGTAGCCAACCTTGTGAAATTGTGAAAAGTGTGTGTAATTGTCAAATATTGTAGGCT
 TTAGAGGGTGAAG **BII** **BII**
 TGGTTT CCLACNNNNNNNNCT TGGTTT CCLACNNNNNNNNCT GGC
GT-motif H-box GT-motif H-box ERE
 GTTGGTAGCC GTTGGTAGCC
 myb ERE myb ERE

<-U3 R U5->
 CTTTGGCTATAAAAGGAGAGCTTCAACTCTCATTCTACACACCAACCAAGAGAGAAAGAAAGAGTAAGGTTTCACAGACAAGGTATAAGAAATAGTC
 TGTGAGGAAAATAG **BIII** **BIII**
 GGC TCATcTTCTT AAGAA-GA-TaA TGAcG
 ERE TCA-motif TCA-motif *as1-like*

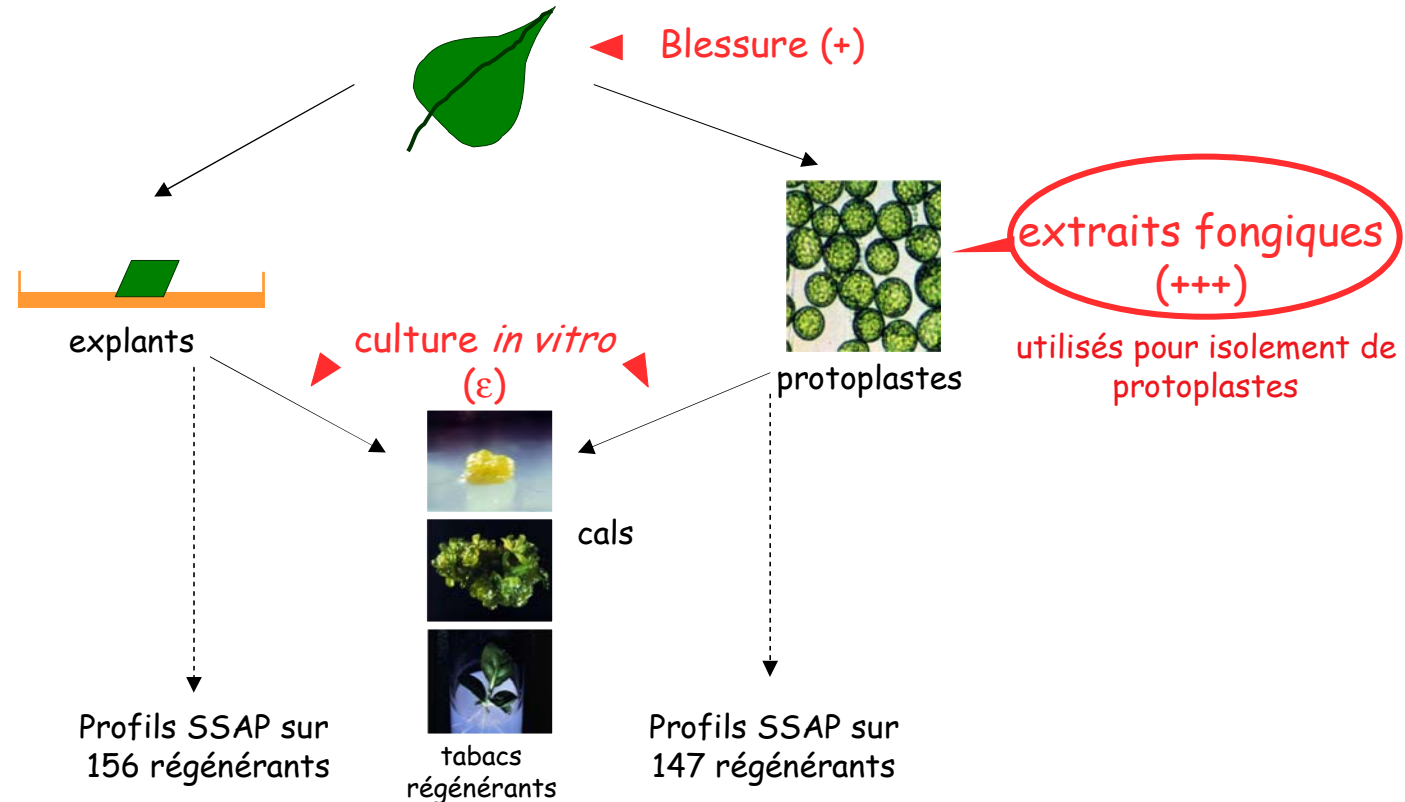
AGAGTGAGCGATATTGTAGTGAGGTGGGAATATCAAAAGAGGGTATTTCTTTGAGTGTGTAGTGGTCTTTGGAGTATTTACCTCCGACCTACAAAG
 TGTAATTCCTT
 TGA-CG TGAcG CCGAC
as1-like as1-like DRE-core

ACTATAGTGATATCAGTTGCTCCTCTCGGGTCTGTGTTTTTTTTCCCTTATTCAGAAGGTTTTCGTAATAATCTTGGTGTATTGTTACTCTTTT
 ATTCTTGTAAAT **<-U5**

G-box = H-box = bean chs15
 HD-motif, W-box = elicitor response
 TCA-motif = salicylic acid binding
 G-box(ABRE), myc, DRE = ABA-response, dehydration stress
 GT-motif, myb (MBSIIG, subgroup C Myb-binding site) = anaerobic response
 ERE = ethylene, ozone response
 as1 = oxidative stress



Amplification de Tnt1A en réponse aux facteurs microbiens



% régénérants avec copies transposés

2,7%

24,4%

Amplification en réponse aux extraits fongiques dans un protoplaste sur cinq

Delphine Melayah
Eric Bonnard

Rôle biologique de l'activation par le stress?



*très
hypothétique*

- Génération de variabilité génétique en réponse aux fluctuations environnementales?

Kalendar et al, 2000:

Populations orges sauvages: abondance rétrotransposon BARE-1 varie en fonction
luminosité et sécheresse

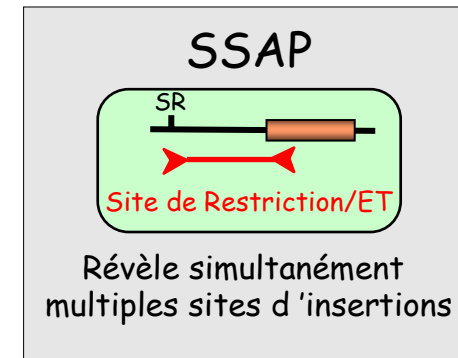
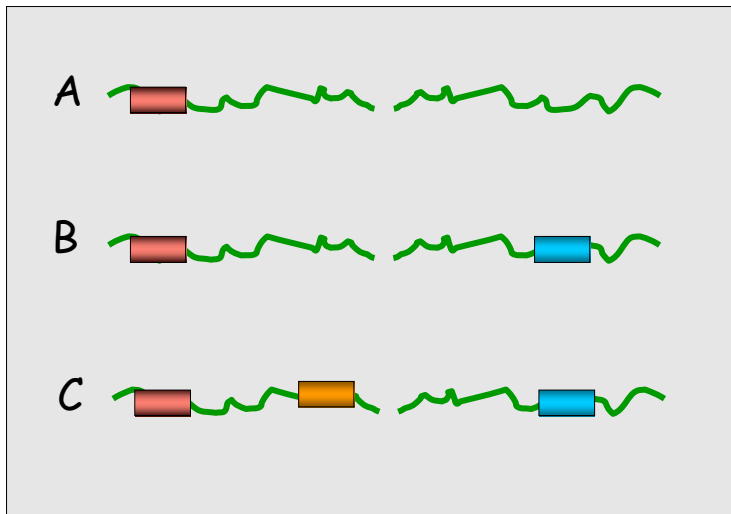
Evolution adaptative de l'hôte?

- Impact sur gènes cellulaires adjacents?

Reprogrammation de l'hôte en réponse au stress?

Rétrotransposons comme outils
d'analyse de la diversité des
espèces hôtes

Mobilité -> polymorphisme d'insertion

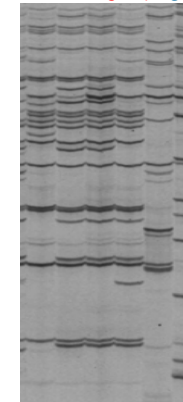


- Multicopies, insertions stables
- Généralement pas de convergence d'insertion (plantes)
- Chronologie d'insertion



T135.1-E00

1 2 3 4 5



ex T135 de tomate





Relations interspécifiques chez *Lycopersicon*

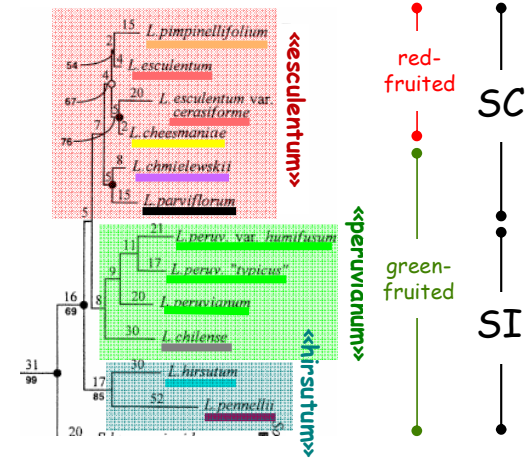
Collections INRA-Montfavet



Tnt1, ToRTL1, T135
arbre SSAP combiné

S. lycopersicum

Marshall et al, 2001: 3 clades



«esculentum» clade

«peruvianum» clade

«hirsutum» clade

S. cheesmaniae

S. pimpinellifolium

S. chmielewskii

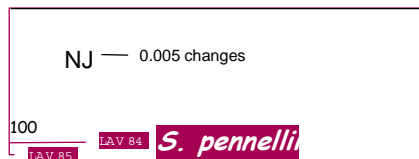
S. neorickii

S. chilense

S. peruvianum

S. habrochaites

Les polymorphismes SSAP reflètent les relations interspécifiques dans le genre *Lycopersicon*



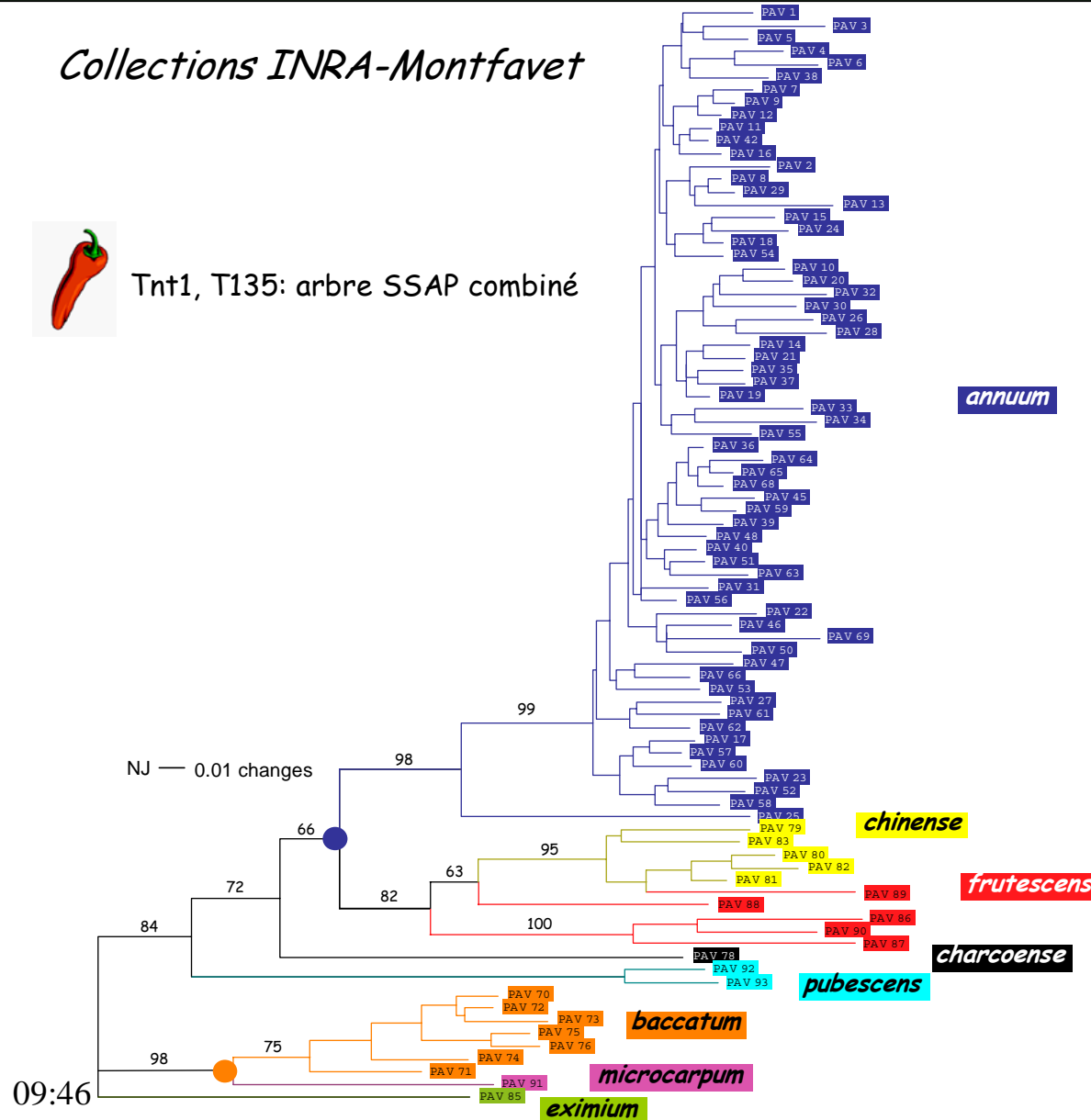
09:46

Relations interspécifiques chez *Capsicum*

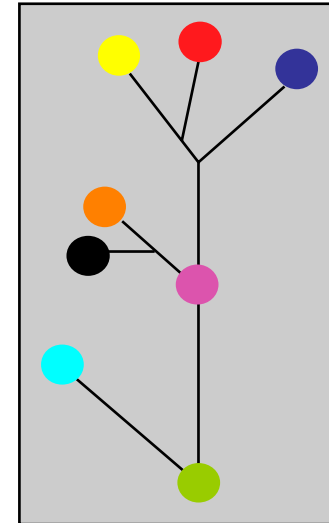
Collections INRA-Montfavet



Tnt1, T135: arbre SSAP combiné



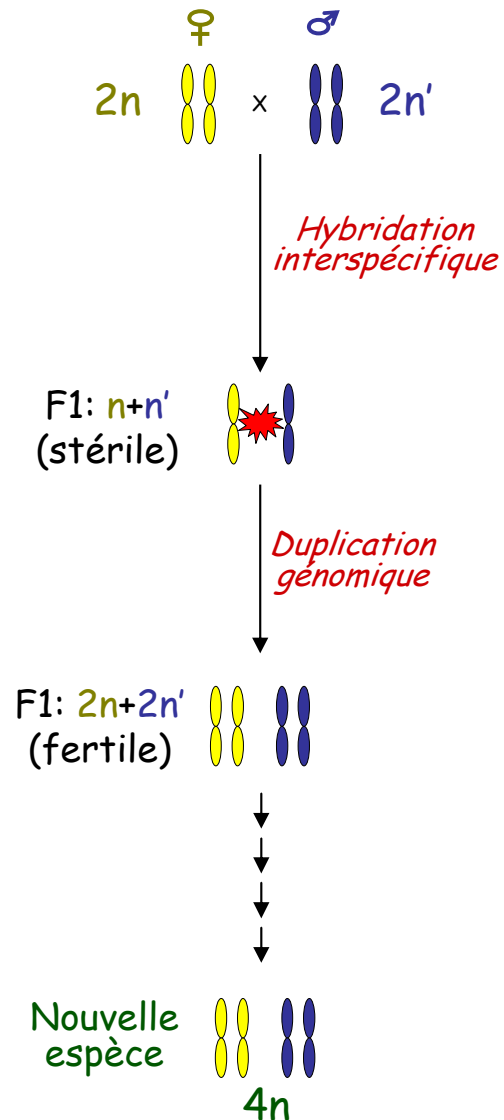
morphological data
and atpB-rbcL & waxy



Les polymorphismes SSAP
reflètent les relations
interspécifiques dans le genre
Capsicum

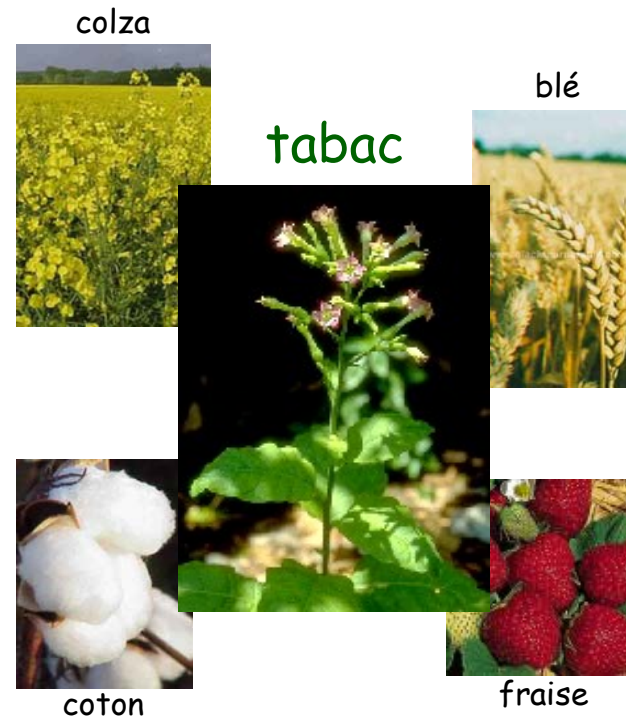
Impact de l'allopolyploidie

Allopolyploidie: processus évolutif important chez les plantes



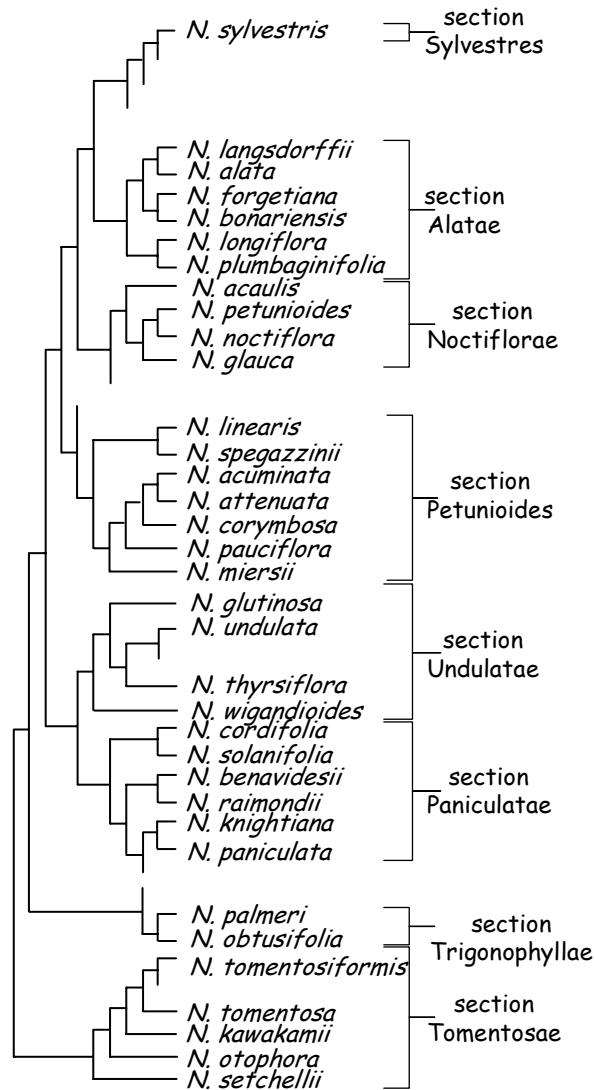
✓ Génomes hybrides résultant de la combinaison de jeux de chromosomes parentaux différents

✓ Mécanisme de spéciation important chez les plantes



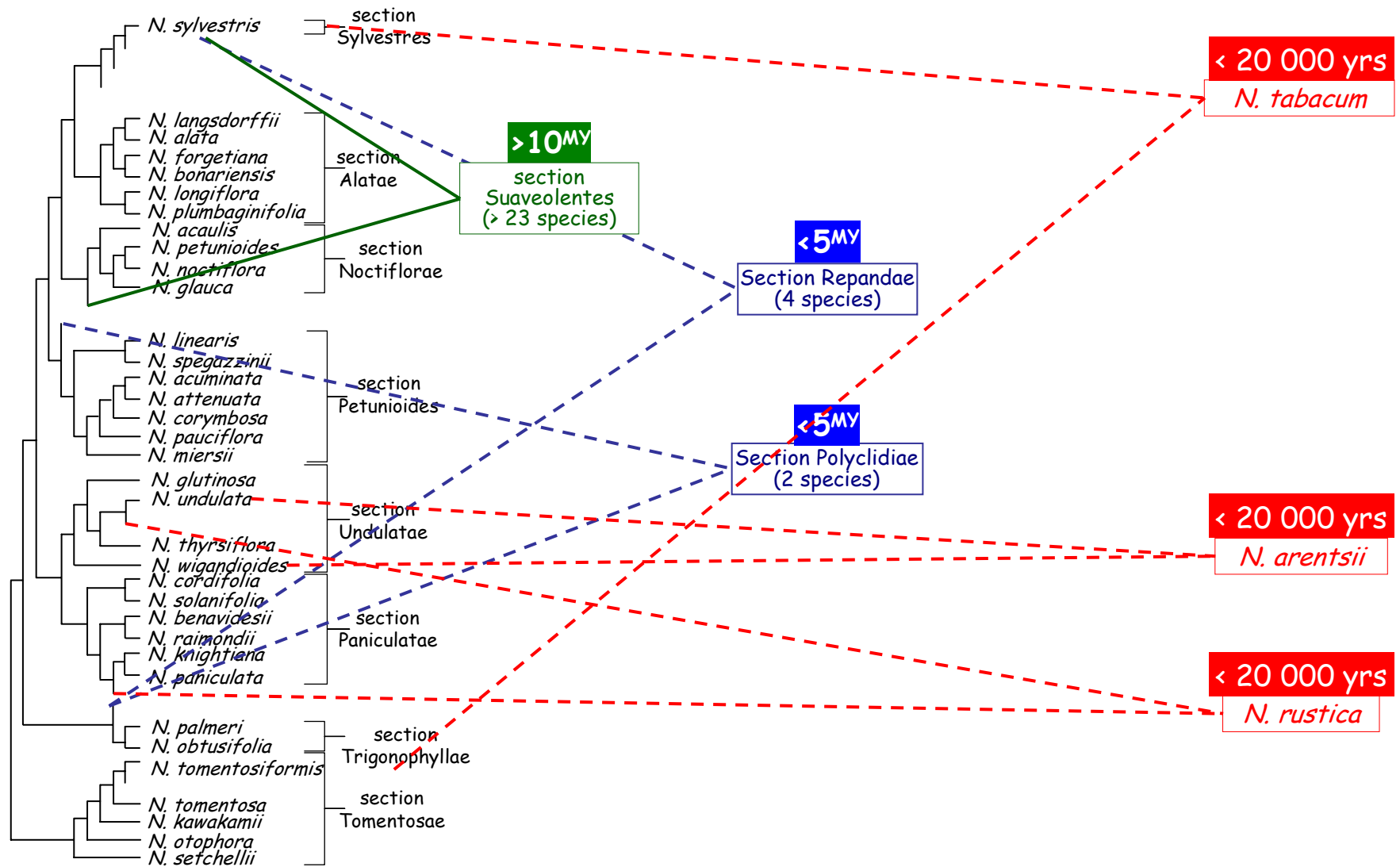


Le genre *Nicotiana* : allopolyploïdie récurrente

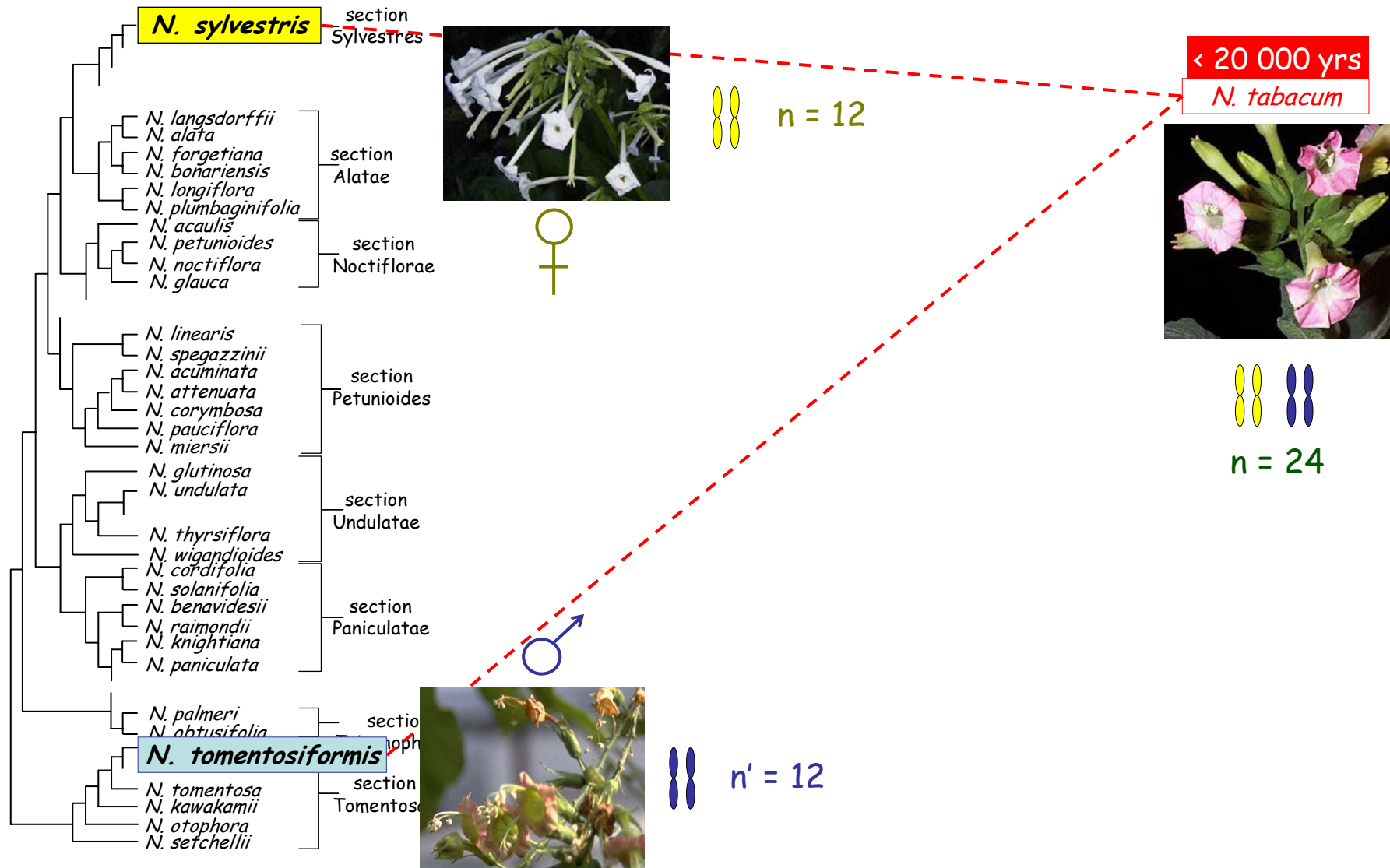


Colonne vertébrale de 40 espèces diploïdes ($n=12$) d'où sont issues 35 espèces allotétraploïdes ($n=24$)

Le genre *Nicotiana* : allopolyploidie récurrente



Le tabac: un allopolyploïde récent



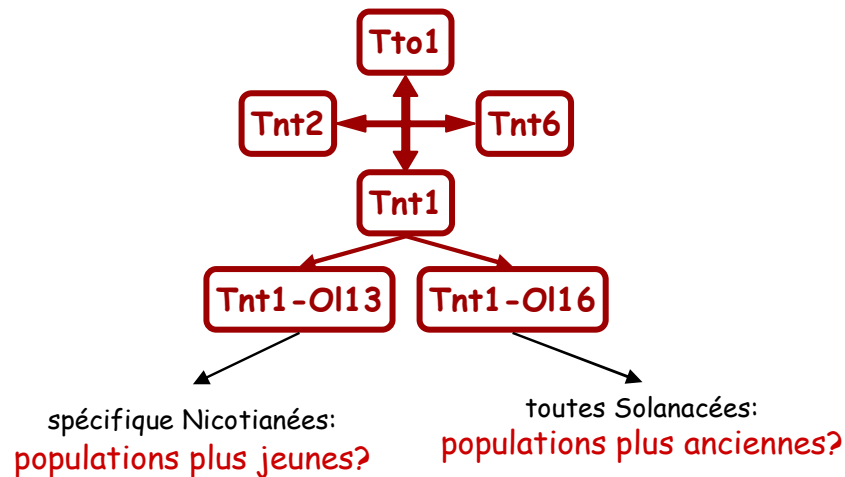
Modifications de populations de rétrotransposons générés par l'allopolyploidie chez le tabac



1) Distribution dans le tabac et ses espèces parentales

2) Analyses de tabacs synthétiques

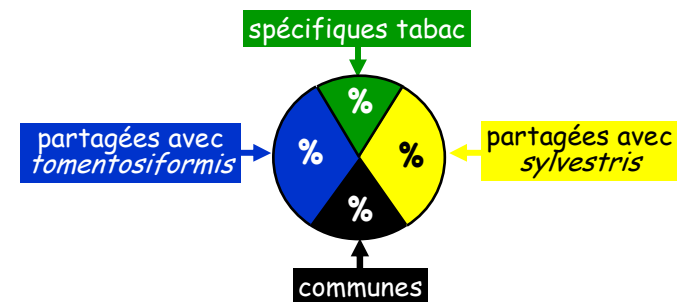
Cinq populations de rétrotransposons :



Collections tabacs ancestraux et parents

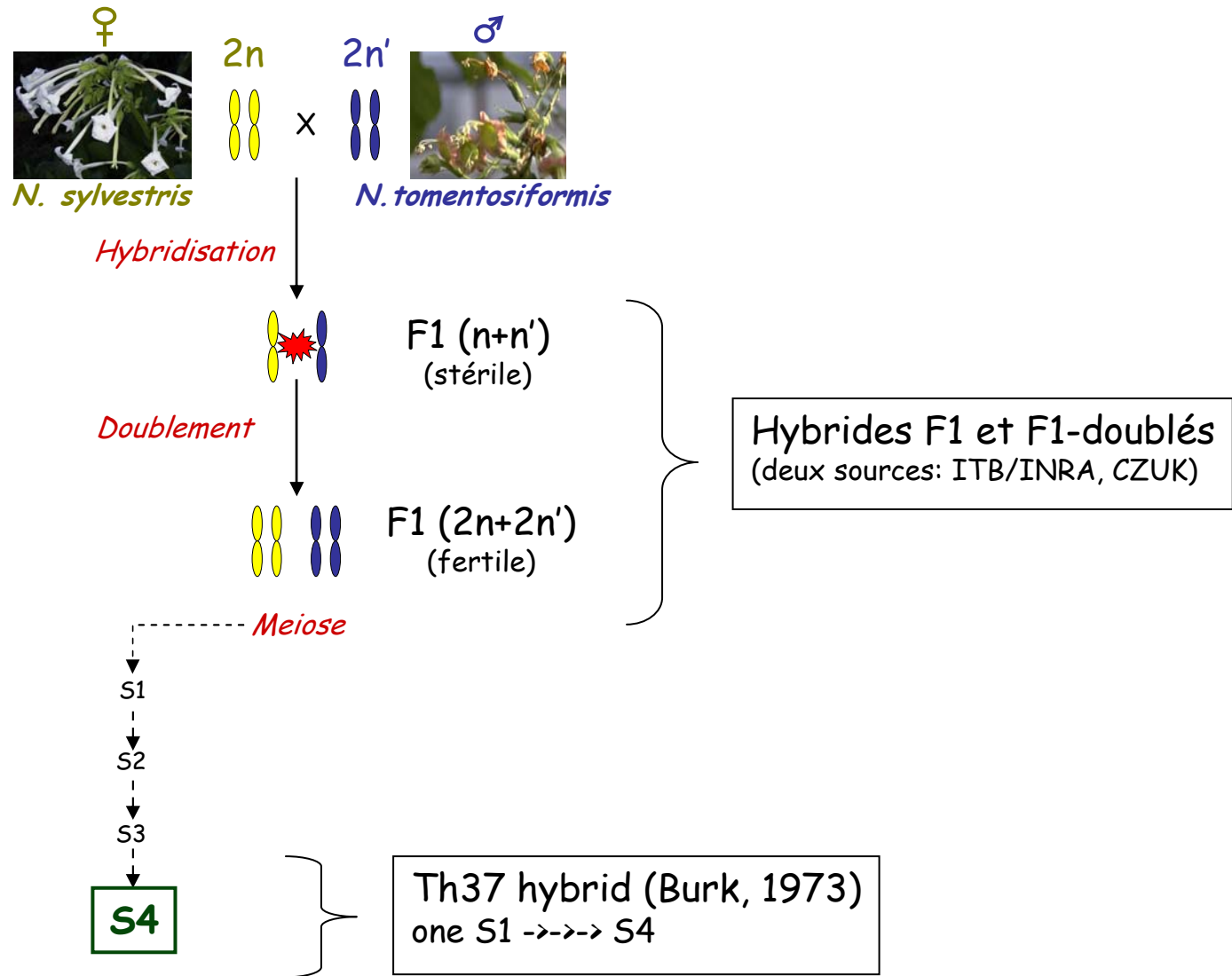
SSAP

Scoring bandes tabac partagées avec parents

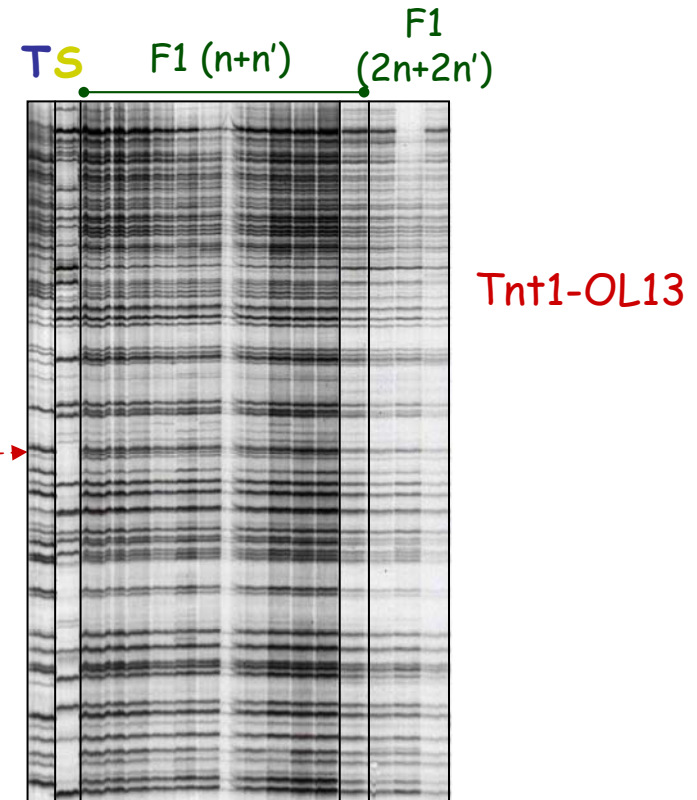
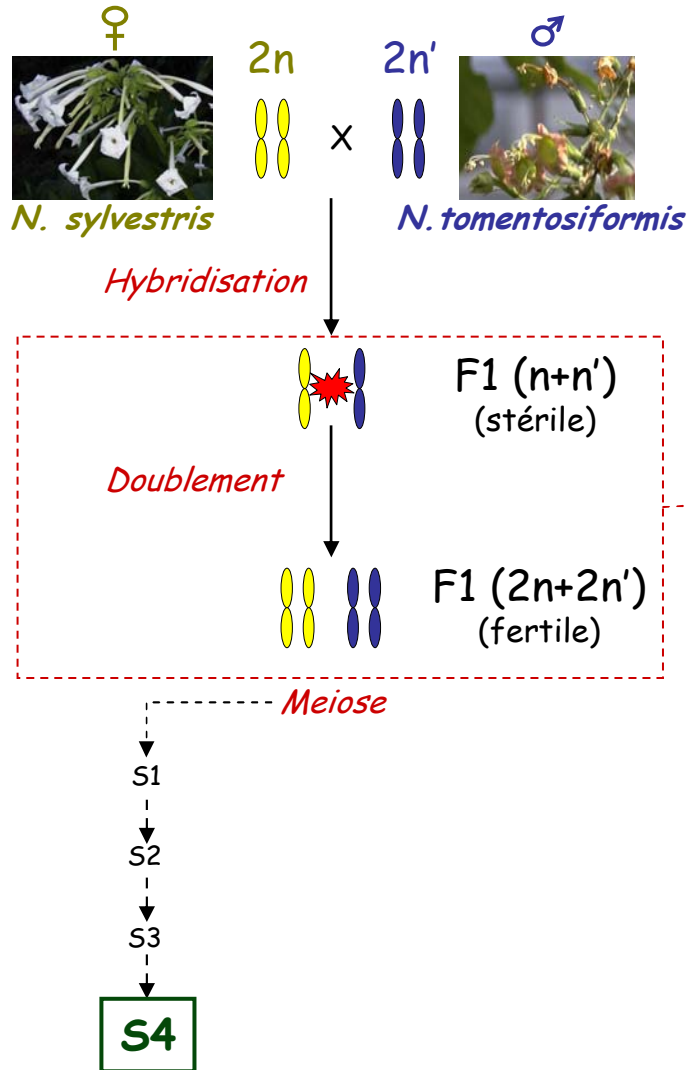




Tabacs synthétiques



Tabacs synthétiques F1 et F1 doublés

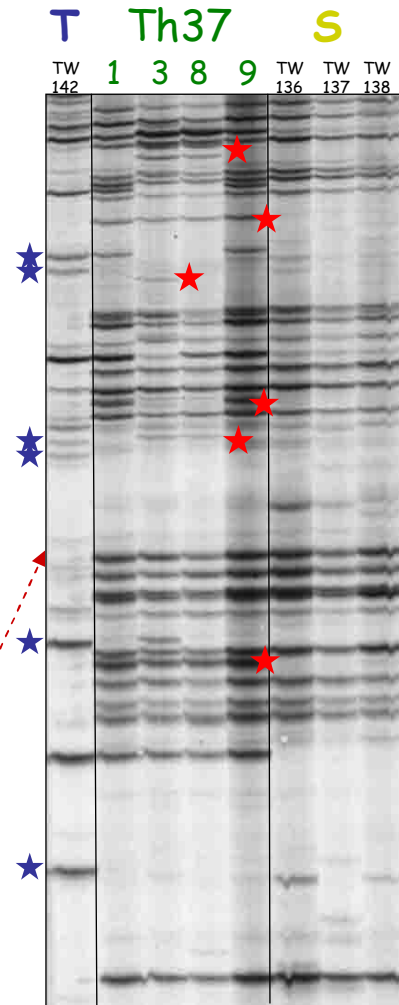
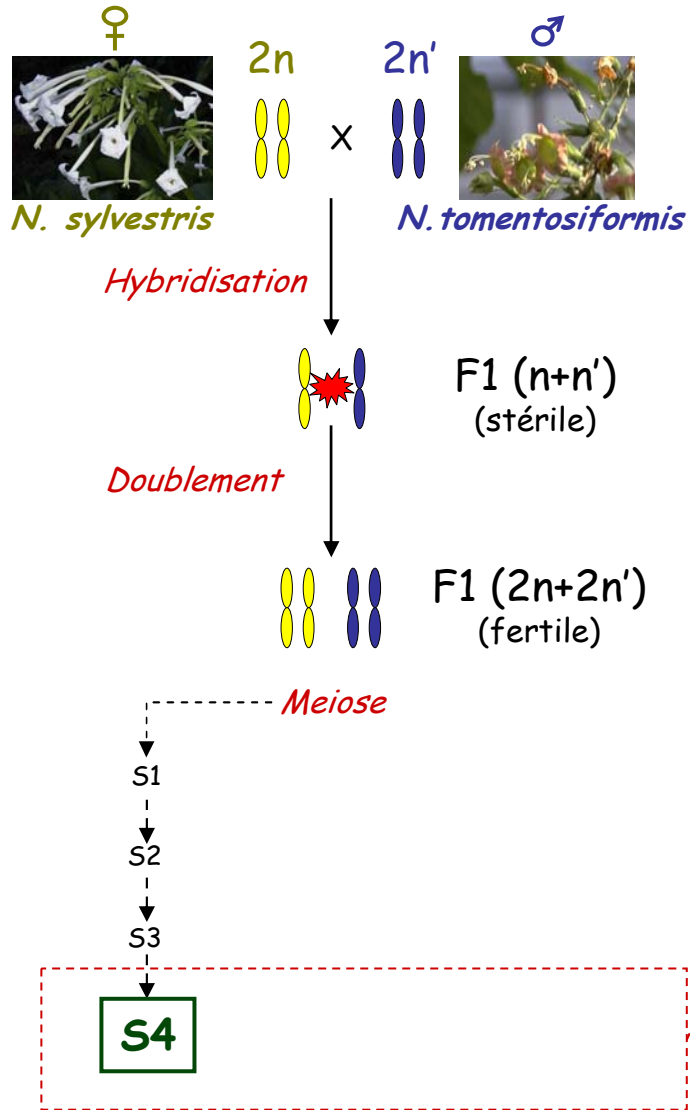


Additivité bandes parentales

Pas de changements en F1

Idem Tnt1-ol16, Tnt2, Tnt6 et Tto1

Tabac synthétique Th37 (S4)



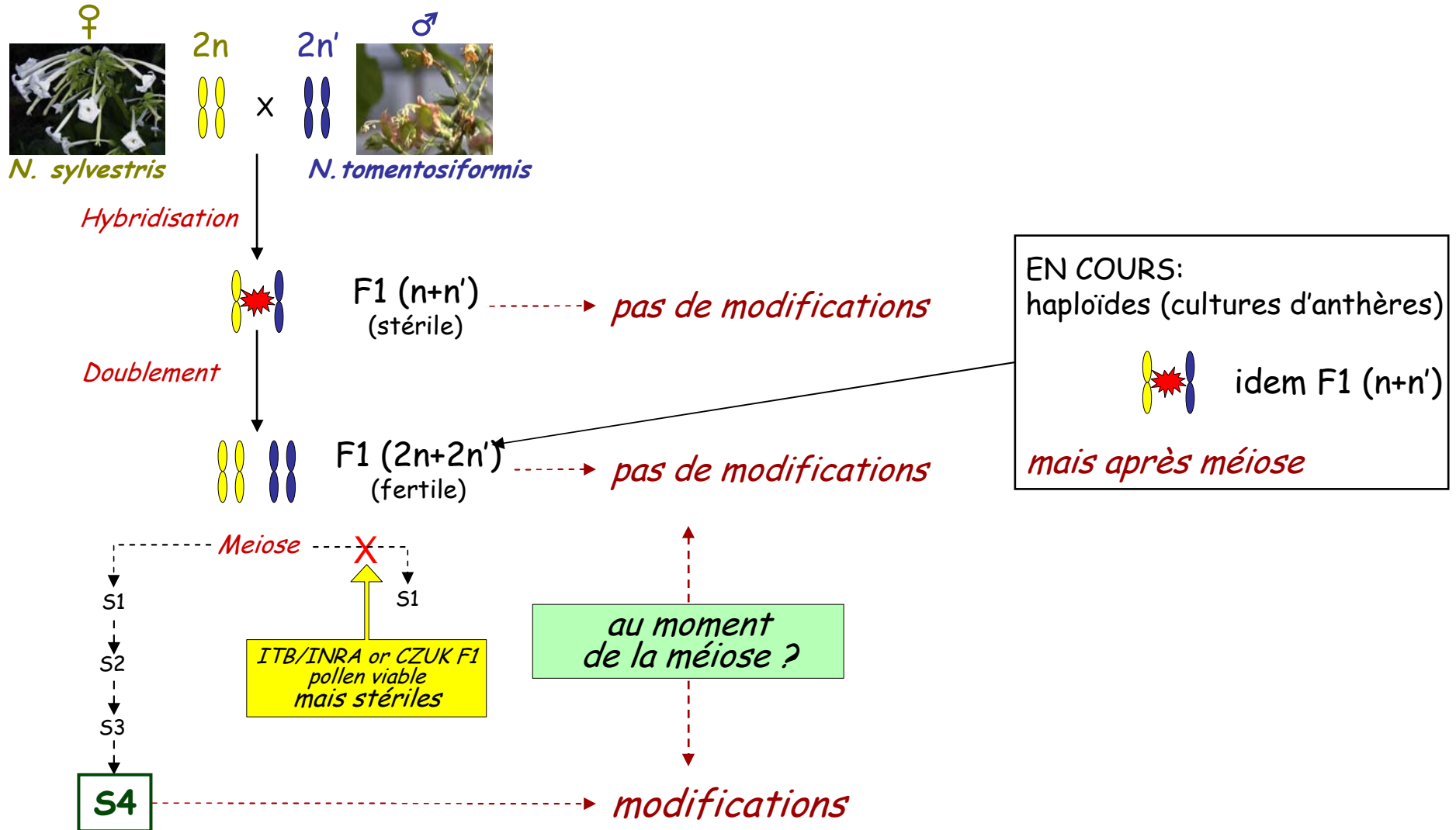
Changements en S4

	★ % new bands	★ % T bands lost	★ % S bands lost
Tnt1-ol13	10,8	51,8	1,5
Tnt1-ol16	7	45	0,5
Tnt2	3,5	63	4,8
Tnt6	20,5	42	0
Tto1	0	nr	0

Nouvelles bandes

Pertes massives de bandes de *tomentosiformis*

Tabac synthétique Th37 (S4)



Projets "Polyploidie"

Effet de la polyploidie sur la biodiversité et l'évolution du génome des plantes
Coordinatrices: Malika AINOUCHE & Anne-Marie CHEVRE

- tabacs synthétiques: effet méiose?
- autres nicotianées synthétiques (*N. rustica*, *N. arentsii*, collab A. Kovarik, Brno, CZ)

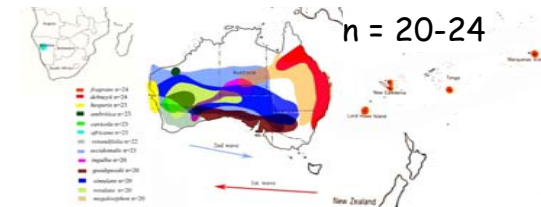
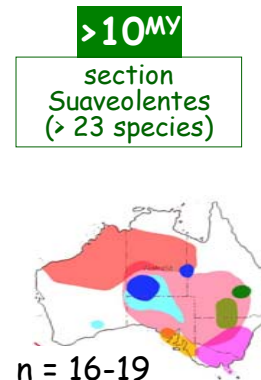
Comportement rétros
selon l'éloignement des parents et le sens du croisement

- autres sections allopolyploïdes:
de même parent maternel mais d'âges différents (suaveolentes/repandae)
section suaveolentes: nombre de copies et distribution des ETs

Impact éventuel des conditions environnementales?

Hybridation en Amérique du Sud
mais section a évolué après transfert longue distance,
dans **habitats très variés** (déserts, zones humides)
Fusions chromosomiques -> de $n = 24$ à $n = 16$

collab A. Leitch, Univ London, UK

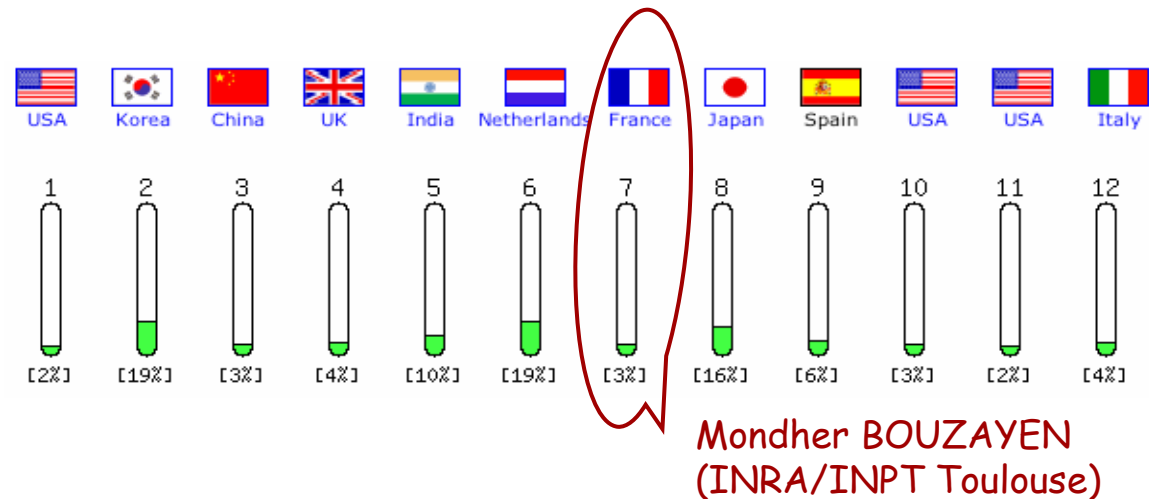




Tomate: génome modèle des Solanacées



- ✓ Séquençage en cours: The International Solanaceae Genome Project (SOL)



- ✓ Collections d'ESTs (<http://www.sgn.cornell.edu/>)

- ✓ Microarray commercial Tom1 (Cornell) : 12 500 cDNAs

- ✓ Plate-formes analyses transcriptomes : Toulouse et Bordeaux

Christophe ROTHAN
(INRA Bordeaux)

Objectifs

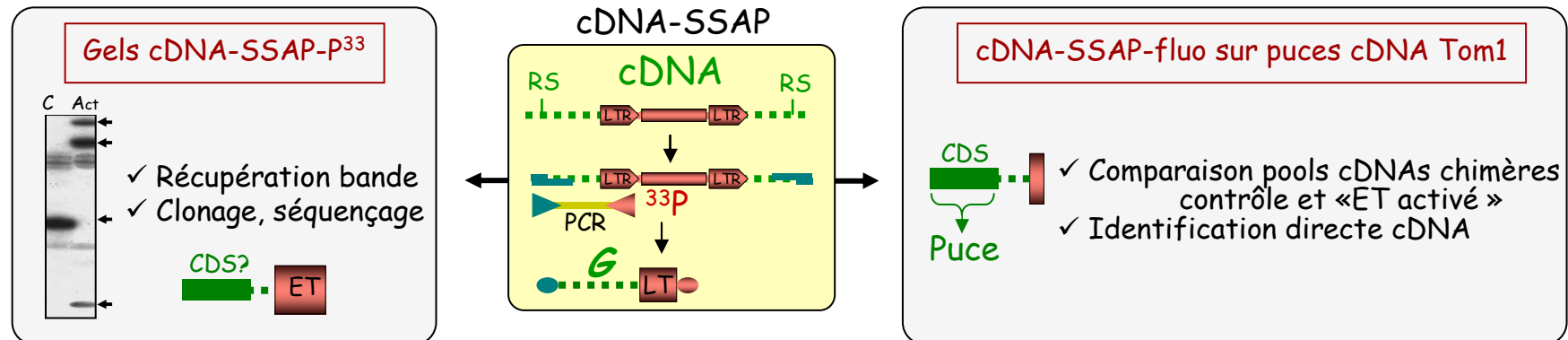
Analyse de l'impact de l'activation d'ETs sur la régulation des gènes de tomate

1) Evaluation bioinformatique des **transcrits chimères** (ESTs) 

↓ *sélection des ETs les plus intéressants*

2) Analyse des conditions d'expression des ETs retenus
stress (cals), dévpt du fruit, cycle cellulaire, endoreduplication

3) Analyse des **modifications de transcrits chimères** en condition d'expression ET



4) Comparaison expression gènes entre conditions contrôles et conditions « ET activé »

équipe

Interactions hôtes-transposons et biodiversité végétale

Actuelle: Marie-Angèle GRANDBASTIEN (DR1-INRA)
Corinne MHIRI (IR2-INRA)
Maud PETIT (PhD - Polyploidie)
Nicolas MAUNOURY (Postdoc ANR ITEGE)
...en recherche Postdoc ANR Biodiversité...

Passée: Colette AUDEON
Eric BONNIVARD
Josep M CASACUBERTA
Boulos CHALHOUB
Delphine MELAYAH
Sheh May TAM
Samantha VERNHETTES

Collaborations:

Josep M. CASACUBERTA, CID-CSIC, Barcelona, Espagne
Marie-Anne VAN SLUYS, IBUSP, Sao Paulo, Brazil
Mathilde CAUSSE
Véronique LEFEVBRE } INRA-Montfavet
Alain PALLOIX
Steven PEARCE, Univ Brighton, UK
Andrew LEITCH, Yoong LIM, Univ London, UK
Ales KOVARIK, Inst. Biophysics, Brno, CZ

Financements:

CEE-TEBIODIV FW4
CEE-TEGERM FW5
Altadis/SEITA (ARN)
Bureau des Ressources Génétiques
ANR Non thématique
ANR Biodiversité