



Pisolithus croceorrhizus found in scrubby shrub moist soils (left) with small fruiting bodies (right). Photo credits: Jonathan Plett and Teresa Lebel.

De la traduction des protéines vers la détoxification cellulaire : est-ce que la diversification des eEF1By chez les champignons ectomycorhiziens a un rôle dans leur adaptation aux stress environnementaux ?

Prénom, Nom du porteur : Mélanie Morel-Rouhier, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM) 1136

Partenaires Labex : Jonathan Plett, Hawkesbury Institute for the Environment, University of Western Sydney, Richmond, Australia, Annegret Kohler, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM) 1136 France

Actions thématiques concernées : WP1/WP2

Contexte —

La traduction des protéines est un processus central qui régit la capacité d'un organisme à se développer. Ce processus est hautement contrôlé, lors des étapes d'initiation et d'élongation. Chez les champignons, le complexe d'élongation eEF1 est composé de la sous-unité de liaison au nucléotide guanidine eEF1A et du facteur d'échange de nucléotides eEF1B (étant lui-même un complexe entre les sous-unités eEF1Ba et eEF1By). Alors que la plupart des champignons ne présente qu'une ou deux isoformes eEF1By, les espèces ectomycorhiziennes de *Pisolithus* présentent une expansion du nombre de copies des gènes codant pour eEF1By, en particulier les espèces collectées dans des environnements fortement perturbés en termes de température, de niveaux de nutriments et de concentrations en métaux lourds.

La sous-unité eEF1By est atypique parce qu'elle présente un domaine glutathion transférase (GST). La principale fonction décrite de eEF1By est d'assurer l'assemblage des différentes sous-unités du complexe eEF1 grâce au domaine GST qui favorise l'interaction protéine-protéine dans ce complexe multiprotéique. Les GST sont également des enzymes de détoxification cellulaire. Du fait de la présence de ce domaine GST dans le facteur d'élongation eEF1By, nous émettons l'hypothèse que la fonction de eEF1By dans les cellules va au-delà de la stabilisation du complexe d'élongation, ayant un rôle dans la réponse au stress. La duplication de gènes observée chez les champignons présents dans les environnements extrêmes pourrait être liée à leur capacité à résister au stress et à s'adapter aux contraintes environnementales.

Objectifs —

L'objectif principal de ce projet est de définir si le rôle principal des isoformes dupliquées reste la traduction des protéines ou si elles ont divergé fonctionnellement pour assurer la survie des champignons en condition de stress.

Nous proposons d'étudier certaines isoformes eEF1By sélectionnées, dans le processus de traduction des protéines et de détoxification cellulaire afin d'évaluer leur rôle dans la résilience des espèces ectomycorhiziennes *Pisolithus* aux contraintes de l'environnement.

Démarche —

Ce projet combine des approches de génomique comparative et des approches biochimiques et physiologiques.

1- Génomique comparative : la première étape est une analyse approfondie des génomes de *Pisolithus* disponibles pour comparer les séquences eEF1By, corriger certaines séquences sur la base des données RNASeq disponibles pour certaines espèces, et localiser les duplications dans les génomes.

2- Caractérisation biochimique des protéines eEF1By : La deuxième étape consiste à cloner certains gènes eEF1By sélectionnés, à produire et purifier les protéines recombinantes correspondantes et à les caractériser pour leur capacité à interagir avec l'autre sous-unité eEF1Ba du complexe d'élongation, et à présenter les caractéristiques fonctionnelles des glutathion transférases.

3- Approches physiologiques : Cette dernière partie consiste à déterminer si et comment les eEF1By sélectionnées participent à la réponse au stress *in vivo* en suivant leur expression génique dans différentes conditions de stress.

Résultats marquants —

1- Les annotations des gènes eEF1By sont souvent incorrectes, en particulier pour les génomes des espèces collectées dans les environnements perturbés. Nous avons donc dû corriger les séquences et les annotations pour établir une liste fiable de tous les gènes eEF1By. Nous avons fait la même analyse avec toutes les GST des autres classes pour 7 génomes de *Pisolithus*. Nous avons trouvé que les gènes eEF1By dupliqués sont sous leur forme pleine longueur et/ou sous une forme plus courte constituée uniquement du domaine GST.

2- L'extraction des acides nucléiques n'est pas une tâche facile chez les espèces environnementales de *Pisolithus* collectées en milieu extrême. Nous avons réussi à optimiser les protocoles pour obtenir des ARN et de l'ADN génomique pour certaines des souches.

3- En parallèle, afin de pouvoir comparer les propriétés biochimiques des isoformes eEF1By de *Pisolithus* avec les eEF1By d'un modèle fongique, nous avons produit, purifié et caractérisé les deux isoformes eEF1By nommées TEF3 et TEF4 et l'isoforme courte YGR201C de la souche de laboratoire *Saccharomyces cerevisiae*. Les résultats montrent que toutes les protéines sont actives en tant que GST et seule l'isoforme courte n'interagit pas avec la sous-unité eEF1Ba.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —

L'analyse génomique a pris plus de temps que prévu mais a été cruciale pour corriger les annotations et ainsi nous permettre de travailler avec des séquences fiables. Parallèlement à cette analyse, nous avons terminé la caractérisation biochimique de toutes les eEF1By de *S. cerevisiae* qui serviront de référence pour comparer les propriétés des eEF1By des espèces de *Pisolithus*.

Perspectives —

Les prochaines étapes du travail sont la production des eEF1By sélectionnés de *Pisolithus* pour leur caractérisation biochimique. Nous attendons également une réponse du programme PHC FASIC pour une bourse de mobilité vers l'Australie dans le laboratoire de notre partenaire, afin de mettre en place le microcosme ectomycorhizien pour suivre l'expression des gènes en situation de stress.

Effet levier du projet —

Ce projet vise à comprendre comment les champignons s'adaptent et évoluent pour résister au stress généré par des environnements perturbés. Cela pourrait aider à prédire la structuration des communautés microbiennes et l'adaptation aux contraintes dans le futur. De plus, étant donné que les espèces de *Pisolithus* sont des modèles fongiques pertinents en foresterie, en raison de leur rôle dans la promotion de la santé et de la productivité des plantes sous différentes contraintes environnementales, l'identification de marqueurs fonctionnels de la résistance au stress pourrait être un bon moyen de sélectionner des isolats qui pourraient être utilisés comme inoculum dans la production de semis.