

PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018

TITRE : Tn-seq de souches environnementales de *Pectobacterium* et mise au point du CrispRi chez *Pectobacterium* et *Dickeya*.

Nom, Prénom du Maître de Stage : Erwan GUEGUEN

Qualité : Maître de Conférences Université Lyon I

Téléphone : 04 72 44 79 79

E-mail : erwan.gueguen@univ-lyon1.fr

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe :

Laboratoire MAP

Responsable : William NASSER

Equipe MTSB, responsables : Agnès RODRIGUE et Vladimir SHEVCHIK

Adresse : Laboratoire MAP UMR5240
Bat. Lwoff
10 rue Raphaël Dubois
69622 Villeurbanne Cedex

Nom du candidat éventuellement proposé :

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ?

Oui - Non

Sujet (objectif, démarche et technique, collaboration(s),...):

Nous avons ces dernières années initié un projet consistant à déterminer d'un point de vue génétique comment les bactéries du genre *Dickeya* se multiplient dans la plante. La technique que nous avons utilisé est le Tn-seq (littéralement séquençage haut-débit à partir de transposon). Cette technique est l'alliance parfaite de la génétique (crible d'une collection de mutants de bactérie) et de la nouvelle technologie de séquençage des génomes à très haut débit Illumina. Avec cette méthode, plusieurs centaines de milliers de mutants créés par insertion chromosomique unique et aléatoire d'un transposon sont mélangés. Le Tn-seq permet de localiser en un seul séquençage Illumina tous les transposons des mutants capables de survivre dans une condition de culture définie par l'expérimentateur. La comparaison des données de séquençage entre une condition permissive (culture *in vitro* en milieu riche) et non-permissive (croissance dans la plante) révèle les loci indispensables à la survie de la bactérie en condition non-permissive. En effet, si un mutant ne peut pas survivre, son ADN génomique sera absent de l'échantillon. Le locus dans lequel le transposon est inséré ne sera donc pas séquençé. L'utilisation de cette technique nous a permis d'identifier chez *Dickeya dadantii* de nombreux gènes requis pour le développement de ce phytopathogène dans l'endive (voir notre dernière publication : <http://biorxiv.org/content/early/2017/04/12/126896.1>) Nous souhaitons désormais savoir si les mêmes gènes sont impliqués dans la multiplication de *Pectobacterium sp.* dans la plante. *Pectobacterium* est un genre bactérien proche des *Dickeya*. L'étudiant devra mettre au point le Tn-seq chez *Pectobacterium*, infecté la plante (endive) avec la banque de mutants et préparés les bibliothèques pour un séquençage Illumina des échantillons. En parallèle, l'étudiant mettra au point le CrispRi chez les *Dickeya* et les *Pectobacterium*.

Genome Wide Identification Of Genes Required For Bacterial Plant Infection By Tn-Seq
Kevin Royet, Nicolas Parisot, Agnes Rodrigue, Erwan Gueguen, Guy Condemine
bioRxiv 126896; doi: <https://doi.org/10.1101/126896>