

Projet M2 2022-2023

Titre du projet : Identifications de cibles de l'ARN régulateur Srn024 chez le pathogène *Streptococcus agalactiae*

Nom et @mail de l'encadrant: Marie-Frédérique LARTIGUE, lartigue@univ-tours.fr

Equipe d'accueil: UMR 1282 ISP, Université de Tours-INRAE
Equipe : Bactéries et risque materno-fœtal
Pr Laurent MEREGHETTI

Résumé du projet :

Données de la littérature

Les petits ARN régulateurs (sRNA pour small RNA) sont impliqués dans l'adaptation des bactéries à leur environnement et peuvent participer au processus de virulence (par exemple, RNAIII chez *Staphylococcus aureus*) (Benito et al, 2000 ; Wagner & Romby, 2015). Les sRNA régulés par le système de régulation à deux composants (TCS pour two-component system) CiaRH, largement conservé chez les streptocoques, sont appelés csRNA (Jabbour & Lartigue, 2021). A l'exception de *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus sanguinis*, les cibles des csRNAs n'ont pas encore été étudiées (Mann et al., 2012 ; Ota et al, 2017). *Streptococcus agalactiae*, principale cause d'infections néonatales humaines mais aussi pathogènes des animaux d'élevage, possède quatre csRNAs (Srn015, Srn024, Srn070 et Srn085) (Marx et al, 2010 ; Rosinski-Chupin et al, 2015).

Données préliminaires du laboratoire

Les travaux de thèse de Nancy JABBOUR ont mis en évidence que la délétion de Srn024 diminue significativement la formation de biofilm. En utilisant un nouveau vecteur de fusion traductionnelle, nous avons également démontré que Srn024 s'apparie à la séquence codante de l'ARNm *sap* pour réprimer sa traduction. Le gène *sap* code la pullulanase SAP, connue pour se lier aux cellules épithéliales cervicales humaines (Gourlay et al., 2009). Cette adhésion est la première étape de la formation du biofilm, un important facteur de virulence de la bactérie. Des échanges de paires de bases complémentaires chez *S. agalactiae* ont démontré que Srn024 interagit directement avec l'ARNm *sap*. Lors de ces travaux, nous avons identifié par prédiction *in silico* d'autres cibles potentielles de Srn024 (article en cours de soumission). Parmi ces cibles, l'ARNm *gbs1396* code une protéine similaire à une mévalonate kinase et l'ARNm *gbs1398* à un régulateur de réponse d'un TCS de la famille des OmpR qui pourrait avoir un rôle dans l'homéostasie du manganèse.

Objectifs scientifiques : Les objectifs du projet de Master 2 sont de valider d'autres cibles potentielles de Srn024 identifiées *in silico*, et de caractériser leur fonction biologique. Ces résultats permettront une meilleure compréhension des réseaux de régulation sous le contrôle des ARN régulateurs.

Faisabilité :

1. Validation expérimentale des cibles potentielles identifiées *in silico* (2 mois)

L'expression des différentes cibles prédites *in silico* sera évaluée par RT-qPCR dans les différentes souches : Δ *srn024*, Δ *srn024::srn024* et sauvage.

2. Confirmation des interactions spécifiques entre Srn024 et ses cibles (2 mois)

Les interactions spécifiques entre Srn024 et ses cibles seront confirmées par des expériences de fusion traductionnelle.

3. Identification de phénotypes associés (2 mois)

En fonction des cible(s) identifiée(s), l'étudiant recherchera les phénotypes associés. Par exemple, il pourra réaliser des cinétiques de croissance en présence et en absence de manganèse en comparant la croissance des 3 souches (mutantes, complémentées et sauvage).

Bibliographie

- Benito Y, Kolb FA, Romby P, Lina G, Etienne J, Vandenesch F. Probing the structure of RNAIII, the *Staphylococcus aureus* agr regulatory RNA, and identification of the RNA domain involved in repression of protein A expression. RNA. 2000; 6:668-679.
- Gourlay LJ, Santi I, Pezzicoli A, Grandi G, Soriani M, Bolognesi M. 2009. Group B streptococcus pullulanase crystal structures in the context of a novel strategy for vaccine development. J Bacteriol 191(11):3544-52.
- Jabbour N, **Lartigue MF**. 2021. An Inventory of CiaR-Dependent Small Regulatory RNAs in Streptococci. Front. Microbiol. 12:669396.
- Mann B, van Opijnen T, Wang J, Obert C, Wang Y-D, Carter R, J. McGoldrick D, Ridout G, Camilli A, I. Tuomanen E, W. Rosch J. 2012. Control of Virulence by Small RNAs in Streptococcus pneumoniae. PLoS Pathog 8(7):e1002788.
- Marx P, Nuhn M, Kovács M, Hakenbeck R, Brückner R. 2010. Identification of genes for small non-coding RNAs that belong to the regulon of the two-component regulatory system CiaRH in Streptococcus. BMC Genomics 11:661.
- Ota C, Morisaki H, Nakata M, Arimoto T, Fukamachi H, Kataoka H, Masuda Y, Suzuki N, Miyazaki T, Okahashi N, Kuwata H. 2017. Streptococcus sanguinis noncoding cia-dependent small RNAs negatively regulate expression of Type IV Pilus retraction ATPase PilT and biofilm formation. Infect. Immun 86:e00894-17.
- Rosinski-Chupin I, Sauvage E, Sismeiro O, Villain A, Da Cunha V, Caliot ME, Dillies MA, Trieu-Cuot P, Bouloc P, **Lartigue MF**, Glaser P. 2015. Single nucleotide resolution RNA-seq uncovers new regulatory mechanisms in the opportunistic pathogen Streptococcus agalactiae. BMC Genomics 16:419.
- Wagner EG, Romby P. 2015. Small RNAs in bacteria and archaea: who they are, what they do, and how they do it. Adv Genet 90:133–208.