
RegOPepS

Plan de gestion de données créé à l'aide de DMP OPIDoR

Créateur du PGD : Jean-Emmanuel HUGONNET

Affiliation du créateur principal : Sorbonne Université

Modèle du PGD : Science Europe - DMP template (english)

Dernière modification du PGD : 16/06/2021

Financeur : ANR

Numéro de subvention : ANR- 19-CE44-0007

Résumé du projet :

Le peptidoglycane (PG) est le constituant majeur de la paroi bactérienne et la cible d'un grand nombre d'antibiotiques, en particulier les β -lactamines. Ces antibiotiques inhibent la dernière étape de polymérisation du PG en se liant de manière irréversible aux protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Jusqu'à récemment, les PLP étaient les seules enzymes connues permettant de catalyser la réticulation du PG. Cependant, mon équipe a montré que cette réaction est également catalysée par une deuxième famille d'enzymes, les L,D-transpeptidases (LDT). Les PLP sont potentiellement inhibées par toutes les classes de β -lactamines, tandis que les LDT sont uniquement inhibées par les carbapénèmes. La formation des ponts de type 3-3 assurant la réticulation du PG par les LDT est prépondérante chez les mycobactéries comme *Mycobacterium tuberculosis*. Chez les autres espèces, les LDT ne sont pas essentielles et leur contribution au cours de la phase exponentielle de croissance est négligeable. Cependant, la proportion de liaisons 3-3 augmente au cours de la phase stationnaire, suggérant un rôle des LDT dans la maintenance du PG. Chez *Escherichia coli*, j'ai récemment montré que les LDT confèrent une résistance à la plupart des β -lactamines en remplaçant les PLP chez des mutants sélectionnés *in vitro*. Ce mécanisme de résistance nécessite une production accrue de l'alarmone guanosine pentaphosphate et tétraphosphate [(p)ppGpp]. Cette dernière a initialement été identifiée par sa capacité à déclencher la réponse stringente. *E. coli* a donc la capacité de polymériser le PG par deux voies de réticulation alternatives, dont la contribution relative est contrôlée par le (p)ppGpp. Les objectifs généraux du projet sont l'identification des enzymes impliquées dans la voie des LDT et du rôle de l'alarmone dans la régulation de leur synthèse. Notre première hypothèse de recherche est que la polymérisation du PG par les PLP et les LDT implique différents ensembles de protéines. En construisant des souches qui dépendent conditionnellement des PLP ou des LDT pour la synthèse du PG, nous étudierons trois types d'enzymes. (i) L'inactivation de gènes candidats et une approche de type Tn-Seq seront utilisées pour identifier les endopeptidases responsables du clivage des liaisons de type 3-3. Cette réaction permet l'insertion de nouvelles sous-unités dans le PG. (ii) Certaines PLP (enzymes de Classe B) contiennent à la fois un domaine transpeptidase pour la réticulation du PG et un domaine dit de morphogénèse qui reste mal caractérisé sur le plan fonctionnel. Nous caractériserons ces domaines et déterminerons s'ils coopèrent avec les LDT pour la polymérisation du PG. (iii) En plus des transpeptidases, la polymérisation du PG nécessite des glycosyltransférases pour l'élongation des chaînes glycanes. Parmi les six glycosyltransférases de *E. coli*, nous chercherons à identifier celles qui polymérisent les chaînes glycanes réticulées par les LDT. Notre deuxième hypothèse de recherche est que le (p)ppGpp est un médiateur clé contrôlant l'adaptation du métabolisme du PG aux carences nutritives et à d'autres stress. Ceci

pourrait impliquer un contrôle négatif de la voie des PLP associée à une activation de la voie des LDT pour maintenir l'intégrité de la paroi cellulaire. Nous identifierons parmi les gènes régulés par le (p)ppGpp ceux qui sont directement impliqués dans la synthèse du PG ainsi que le mécanisme de cette régulation. L'impact scientifique du projet concerne la régulation de la synthèse du PG qui reste très mal connue. Pour la première fois, l'adaptation du métabolisme du PG aux carences nutritives et à d'autres stress sera évaluée globalement en mettant l'accent sur une synthèse accrue des liaisons de type 3-3 par les LDT et sur les facteurs essentiels à la fonction de ces transpeptidases. Les résultats attendus incluent l'identification de nouvelles cibles pour le développement d'antibiotiques actifs sur les souches résistantes.

Chercheur Principal : Jean-Emmanuel HUGONNET

Identifiant ORCID : 0000-0003-4150-0944

Contact pour les Données : Jean-Emmanuel HUGONNET

Droits d'auteur

Le(s) créateur(s) de ce plan accepte(nt) que tout ou partie de texte de ce plan soit réutilisé et personnalisé si nécessaire pour un autre plan. Vous n'avez pas besoin de citer le(s) créateur(s) en tant que source. L'utilisation de toute partie de texte de ce plan n'implique pas que le(s) créateur(s) soutien(nen)t ou aient une quelconque relation avec votre projet ou votre soumission.

RegOPepS

1. Data description and collection or re-use of existing data

Raw genomic data will be obtained from outsourced sequencing company (Novogene).
Mutations identifications will involve access to public annotated genome of Escherichia coli K12 at the NCBI.

Raw genomic data were so far produced for 50 strains (fastq format), for about 150 Gb total size (3 Gb per genome).

2. Documentation and data quality

Metadata (type of sequencing) are included in the projects number in the European Nucleotide Archives public server.

Data quality control is provided by our outsourcing genome sequencing company (Novogene).
We will include them in the European public server.

3. Storage and backup during the research process

Raw data are stored in a public server at the European Nucleotide Archive database (<https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/home>).
Backups are stored in local computers in our lab.

No sensitive data are collected for our project so far.

4. Legal and ethical requirements, codes of conduct

Non applicable: bacterial DNA data

Bacterial DNA data produced for the project are made available for open access for the scientific community without any legal issue.

No ethical issues: bacterial DNA sequences.

5. Data sharing and long-term preservation

Bacterial DNA data produced for the project will be made available for open access for the scientific community without any legal issue.
Preprints (unreviewed publications) will be made available at BioRxiv.org

Bacterial DNA data produced for the project are made available for open access at the European Nucleotide Archive database.

For data analyses, Breseq pipeline. <https://barricklab.org/wiki/bin/view/Lab/ToolsBacterialGenomeResequencing>

Data deposit in the ENA server will be accompanied by creation of a DOI.

6. Data management responsibilities and resources

So far no one in our institution.

NA