Travaux pratiques – Galaxy* (partie 2)

Gaëlle Lelandais et Fabrice Confalonieri

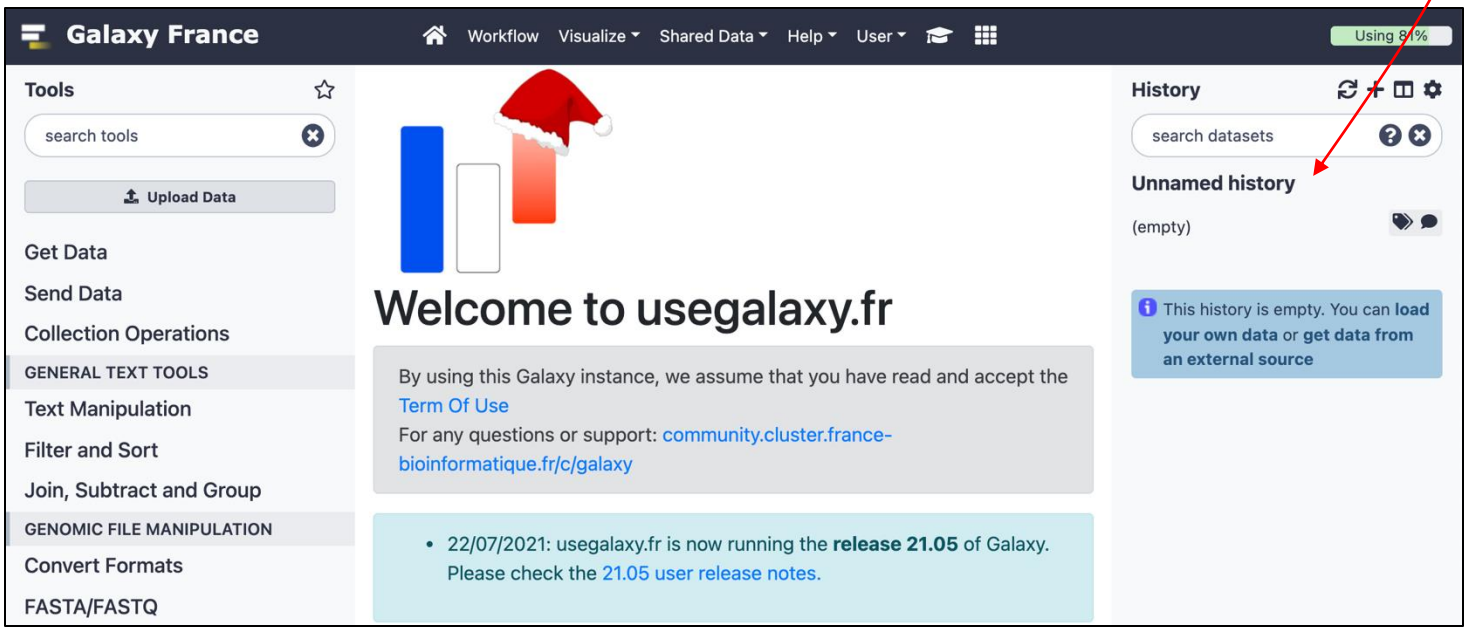
gaelle.lelandais@universite-paris-saclay.fr ; fabrice.confalonieri@universite-paris-saclay.fr

* Les captures d'écran ont été réalisées en 2022, il est possible que l'interface aujourd'hui soit légèrement différente.

Etape 1 : Connexion à Galaxy

- Se connecter à l'instance Galaxy « France » : https://usegalaxy.fr/

- Créer un nouvel historique de travail



Données utilisées pour le TP

cells

MDPI

Article

Characterization of the Radiation Desiccation Response Regulon of the Radioresistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* by Integrative Genomic Analyses

Nicolas Eugénie, Yvan Zivanovic, Gaelle Lelandais, Geneviève Coste, Claire Bouthier de la Tour, Esma Bentchikou, Pascale Servant † and Fabrice Confalonieri *,†

Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), 91198 Gif-sur-Yvette, France; nicolas.eugenie@i2bc.paris-saclay.fr (N.E.); yvan.zivanovic@i2bc.paris-saclay.fr (Y.Z.); gaelle.lelandais@i2bc.paris-saclay.fr (G.L.); genevieve.coste@i2bc.paris-saclay.fr (G.C.); claire.bouthier@i2bc.paris-saclay.fr (C.B.d.l.T.); esma.bentchikou@i2bc.paris-saclay.fr (E.B.); pascale.servant@i2bc.paris-saclay.fr (P.S.)
* Correspondence: fabrice.confalonieri@i2bc.paris-saclay.fr
† These authors contributed equally to this work.

Abstract: Numerous genes are overexpressed in the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* after exposure to radiation or prolonged desiccation. It was shown that the DdrO and IrrE proteins play a major role in regulating the expression of approximately twenty genes. The transcriptional repressor DdrO blocks the expression of these genes under normal growth conditions. After exposure to genotoxic agents, the IrrE metalloprotease cleaves DdrO and relieves gene repression. At present, many questions remain, such as the number of genes regulated by DdrO. Here, we present the first ChIP-seq analysis performed at the genome level in *Deinococcus* species coupled with RNA-seq, which was achieved in the presence or not of DdrO. We also resequenced our laboratory stock strain of *D. radiodurans* R1 ATCC 13939 to obtain an accurate reference for read alignments and gene expression quantifications. We highlighted genes that are directly under the control of this transcriptional repressor and showed that the DdrO regulon in *D. radiodurans* includes numerous other genes than those previously described, including DNA and RNA metabolism proteins. These results thus pave the way to better understand the radioresistance pathways encoded by this bacterium and to compare the stress-induced responses mediated by this pair of proteins in diverse bacteria.

Keywords: radioresistance/desiccation; transcriptional regulator; *Deinococcus radiodurans*; ChIP-seq; RNA-seq; bioinformatic analyses

check for updates

Citation: Eugénie, N.; Zivanovic, Y.; Lelandais, G.; Coste, G.; Bouthier de la Tour, C.; Bentchikou, E.; Servant, P.; Confalonieri, F. Characterization of the Radiation Desiccation Response Regulon of the Radioresistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* by Integrative Genomic Analyses. *Cells* **2021**, *10*, 2536. https://doi.org/10.3390/cells10102536

Academic Editors: Bernard S. Lopez and Ivan Matic

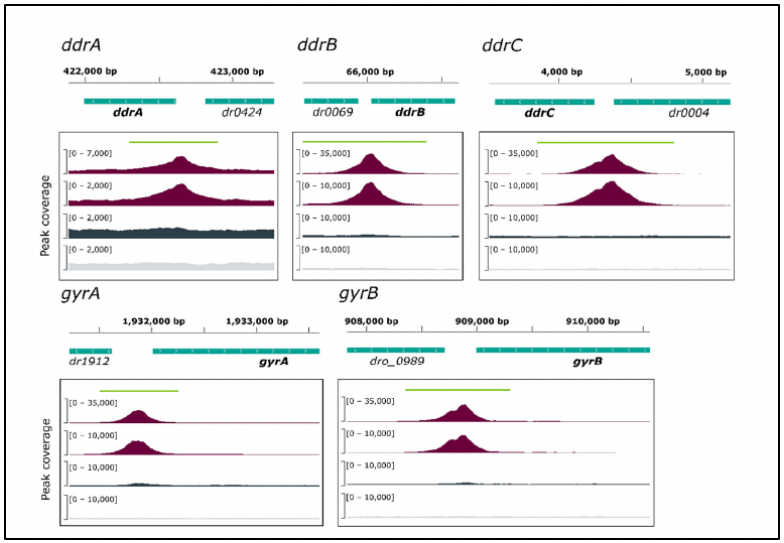
Received: 19 July 2021
Accepted: 10 September 2021
Published: 25 September 2021

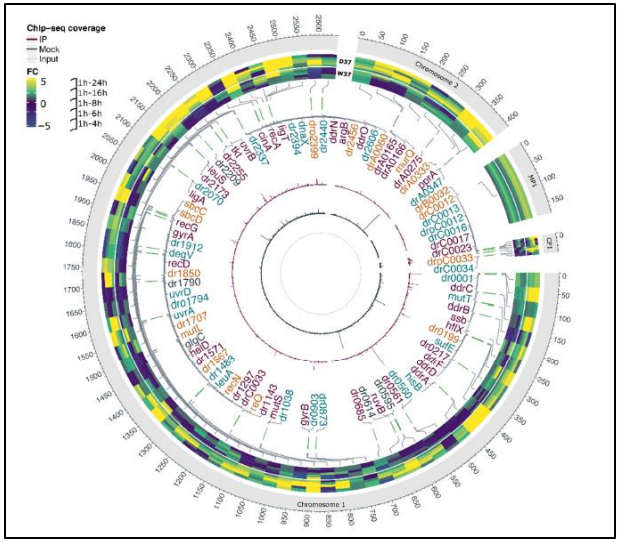
Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

1. Introduction

Deinococcus radiodurans is one of the most resistant bacteria to genotoxic agent exposure and desiccation isolated to date [1–4]. Unlike radiosensitive organisms, once exposed to huge γ-ray doses, or after prolonged desiccation, *D. radiodurans* is able to reconstruct an intact genome in a few hours from several hundred DNA fragments [5]. Many factors contribute to the radioresistance of *D. radiodurans*, including efficient DNA repair mechanisms [5–8], a condensed nucleoid limiting the dispersion of genome fragments after irradiation [9,10], and the protection of proteins against oxidative damage [11]. Thus, the exceptional ability of this bacterium to overcome severe DNA damaging conditions is described as a combination of active and passive mechanisms acting in synergy within the cell, enabling survival following these stresses.

The exposure of *D. radiodurans* to γ-rays, or its recovery from desiccation, results in a rapid upregulation of the expression of numerous genes [12,13], even if constitutively expressed genes are also involved in the mechanisms of radioresistance. In many bacterial species, expression of DNA repair genes is under the control of LexA, the repressor of the well-known SOS response (for review [14]). *D. radiodurans* encodes two LexA homologs

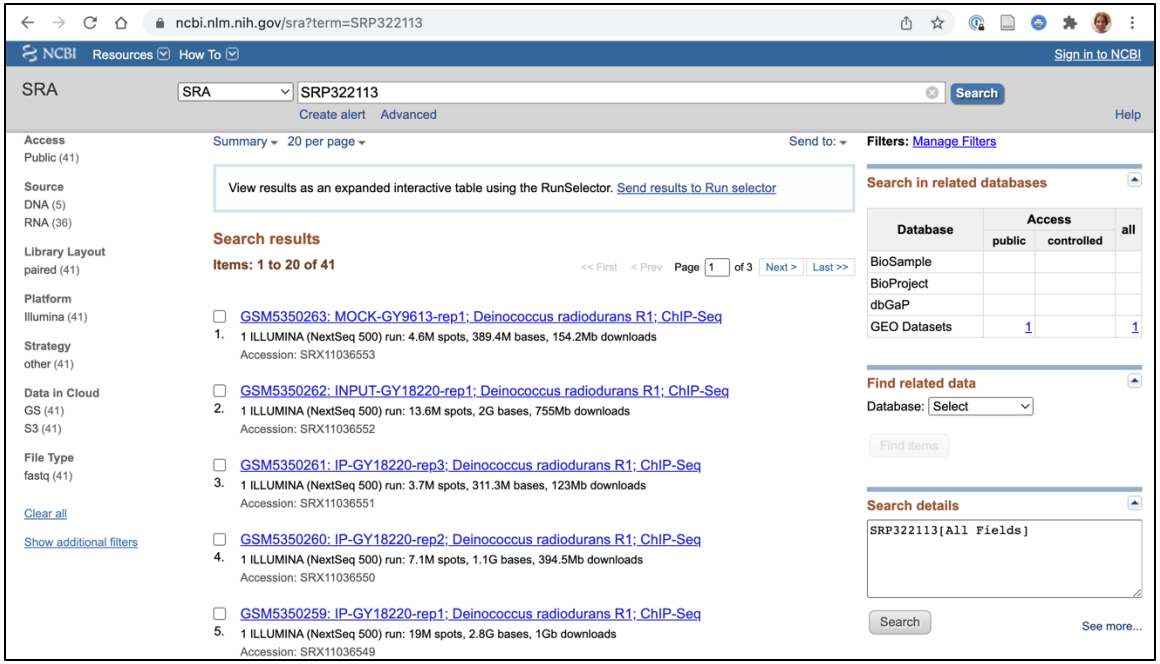




Etape 2 : Importer des fichiers FASTQ (RNAseq)

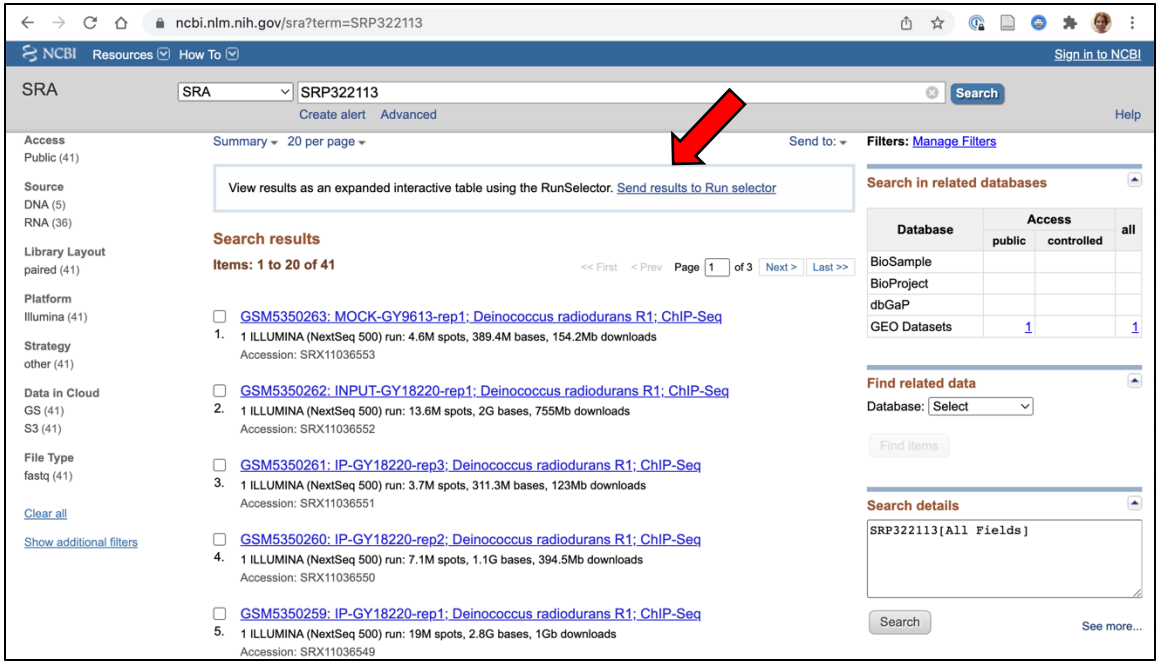
- Disponibilité des données sur SRA :

  https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra?term=SRP322113



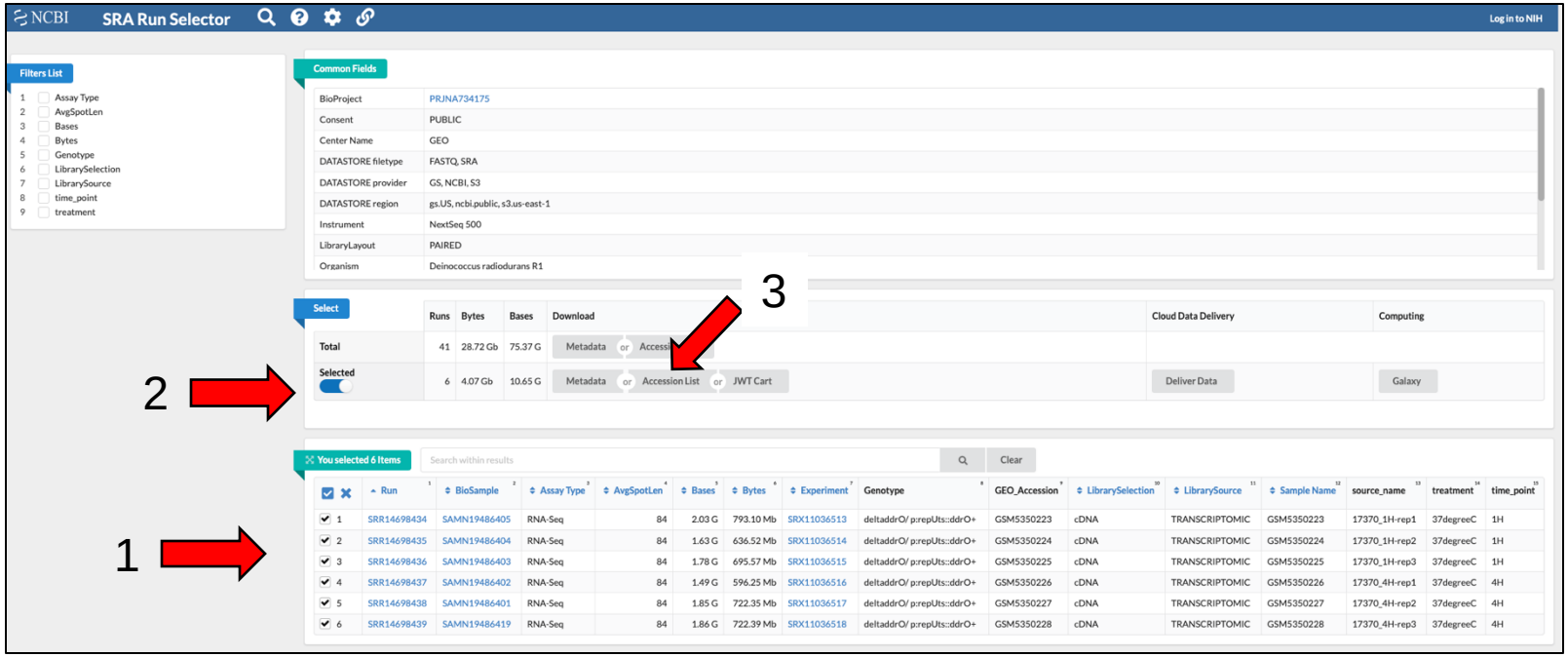
Etape 2 : Importer des fichiers FASTQ (RNAseq)

- Utilisation de l'outil « Run selector » pour choisir les échantillons :



Etape 2 : Importer des fichiers FASTQ (RNAseq)

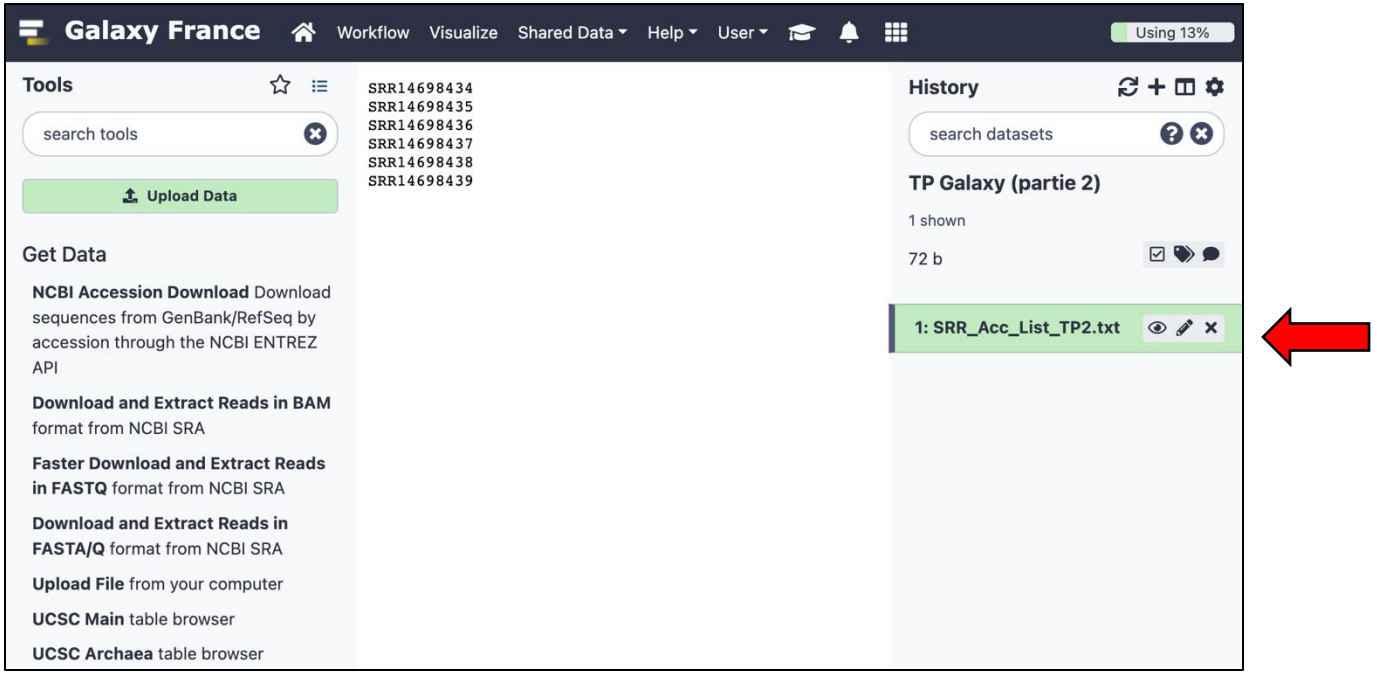
- Sélectionner les 3 réplicats 1H, ainsi que les 3 réplicats 4H, exporter un fichier texte avec les identifiants d'accession des échantillons :



(*) Le génotype de ces échantillons est D37

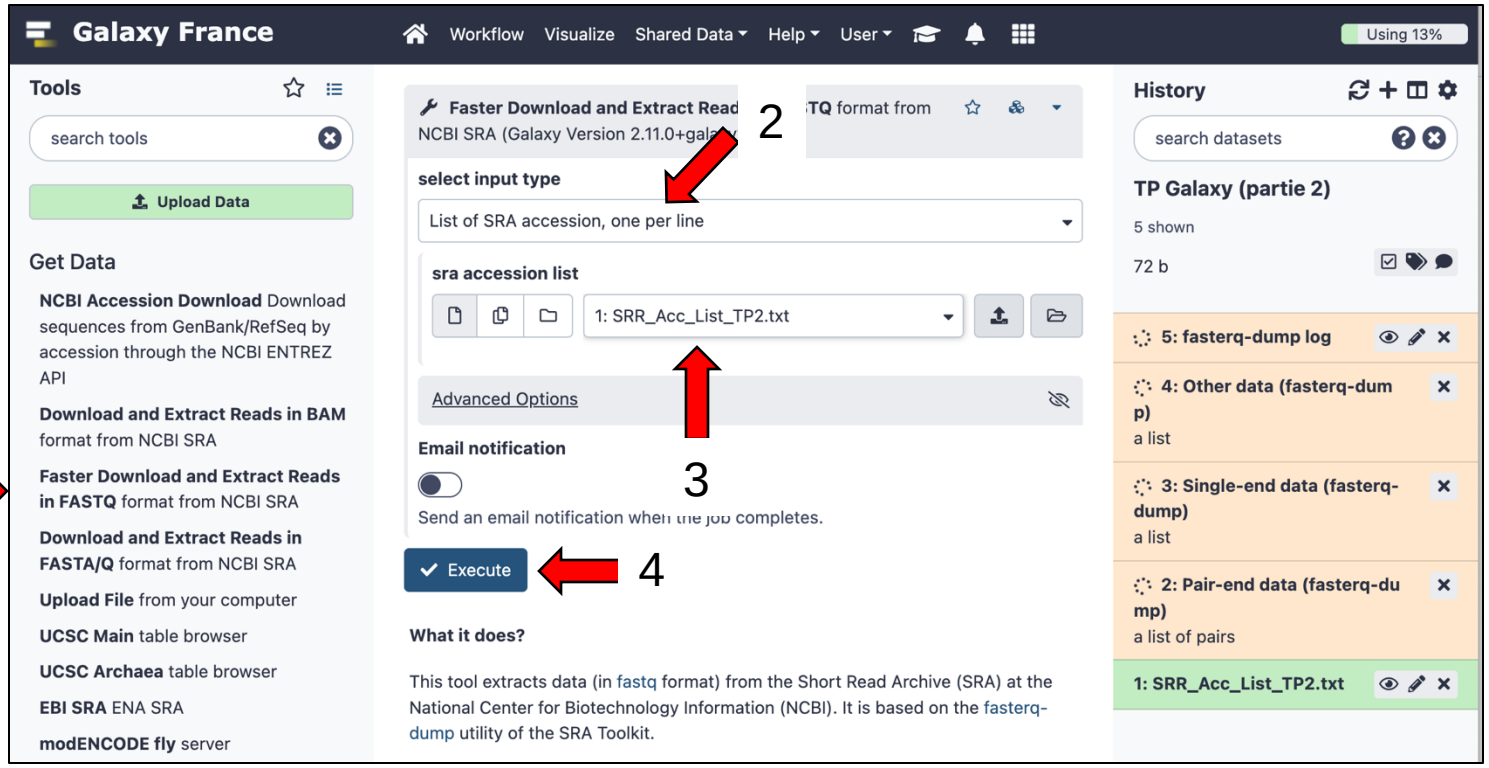
Etape 2 : Importer des fichiers FASTQ (RNAseq)

- Importer le fichier des identifiants SRA dans l'historique Galaxy :

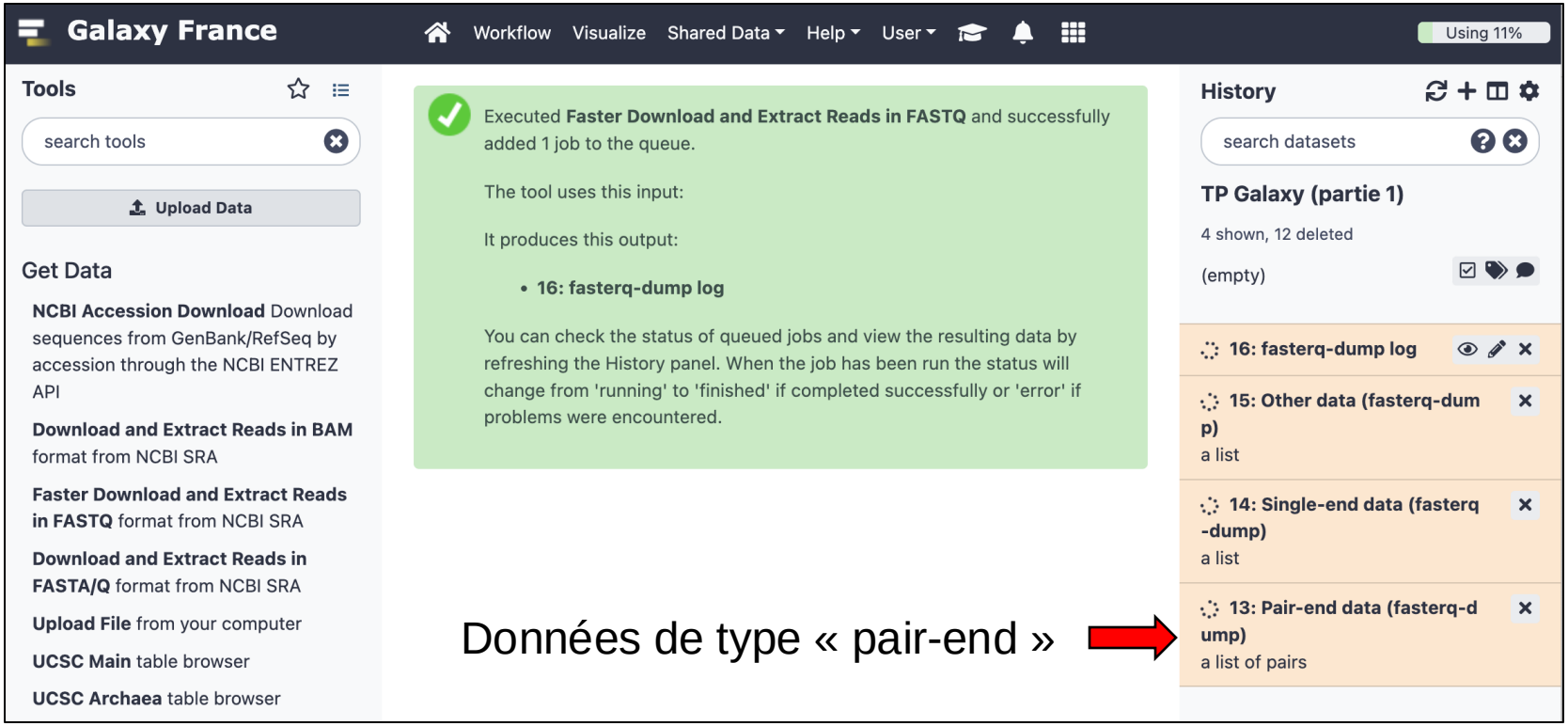


Etape 2 : Importer des fichiers FASTQ (RNAseq)

- Importer le fichier FASTQ dans l'historique de travail
  - Outil : Get Data / Faster Download and Extract Reads in FASTQ



Temps attente (un peu long…)



Historique de secours

- Si l'importation des fichiers FASTQ depuis la banque de données SRA est trop longue, vous pouvez importer les données de mon historique de secours :

https://usegalaxy.fr/u/gaellelelandais/h/backup---tp-galaxy-partie-2

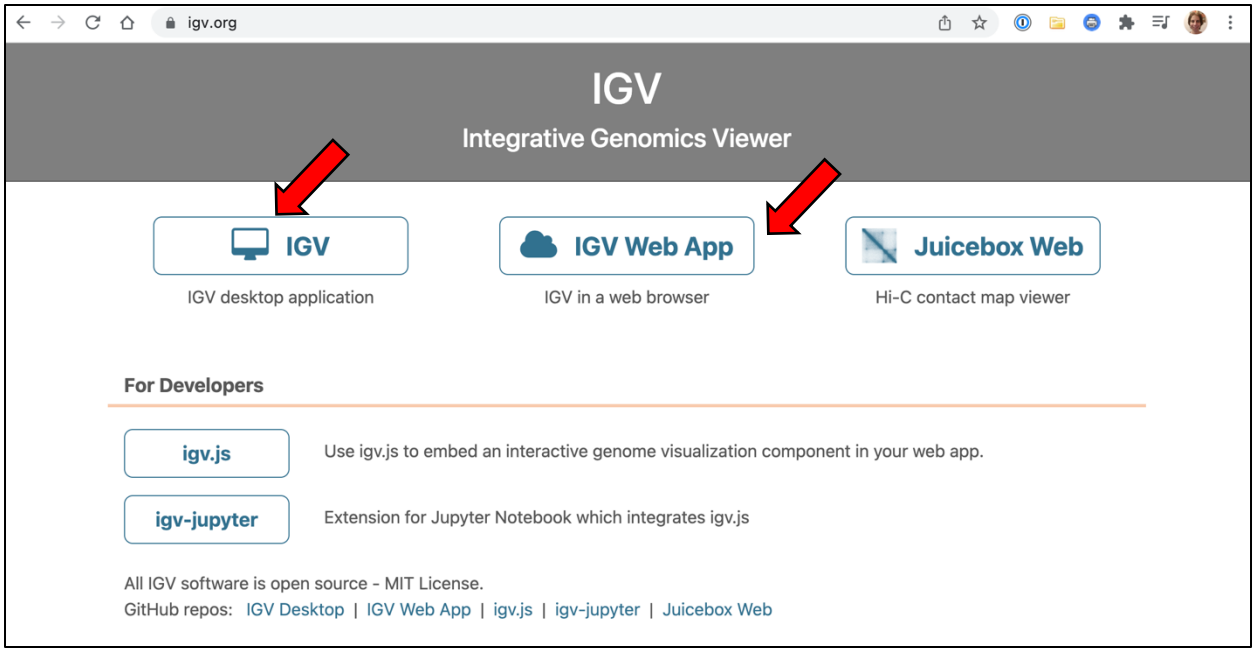
- Passez ensuite à l'étape suivante !

Etape 3 : Reproduire le TP Galaxy (partie 1)

- Contrôle de la qualité des séquences avec le logiciel FASTQC
- Alignement des séquences sur le génome de référence avec le logiciel BOWTIE2

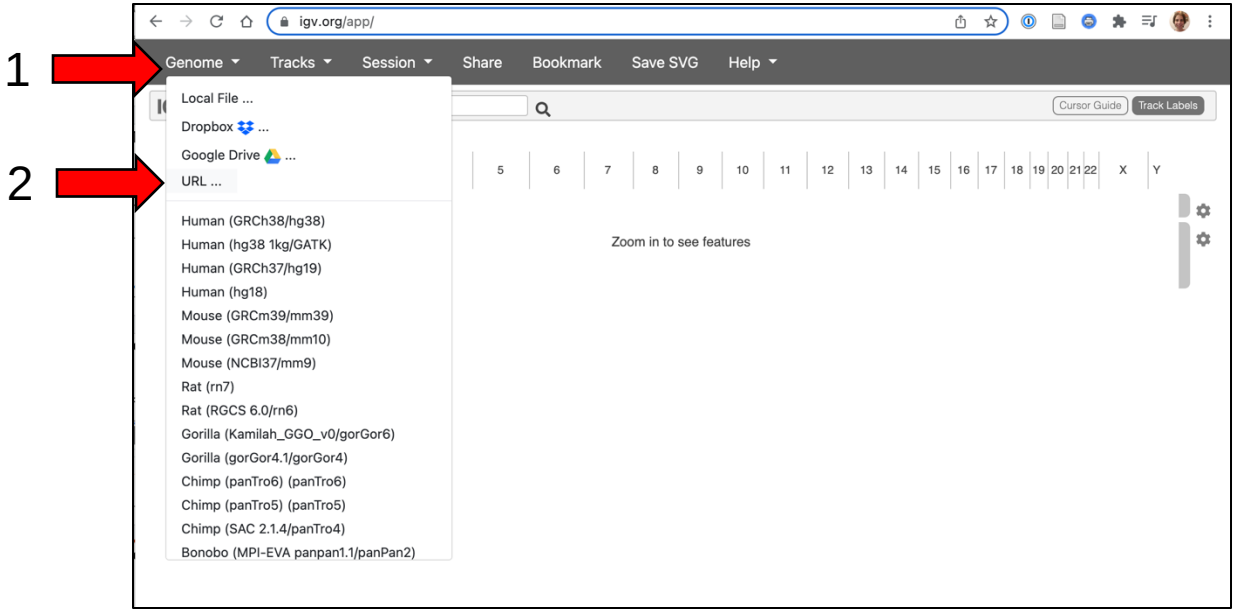
Etape 4 : Visualisation des résultats avec IGV

- Accéder à la page Web de présentation de l'outil. Deux utilisations du logiciel sont possibles, en local ou bien sur un serveur distant.



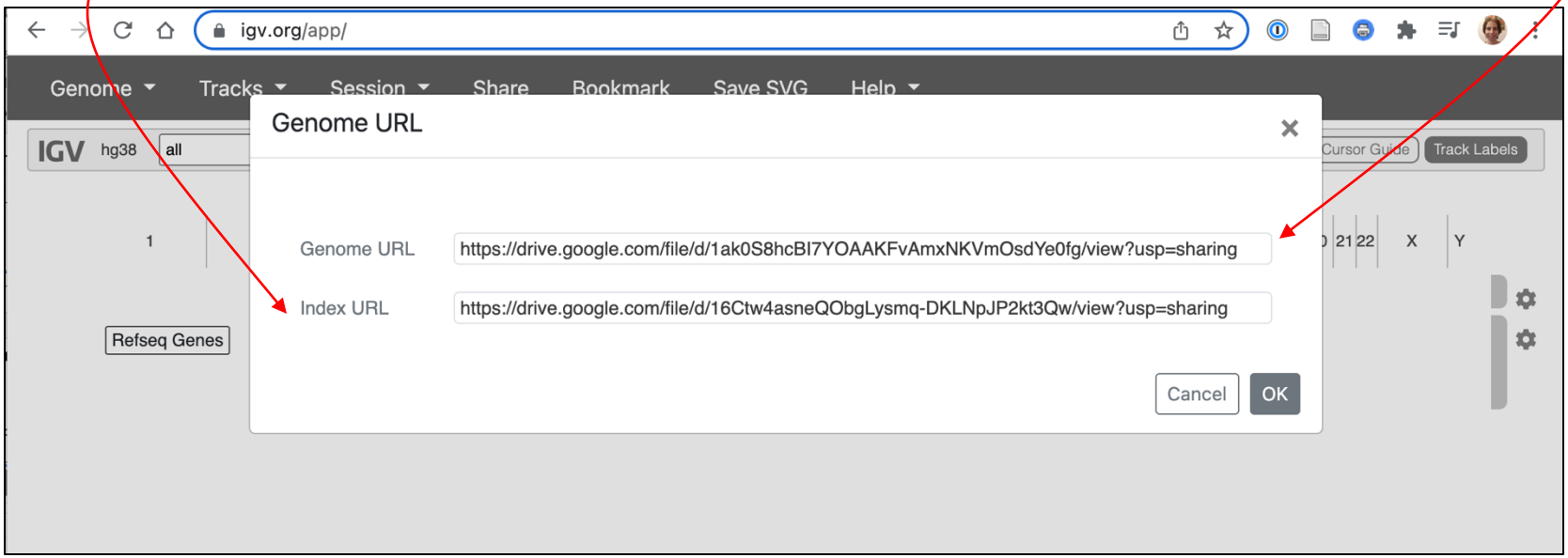
Etape 4 : Visualisation des résultats avec IGV

- Importer le génome de référence (FASTA) dans IGV. Il est conseillé d'utiliser les liens suivants :
  - https://drive.google.com/file/d/1AQ2RI94PoM0J862lOm8lT7pokMe4iku5/view?usp=share_link (Genome link)
  - https://drive.google.com/file/d/174JkfN1Bh2750rPqnhzrtvZUfnmKd8Bb/view?usp=share_link (Index link)



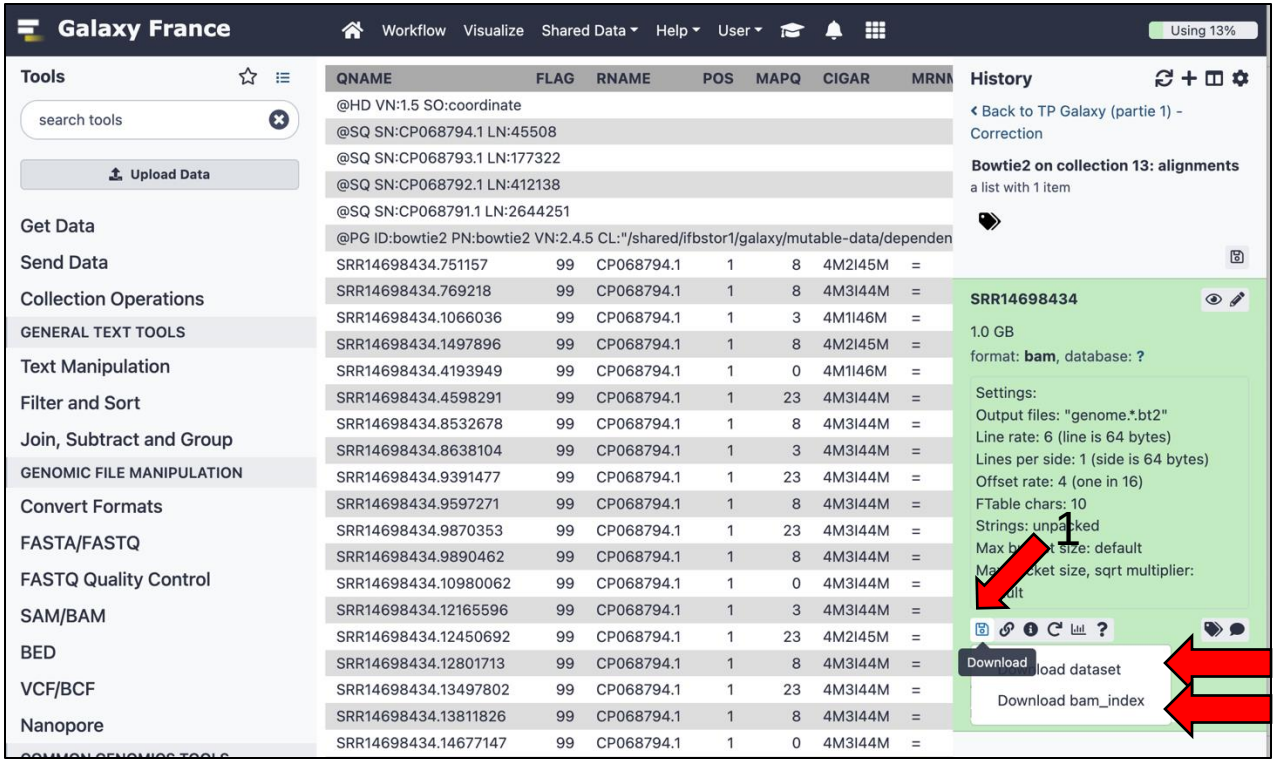
Etape 4 : Visualisation des résultats avec IGV

- Importer le génome de référence (FASTA) dans IGV. Il est conseillé d'utiliser les liens suivants :
  - https://drive.google.com/file/d/1AQ2RI94PoM0J862lOm8lT7pokMe4iku5/view?usp=share_link (Genome link)
  - https://drive.google.com/file/d/174JkfN1Bh2750rPqnhzrtvZUfnmKd8Bb/view?usp=share_link (Index link)



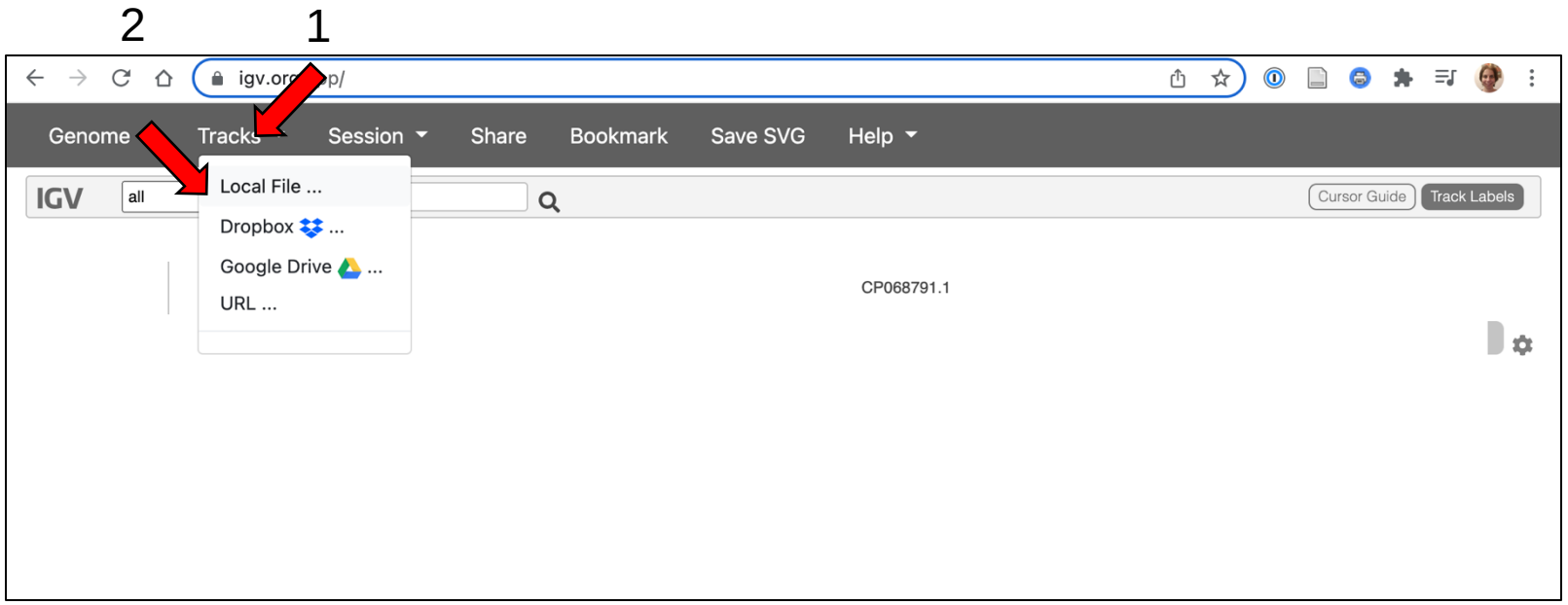
Etape 4 : Visualisation des résultats avec IGV

- Télécharger les fichiers BAM et BAM_INDEX, résultats de l'alignement des séquences sur le génome de référence :



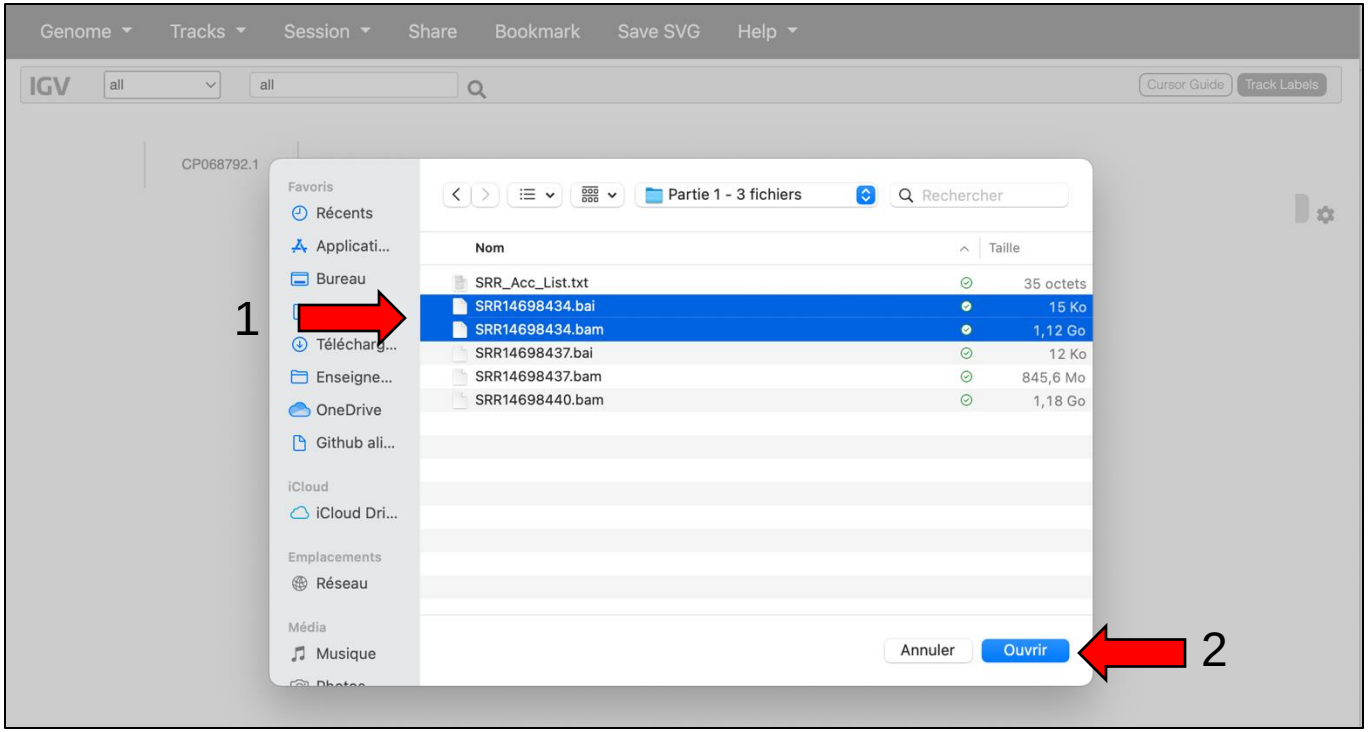
Etape 4 : Visualisation des résultats avec IGV

- Importer les fichiers BAM et BAM_INDEX dans IGV :



Etape 4 : Visualisation des résultats avec IGV

- Importer ensemble les fichiers BAM et BAM_INDEX dans IGV :



Etape 4 : Visualisation des résultats avec IGV

- Et voilà ☺

Conseil : Installation du logiciel IGV en local

- La version Web d'IGV a l'avantage d'exister et d'être gratuite !
- Il lui manque toutefois quelques fonctionnalités utiles pour analyser les résultats.
- Si possible, il est donc recommandé d'installer la version locale d'IGV : https://software.broadinstitute.org/software/igv/download

Fin de la partie 2 ☺

Gaëlle LELANDAIS

Version du document : 05/02/2025