

ATGAGAGCTT TGGCATATTT CAAGAAGGGT GATATTCAC TCACTAATGA
TATCCCTAGG CCAGAAATCC AAACCGACGA TGAGGTTATT ATCGACGTCT
CTTGGTGTGG GATTTGTGGC TCGGATCTTC ACGAGTACTT GGATGGTCCA

Euroviti, Angers, 11 janvier 2010



Intérêt de la connaissance des génomes pour l'amélioration des levures

Sylvie DEQUIN

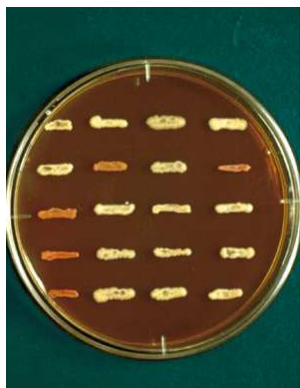
INRA, UMR1083 Sciences pour l'Œnologie (SPO)
Montpellier



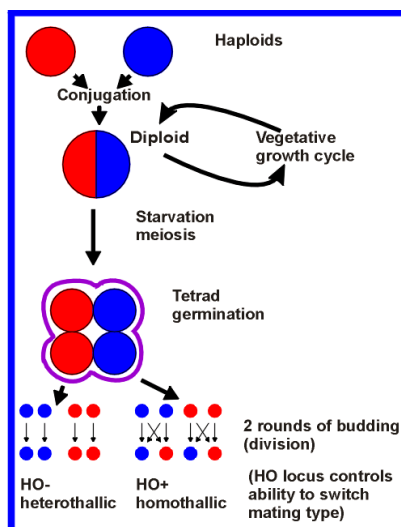
Contact: dequin@supagro.inra.fr

Stratégies d'amélioration des levures oenologiques

Sélection/mutagénèse au hasard



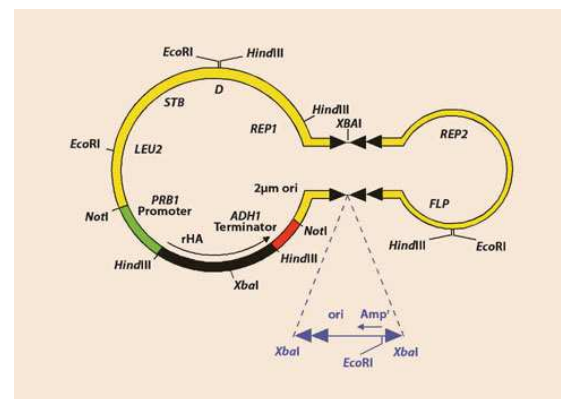
Hybridation



croisements entre levures de la même espèce (*S. cerevisiae*)

Exploitation de la biodiversité naturelle

Ingénierie génétique



techniques de manipulation de l'ADN *in vitro* conduisent à des OGM

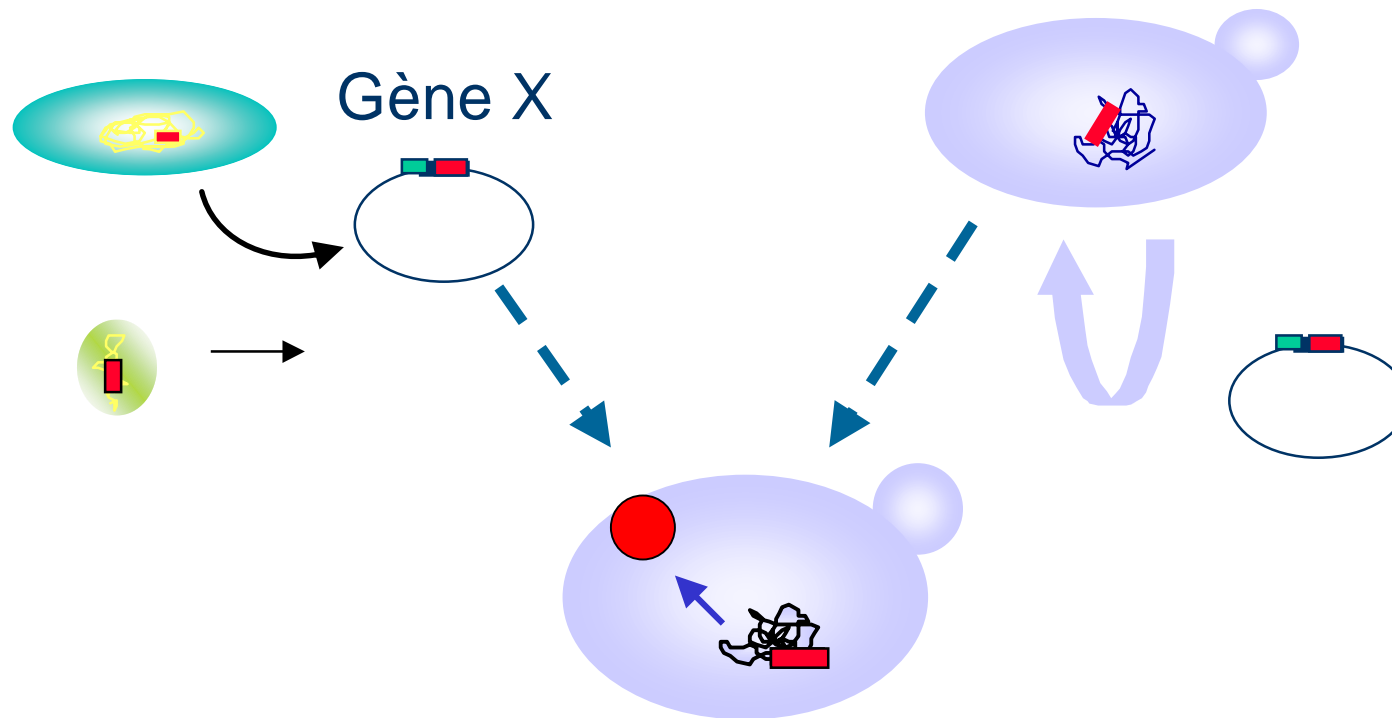
Nouvelles fonctions



Ingénierie génétique (OGM)

Introduction de nouveaux gènes

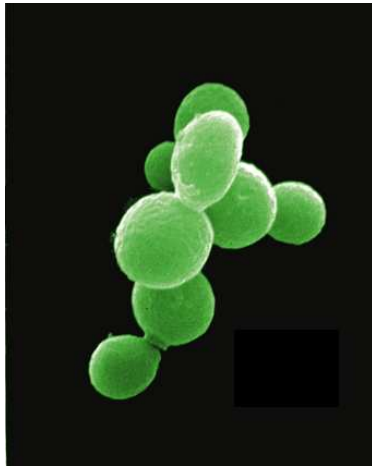
Modification de gènes existants



Levure avec de nouvelles propriétés



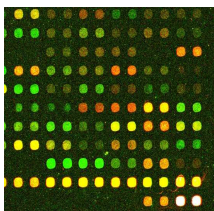
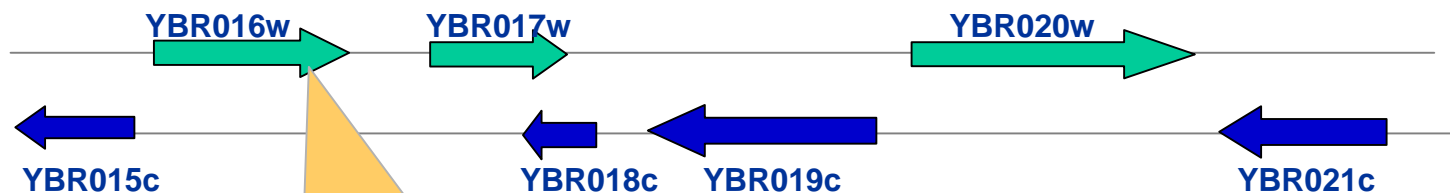
Génome de la levure *Saccharomyces cerevisiae*



1996 : Décryptage du génome de la levure de laboratoire *Saccharomyces cerevisiae*

13 millions de paires de bases

Environ 6000 gènes



Gène N°
Fonction, métabolisme
Conditions d'expression
Effets de la mutation du gène (en conditions de laboratoire)

Des bases de données sans cesse enrichies



Applications

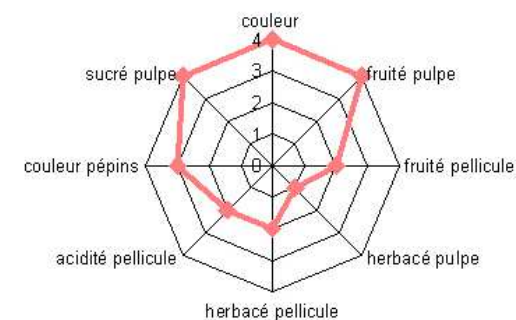
Simplification des procédés de vinification

- Souche malolactique
- Souches sécrétant des enzymes : pectinases, cellulases
- Souche utilisant mieux le fructose



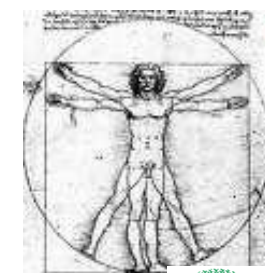
Amélioration de la qualité organoleptique des vins

- Souche acidifiante
- Souches à forte production d'esters
- Souches productrices de glucosidases
- Souche à faible rendement en alcool



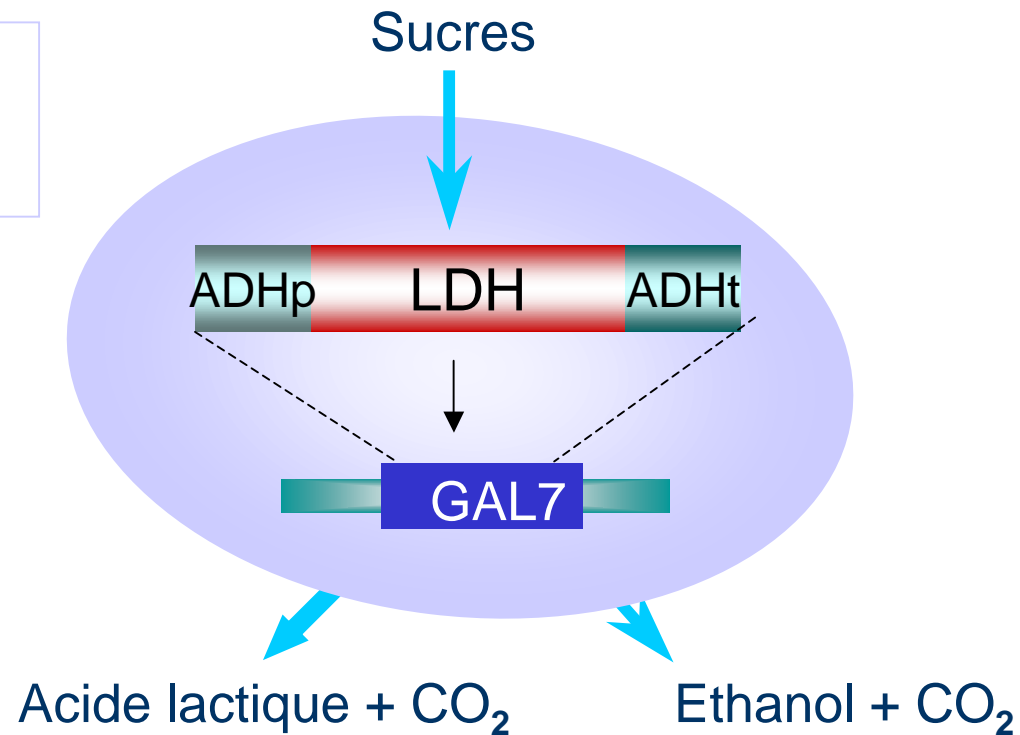
Amélioration de la qualité sanitaire

- Souches à production d'urée réduite (carbamate d'éthyle)
- Souches productrices de bactériocines (antibactérien, réduction SO₂)



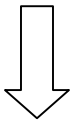
Levures acidifiantes : production d'acide lactique

Gène bactérien de
lactico-déshydrogénase
(LDH)

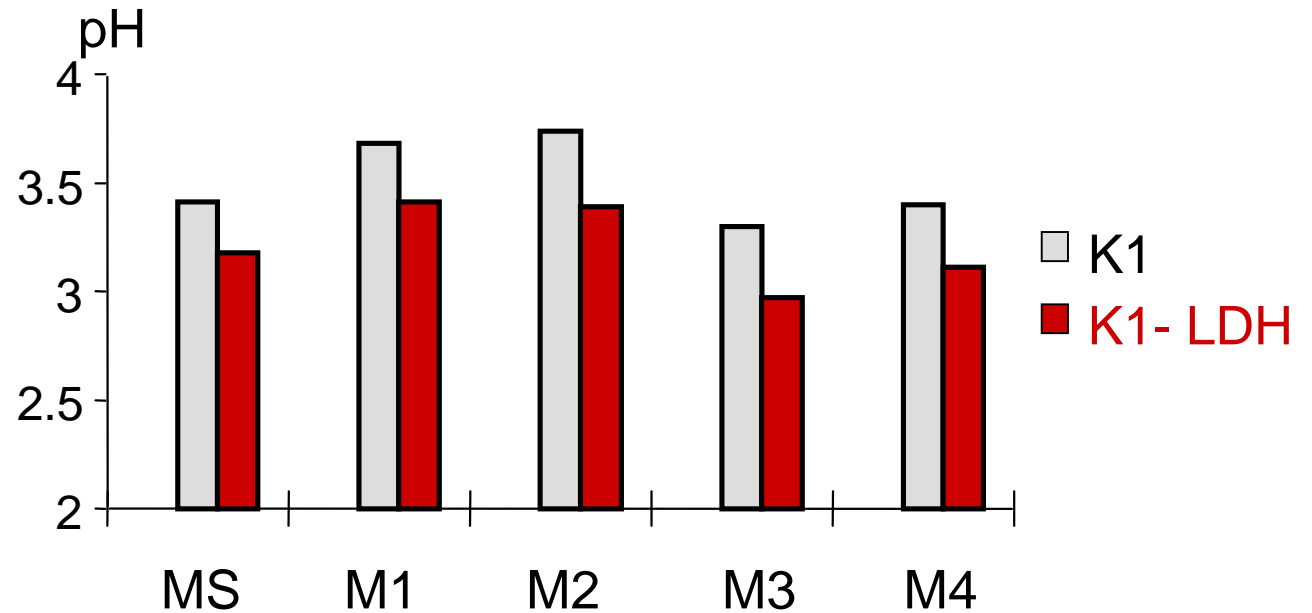


Levures acidifiantes : impact sur le pH des vins

Gène LDH



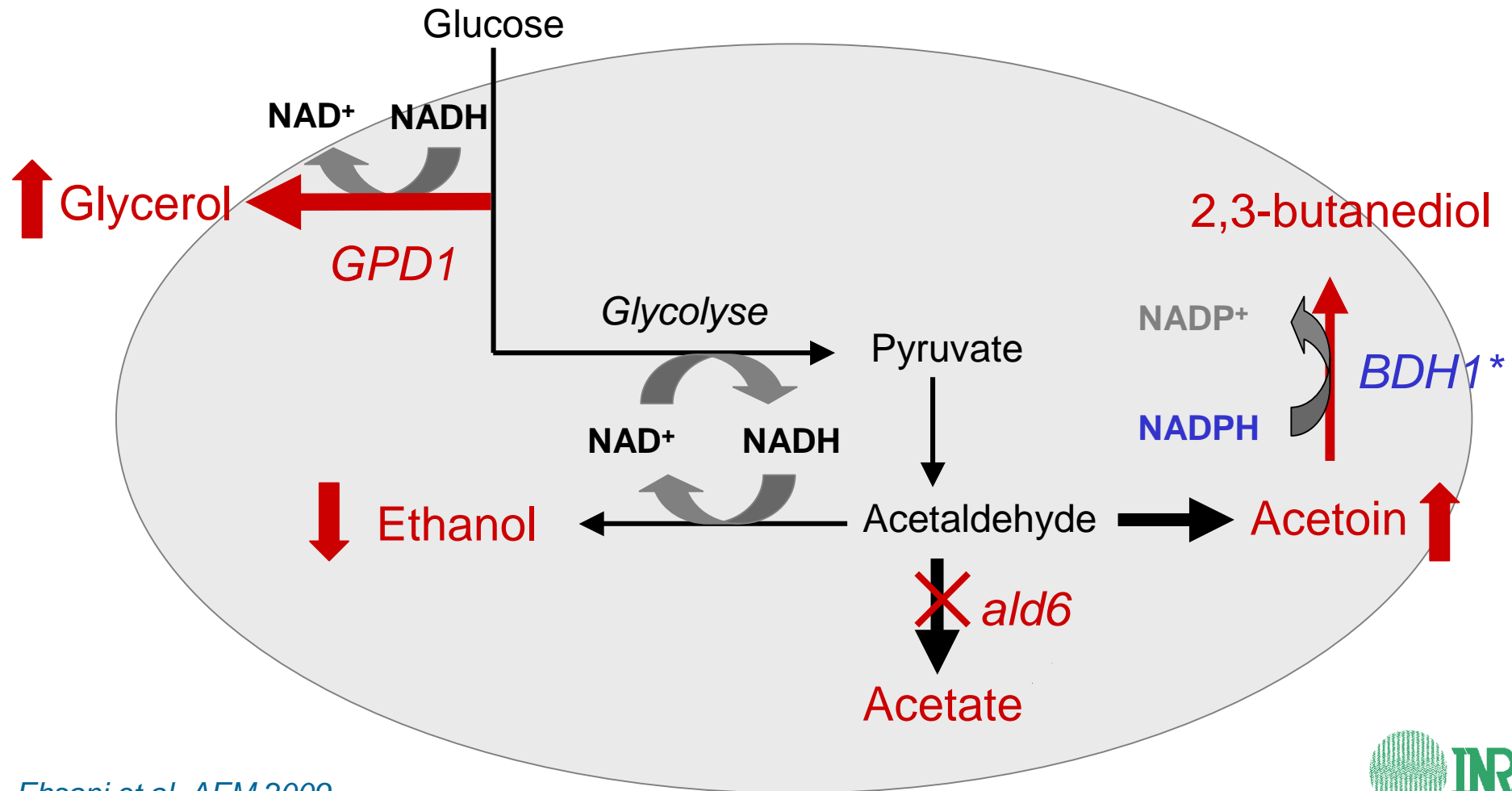
souches produisant
5 g/L acide lactique



Impact sur le pH : 0.2 à 0.35 U selon le moût

Levures faibles productrices d'alcool : approche glycérol

- Diminution du rendement éthanol de 15-20%
- Maîtrise de la formation des sous produits

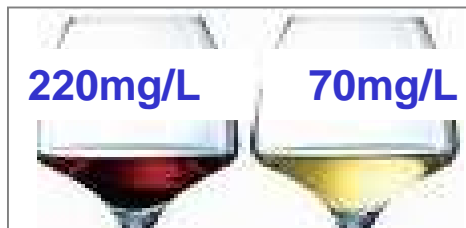
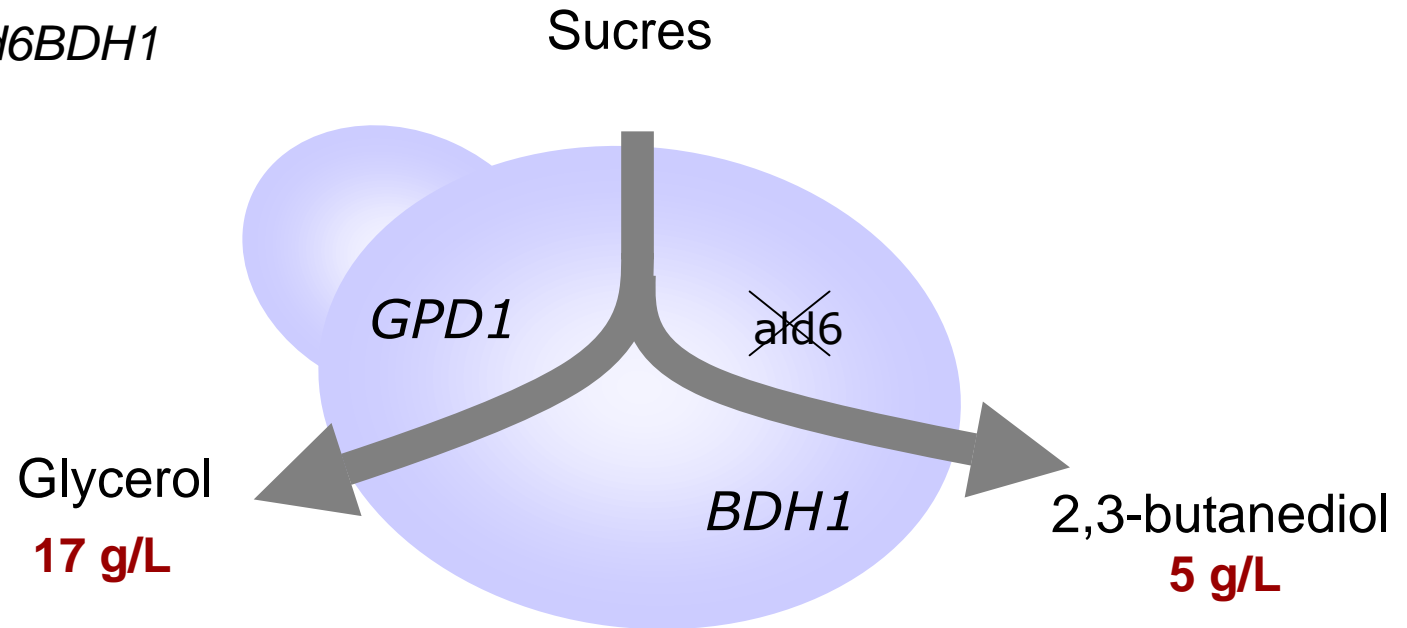


Ehsani et al, AEM 2009



Levures faibles productrices d'alcool : approche glycérol

EC1118 *GPD1ald6BDH1*
Chardonnay



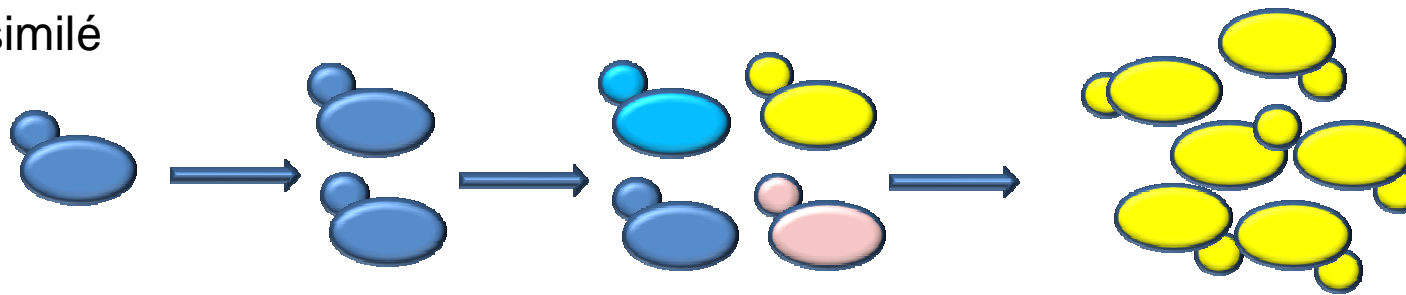
Seuil de détection acétoine

Réduction éthanol de 1.5°
acétoine: < 70 mg/L



Autres stratégies d'amélioration : évolution dirigée

Ex: croissance sur
un substrat mal
assimilé



X générations

↗ taux mutations
↗ diversité

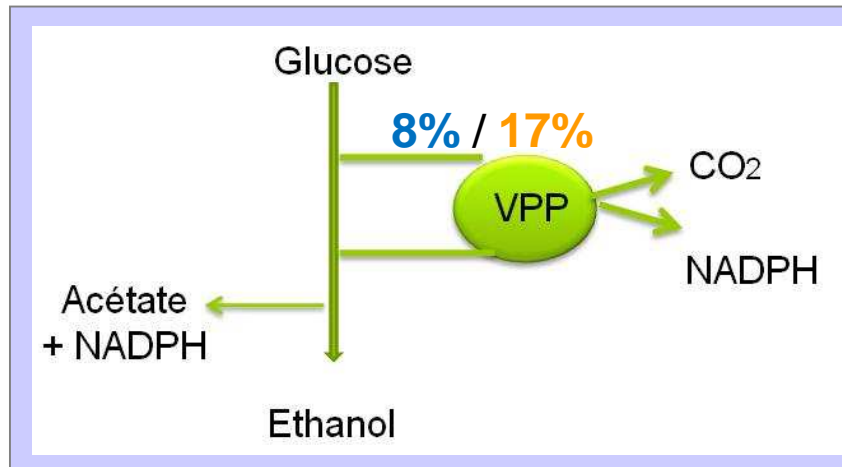
Souche évoluée



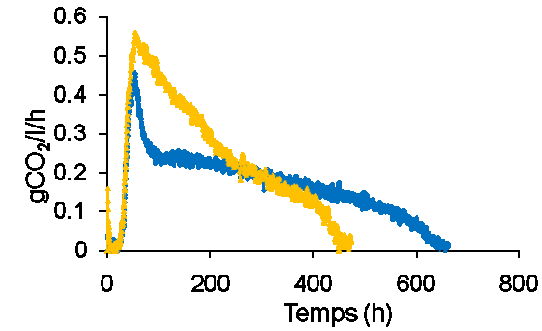
Propriétés de ECA5

Analyse ^{13}C -flux

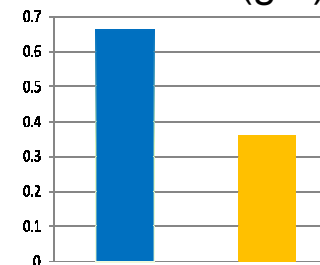
EC1118 / ECA5



MS 70 240g/L glucose 18°C



Acetate (g/L)



Faible effet sur la production d'éthanol

Propriétés aromatiques

Accès à la diversité des génomes par séquençage

Des génomes de différentes souches de *Saccharomyces* séquencés

Le génome d'une souche oenologique commerciale séquencé : EC1118

Novo et al, PNAS, sept 2009



Eukaryote-to-eukaryote gene transfer events revealed by the genome sequence of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae* EC1118

Maite Novo^{a,1}, Frédéric Bigey^{a,1}, Emmanuelle Beyne^a, Virginie Galeote^a, Frédéric Gavory^b, Sandrine Mallet^c, Brigitte Cambon^a, Jean-Luc Legras^d, Patrick Wincker^b, Serge Casaregola^c, and Sylvie Dequin^{a,2}

^aInstitut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1083 Sciences Pour l'Oenologie, F-34060 Montpellier, France; ^bCommissariat à l'Energie Atomique, Genoscope, F-91057 Evry, France; ^cInstitut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1238 Microbiologie et Génétique Moléculaire, Centre National de la Recherche Scientifique, AgroParisTech, F-78850 Thiverval-Grignon, France; and ^dInstitut National de la Recherche Agronomique, Unité Mixte de Recherche 1131 Santé de la Vigne et Qualité du Vin, F-68021 Colmar, France

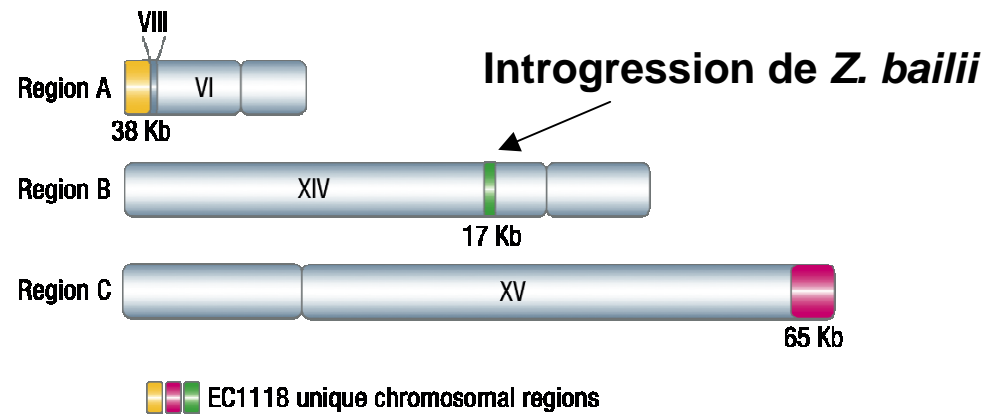
Edited by Jasper Rine, University of California, Berkeley, CA, and approved August 3, 2009 (received for review May 5, 2009)

- Inra Montpellier, collaboration avec l'inra de Grignon + Inra Colmar
- Génoscope



Variations du génome de EC1118 par rapport aux autres souches

- Réarrangements chromosomiques
- Présence de nouvelles régions/nouveaux gènes apportés par transfert horizontal



- Ampleur du polymorphisme de séquence : > 50 000 mutations entre EC1118 et la souche de référence

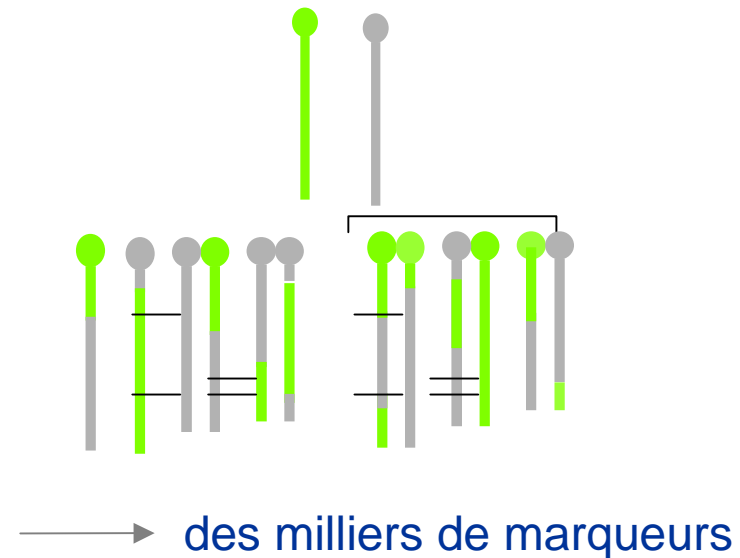
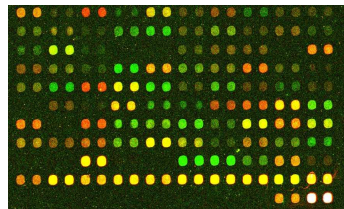
Base principale de la biodiversité phénotypique

Identifier les bases génétiques des propriétés des souches

- Approches de génétique quantitative, recherche de QTL (quantitative trait locus)

Création de lignées recombinées

Analyse phénotypes / génotypage



- Identification de corrélations marqueurs – caractères
- Accès aux polymorphismes impliqués dans des propriétés des souches



Conclusion/perspectives

- Nombreuses souches développées au cours des 15 dernières années, certaines ayant un fort potentiel dans le contexte actuel (faible rendement alcool ou acidifiante)

Limites : acceptabilité des approches OGM

- Les démarches actuelles s'appuient sur des approches non OGM : évolution dirigée, hybridation assistée par marqueur

Connaissance du génome :

- ✓ meilleure compréhension de la physiologie des levures
- ✓ accès aux bases génétiques des propriétés technologiques
- ✓ définition de cibles pour l'amélioration génétique ou la sélection



Genome EC1118

Maite Novo (post doc)

Emmanuelle Beyne (post doc)

Frédéric Bigey

Virginie Galeote

Brigitte Cambon

Amélioration des souches

Carole Camarasa

Stéphanie Heux (PhD)

Maryam Ehsani (PhD)

Axelle Cadière (PhD)

Approaches QTL

Bruno Blondin

Chloe Ambroset (PhD)

Collaborations

Inra, Paris

Serge Casaregola

Sandrine Mallet

Génoscope, Evry

Patrick Wincker

Frédéric Gavory

Inra, Colmar

Jean-Luc Legras

