

**INRA**  
SCIENCE & IMPACT



# RenKSeq

Clonage de gènes de résistance à la septoriose du blé



# La septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici*)

- Maladie la plus fréquente chez le blé
- Baisse des rendements de 15 à 20%



- Contrôle par fongicides
- Résistances contournées

# RenKSeq: Genèse

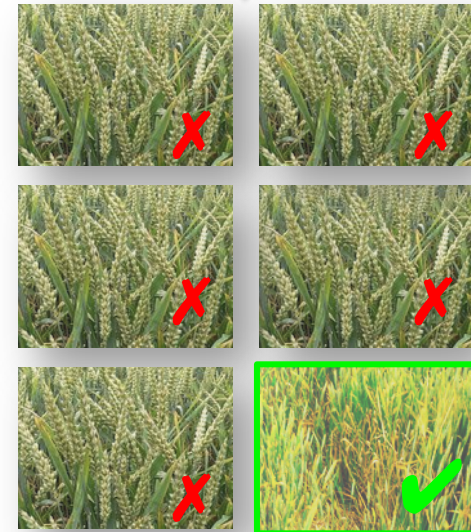
1- Criblage d'un panel de diversité



2- Identification de variétés résistantes

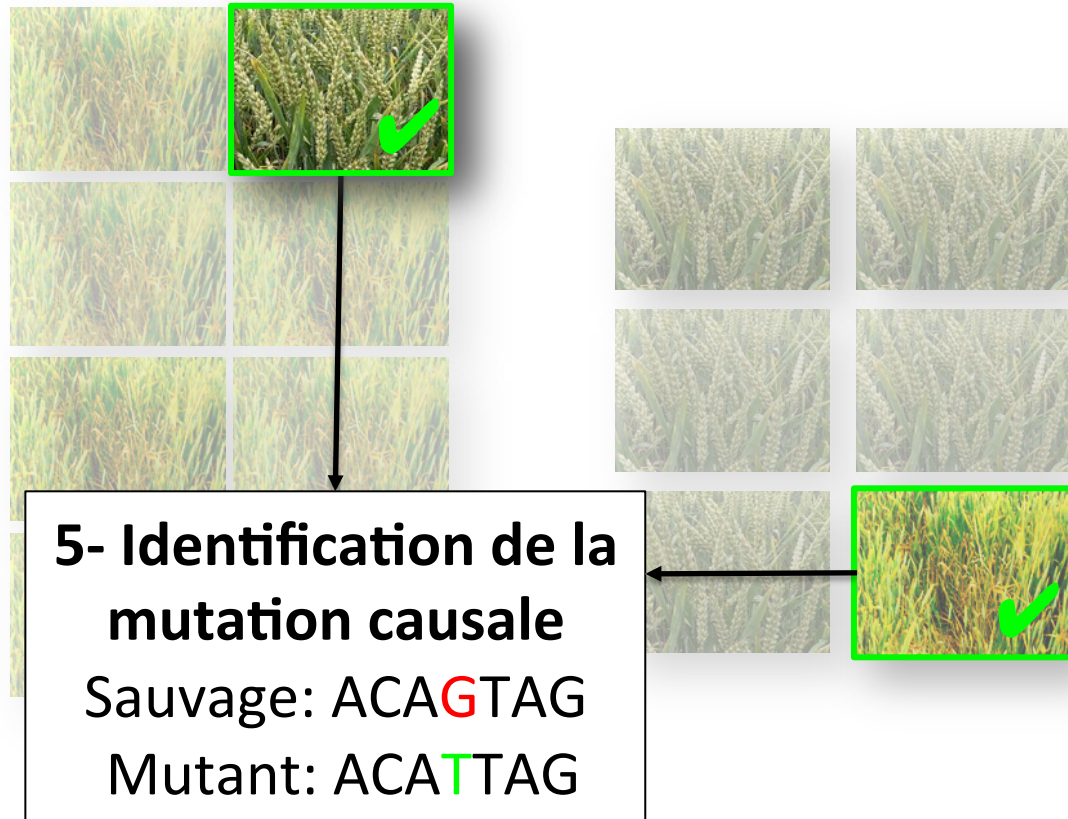


3- Mutations aléatoires (EMS)



4- Identification des mutants sensibles

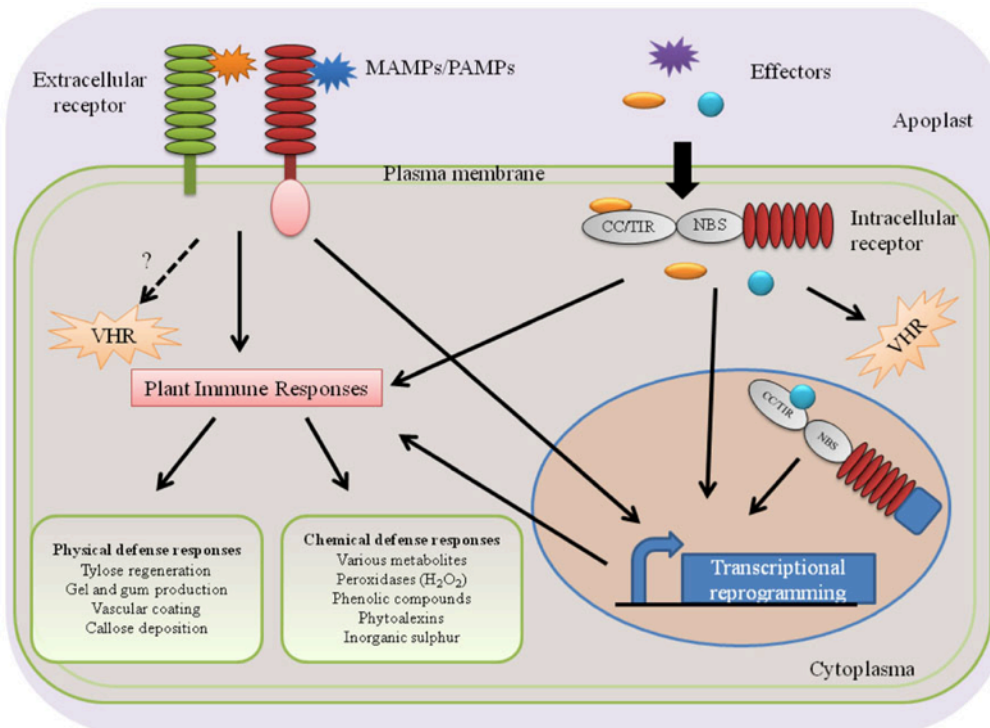
# RenKSeq: Genèse



# RenKSeq: Accès à la mutation causale

Deux grand types de gènes de résistance:

- 1- Récepteurs exposés en surface cellulaire (RLK-RLP)
- 2- Récepteurs d'effecteurs spécifiques (NBS-LRR)



Yadeta and Thomma 2013

"Stb6 encodes a wall-associated kinase-like (WAK) protein", by C Saintenac #INRA #GDEC, #ISSDC #Zymoseptoria

LETTERS

<https://doi.org/10.1038/s41588-018-0051-x>

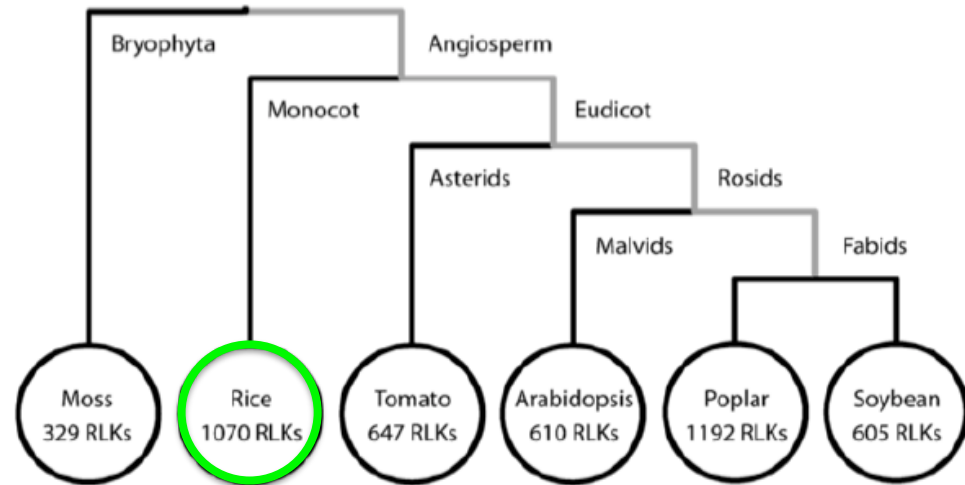
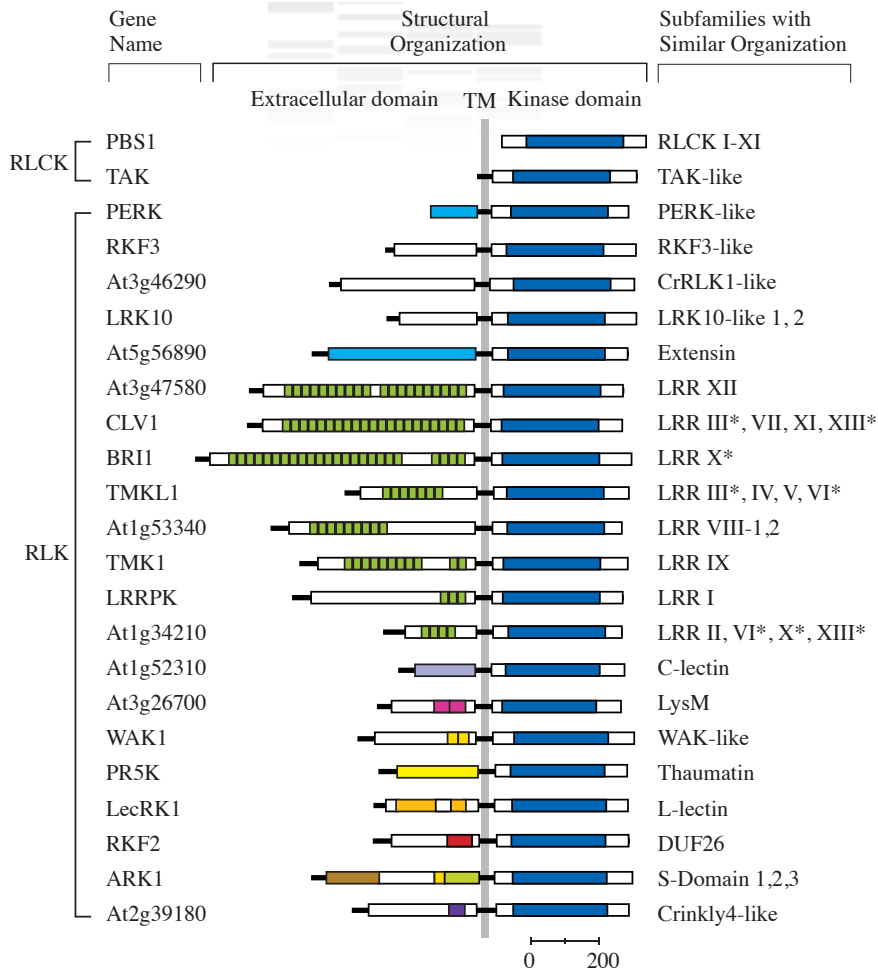
nature genetics

**Wheat receptor-kinase-like protein Stb6 controls gene-for-gene resistance to fungal pathogen *Zymoseptoria tritici***

Cyrille Saintenac<sup>1\*</sup>, Wing-Sham Lee<sup>2</sup>, Florence Cambon<sup>1</sup>, Jason J. Rudd<sup>2</sup>, Robert C. King<sup>3</sup>, William Marande<sup>4</sup>, Stephen J. Powers<sup>3</sup>, Hélène Bergès<sup>4</sup>, Andy L. Phillips<sup>5</sup>, Cristobal Uauy<sup>6</sup>, Kim E. Hammond-Kosack<sup>2</sup>, Thierry Langin<sup>1</sup> and Kostya Kanyuka<sup>2\*</sup>

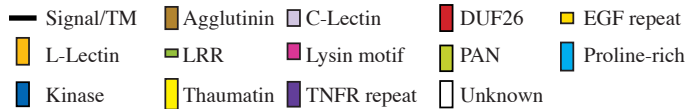
- Stb16 est une RLK
  - Snn1 est une WAK
  - ...
- > ciblage des RLKs

# RenKSeq: Ciblage du « RLK-ome »



Adapté de Sakamoto *et al.* 2012

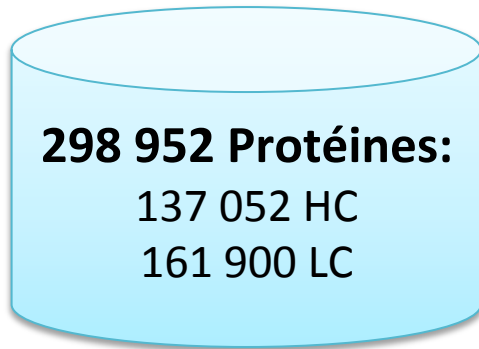
*Aegilops tauschii* 925 RLKs (Luo *et al.* 2017)



Shiu and Bleeker 2001

# RenKSeq: RLK-ome du blé

*Triticum aestivum* cv. Chinese Spring  
predicted proteome (IWGSC)



**8619 protéines Kinases:**  
6877 gènes (1449 LC, 5428 HC)

*Research*

## **Diversity, classification and function of the plant protein kinase superfamily**

Melissa D. Lehti-Shiu and Shin-Han Shiu\*

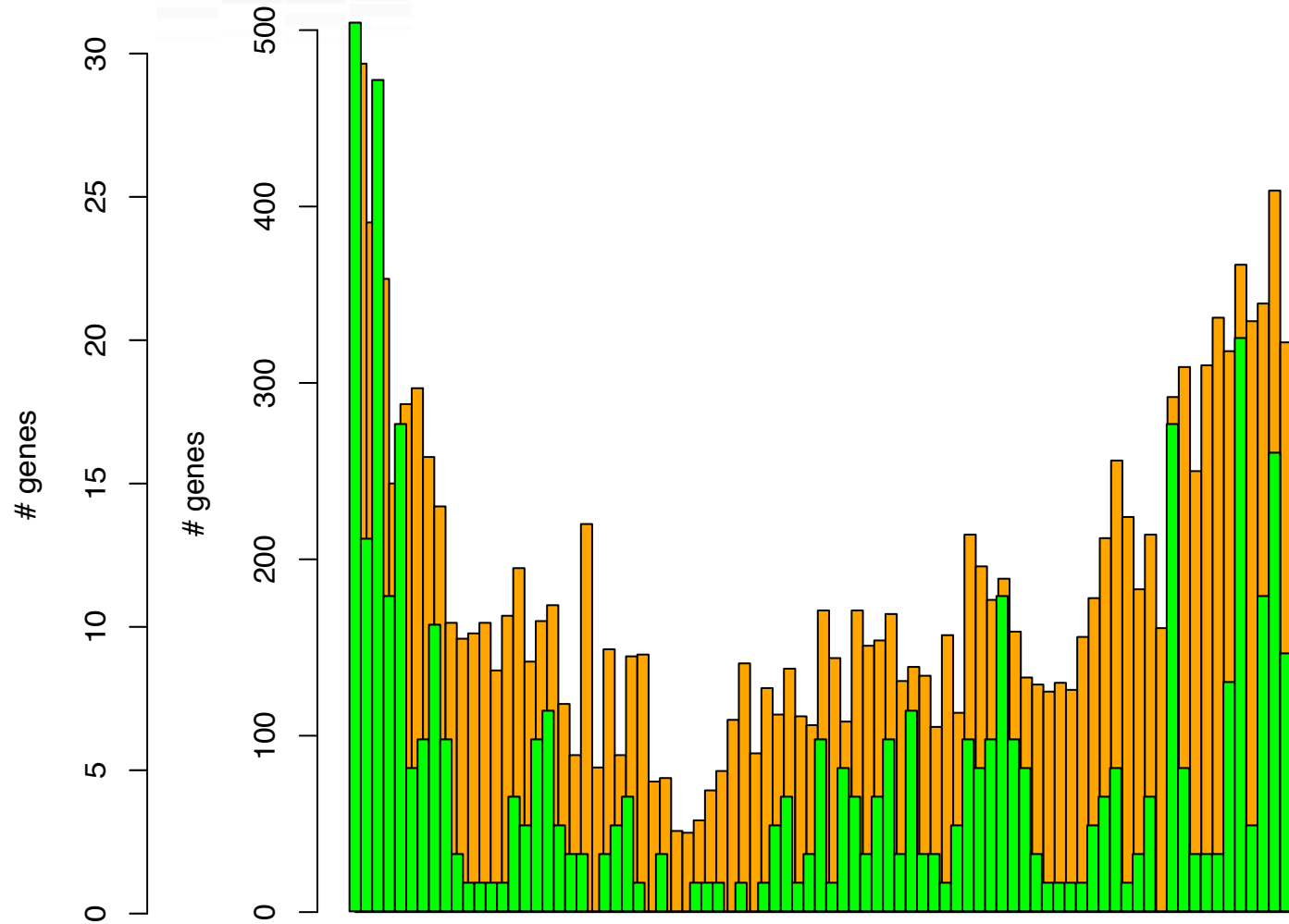
Profiles de Markov cachés





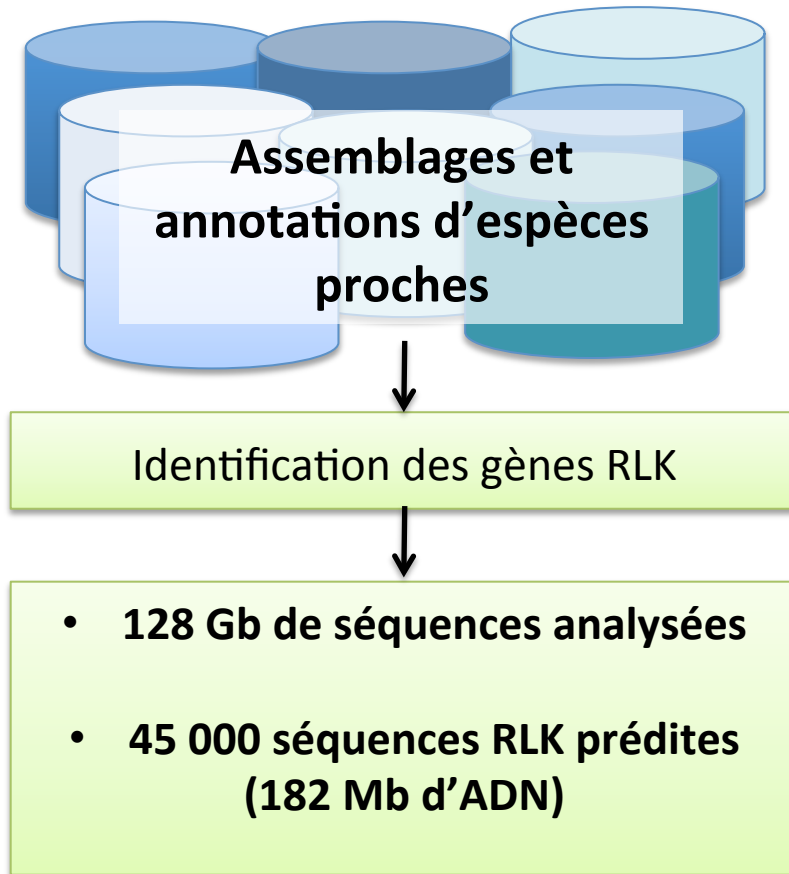
# RenKSeq: RLK-ome du blé

chr3B



# RenKseq: RLK-ome des blés

## Intégration d'autres ressources génomiques



### Proteomes annotés (RLKs / protéines prédites totales)

- IWGSC (Chinese spring) : 6 452 / 298 952
- Earlham institute (Chinese spring) : 7 064 / 249 547
- Wild emmer genome (Zavitan) : 10 168 / 398 438

### Assemblages non annotés : (*de novo* only)

- Cadenza
- Claire
- Kronos
- Paragon
- Robigus
- Svevo
- TGAC\_WGS\_durum\_v1
- TGAC\_WGS\_monococcum\_v1
- TGAC\_WGS\_speltoides\_v1
- TGAC\_WGS\_strongfield\_v1
- TGAC\_WGS\_tauschii\_v1
- TGAC\_WGS\_urartu\_v1
- TSL\_WGS\_sharonensis\_v1

# RenKSeq: Dessin des sondes de capture



Identification  
des RLK

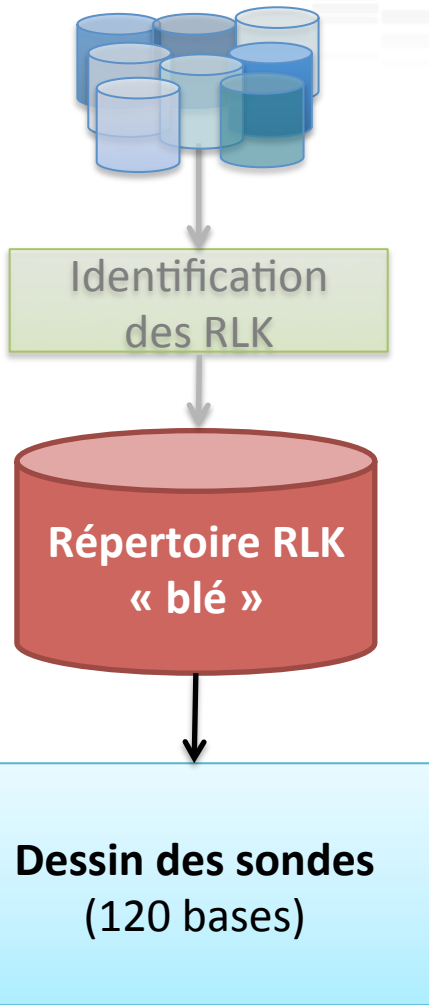
Répertoire RLK  
« blé »

Dessin des sondes  
(120 bases)

```
ATGGGGAACTCCGGTGCATTTTCATAGTTCACTTA  
AGCAGATCATGTCCAGGGAGGAGATGATGGGTGC  
TCCGTCAGCGAGGTGATCCTCTTGATTGCGGTG  
CACATCAACACAGGAACATACTATGTGACTGCCA  
CAATACCAATAGCAGCTGCCCTCTTCCA CTGTGC  
CAGTTTCACCACCTGGCTTTCGGTATTTGGTCTC  
GTAACGAATAATAGTG CATACAAACCCGTTGCT  
TTACACATAATTGTGTGGTTGAAGATCTTGAGCC  
CTTCTGATTGGGGACCGCTACAGAA TGCAAGTTA
```

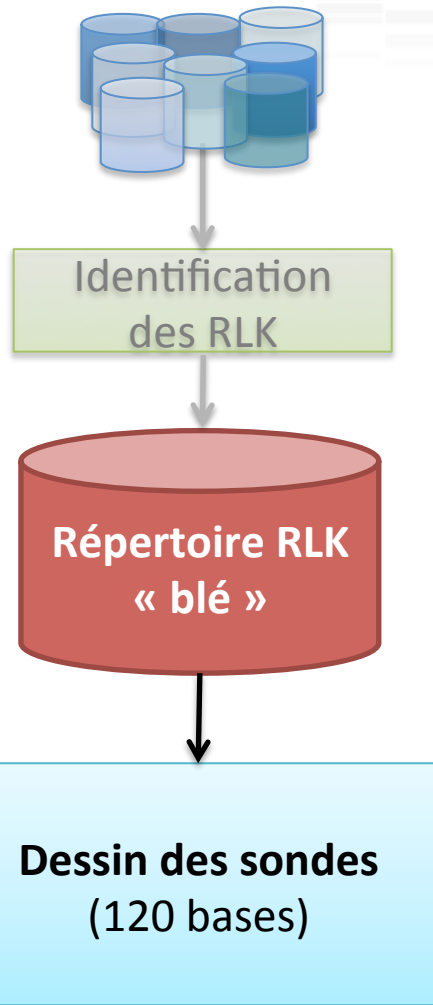


# RenKSeq: Dessin des sondes de capture

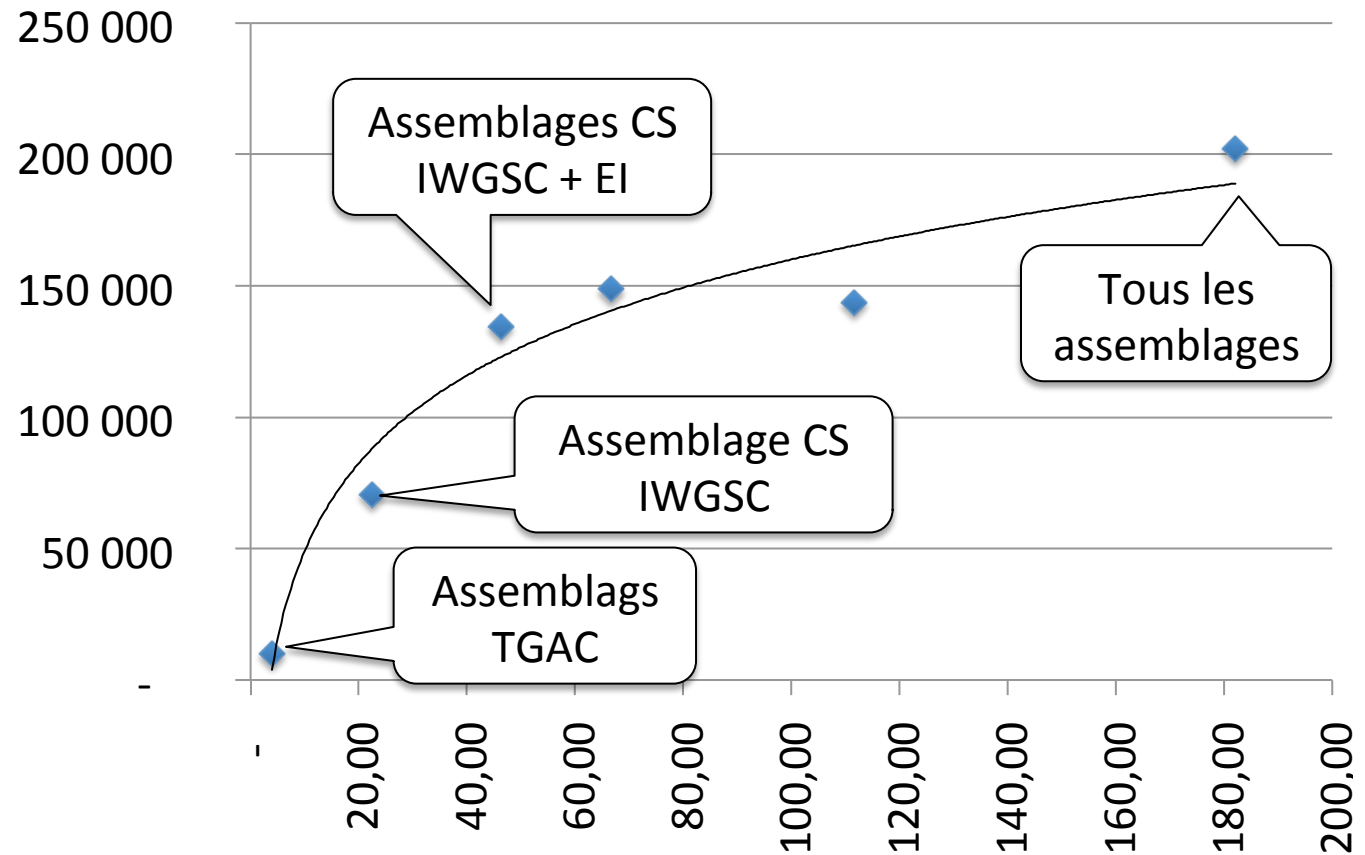


Assemblage	Taille (pb)	RLK loci (pb)	Sondes
Chinese Spring IWGSC	14 347 606 634	23 254 210	70 695
Chinese Spring Earlham Institute	13 467 630 192	23 714 007	94 180
Zavitan	10 509 868 245	20 469 051	67 185
Cadenza	13 399 781 746	22 244 268	80 721
Claire	14 616 451 647	21 707 537	80 434
Kronos	10 540 467 196	14 940 058	62 134
Paragon	15 318 048 945	22 432 660	81 094
Robigus	14 791 409 785	21 874 636	79 077
Svevo	6 803 298 213	8 350 510	35 762
TGAC_WGS_durum_v1	3 386 481 085	458 483	2 374
TGAC_WGS_monococcum_v1	1 322 112 030	574 717	3 555
TGAC_WGS_speltoides_v1	1 907 878 214	552 288	3 322
TGAC_WGS_strongfield_v1	3 384 841 931	361 995	1 902
TGAC_WGS_tauschii_v1	1 200 221 237	665 015	4 139
TGAC_WGS_urartu_v1	1 657 029 501	686 599	4 167
TSL_WGS_sharonensis_v1	1 730 899 803	611 984	3 700
<b>Somme</b>	<b>128 Gb</b>	<b>182 Mb</b>	<b>674 441</b>

# RenKSeq: Dessin des sondes de capture



## Nombre de sondes de capture en fonction du nombre de sequences cumulées (Mb)



# RenKSeq: Dessin des sondes de capture



Identification  
des RLK

Répertoire RLK  
« blé »

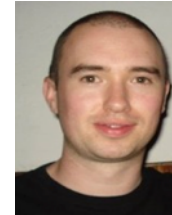
Dessin des sondes  
(120 bases)



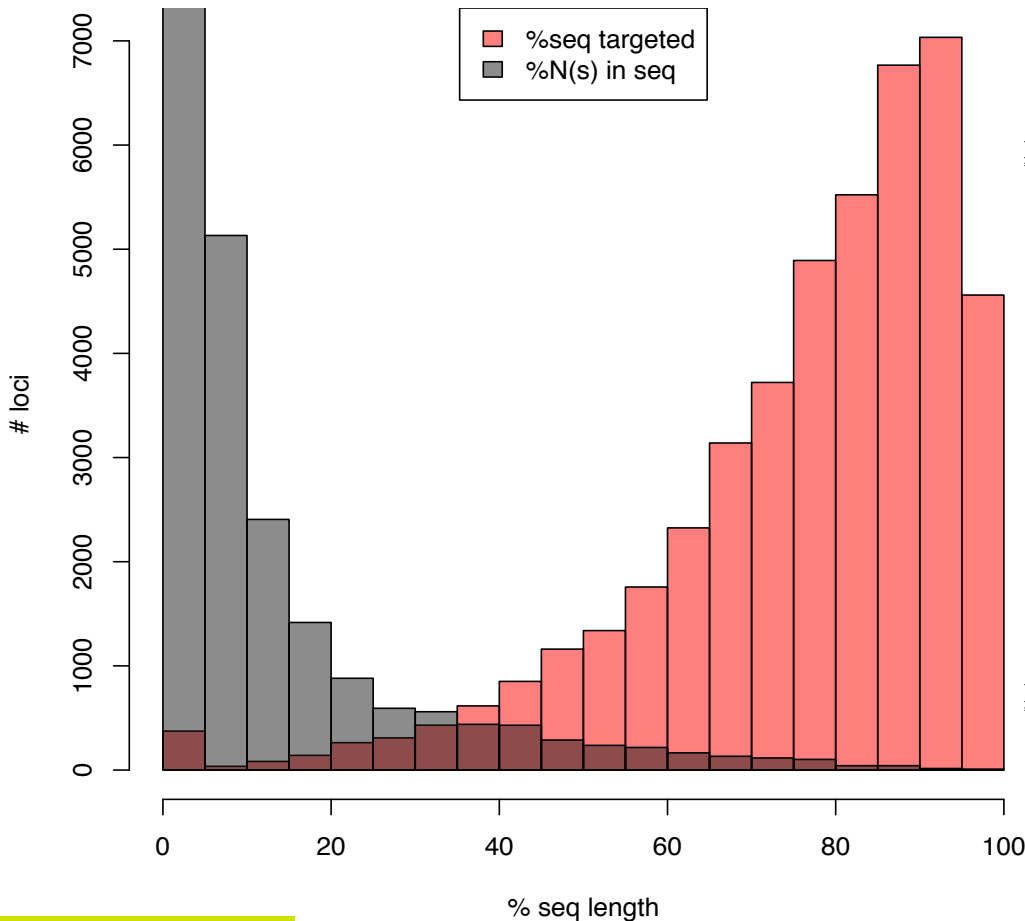
# RenKSeq: test des sondes de capture (*in silico*)

Estimation de la couverture: ré-alignement des sondes

Theoretical bait coverage

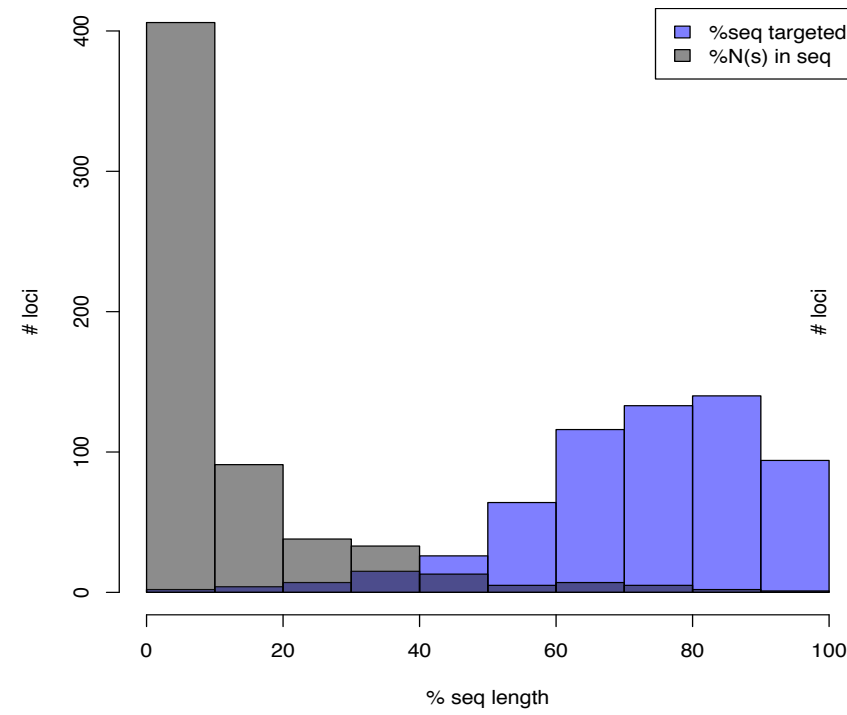


Robert King: Annotation manuelle  
Des WAKs de Chinese spring



# loci

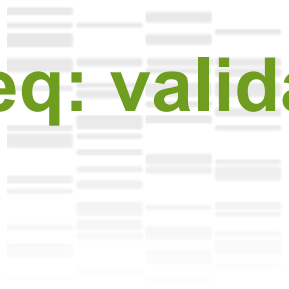
# loci



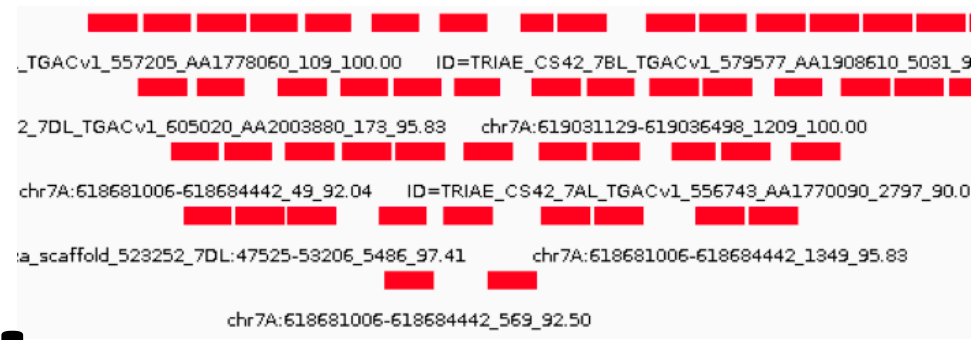
# loci

# loci

# RenKSeq: validation des sondes de capture (*wet lab*)



Chinese spring



X200 000



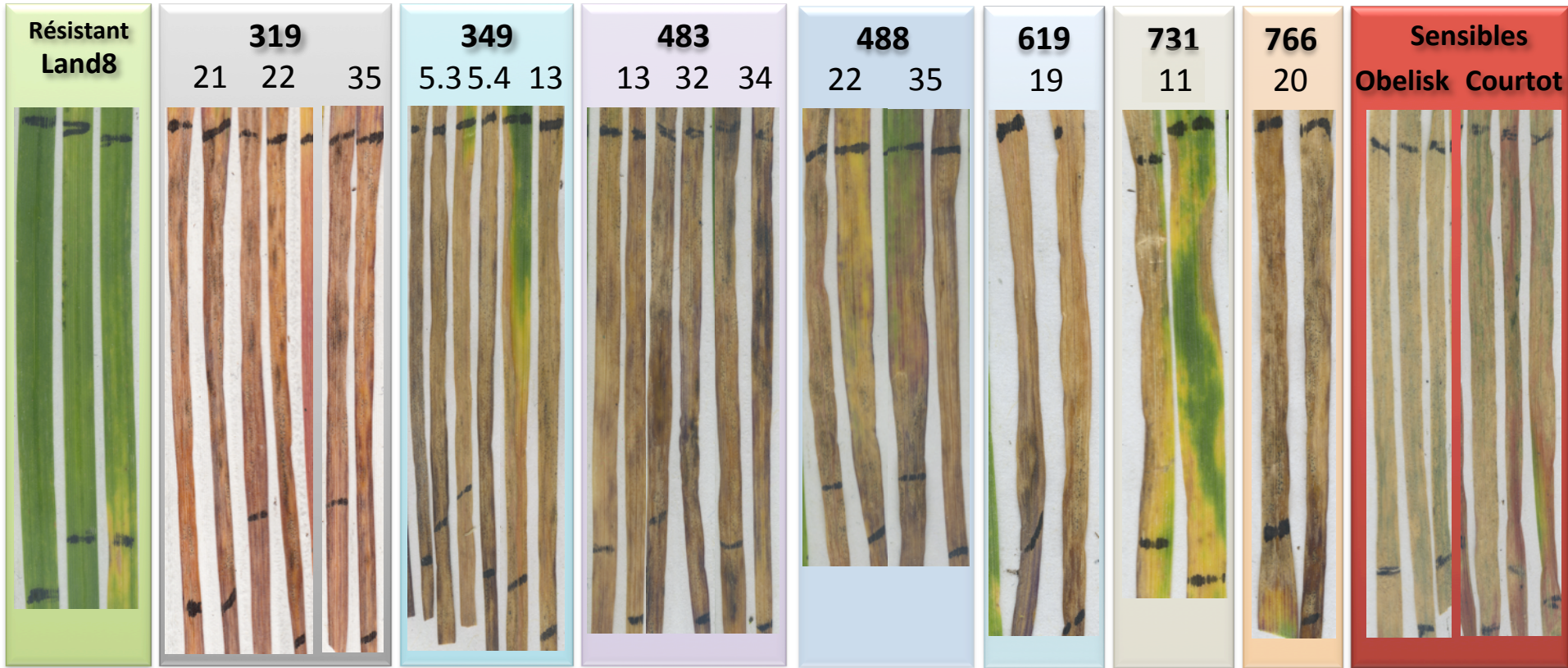
WAK,  
WAK?

WAK, WAK, LRR-RLK,  
Lectin-RLK...

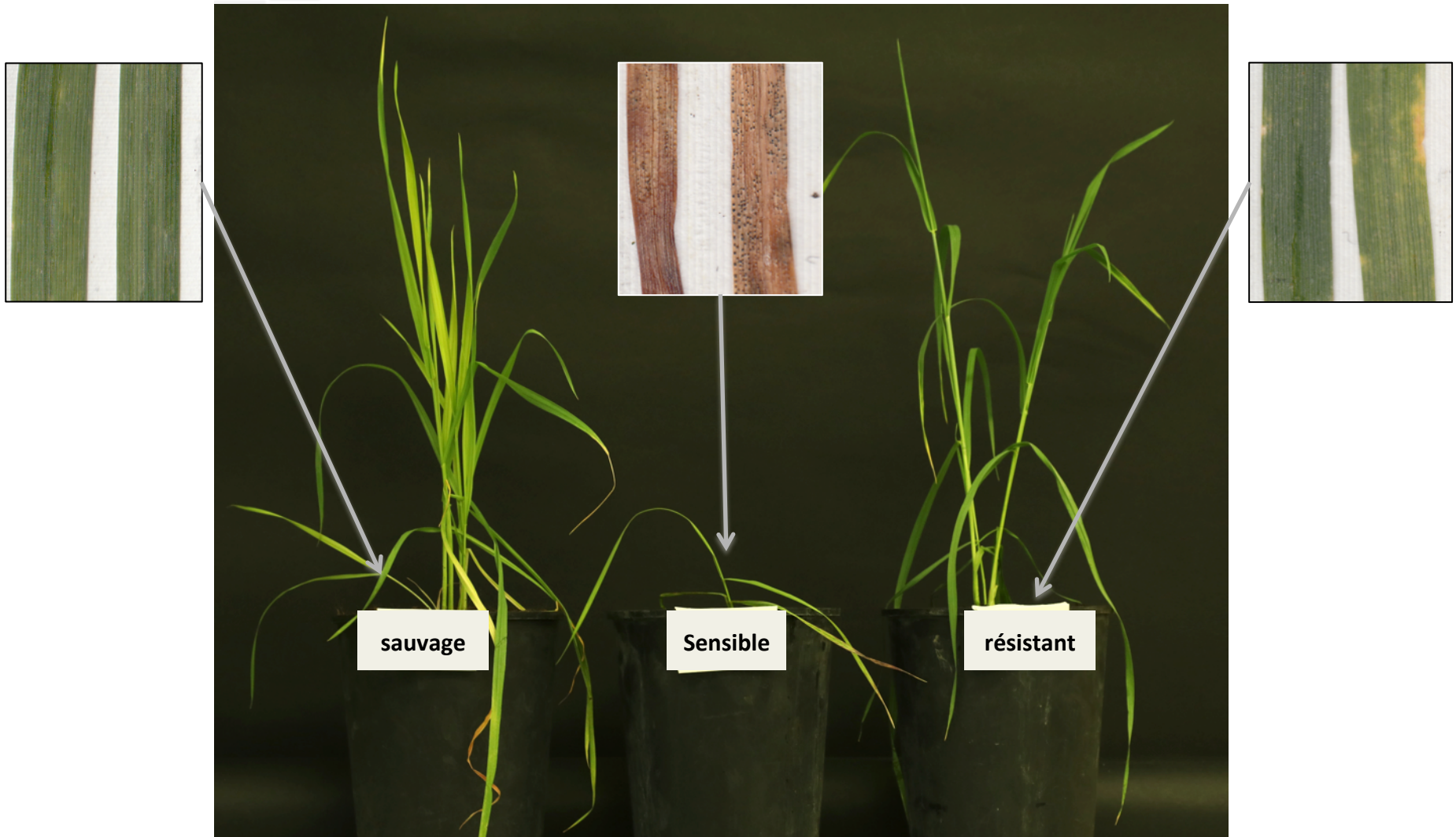




# RenKSeq: les 7 familles de « sensibles »



# RenKSeq: Les mutants sensibles présentent un «fitness» réduit



# RenKSeq



Objectifs principaux:

- Séquencer de **nouvelles RLK**
  - ⇔ **Identification de nouveaux gènes Stb**
- Mise au point d'un **pipeline d'identification de gènes / dessin-test de sondes de capture**

Perspectives:

- **Utiliser la banque de sondes pour cribler de nouvelles sources de résistances**

# Remerciements:

