



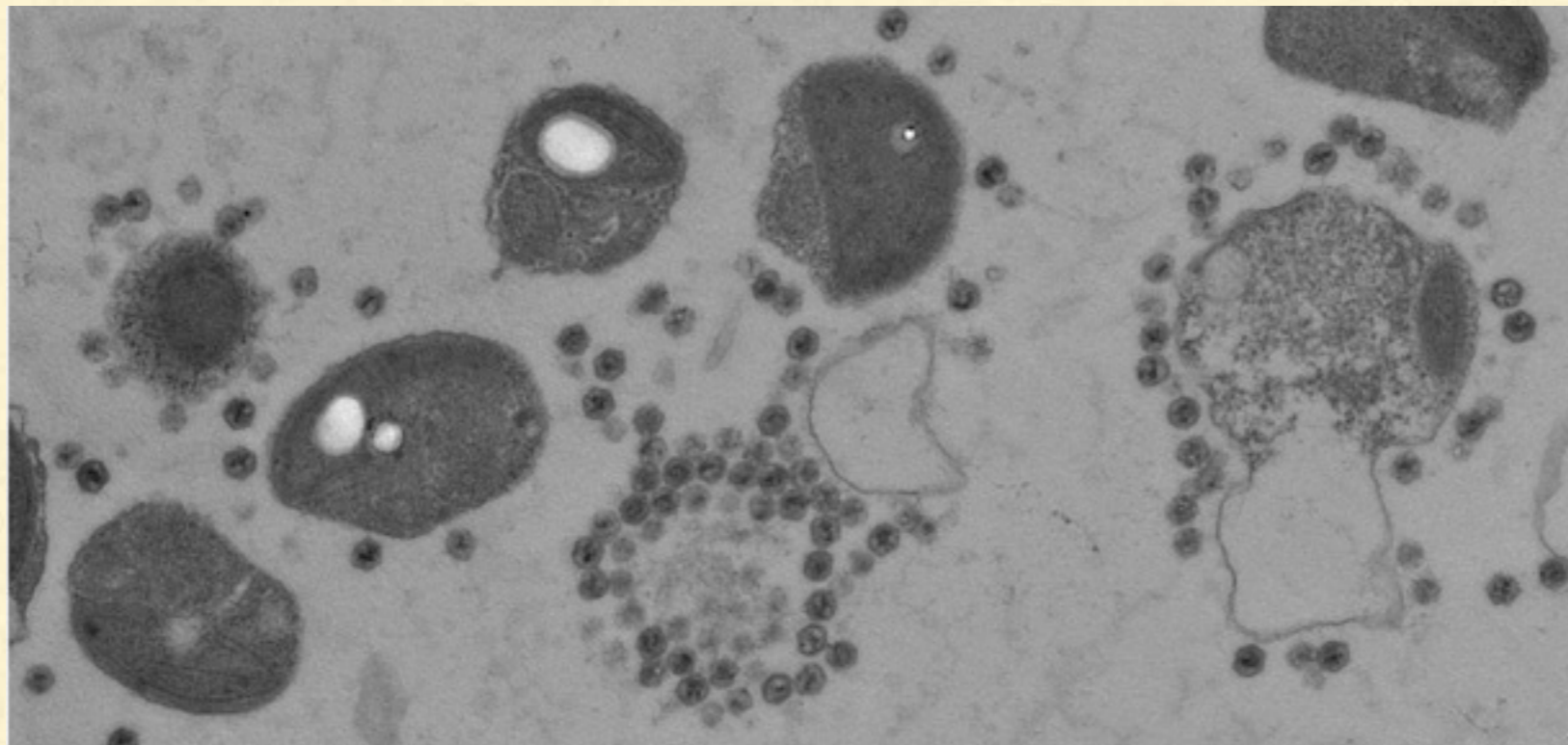
Interactions coévolutives entre microalgues et virus géants

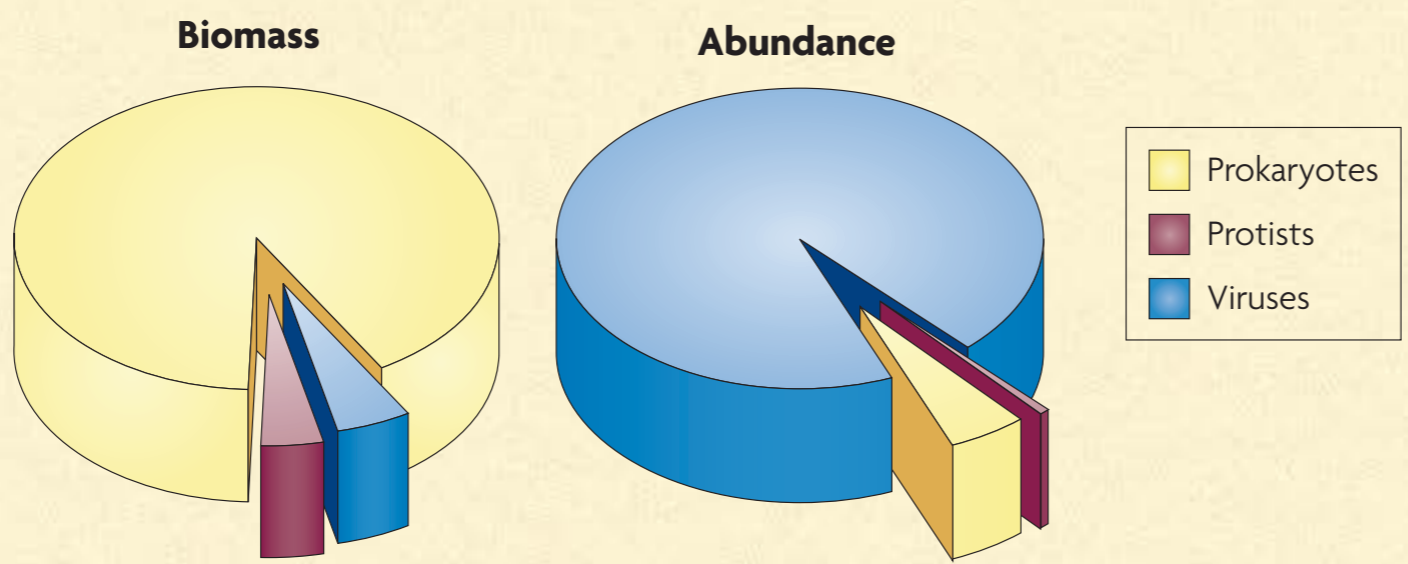
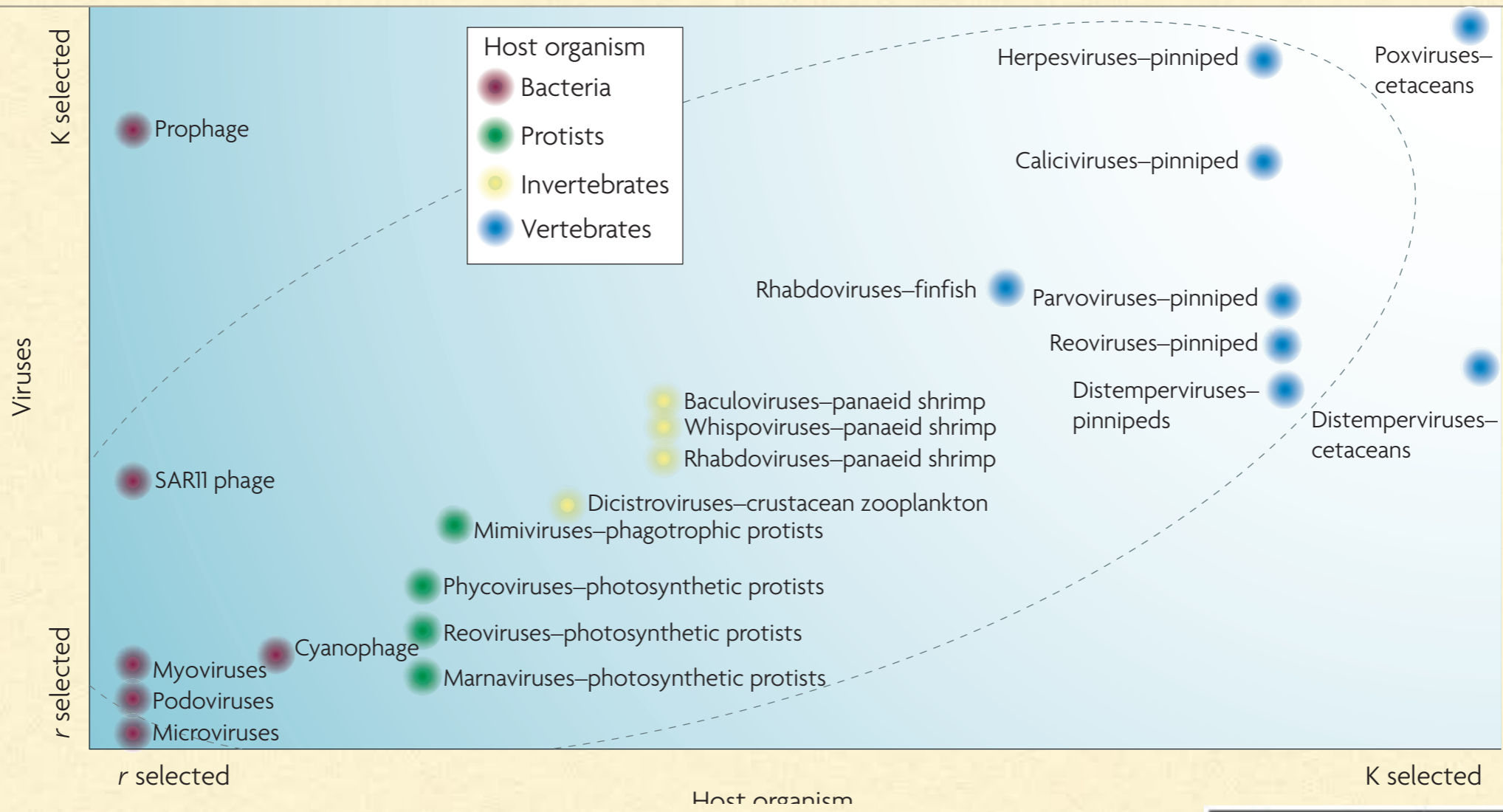


Yves Desdevises
Observatoire Océanologique de Banyuls
Université Pierre et Marie Curie

MODÈLE BIOLOGIQUE

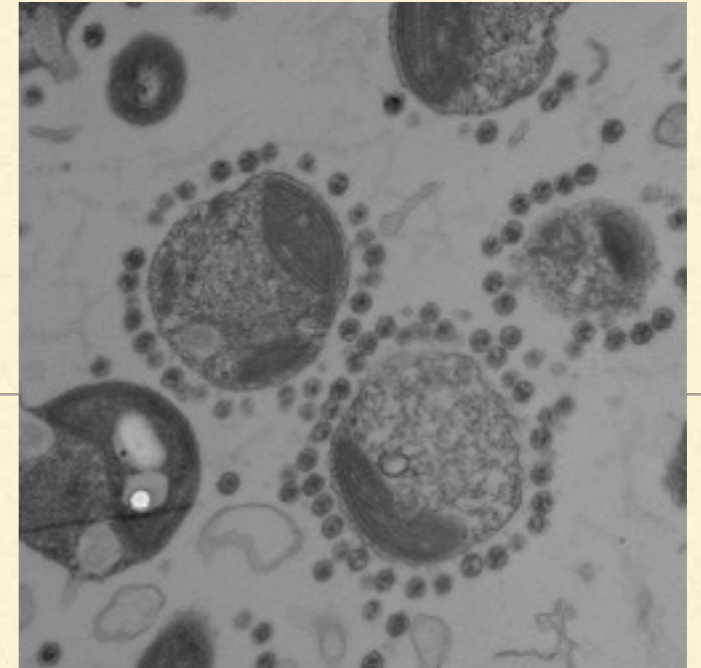
- Système hôte-virus
 - Virus de microalgues marines
 - Virus marins : très abondants en nombre et diversité



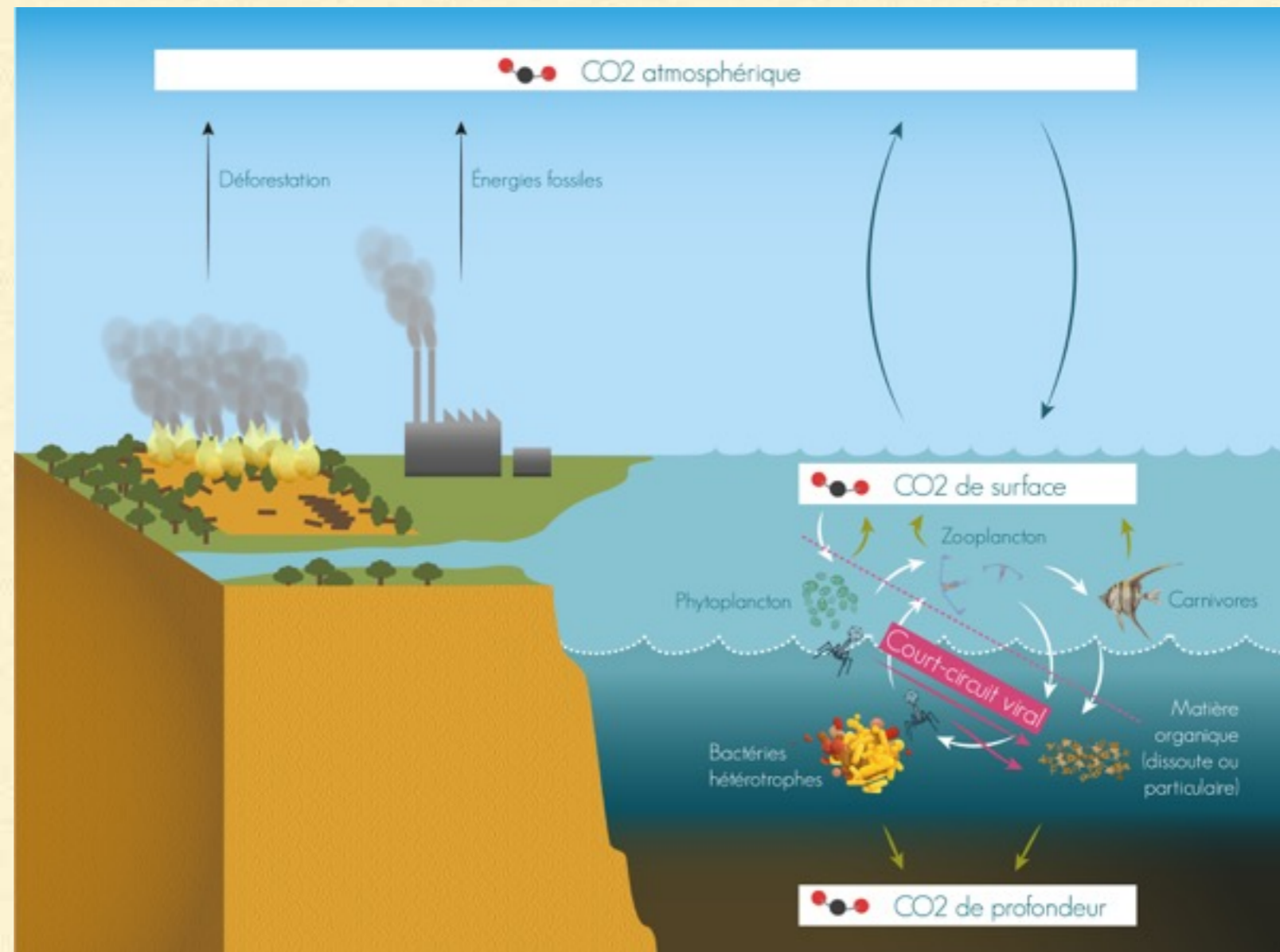
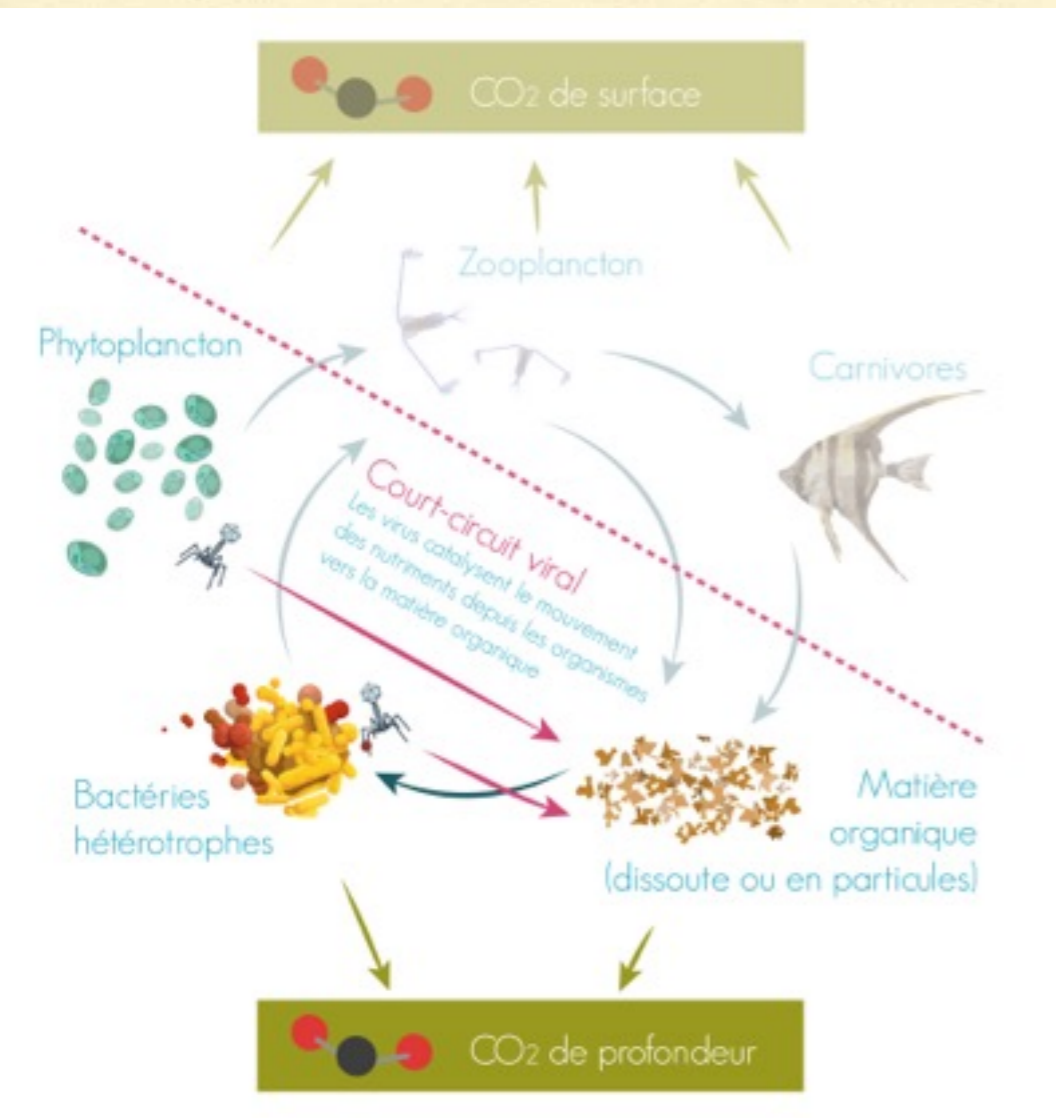


“ If the viruses were stretched end to end they would span 10 million light years ”

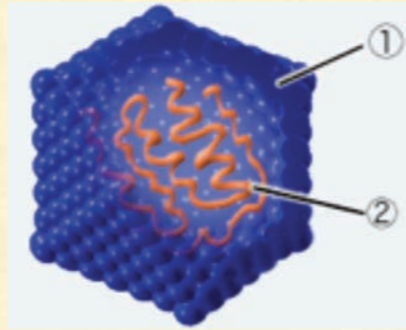
VIRUS



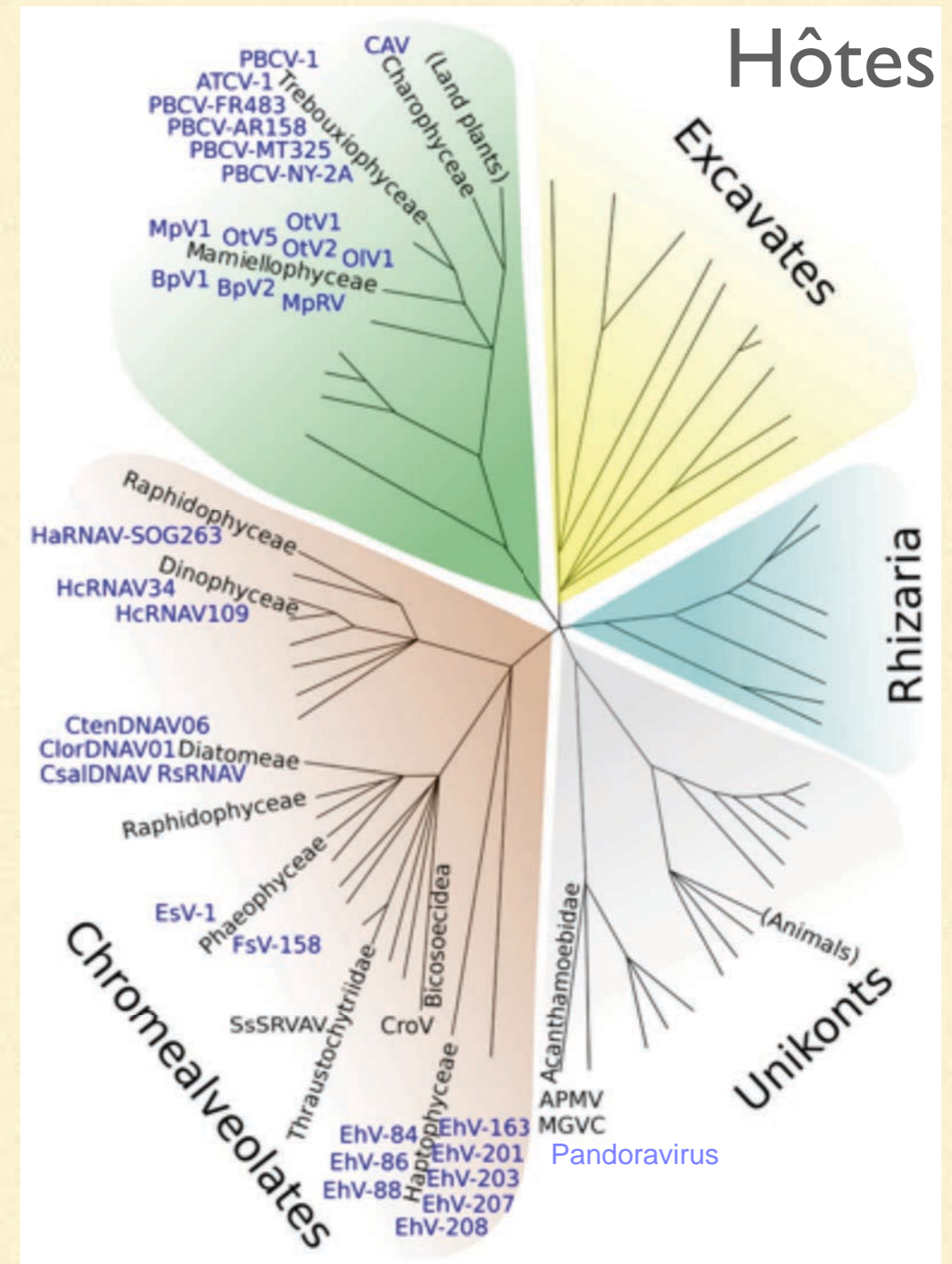
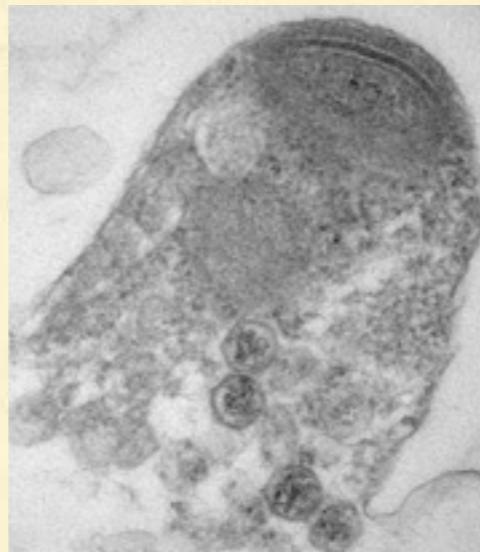
- Phycodnaviridae (dsDNAvirus)
 - Prasinovirus : chez *Ostreococcus tauri* (OtV), *O. lucimarinus* (OIV), *Bathycoccus prasinos* (BpV) et *Micromonas pusilla* (MpV and MiV)
 - Rôle important pour la regulation du phytoplancton et du climat
-



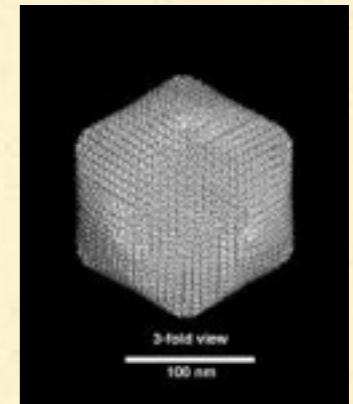
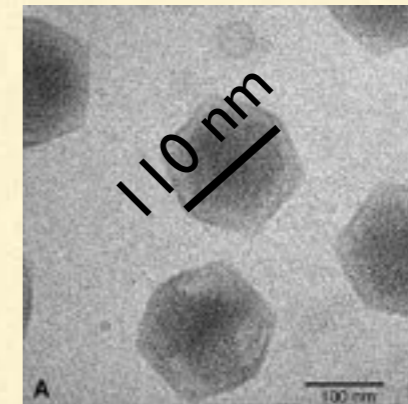
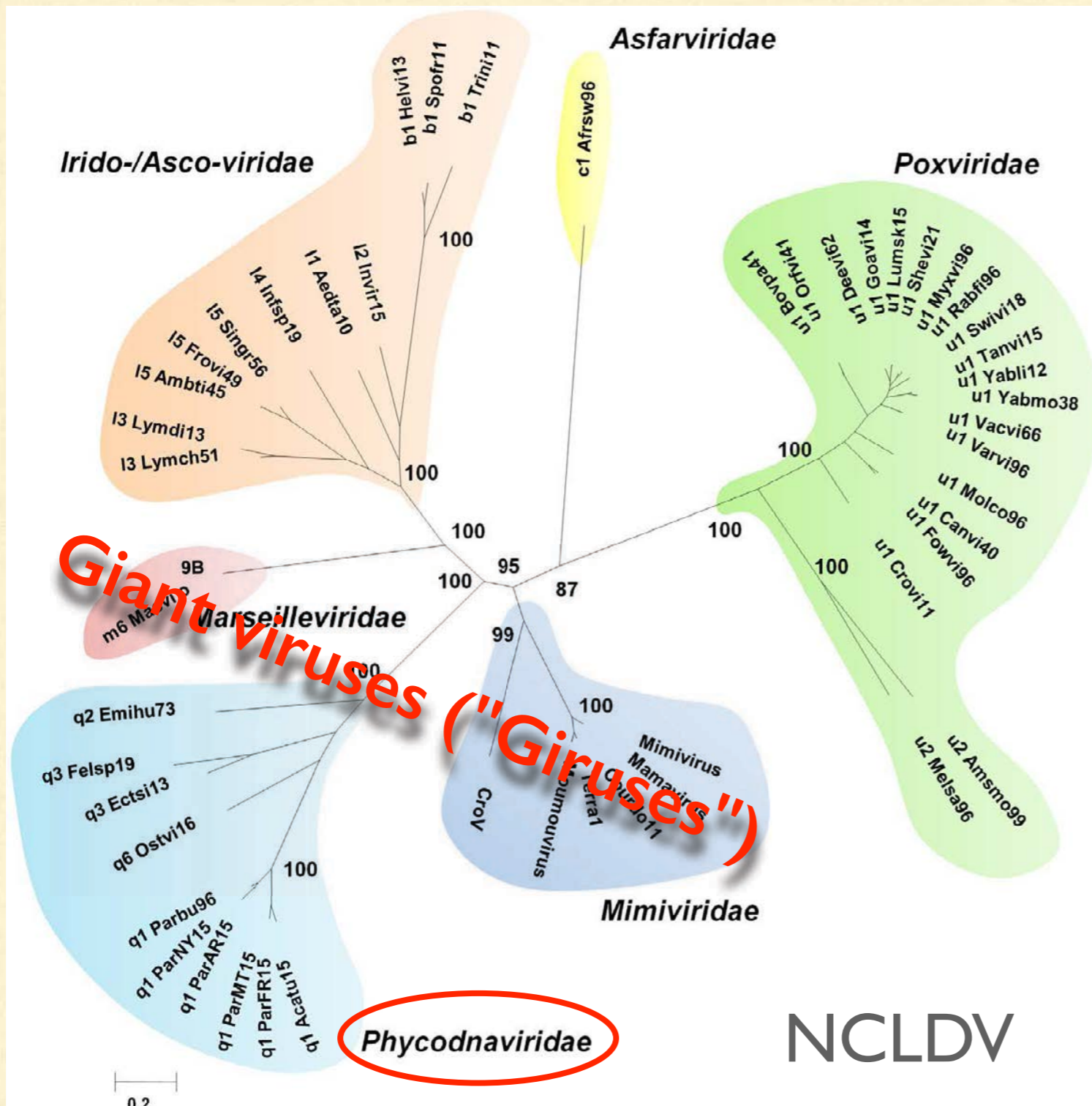
1 : capsid
2 : ADN



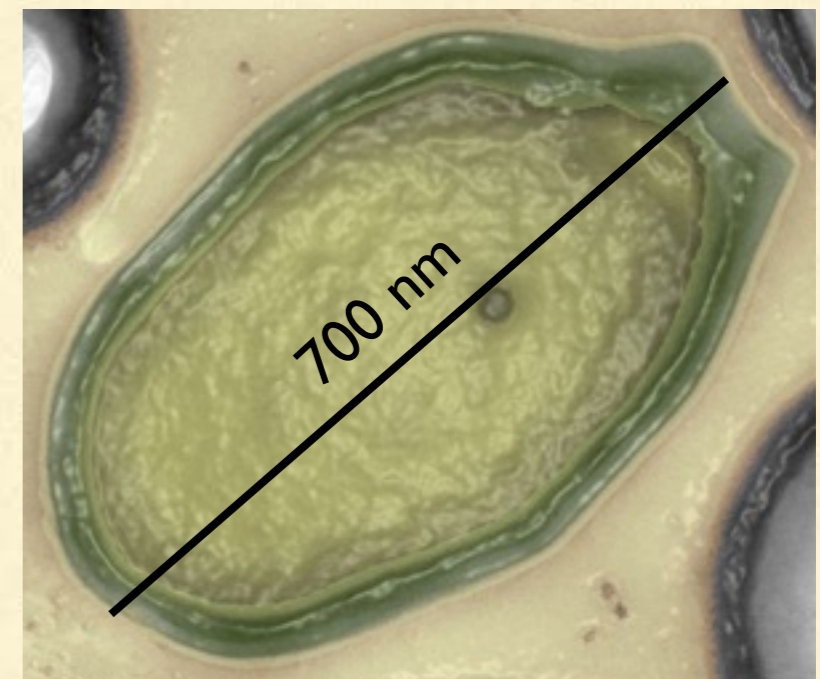
- Structure icosahédrique
- Cycle lytique dans hôtes unicellulaires
- Hôtes = "algues", un peu partout dans l'arbre des eucaryotes



- Phycodnaviruses : un clade, morphologies similaires sauf pour Pandoravirus



Génome 200 Kb



Génome 2.5 Mb

OPEN ACCESS Freely available online

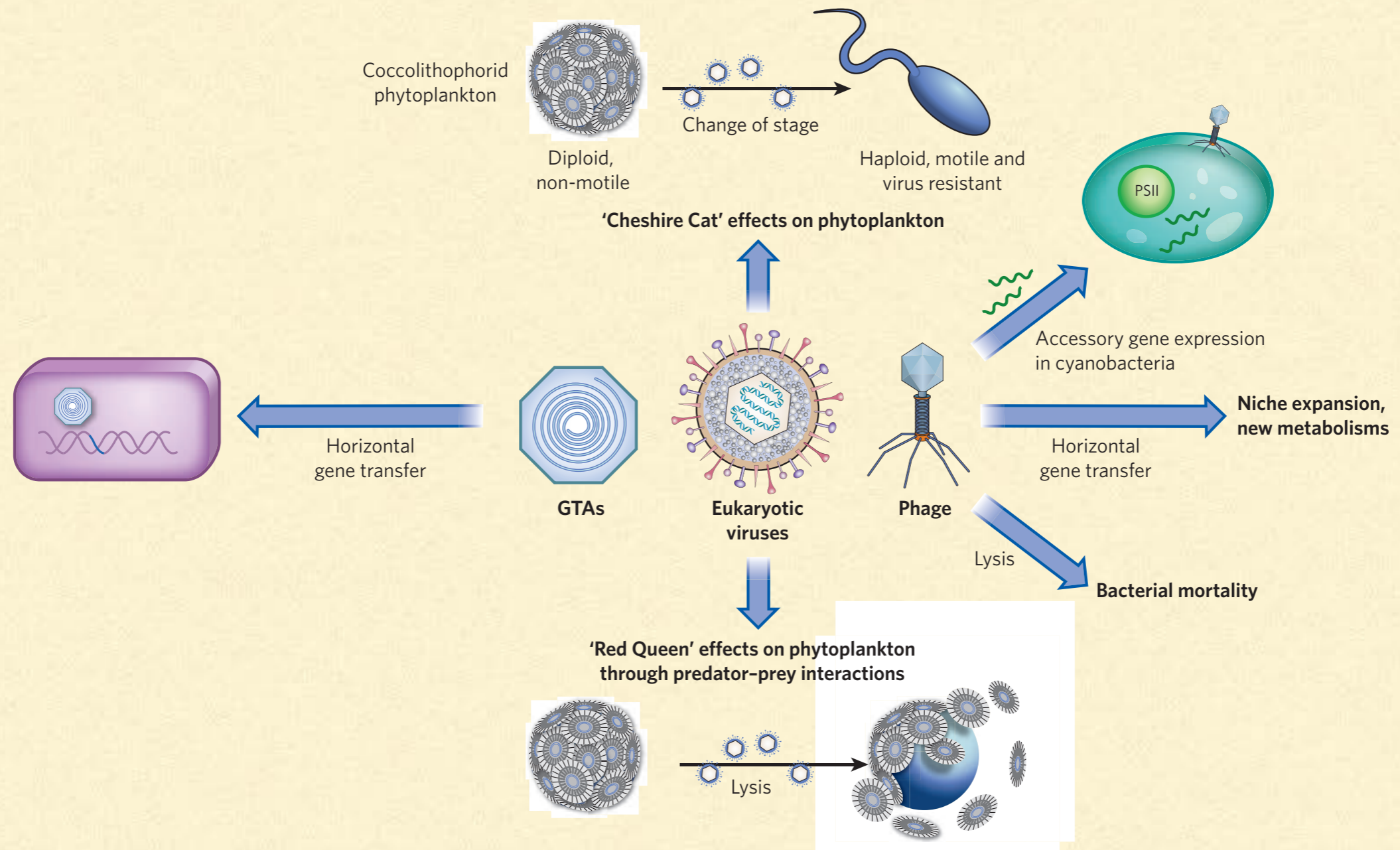
PLoS one

The Giant *Cafeteria roenbergensis* Virus That Infects a Widespread Marine Phagocytic Protist Is a New Member of the Fourth Domain of Life

April 2011 | Volume 6 | Issue 4 | e18935

Philippe Colson^{1,2}, Gregory Gimenez¹, Mickaël Boyer¹, Ghislain Fournous¹, Didier Raoult^{1,2*}

■ Forte pression sur les hôtes : course aux armements entre virulence et résistance



Viruses manipulate the marine environment

Forest Rohwer¹ & Rebecca Vega Thurber^{1,2}

NATURE | Vol 459 | 14 May 2009 | doi:10.1038/nature08060

- Certains hôtes des Phycodnavirus sont très petits (picoeucaryotes, 1-3 μm)



Bland J. Finlay
SCIENCE VOL 296 10 MAY 2002

HÔTES : PRASINOPHYCEAE

- Chlorophyta : algues vertes (Ordre Mamiellales, picophytoplancton ubiquiste)
- 3 genres principaux, 6 génomes complets
 - *Ostreococcus* (3 génomes)
 - *Bathycoccus* (1 génome)
 - *Micromonas* (2 génomes)

Green Evolution and Dynamic Adaptations Revealed by Genomes of the Marine Picoeukaryotes *Micromonas*

Alexandra Z. Worden,^{1a} Jae-Hyeok Lee,^{2†} Thomas Mock,^{2‡} Pierre Rouzé,^{4†} Melinda P. Simmons,^{1†} Andrea L. Aerts,⁵ Andrew E. Allen,⁶ Marie L. Cuvelier,^{1,2} Evelyne Derelle,⁸ Meredith V. Everett,⁷ Elodie Foulen,⁹ Jane Grimwood,^{1,3a} Heidrun Gundlach,¹¹ Bernard Henrissat,¹² Carolyn Napoli,¹³ Sarah M. McDonald,¹ Micaela S. Parker,⁷ Stéphane Rombauts,⁴ Asaf Salamov,⁷ Peter Von Dassow,⁹ Jonathan H. Badger,⁴ Pedro M. Coutinho,¹⁴ Elif Demir,¹ Inna Dubchak,⁵ Chelle Gentemann,¹⁴ Wenche Ekrem,¹⁵ Jill E. Gready,¹⁶ Uwe John,¹⁷ William Lanier,¹⁸ Erika A. Lindquist,³ Susan Lucas,⁵ Klaus F. X. Mayer,¹⁹ Hervé Moreau,⁴ Fabrice Not,⁸ Robert Otiillar,³ Olivier Panaud,¹⁰ Jasmyn Pangilinan,⁵ Ian Paulsen,²⁰ Benoit Piégou,¹⁰ Aaron Potliakov,⁵ Steven Robbens,⁴ Jeremy Schmutz,^{1,10} Eve Toulza,²¹ Tanja Wyss,²² Alexander Zelensky,²³ Kemin Zhou,⁴ E. Virginia Armbrust,³ Debashish Bhattacharya,¹⁴ Ursula W. Goodenough,² Yves Van de Peer,⁴ Igor V. Grigoriev³

10 APRIL 2009 VOL 324 SCIENCE

Gene functionalities and genome structure in *Bathycoccus prasinos* reflect cellular specializations at the base of the green lineage

Hervé Moreau^{1,2*}, Bram Verhelst^{3,4}, Arnaud Couloux⁵, Evelyne Derelle^{1,2}, Stéphane Rombauts^{3,4}, Nigel Grimley^{1,2}, Michiel Van Bel^{3,4}, Julie Poulain⁵, Michaël Katinka⁵, Martin F. Hohmann-Mariott⁶, Gwenaél Piganeau^{1,2}, Pierre Rouzé^{3,4}, Corinne Da Silva⁵, Patrick Wincker^{2†}, Yves Van de Peer^{3,4†} and Klaas Vandepoel^{3,4}

Moreau et al. *Genome Biology* 2012, **13**:R74

The tiny eukaryote *Ostreococcus* provides genomic insights into the paradox of plankton speciation

PNAS | May 1, 2007 | vol. 104 | no. 18 | 7705-7710

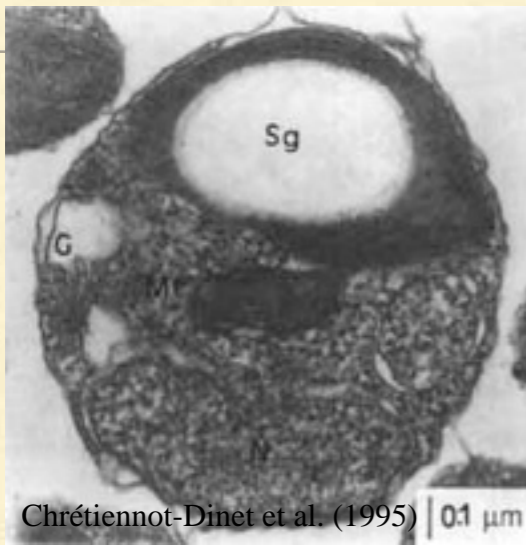
Brian Palenik^{a,b}, Jane Grimwood^c, Andrea Aerts^d, Pierre Rouzé^e, Asaf Salamov^f, Nicholas Putnam^g, Chris Dupont^h, Richard Jorgensenⁱ, Evelyne Derelle^g, Stéphane Rombauts^h, Kemin Zhou^d, Robert Otiillar^d, Sabeeha S. Merchantⁱ, Sheila Podell^j, Terry Gaasterland^k, Carolyn Napoli^l, Karla Gendler^l, Andrea Manuel^h, Vera Tai^h, Olivier Vallon^l, Gwenaél Piganeau^g, Séverine Jancek^g, Marc Heijde^m, Kamel Jabbari^m, Chris Bowler^m, Martin Lohrⁿ, Steven Robbens^h, Gregory Werner^g, Inna Dubchak^d, Gregory J. Pazour^o, Qinghu Ren^o, Ian Paulsen^o, Chuck Delwiche^q, Jeremy Schmutz^r, Daniel Rokhsar^d, Yves Van de Peer^h, Hervé Moreau^g, and Igor V. Grigoriev^{h,d}

Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features

Evelyne Derelle^{a,b}, Conchita Ferraz^{b,c}, Stéphane Rombauts^{b,d}, Pierre Rouzé^{b,e}, Alexandra Z. Worden^f, Steven Robbens^g, Frédéric Partensky^g, Sven Degroeve^h, Sophie Echeynié^h, Richard Cooke^h, Yvan Saeys^h, Jan Wuyts^h, Kamel Jabbari^h, Chris Bowler^h, Olivier Panaud^h, Benoit Piégou^h, Steven G. Ball^h, Jean-Philippe Raïp^h, François-Yves Bouget^h, Gwenaél Piganeau^h, Bernard De Baets^h, André Picard^h, Michel Delseny^h, Jacques Demaille^h, Yves Van de Peer^{h,m}, and Hervé Moreau^{h,m}

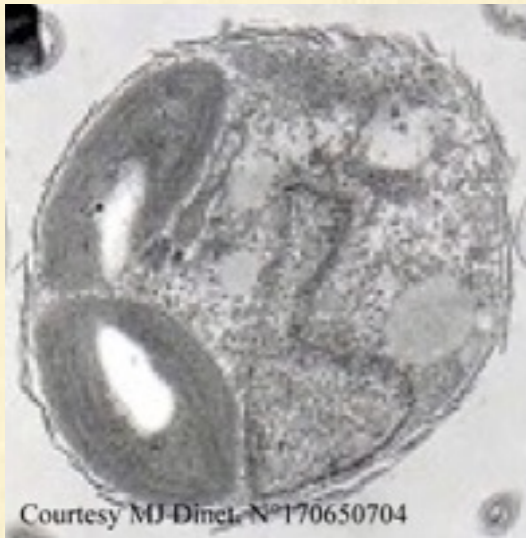
PNAS | August 1, 2006 | vol. 103 | no. 31 | 11647-11652

^aObservatoire Océanologique, Laboratoire Arago, Unité Mixte de Recherche 7628, Centre National de la Recherche Scientifique-Université Pierre et Marie Curie Paris 6, BP44, 66651 Banyuls sur Mer Cedex, France; ^bInstitut de Génétique Humaine, Unité Prage de Recherche 1142, Centre National de la Recherche Scientifique, 141 Rue de Cardonne, 34296 Montpellier Cedex 5, France; ^cDepartment of Plant Systems Biology, Flanders Interuniversity Institute for Biotechnology and ^dLaboratoire Associé de l'Institut National de la Recherche Agronomique (Genève), Ghent University, Technologiepark 827, 9052 Ghent, Belgium; ^eRosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, University of Miami, 4600 Rickenbacker Causeway, Miami, FL 33149; ^fStation Biologique, Unité Mixte de Recherche 7144, Centre National de la Recherche Scientifique-Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, BP74, 29682 Rocoff Cedex, France; ^gDepartment of Applied Mathematics, Biometrics and Process Control, Ghent University, Coupure links 653, 9000 Ghent, Belgium; ^hGenome et Développement des Plantes, Unité Mixte de Recherche 5096, Centre National de la Recherche Scientifique-Université de Perpignan, 52, Avenue de Villeneuve, 66860 Perpignan, France; ⁱDépartement de Biologie, Formation de Recherche en Evolution 2010, Centre National de la Recherche Scientifique-École Normale Supérieure, 46 Rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France; and ^jLaboratoire de Chimie Biologique, Unité Mixte de Recherche 8745, Centre National de la Recherche Scientifique-Université Sciences et Technologies de Lille, 59655 Villeneuve d'Ascq, France



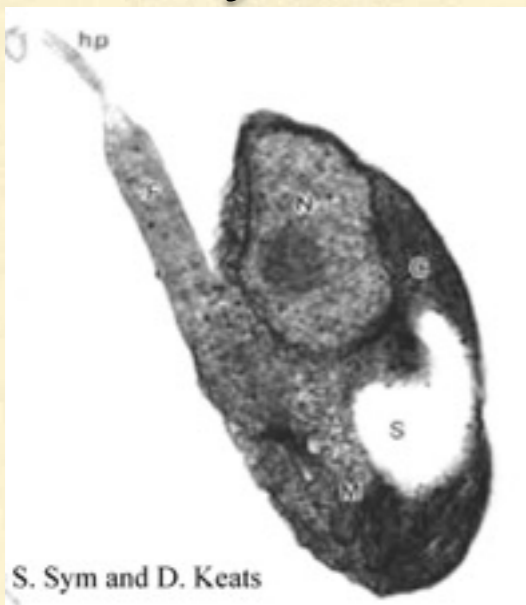
Chrétiennot-Dinet et al. (1995) | 0.1 μm

Ostreococcus



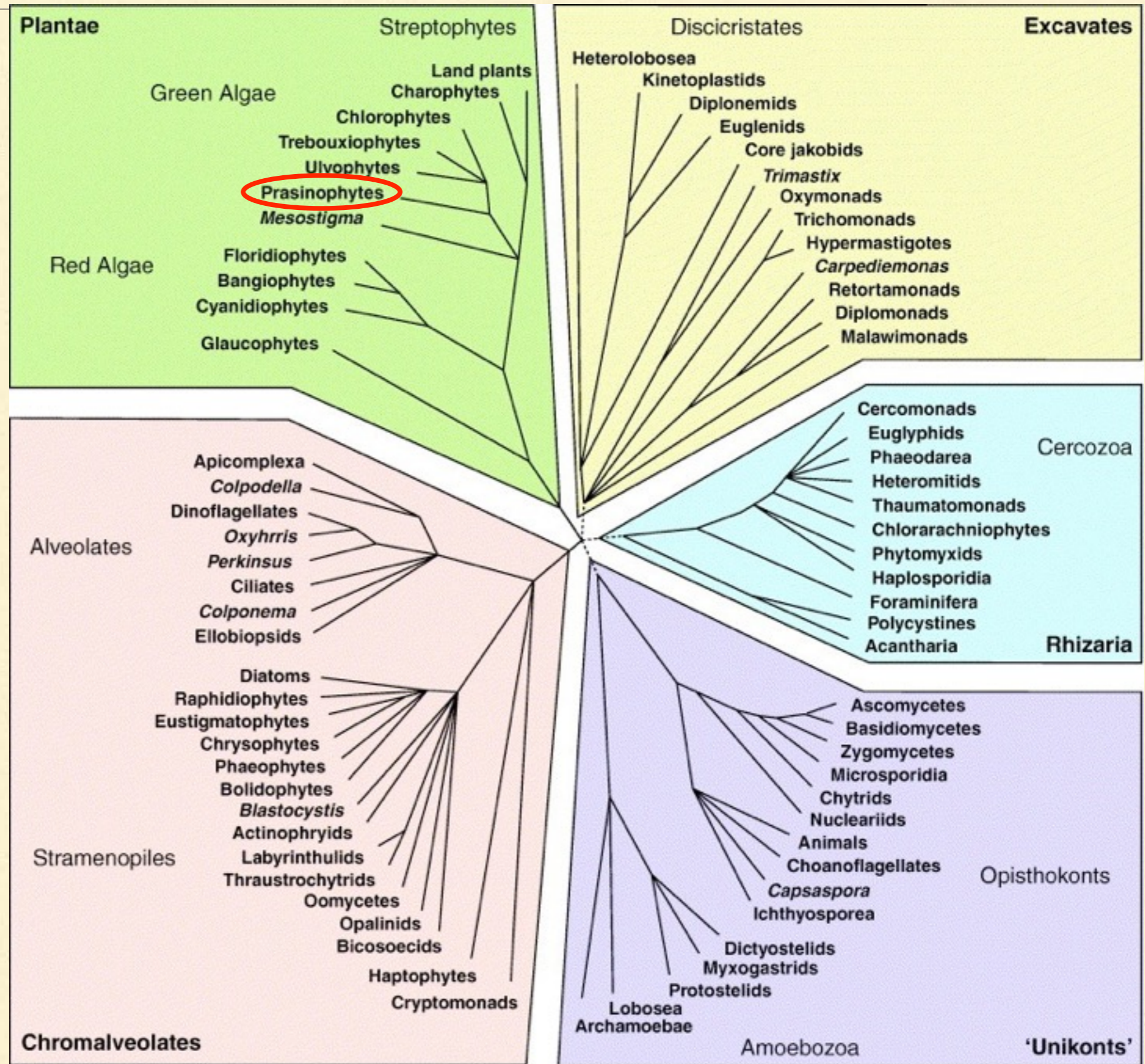
Courtesy MJ-Dinet, N°170650704

Bathycoccus

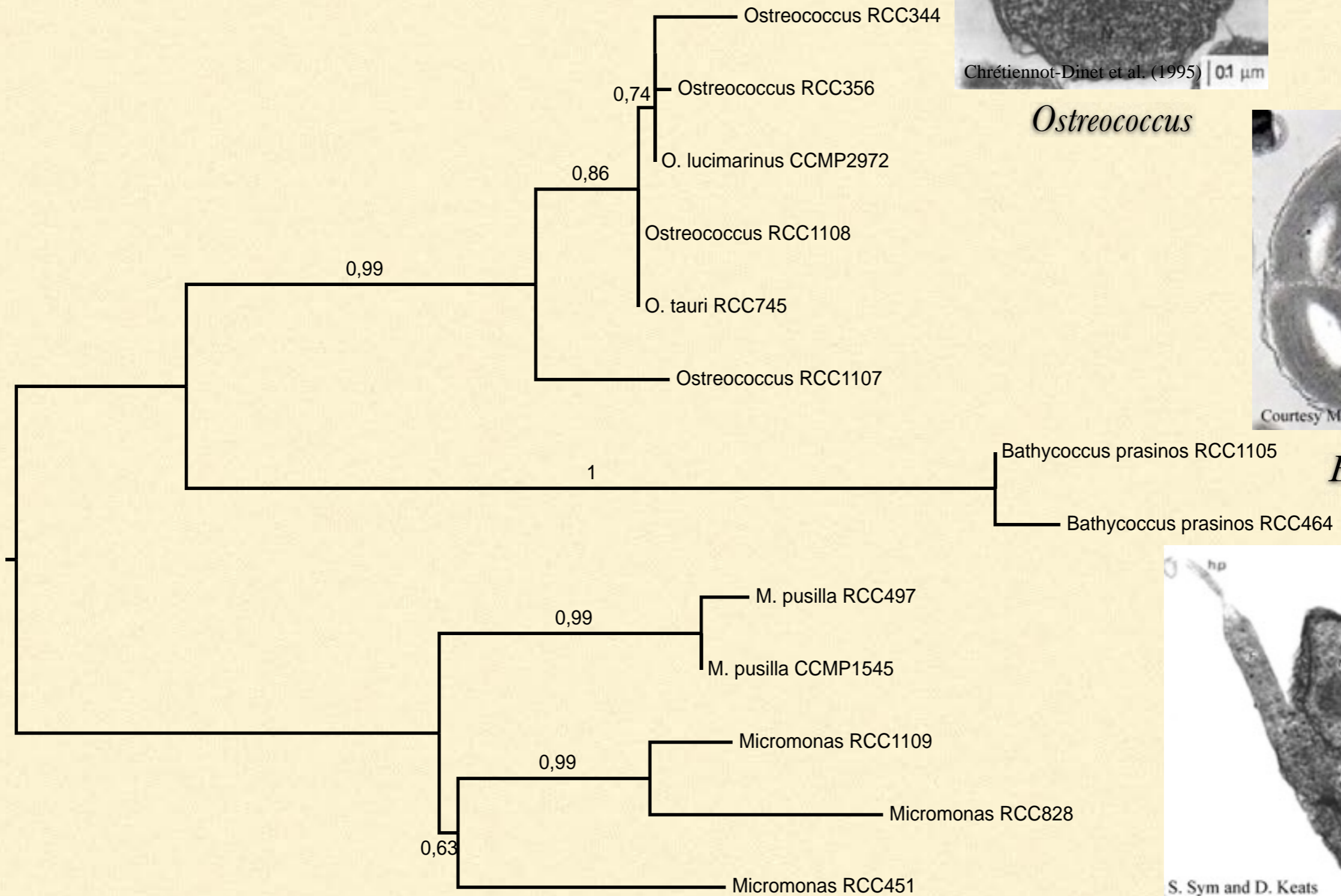


S. Sym and D. Keats

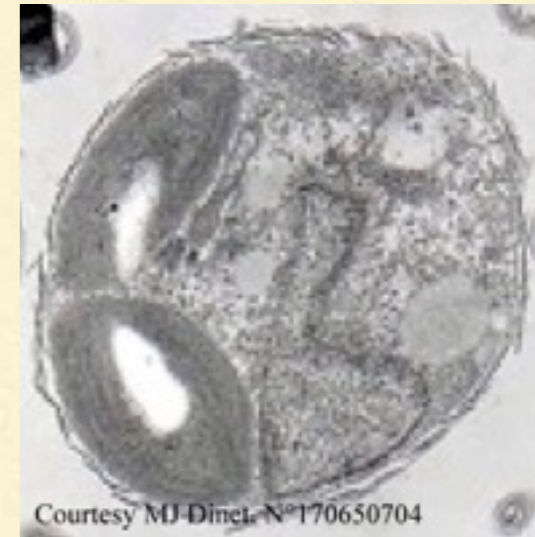
Micromonas



■ Phylogénie (ADNr 18S)



Ostreococcus



Bathycoccus



Micromonas

Plan

- ✦ Hôtes et virus : génomes et évolution
- ✦ Spécificité
- ✦ Cophylogénie
- ✦ Transfert latéral de gènes
- ✦ *Burst size*

- ✦ Hôtes et virus : génomes et évolution

GÉNOMES : VIRUS

- 14 au total
 - 7 OIV + 2 OtV + 1 OmV + 1 OxV (souche profonde)
 - 2 BpV
 - 1 MpV

Diversity of Viruses Infecting the Green Microalga *Ostreococcus lucimarinus*

Journal of Virology June 2015 Volume 89 Number 11

Evelyne Derelle,^a Adam Monier,^{b,c} Richard Cooke,^d Alexandra Z. Worden,^{e,*} Nigel H. Grimsley,^a Hervé Moreau^a

CNRS UMR 7232, Sorbonne Universités, Observatoire Océanologique de Banyuls (OOB), Banyuls sur mer, France^a; University of Exeter, Biosciences, Exeter, United Kingdom^b; Monterey Bay Aquarium Research Institute (MBARI), Moss Landing, California, USA^c; Laboratoire Génome et Développement des Plantes, UMR 5096 CNRS, Université de Perpignan Via Domitia, Perpignan, France^d; Integrated Microbial Biodiversity Program, Canadian Institute for Advanced Research, Toronto, Canada^e

Environmental Microbiology (2009)

doi:10.1111/j.1462-2920.2009.01991.x

From small hosts come big viruses: the complete genome of a second *Ostreococcus tauri* virus, OtV-1

Karen D. Weynberg,^{1,2} Michael J. Allen,¹ Kevin Ashelford,³ David J. Scanlan² and William H. Wilson^{1,4*}

¹Plymouth Marine Laboratory, Prospect Place, The Hoe, Plymouth PL1 3DH, UK.

²Department of Biological Sciences, University of Warwick, Coventry CV4 7AL, UK.

³School of Biological Sciences, University of Liverpool, Liverpool L69 3BX, UK.

⁴Bigelow Laboratory for Ocean Sciences, 180 McKown Point, West Boothbay Harbor, ME 04575-0475, USA.

Introduction

The marine unicellular green alga *Ostreococcus tauri*, a marine *Prasinophyte* belonging to a group of organisms generically known as the photosynthetic picoeukaryotes, is the smallest free-living eukaryote described to date (Chretiennotdinet *et al.*, 1995; Courties *et al.*, 1998). The *O. tauri* cell has a diameter size of less than 1 µm, a naked plasma membrane with no cell wall and lacks scales or flagella. *Ostreococcus tauri* has been isolated from different geographic regions and a range of depths (Diaz *et al.* 2001; Worden *et al.* 2006). Smaller than

OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

Life-Cycle and Genome of OtV5, a Large DNA Virus of the Pelagic Marine Unicellular Green Alga *Ostreococcus tauri*

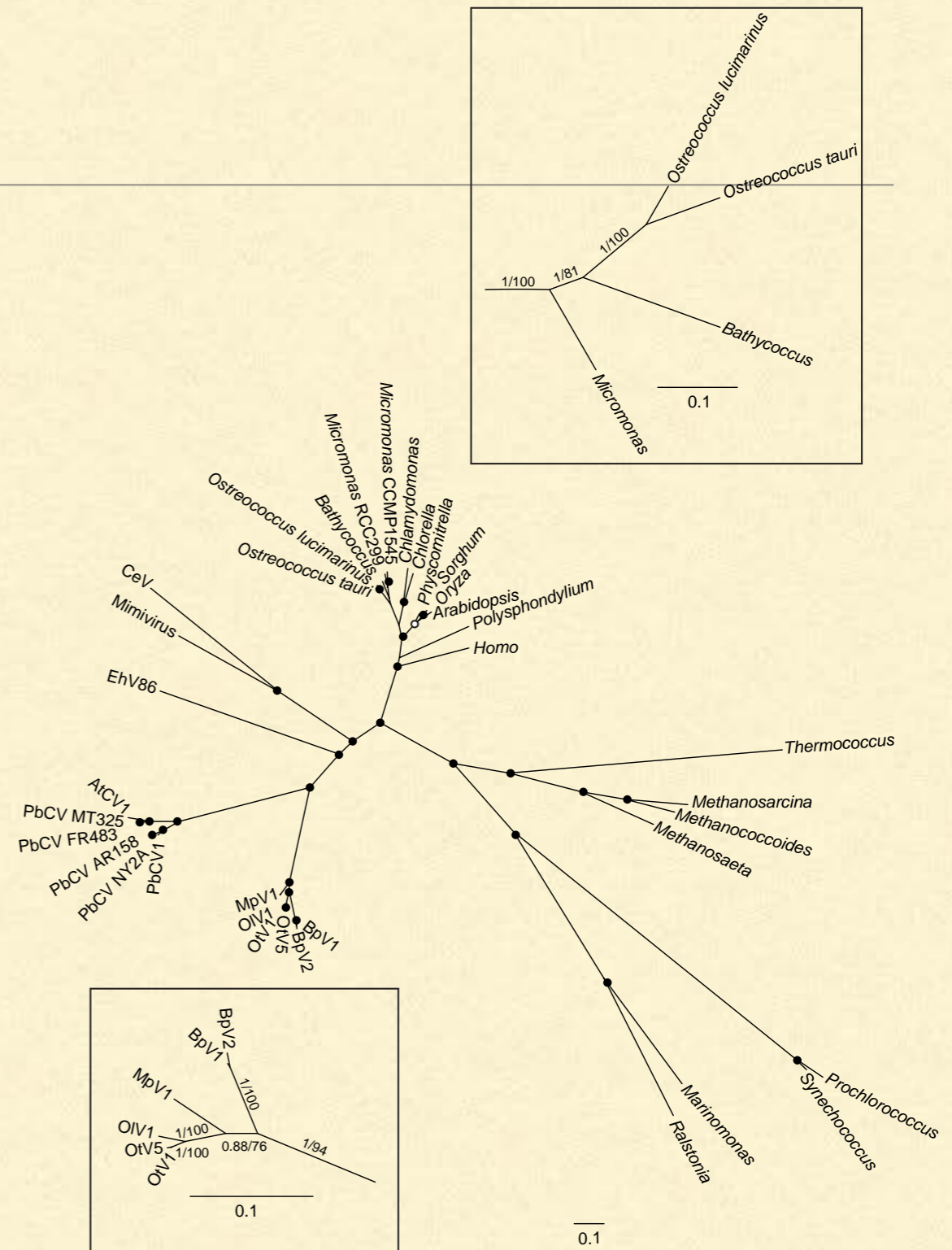
Evelyne Derelle^{1,2}, Conchita Ferraz³, Marie-Line Escande^{1,2}, Sophie Eychenié³, Richard Cooke⁴, Gwenaél Piganeau^{1,2}, Yves Desdevises¹, Laure Bellec¹, Hervé Moreau^{1,2}, Nigel Grimsley^{1,2*}

¹Université Pierre et Marie Curie-Paris 06, Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer, France, ²CNRS, UMR7628, Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer, France, ³Institut de Génétique Humaine, Génomole Montpellier Languedoc-Roussillon, UPR1142, Montpellier, France, ⁴Génomole Languedoc-Roussillon, Génome et Développement de Plantes, UMR5096, Perpignan, France

Received January 10, 2008; Accepted April 2, 2008; Published May 28, 2008

PHYLOGÉNIE

- Arbre basé sur β DNA polymérase (DP) : Eukaryotes, Eubacteria, Archae, et virus
- Focus sur prasinovirus et leurs hôtes basé sur concaténation de 5 gènes communs : DP, PCNA, Isu et ssu Ribonucleotide reductase, Thymidine synthase



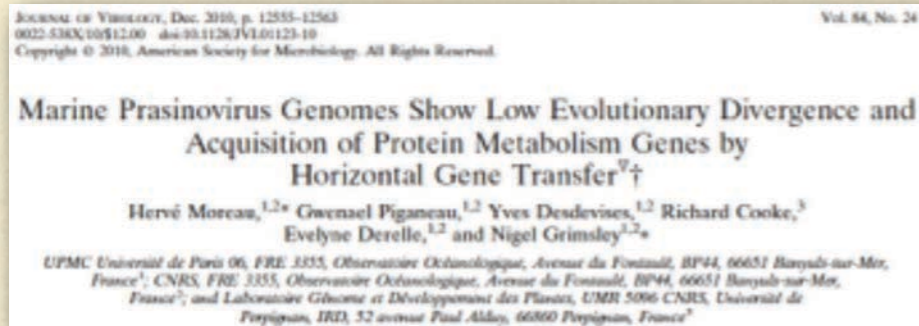
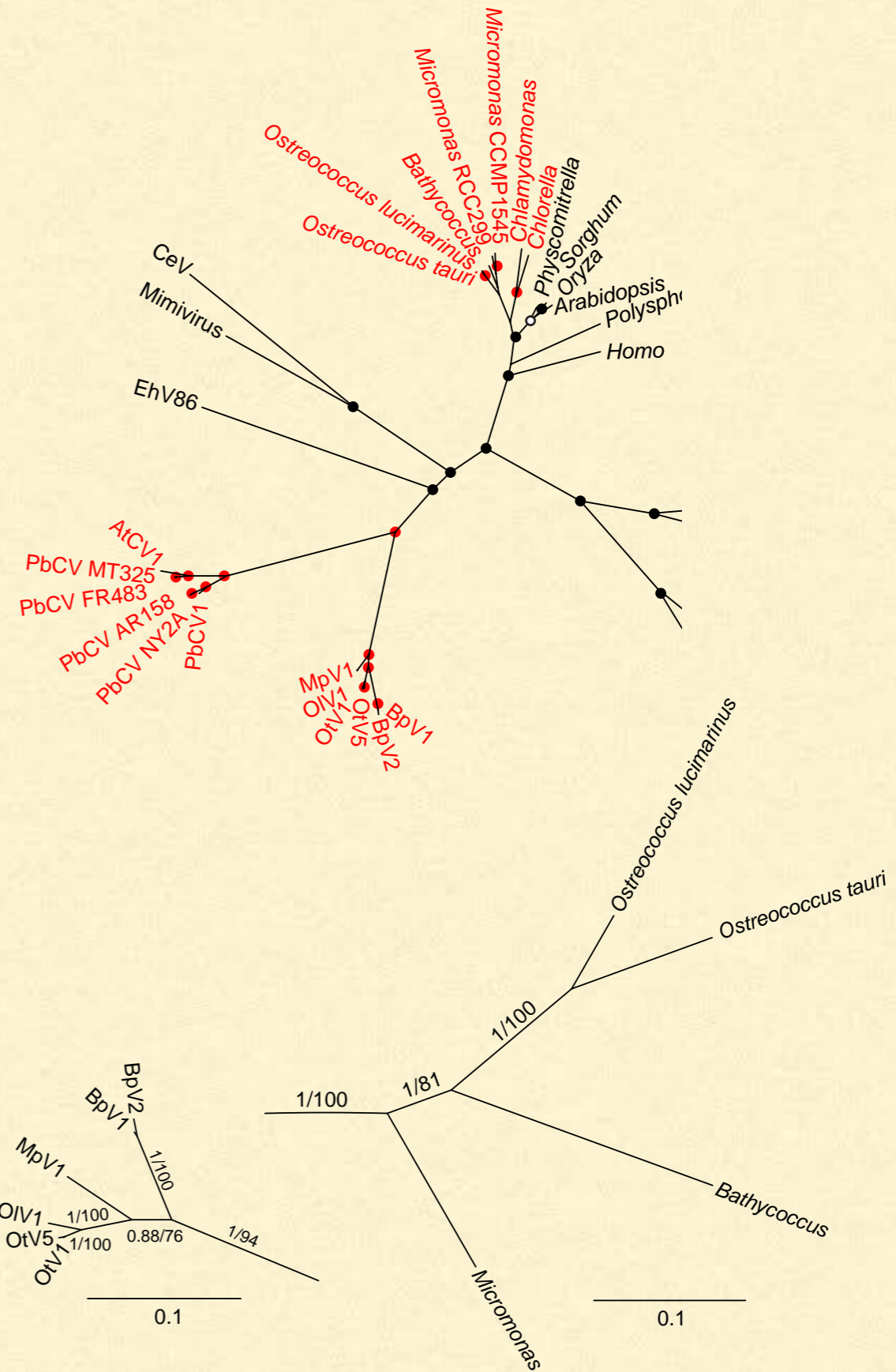
- Les dsDNA virus d'algues vertes sont monophylétiques

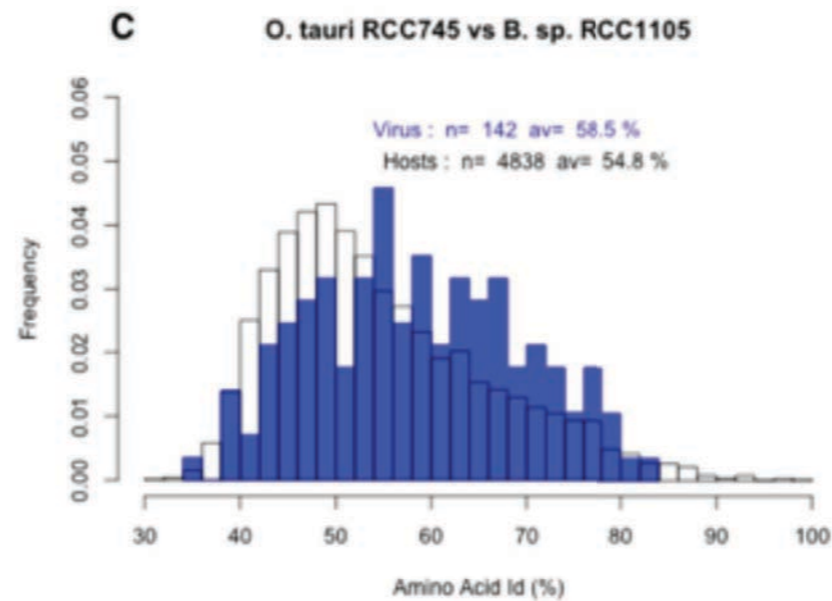
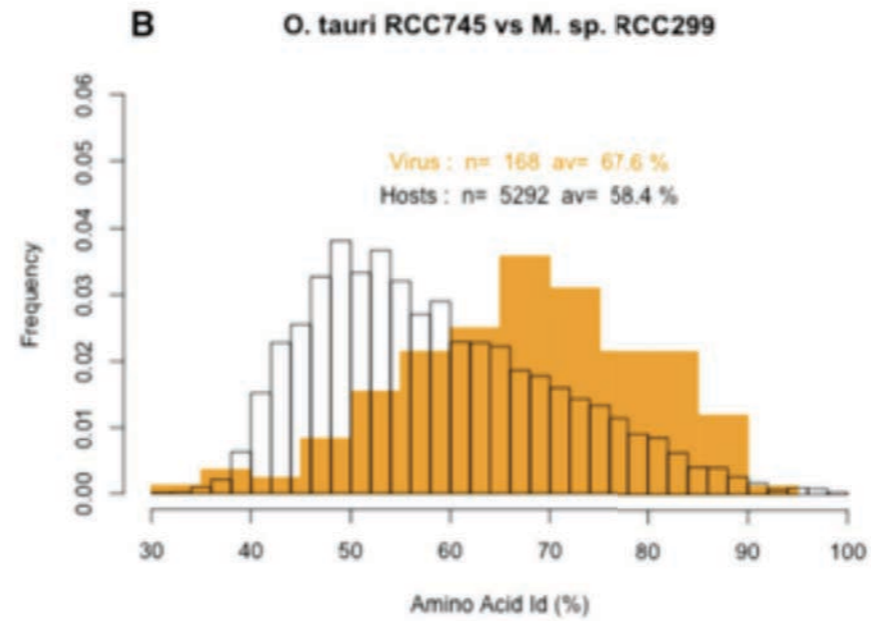
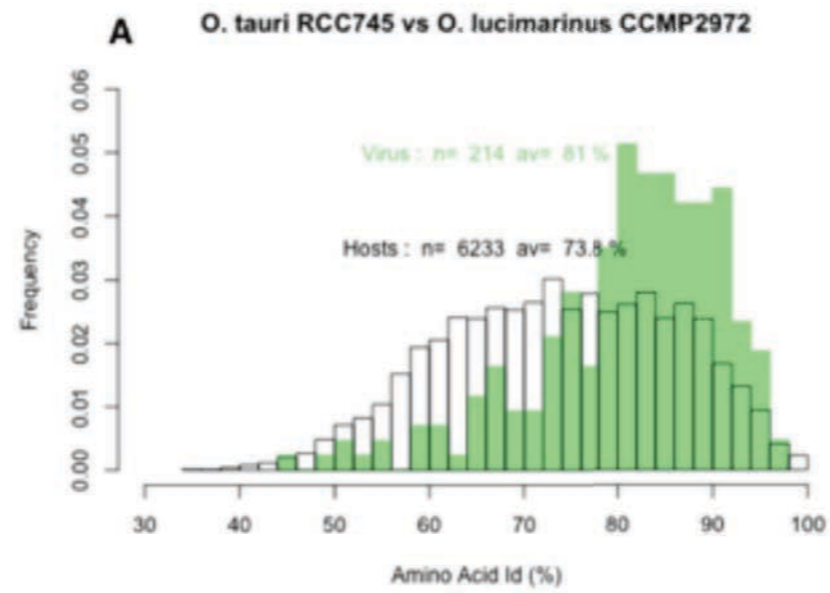
- Coévolution avec les hôtes

- Divergence évolutive : hôtes > virus

- Evolution plus rapide des hôtes ?

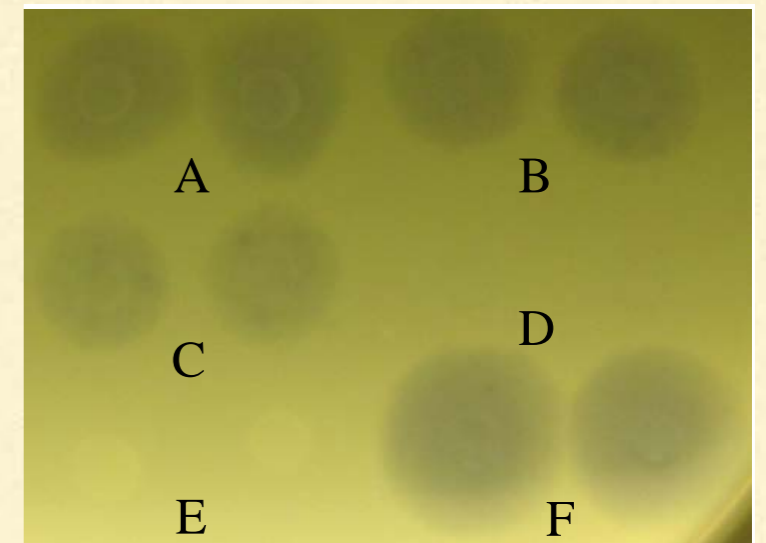
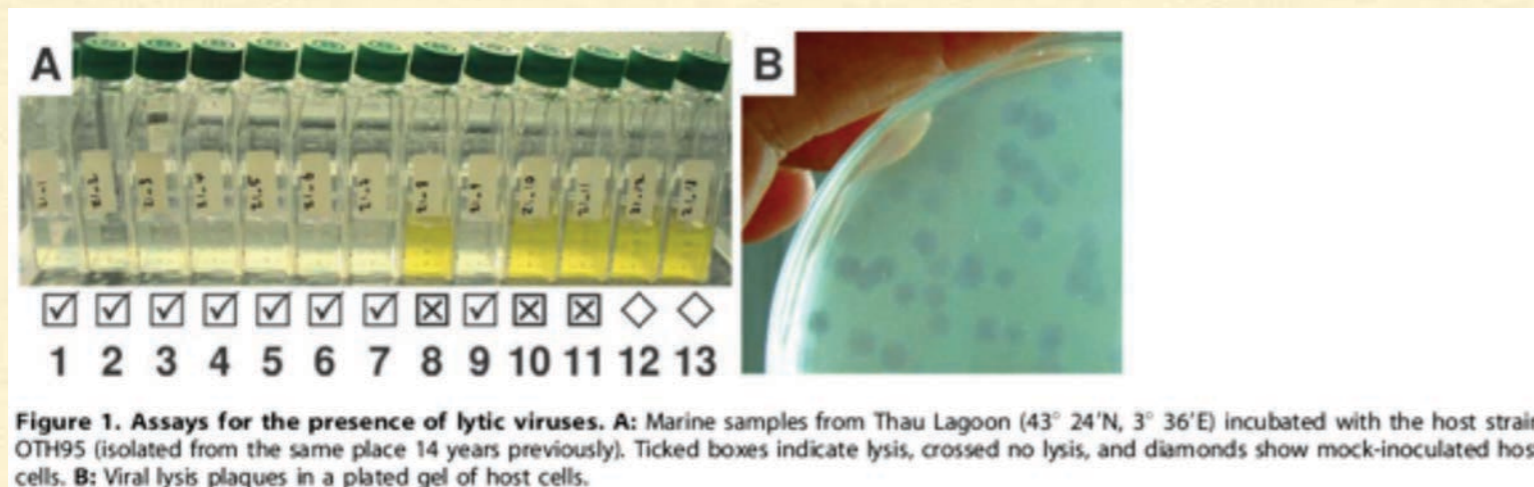
- Colonisation récente par les virus ?





✦ Spécificité

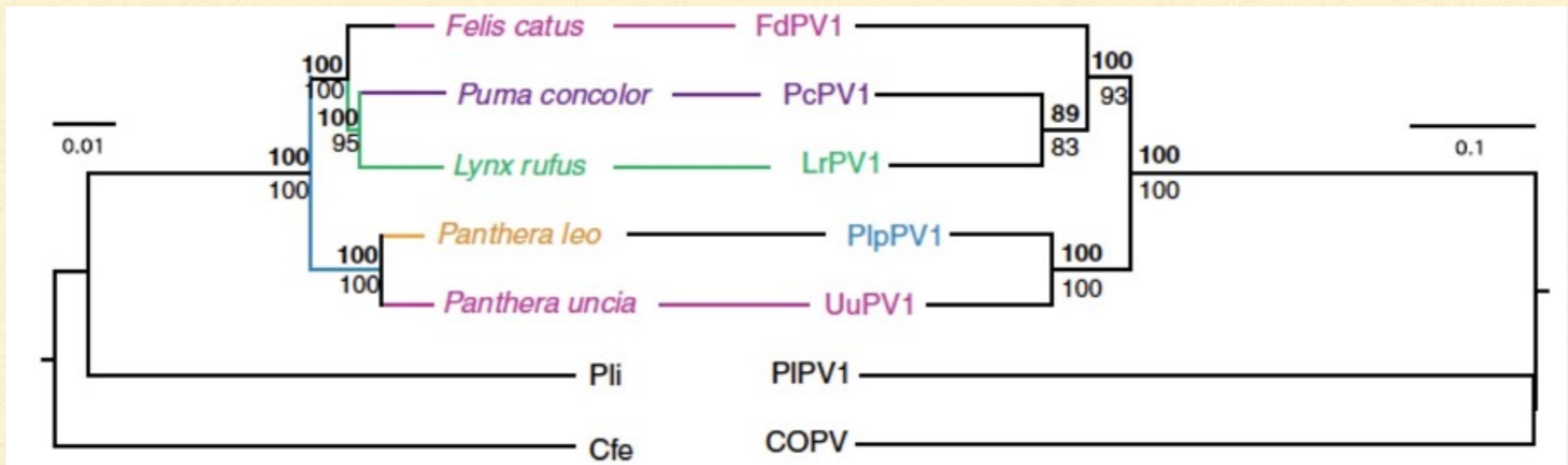
- 313 souches de prasinovirus isolées de 26 hôtes caractérisés par
 - ADNr 18S et ITS pour les hôtes, DNA polymérase partielle pour les virus
 - Test de la spécificité à partir de culture d'hôtes sur boîte



➔ Jeu de données non redondant de 51 virus sur 22 hôtes

- ✦ Cophylogénie

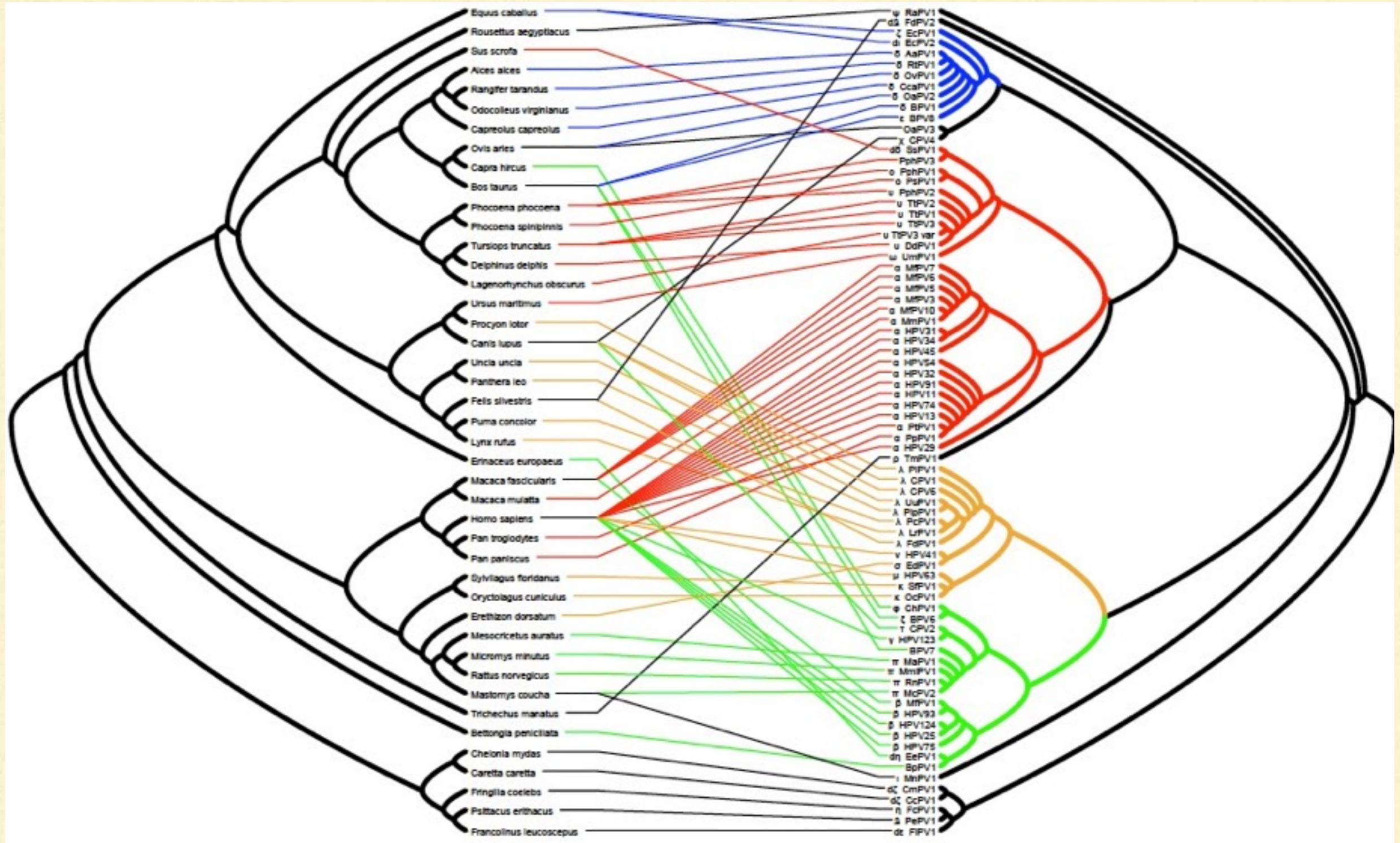
- L'évolution des virus (en particulier pour de tels virus évoluant lentement) est souvent vue comme liée à l'évolution des hôtes
- Cela suppose un signal significatif de cospéciation



Ancient papillomavirus-host co-speciation in Felidae

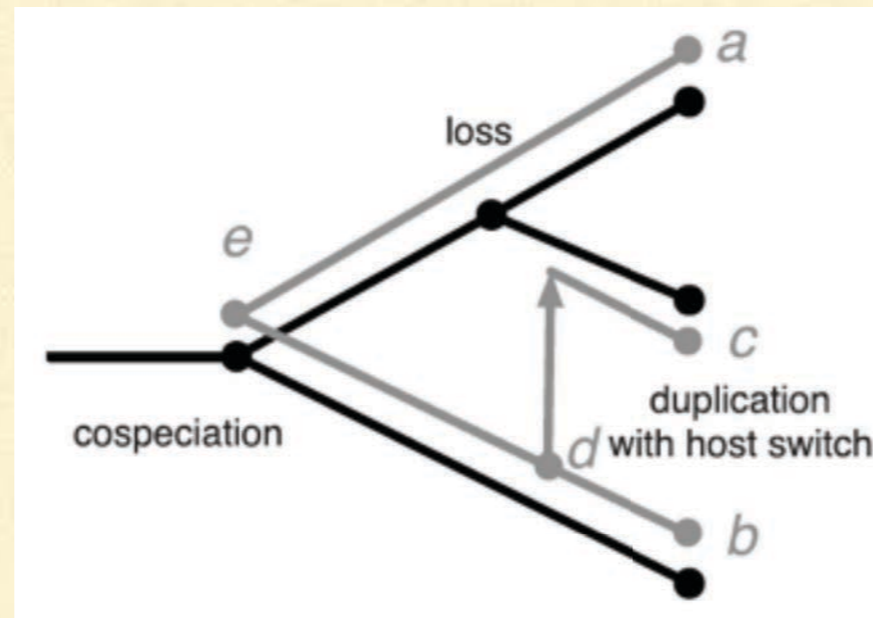
Annabel Rector*, Philippe Lemey**, Ruth Tachezy†, Sara Mostmans*, Shin-Je Ghim§, Koenraad Van Doorslaer*¶, Melody Roelke¥, Mitchell Bush#, Richard J Montali**, Janis Joslin**, Robert D Burk†, Alfred B Jenson§, John P Sundberg**, Beth Shapiro† and Marc Van Ranst*

- Sauf pour des cas simples, il faut des méthodes spécifiques pour mettre en évidence la cospéciation

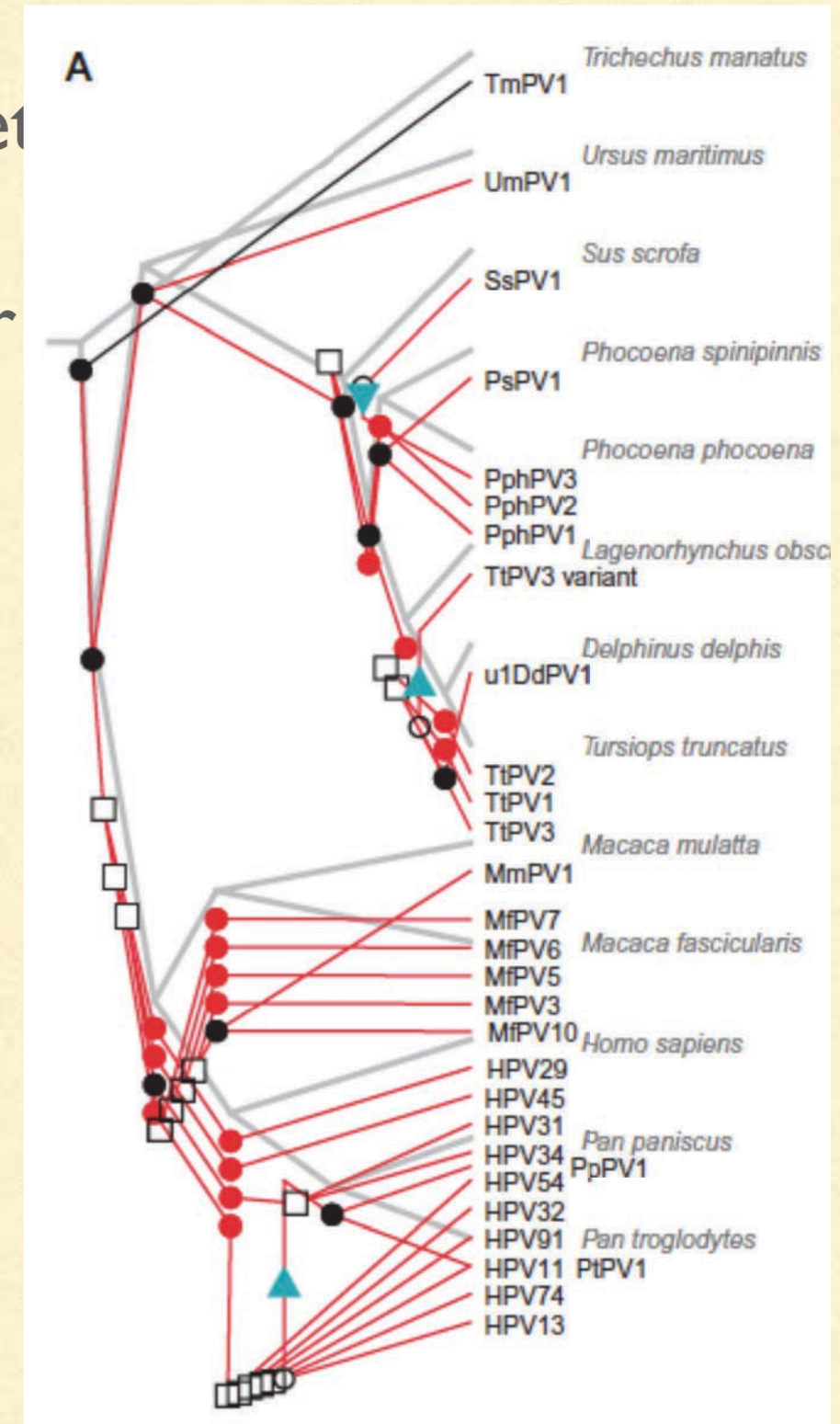


-
- Conséquences de la cospéciation :
 - Origine, diversité, spéciation, modes de transmission, ...
 - Comparaison des taux (divergences) évolutifs entre hôtes et virus
 - Chez les prasinovirus, un signal de cospéciation suggèrerait que des hôtes évoluent plus vite que leurs virus !
-

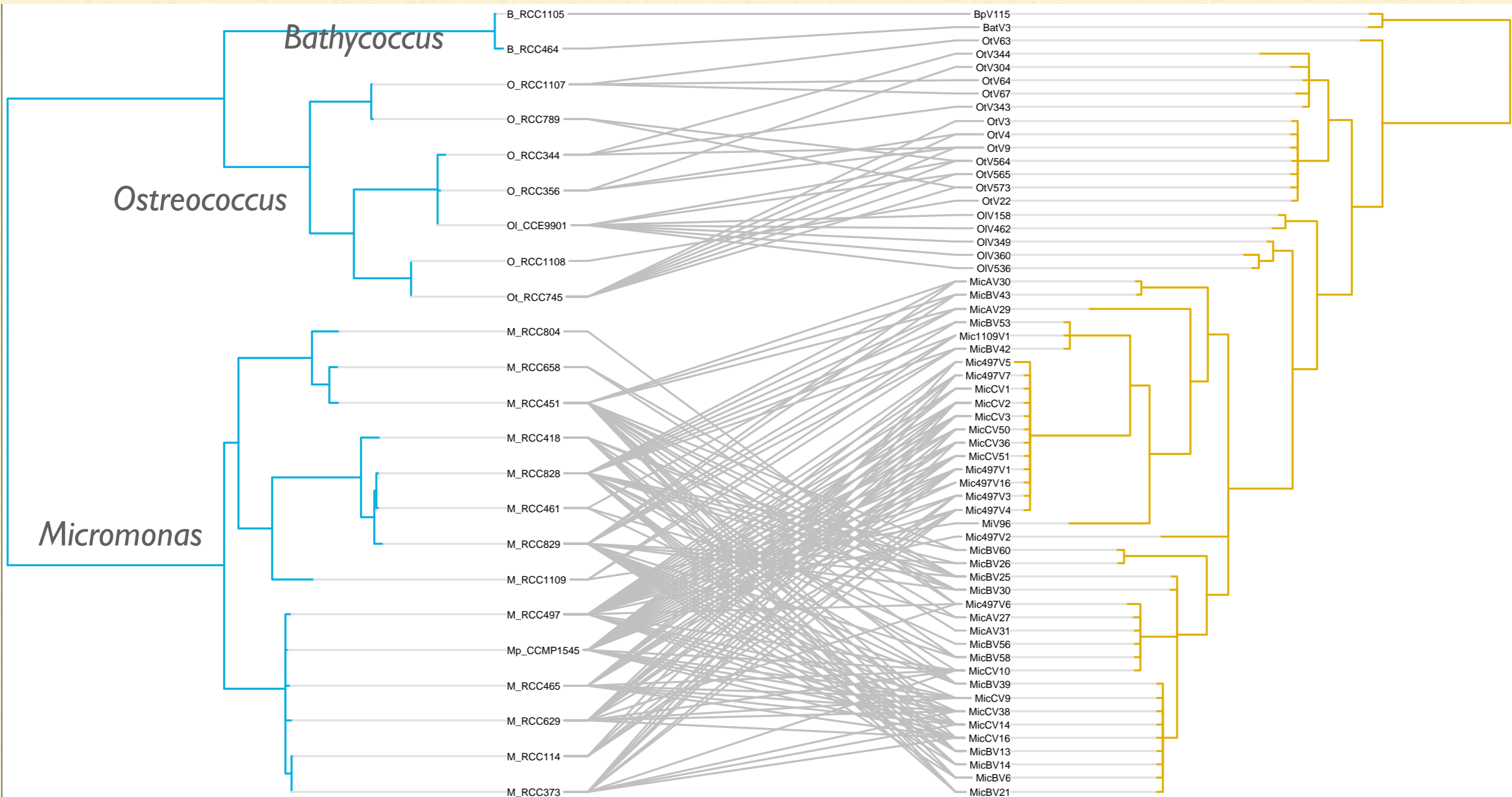
- Arbres phylogénétiques pour les hôtes et
- Couplés aux données de spécificité pour cophylogénétiques avec
 - Jane (topologies)



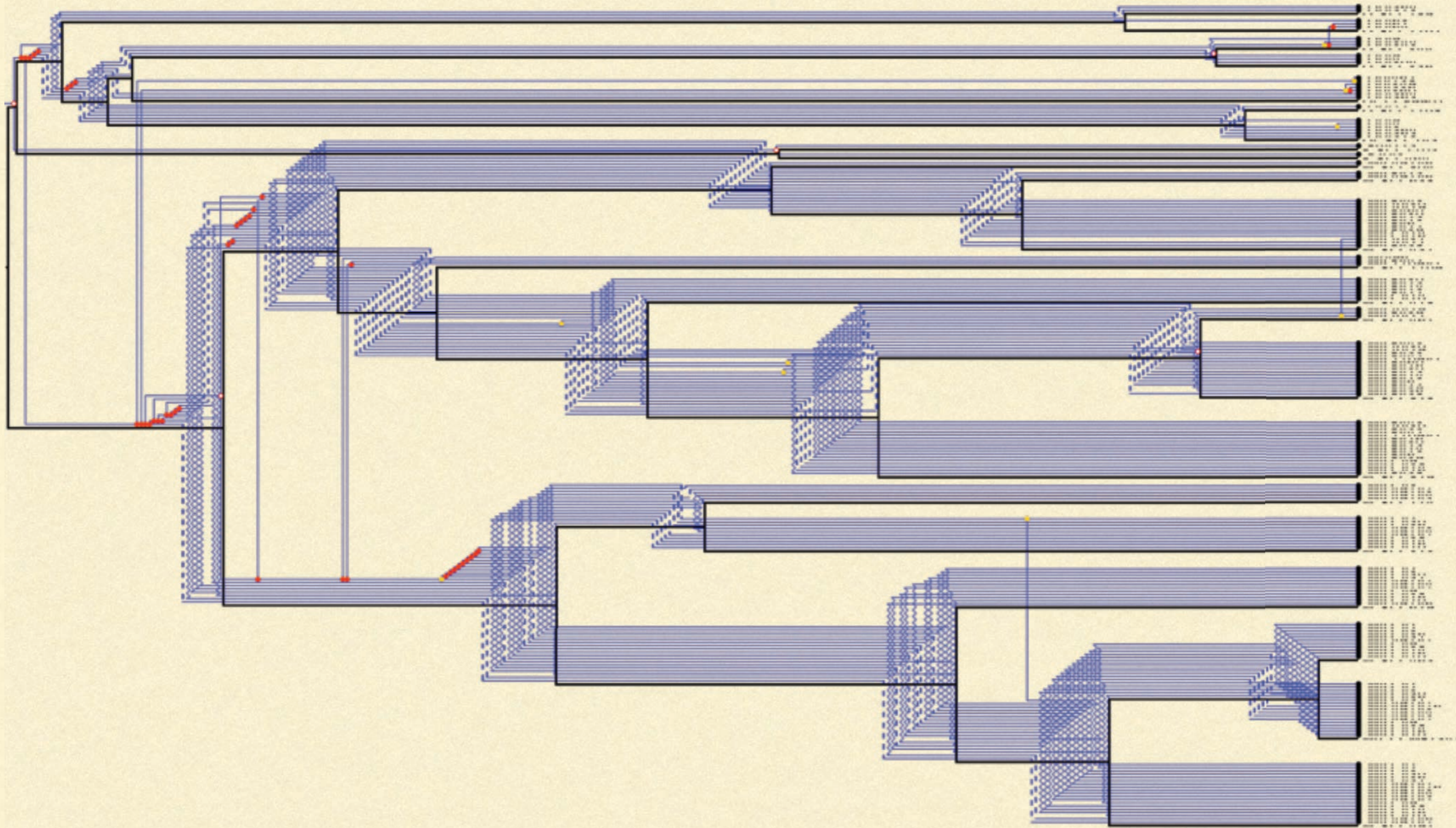
- ParaFit (distances)



■ Tanglegram



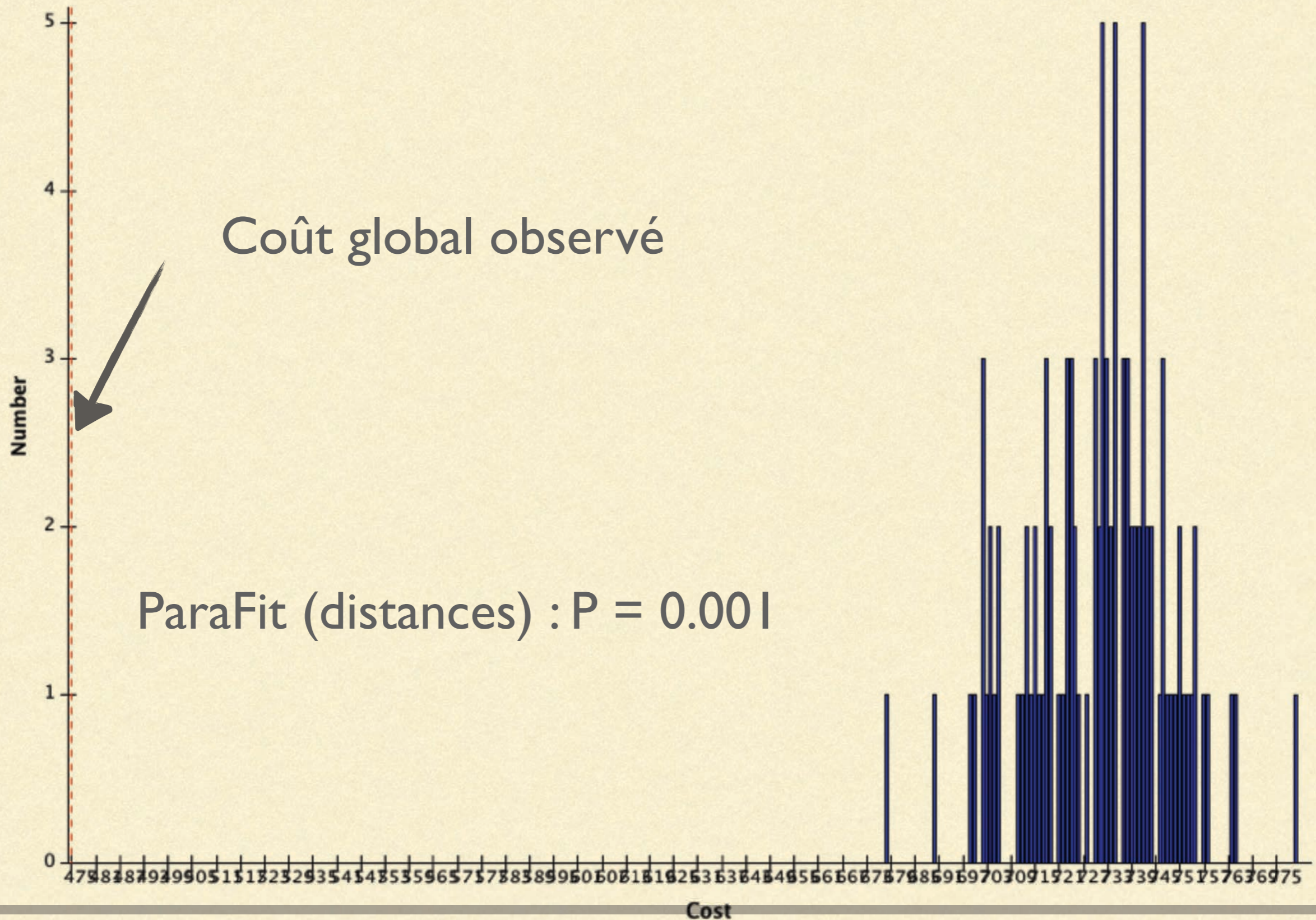
- Pas facile d'interpréter les reconstructions...



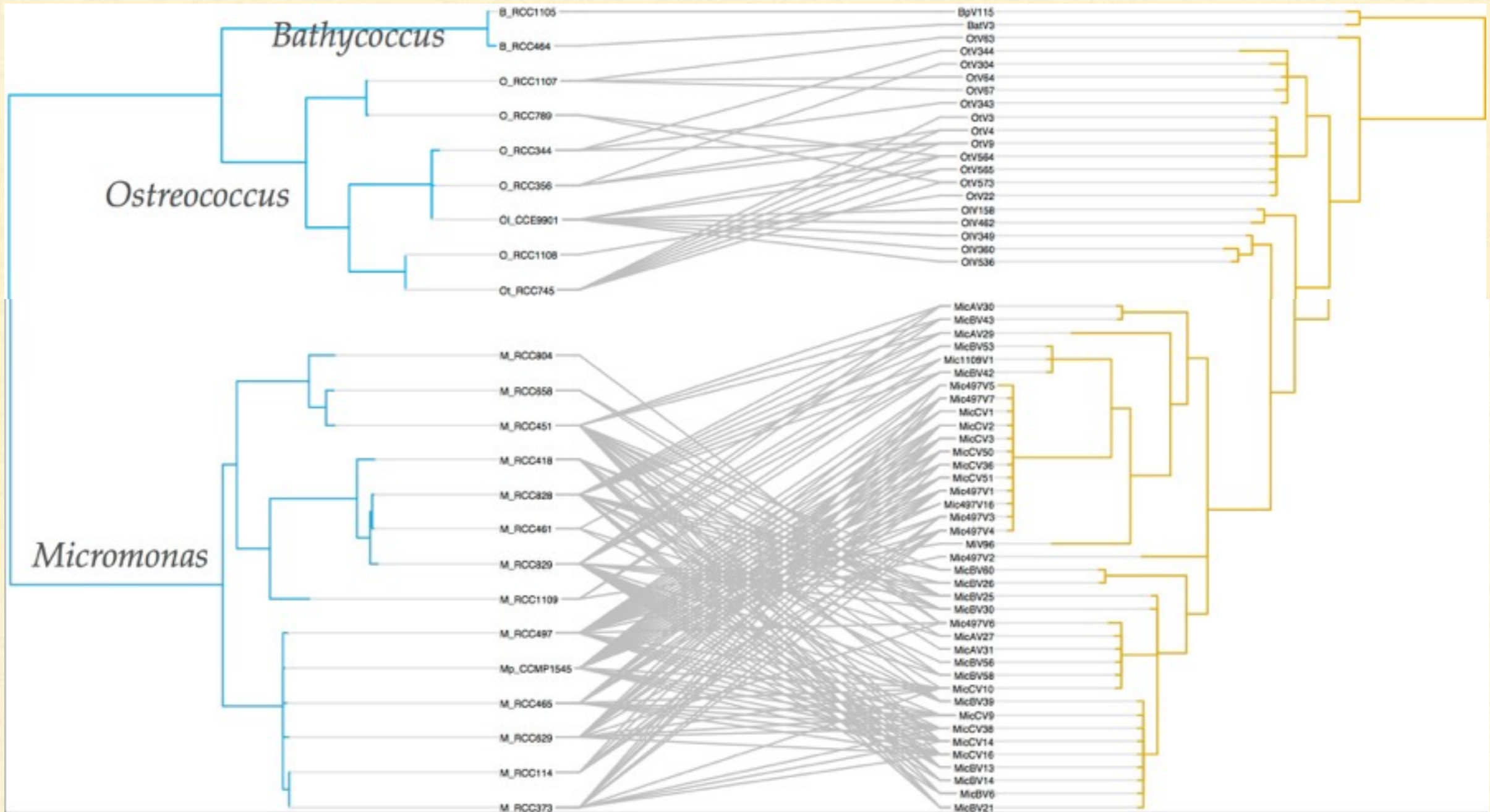
- Beaucoup de duplications
-

■ Coût global significatif

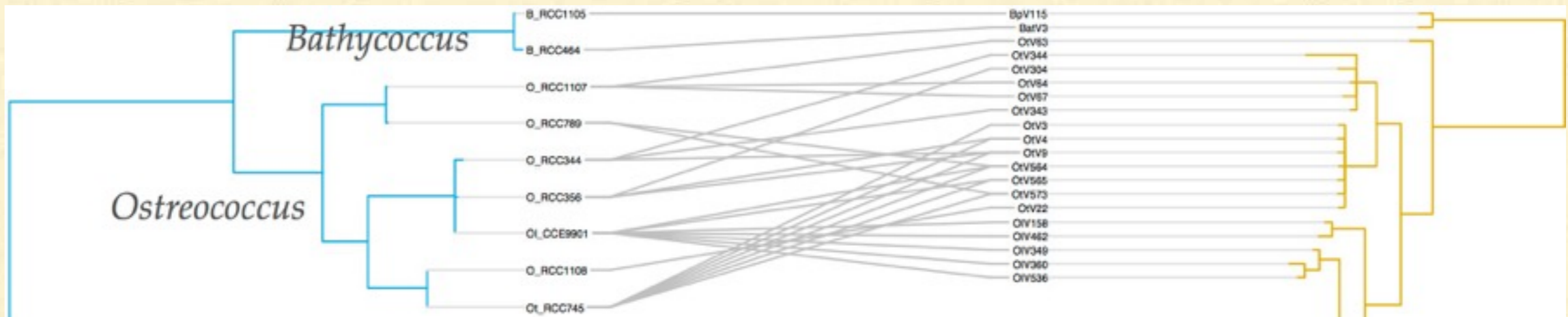
Distribution of Costs of Random Sample Solutions



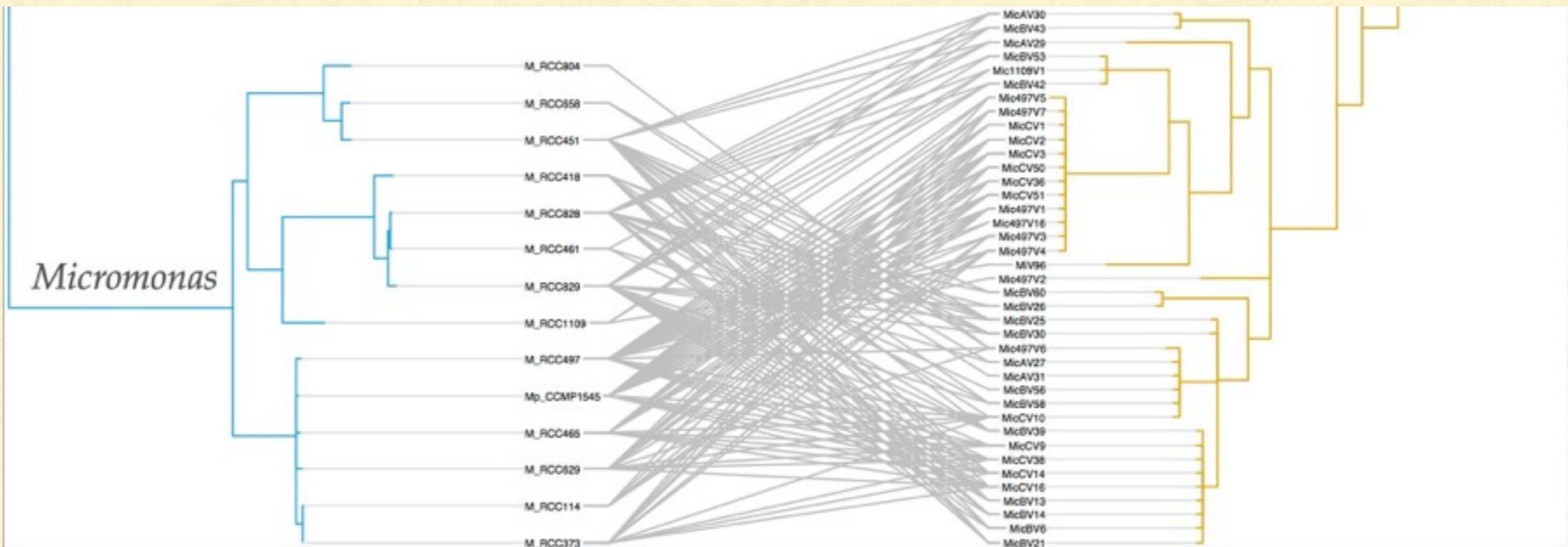
■ Analyses séparées



■ Analyses séparées



Topologies : $P = 0.5$ / Distances : $P = 0.01$



Topologies : $P = 0.001$ / Distances : $P = 0.01$

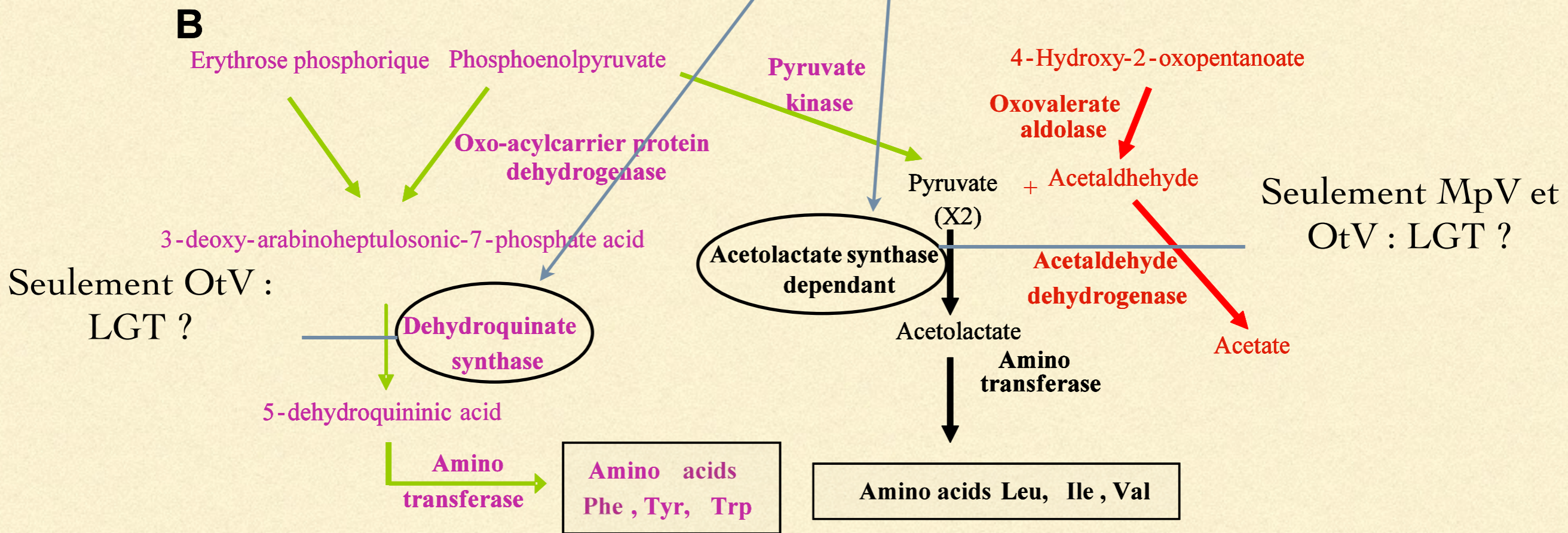
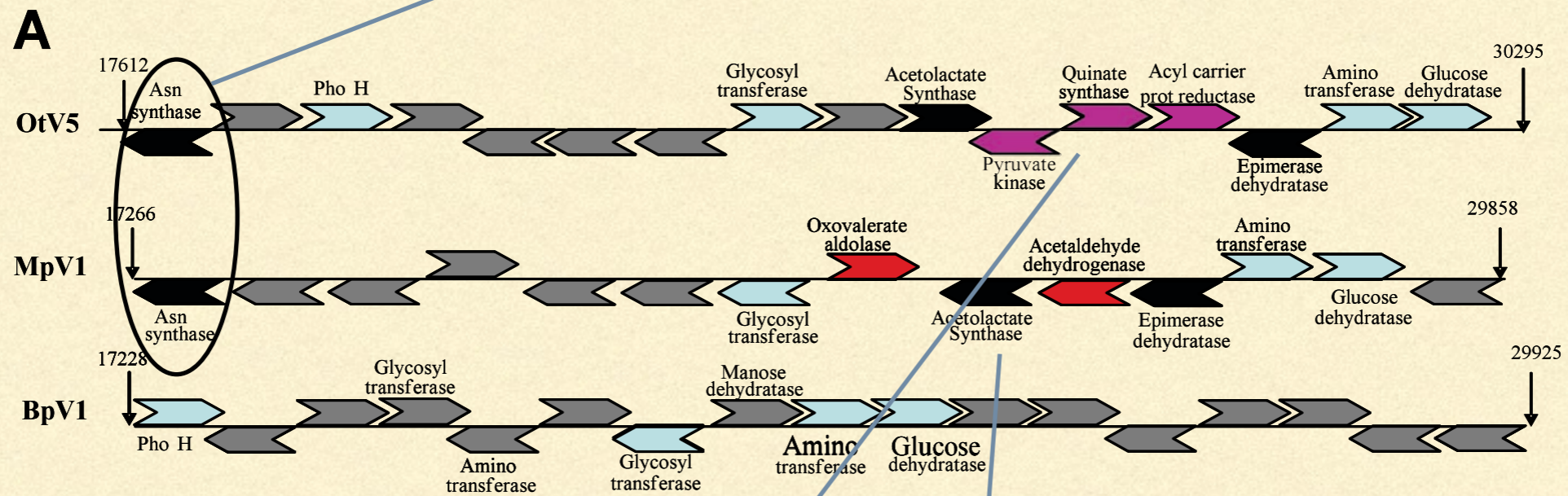
COPHYLOGÉNIE : CONCLUSIONS

- Signal cophylogénétique mais histoire complexe
 - Congruence avec distances : les changements d'hôtes se font sur des hôtes proches phylogénétiquement
 - *Poursuite phylogénétique possible (décalage temporel), pas forcément de la vraie cospéciation*
 - Besoin de calibrations temporelles, par exemple avec des séquences virales datées
-

- Transfert latéral de gènes

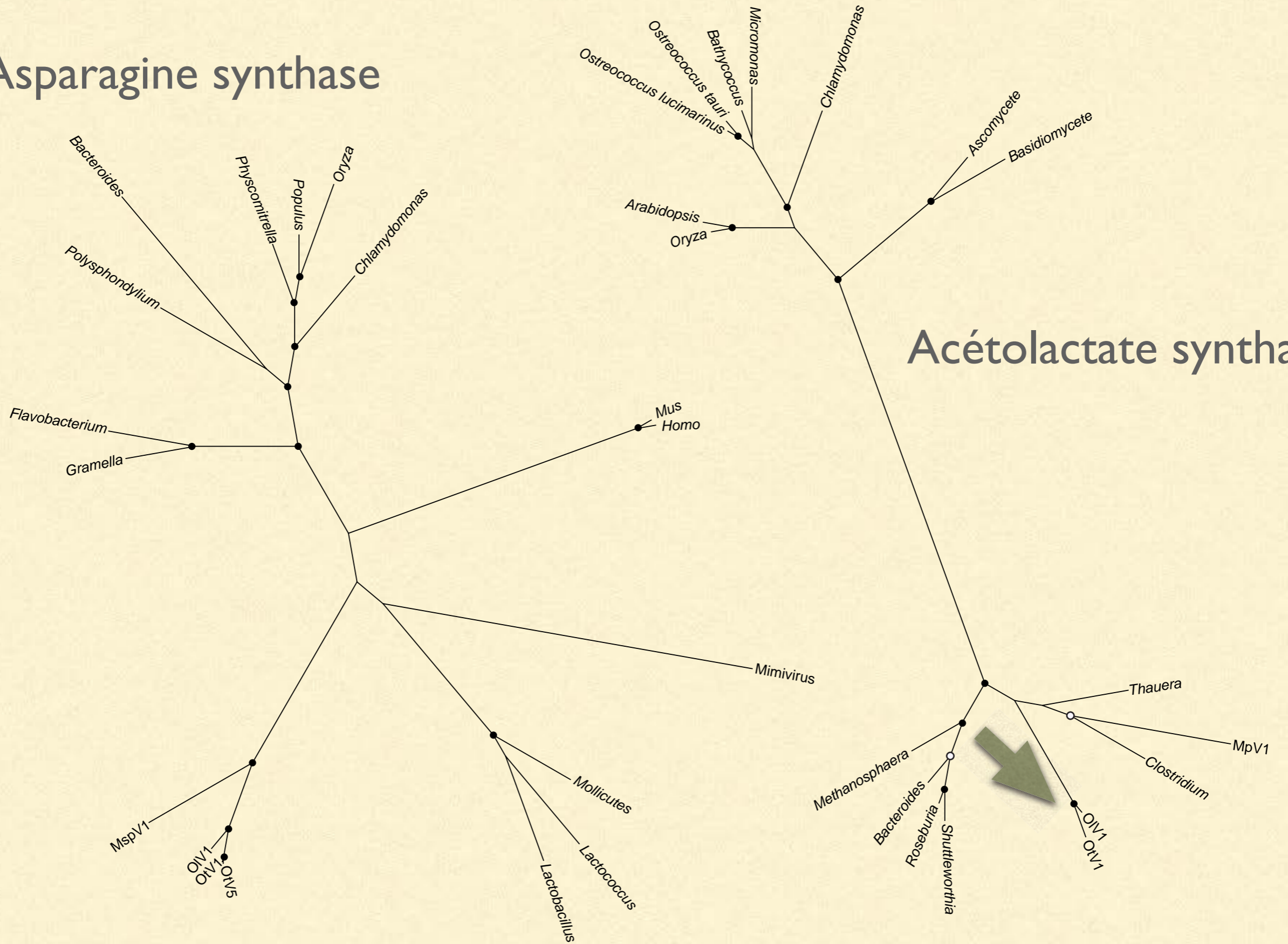
-
- Les génomes des prasinovirus possèdent des voies métaboliques pour la synthèse d'AA jamais observées chez des virus
 - Ces voies ne sont pas présentes dans tous les génomes de prasinovirus
 - Un gène HSP70 existe seulement dans le génome de BpV
 - Ces gènes trouvent-ils leur origine dans un transfert latéral ?
 - Si oui, à partir de l'hôte ou d'une autre source ?
-

Seulement MpV et OtV : LGT ?

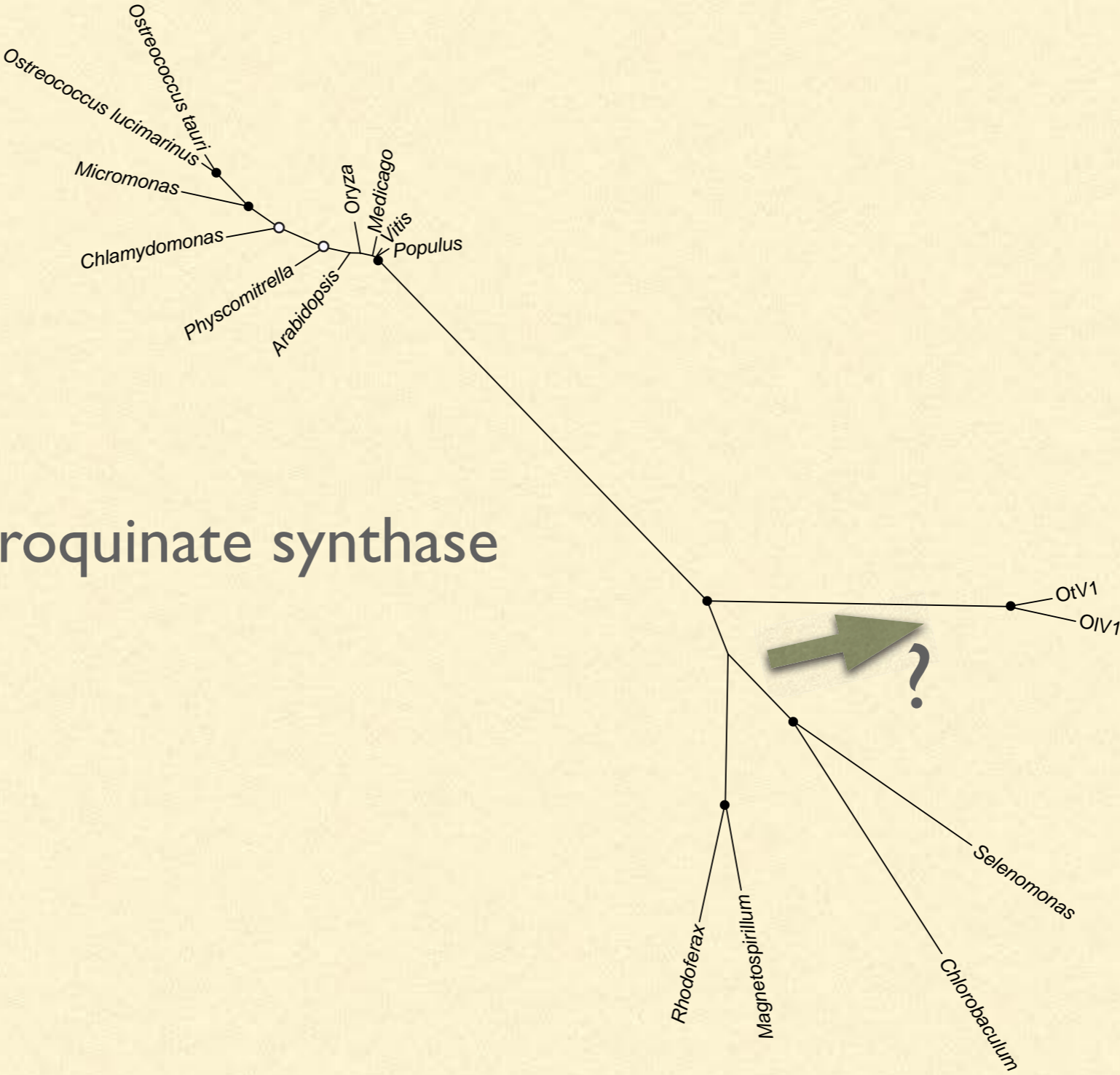


Asparagine synthase

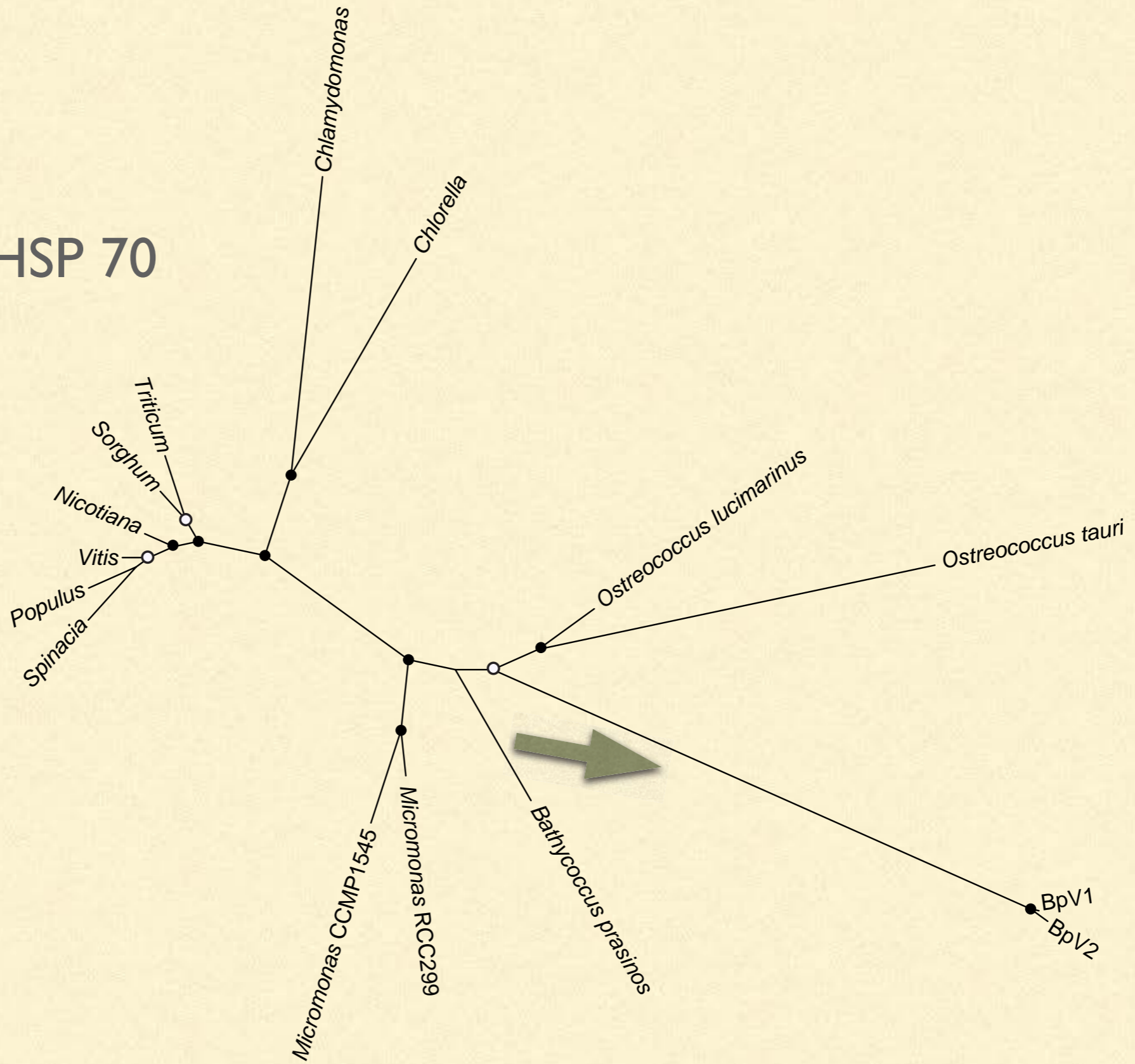
Acétolactate synthase



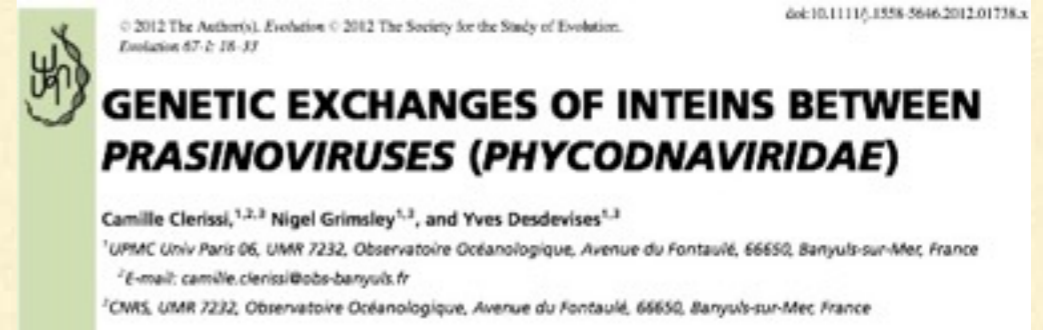
Déhydroquinase synthase



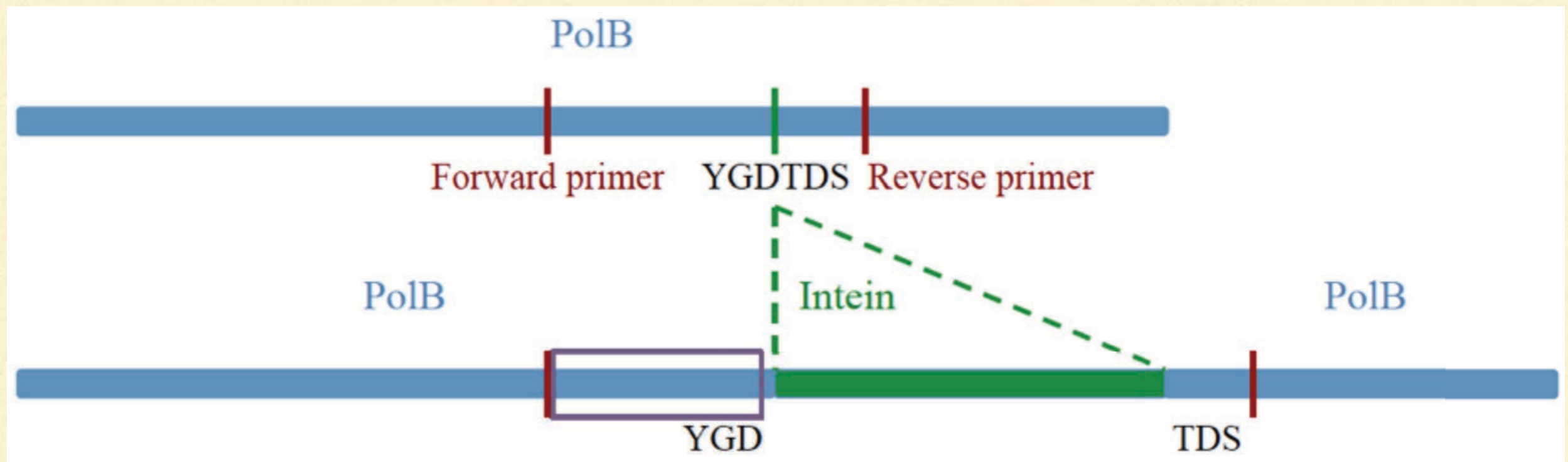
HSP 70



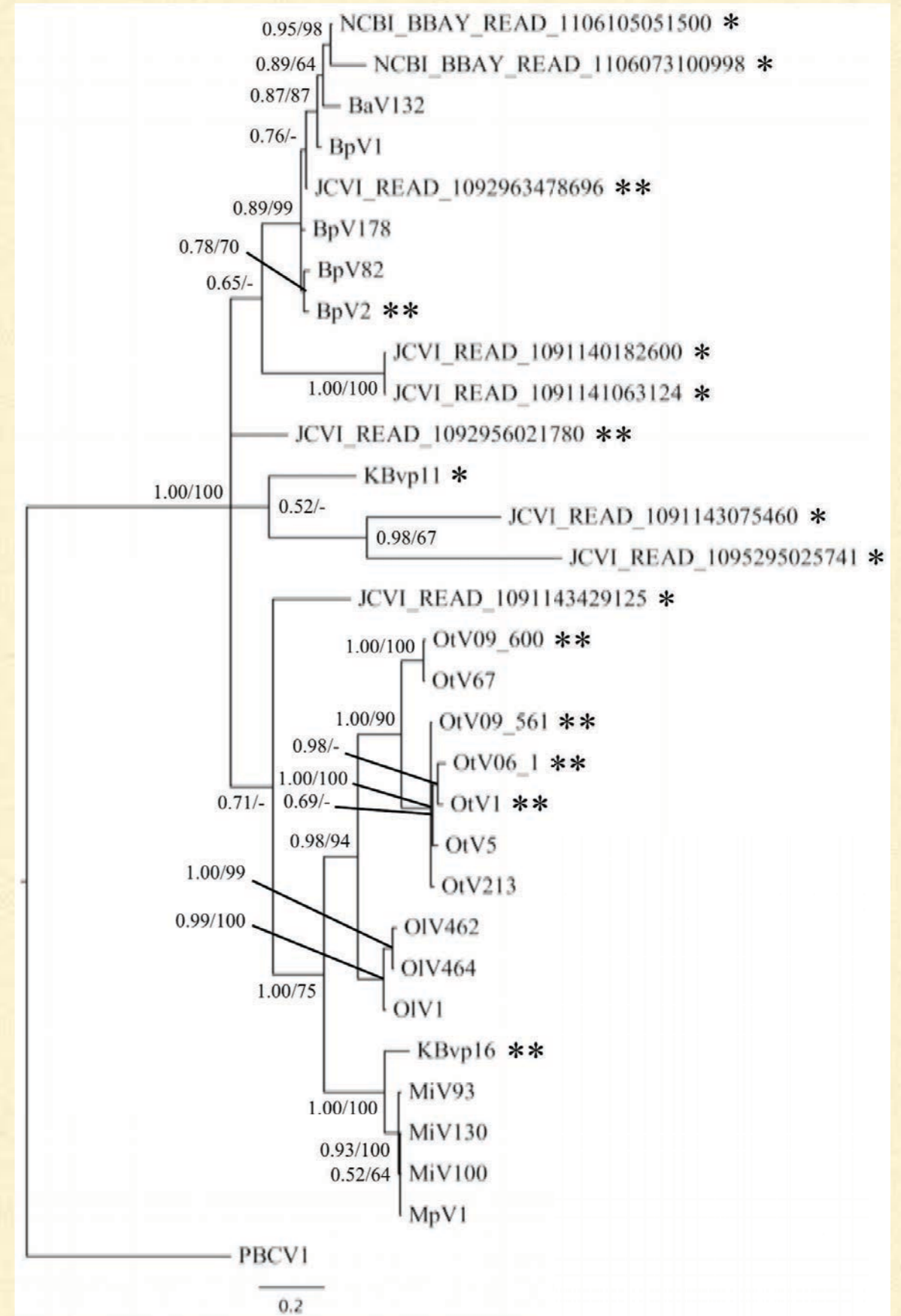
INTÉINES



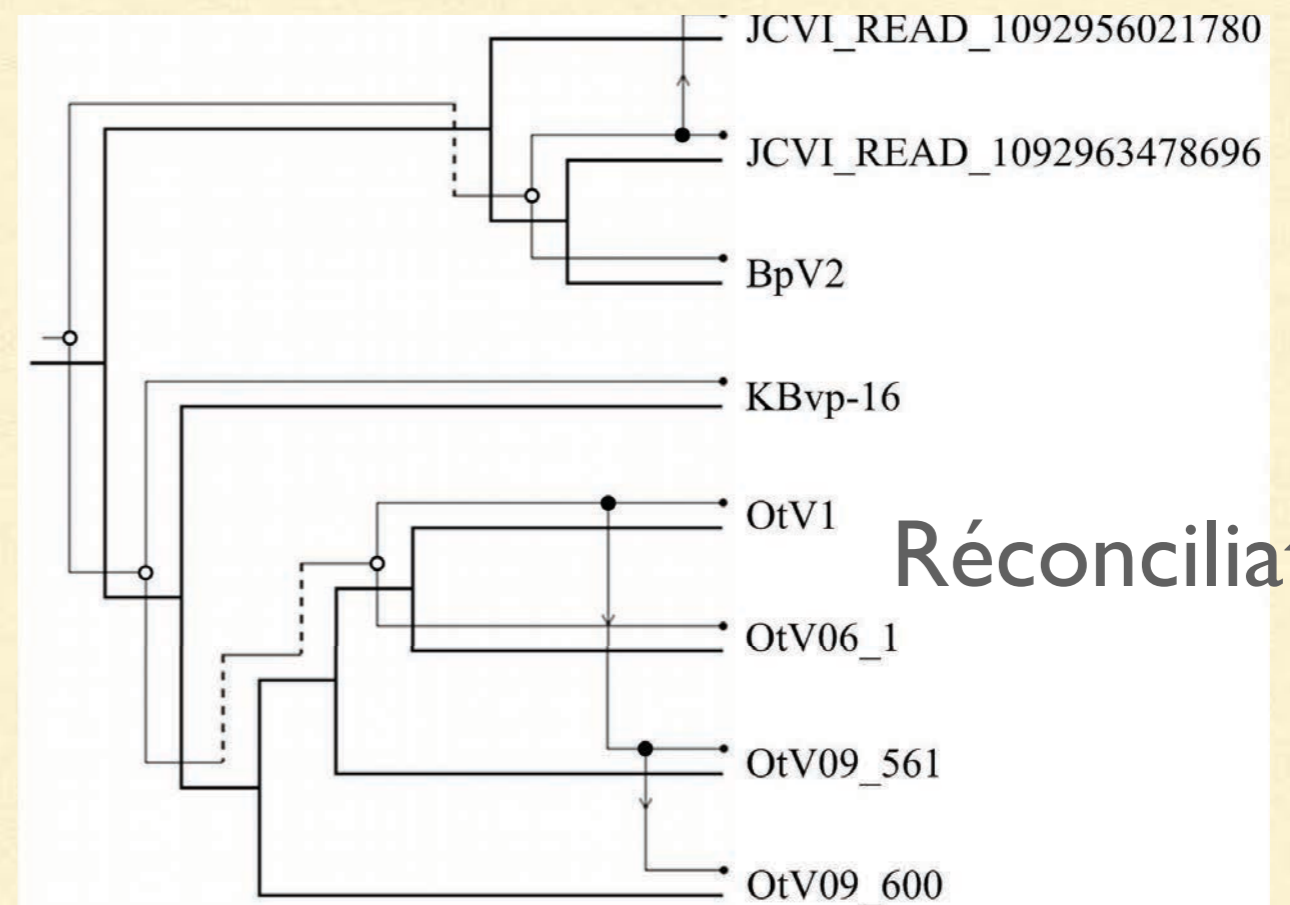
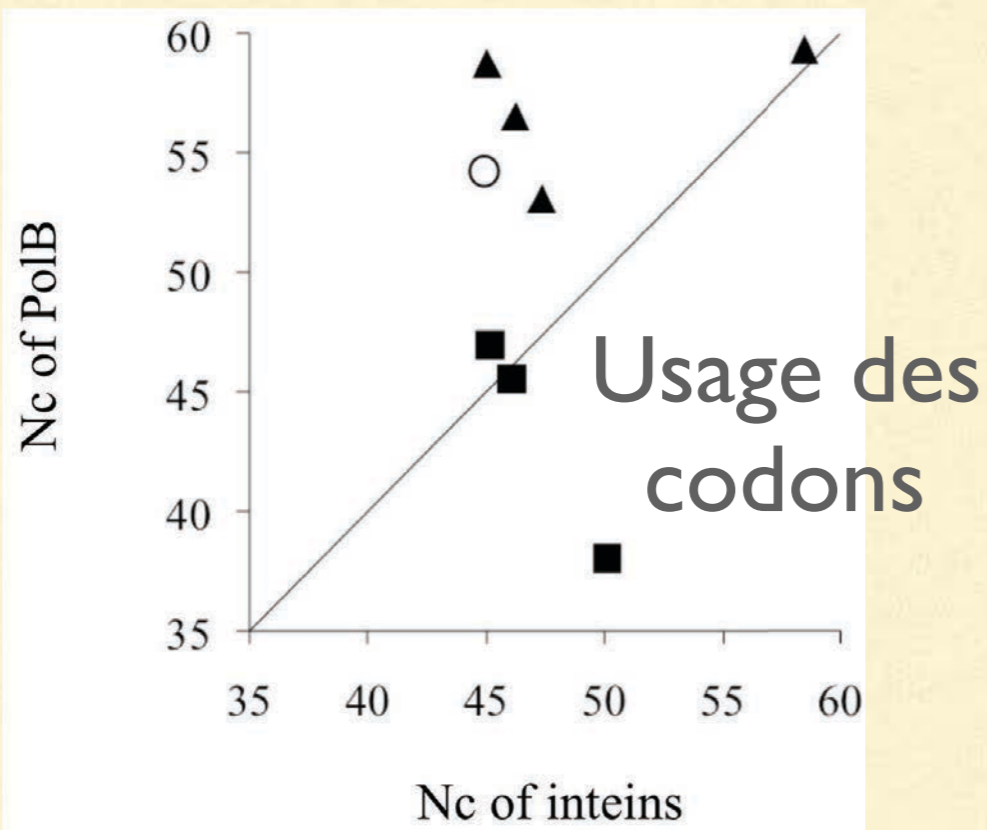
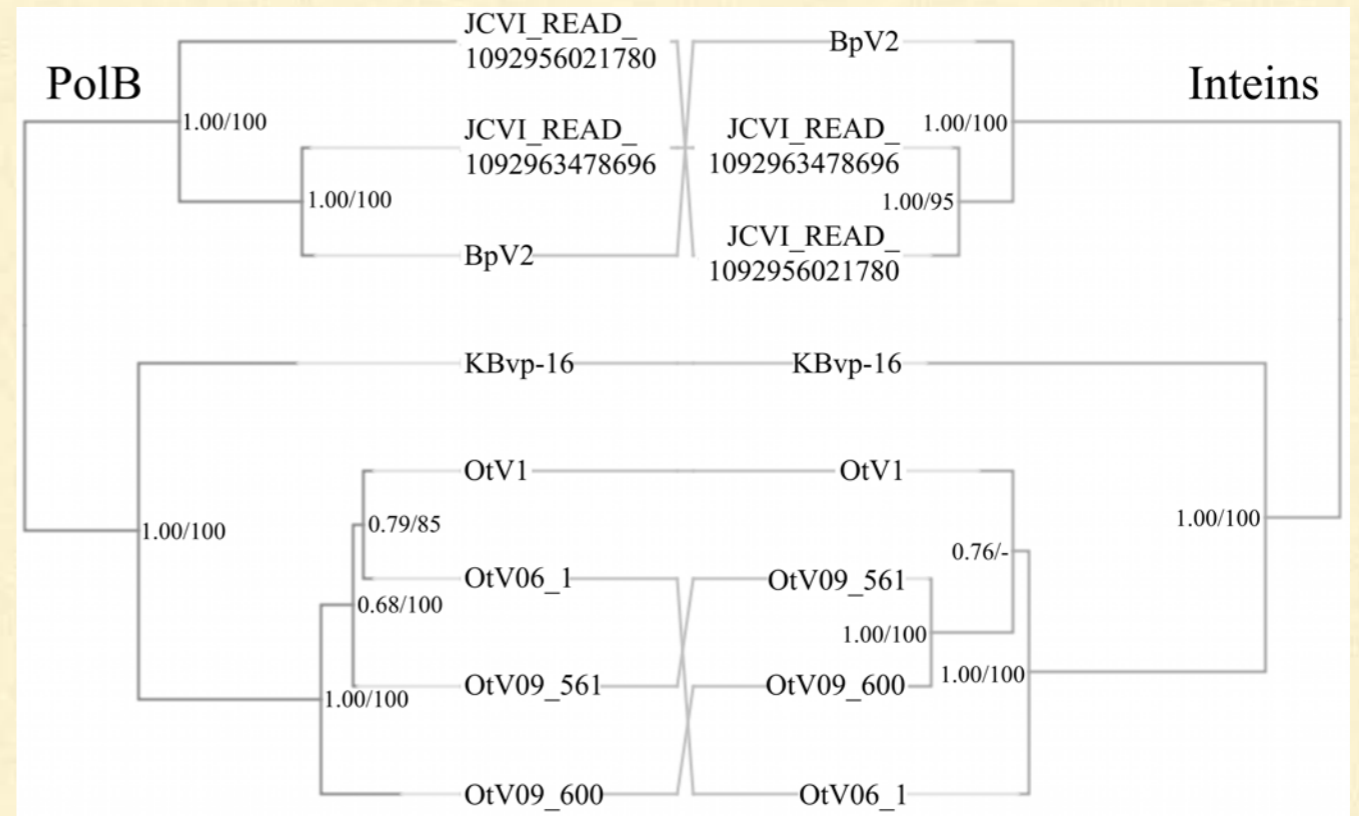
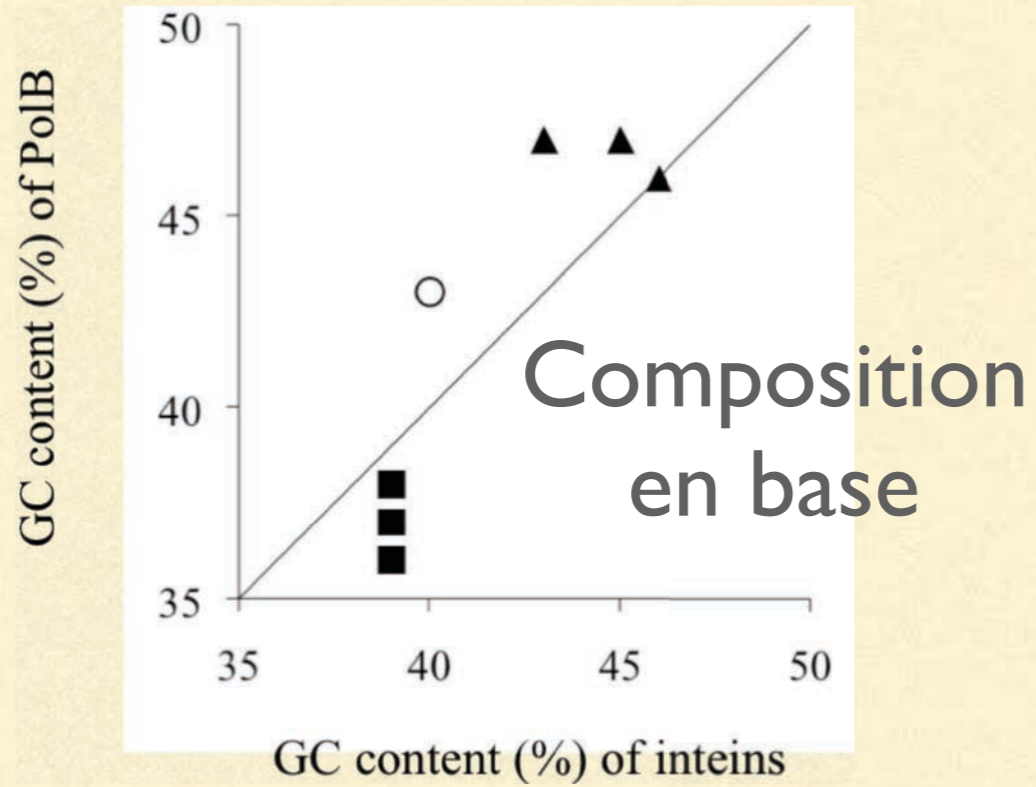
- Transfert entre virus
- Les inteines sont des éléments génétiques s'insérant dans les gènes sans affecter leur activité (autoexcision après traduction)



- Distribution phylogénétique dispersée
- Comparaison avec un arbre de référence (polymérase)



Comparaison d'arbres



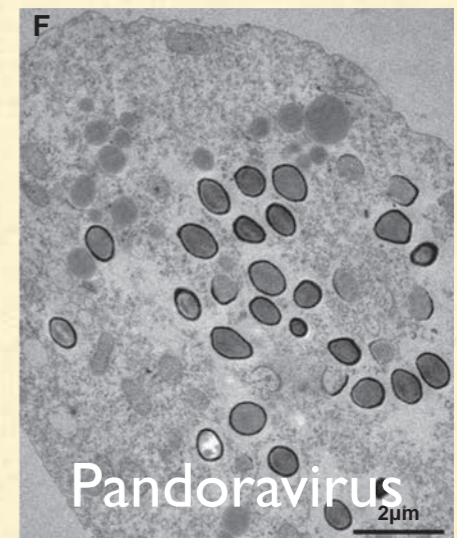
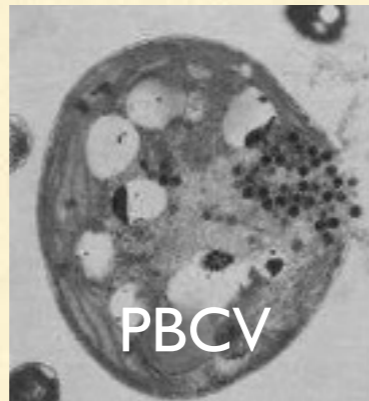
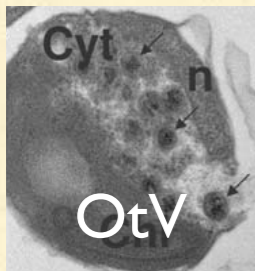
LGT : CONCLUSIONS

- Transferts de gènes dans les génomes viraux, parfois à partir de l'hôte
 - Transfert d'intéines entre virus, qui suggère des co-infections, ce qui est compatible avec les profils de spécificité observés, pas toujours stricte
-

✦ *Burst size*

BURST SIZE

- La *burst size* est le nombre moyen de virions produits par une cellule hôte lysée.
- Chez les phycodnavirus, elle montre de grandes variations : 10s à 1000s virions produits.



- Comme elle est directement liée à la descendance virale, la *burst size* subit sans doute une forte pression évolutive.
-

QUESTIONS

- La *burst size* est-elle seulement une conséquence de taille virus/taille hôte ?
 - La taille des virus subit aussi des contraintes : liée à la taille de l'hôte ?
 - ➔ Test de plusieurs hypothèses sur tous les Phycodnaviridae d'hôtes unicellulaires pour lesquels existent des données génomiques et sur le cycle (19 spp.), incluant les Pandoravirus
-

DETERMINANTS POTENTIELS DE LA *BURST SIZE* ET DE LA TAILLE DES VIRUS : TESTS ET HYPOTHÈSES (LITTÉRATURE)

- *Burst size* corrélée à :
 - Taille hôte - contrainte espace pour produire des virus
 - Taille virus - petits virus = grande *burst size*
 - Taille génome virus - moins de temps pour synthétiser de petits génomes = plus de virus
 - Taille génome hôte - gros génome hôte = plus de nucléotides pour produire plus de virus
-

-
- Taille virus corrélée à :
 - Taille hôte - espace, encore
 - Taille génome virus - gros virus = gros génome
 - Taille génome hôte
 - Taille génome virus corrélée à Taille génome hôte - course aux armements vers complexité
-

ANALYSES - MÉTHODES

- La plupart des données de la littérature, quelques-unes de notre labo
 - Phylogénie des virus à partir du gène de la DNA polymerase
 - Données + phylogénie : approche comparative
 - PGLS avec différents modèles (BM, OU, Pagel avec estimation λ), comparés via AIC (*APE*, *Phytools*, *nlme*)
-

RÉSULTATS

Hôte = *Heterocapsa* (Dinoflagellé) : génome 20 Gb !

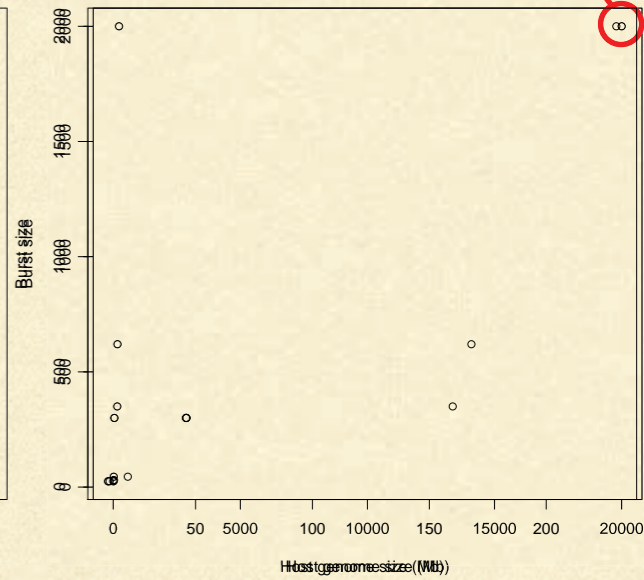
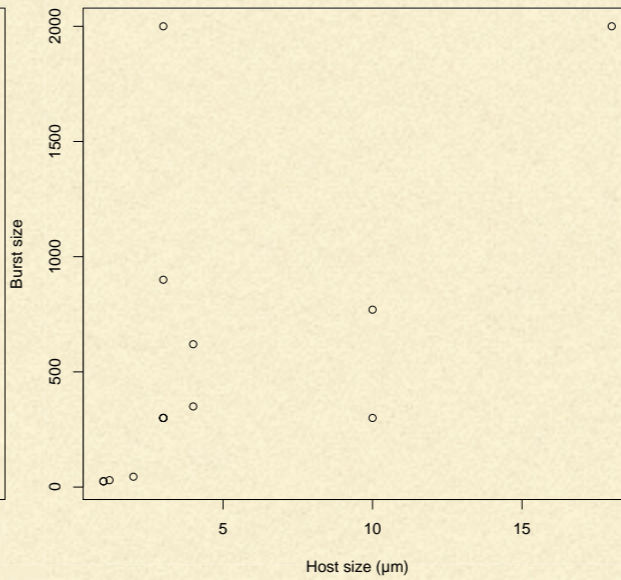
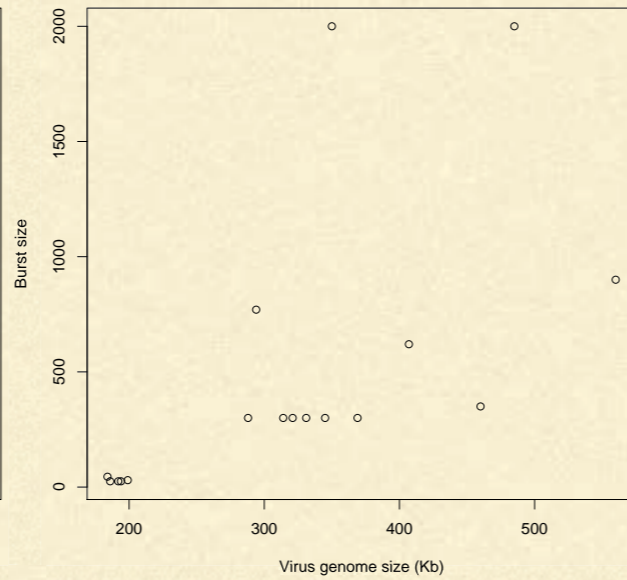
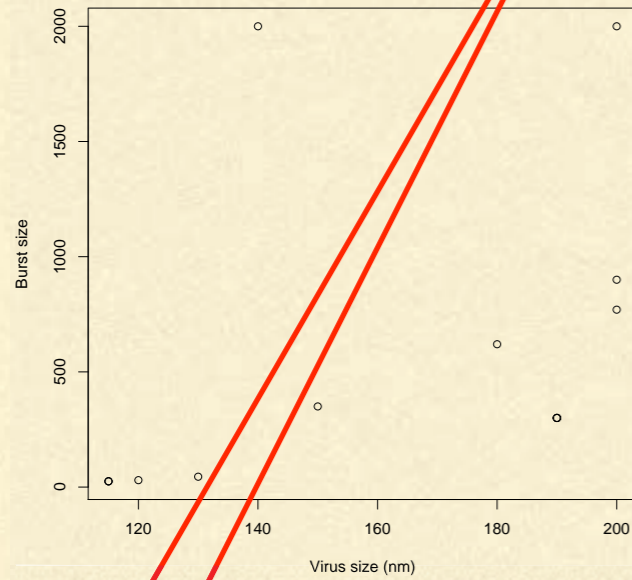
Données brutes Pandoraviruses : génomes 1.9-2.5 Mb

Taille virus

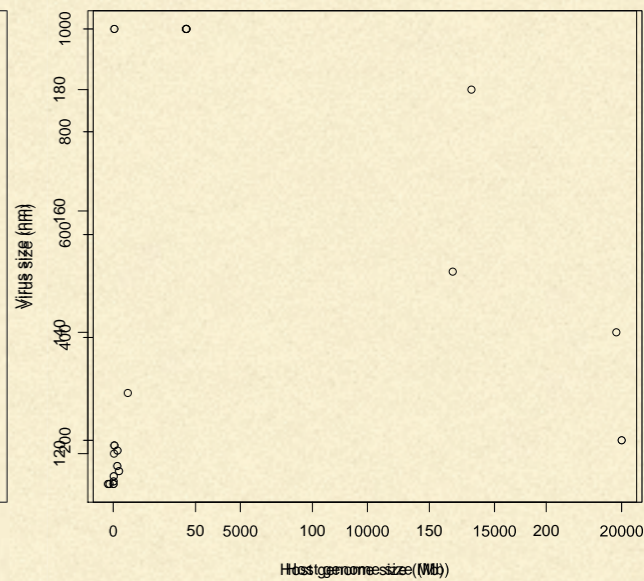
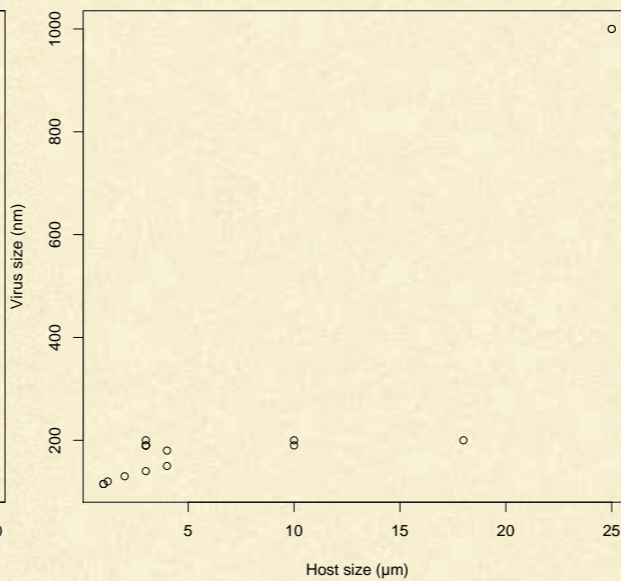
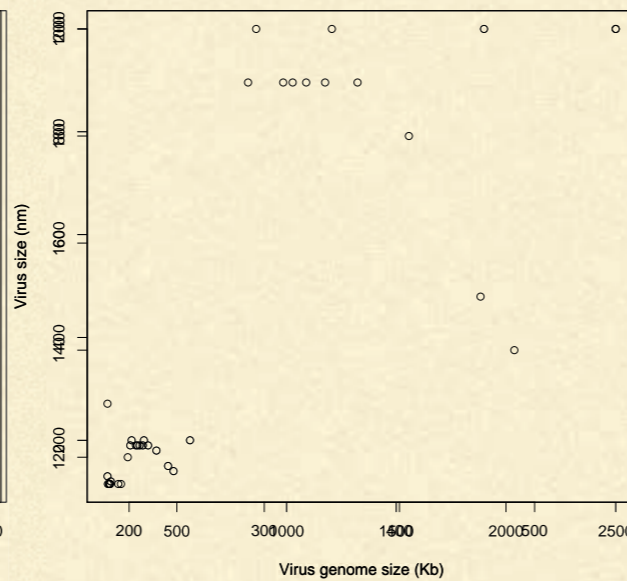
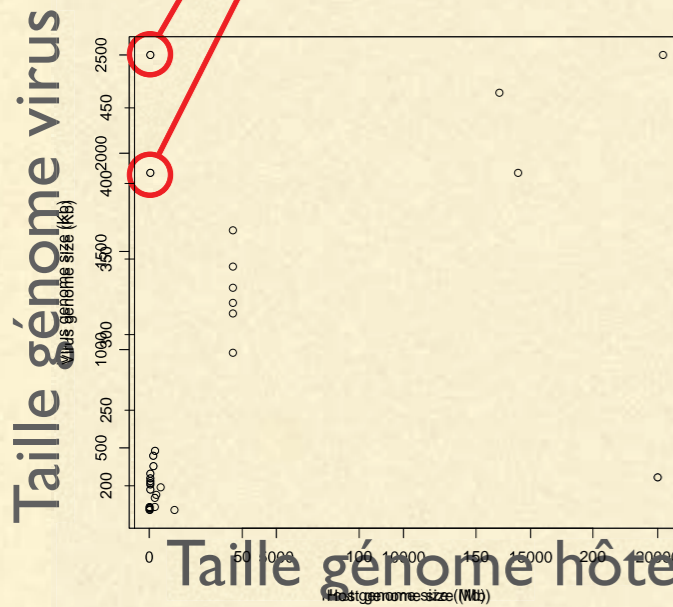
Taille génome virus

Taille hôte

Taille génome hôte



Taille virus



Données brutes et régressions MCO

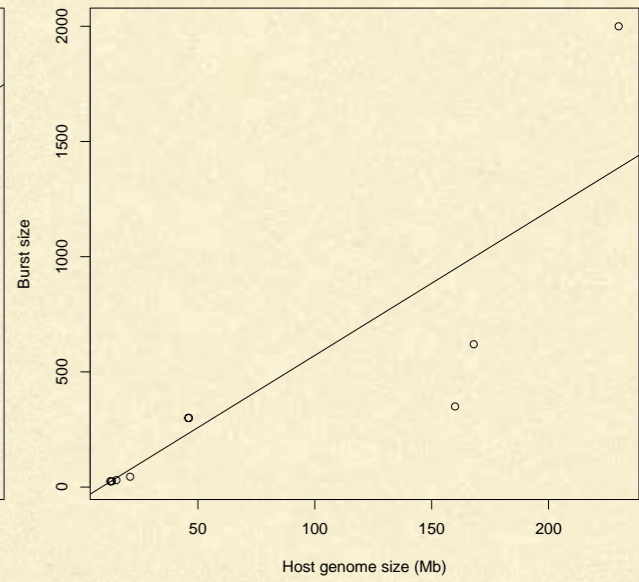
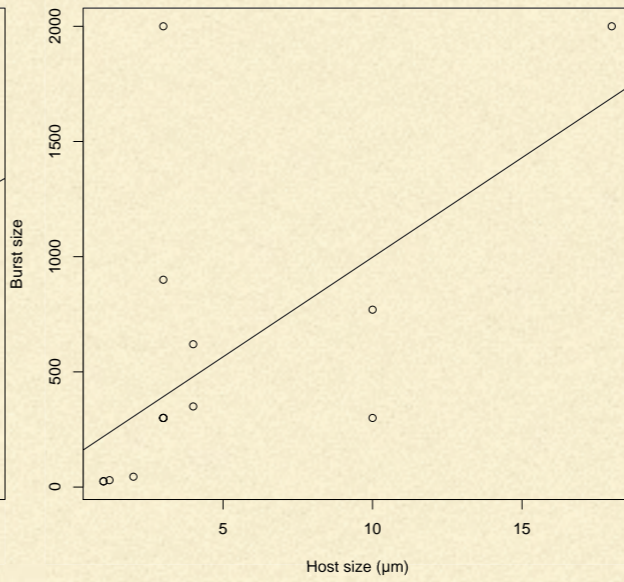
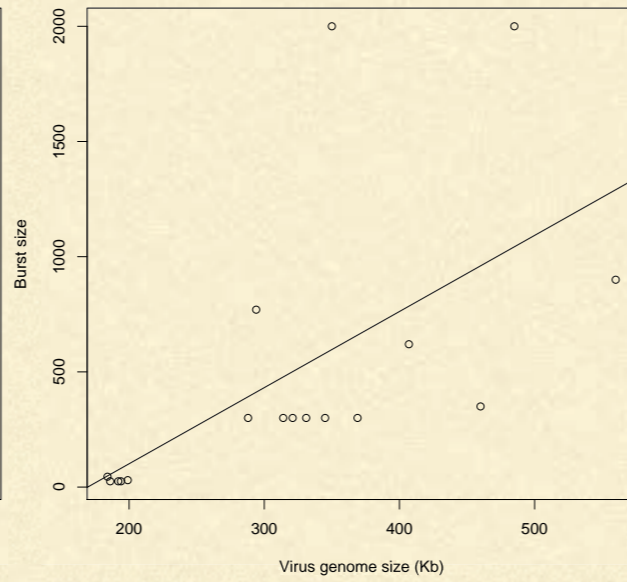
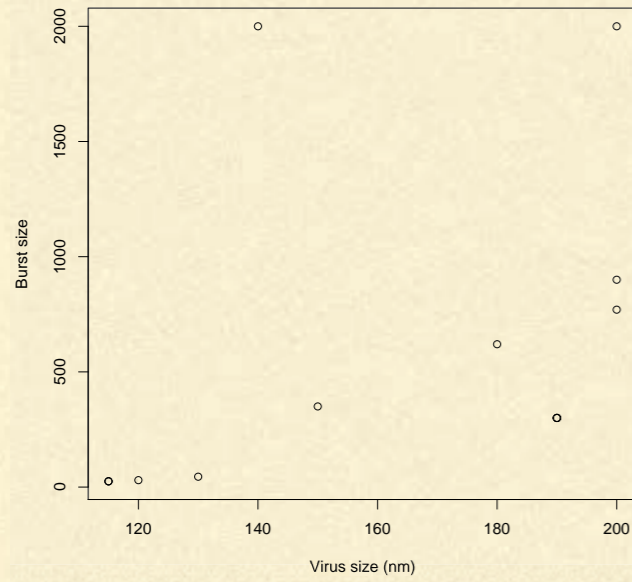
Taille virus

Taille génome virus

Taille hôte

Taille génome hôte

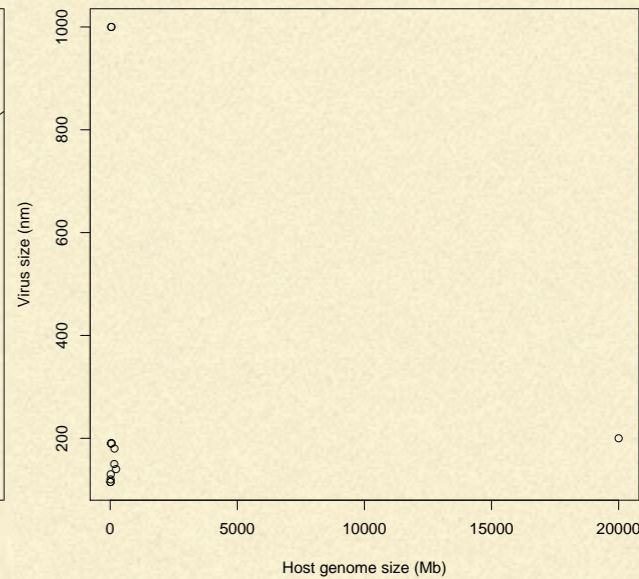
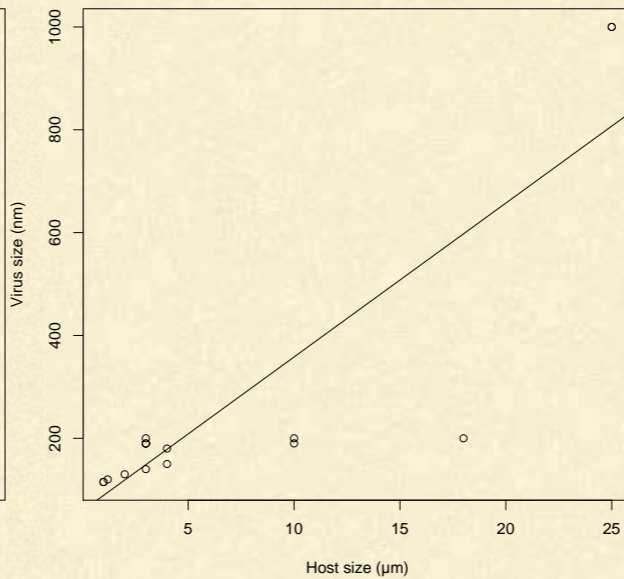
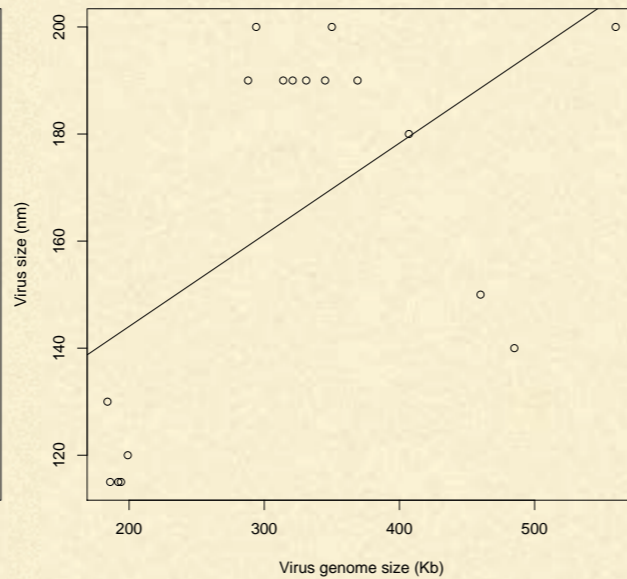
Burst size



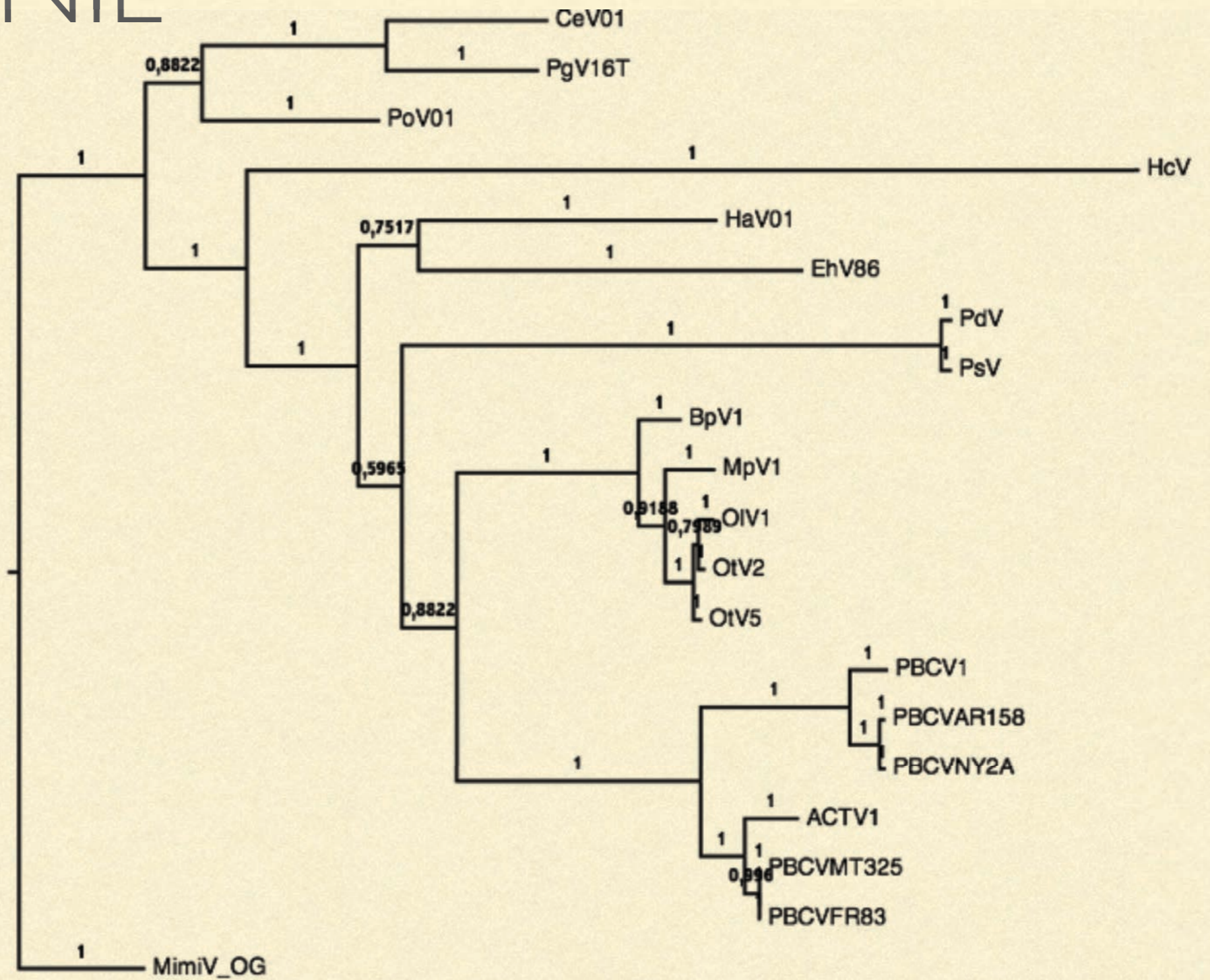
Taille virus

Taille génome virus

Taille génome hôte



PHYLOGÉNIE



- idem ML et BI

0.3

AVEC MÉTHODE COMPARATIVE (PHYLOGÉNIE)

- Signal phylogénétique : $\lambda = 1$ pour toutes les variables, fort

- Régression multiple :

Burst size = f(Taille virus, Taille génome virus, Taille hôte, Taille génome hôte)

- Reste Taille génome hôte après sélection des variables

Taille virus = f(Taille génome virus, Taille hôte, Taille génome hôte)

- Toutes les variables retenues avec le modèle de Pagel avec les *outliers*, seulement Taille hôte et Taille génome hôte sans *outliers*

- Besoin d'étudier les relations entre les variables

PGLS

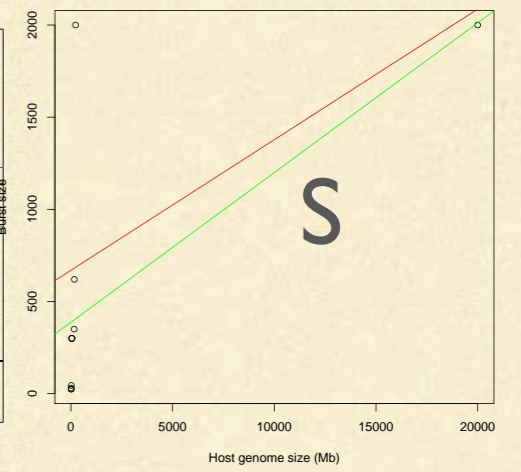
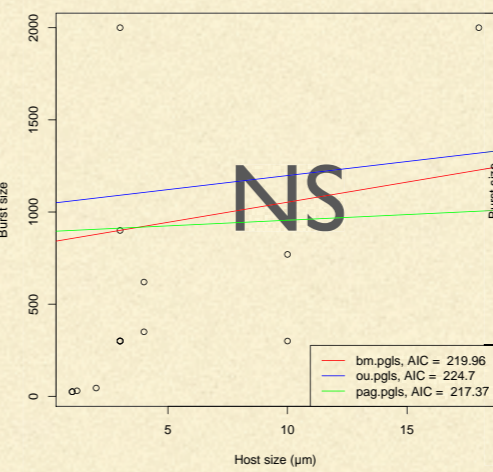
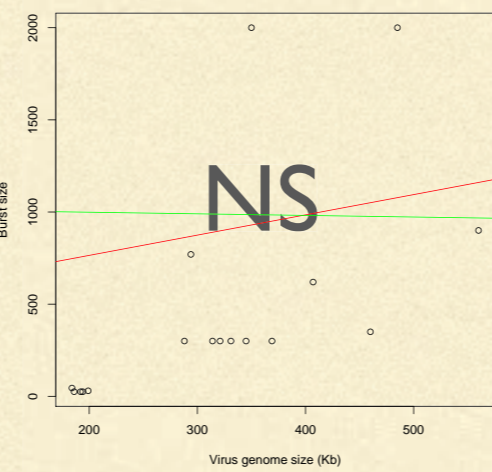
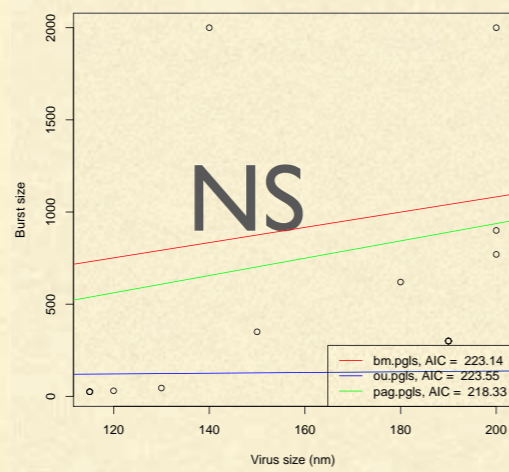
Taille virus

Taille génome virus

Taille hôte

Taille génome hôte

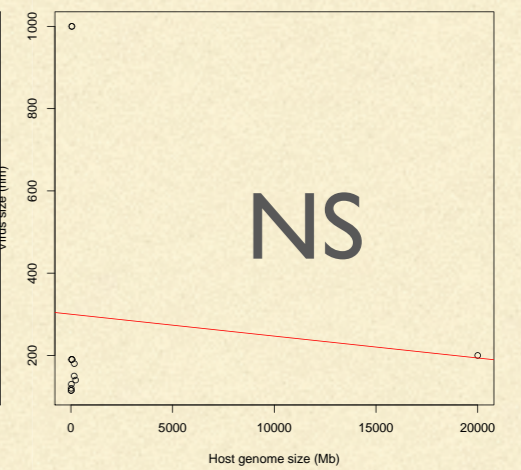
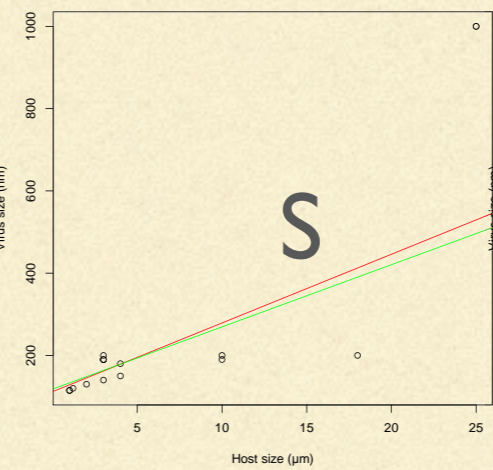
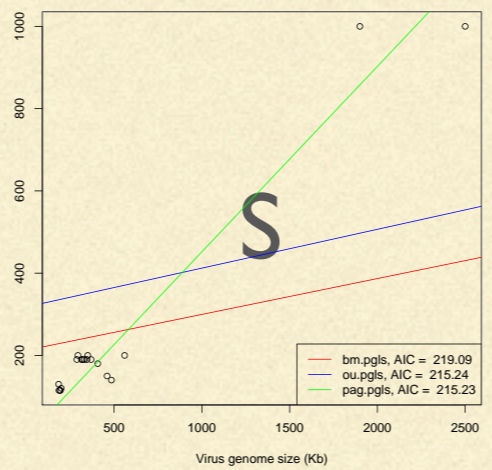
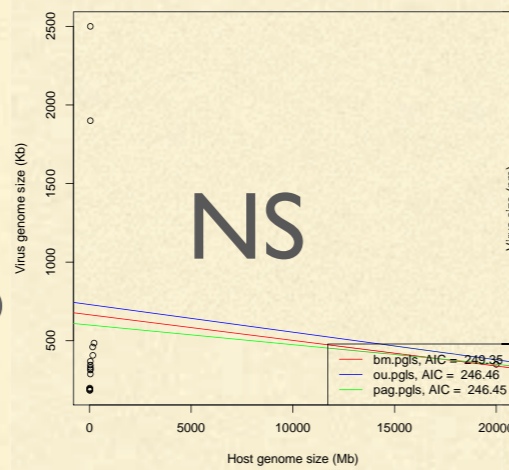
Burst size



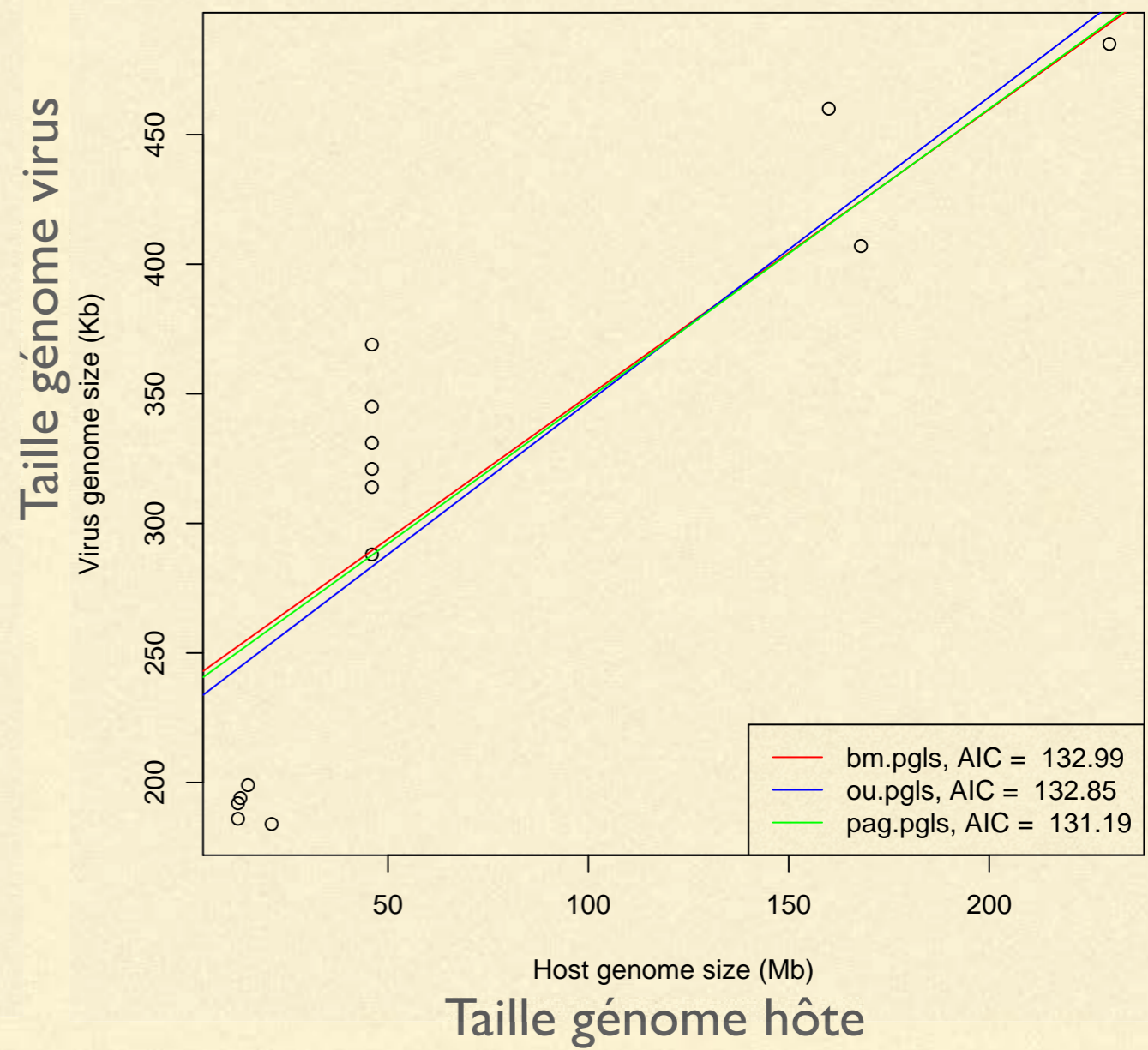
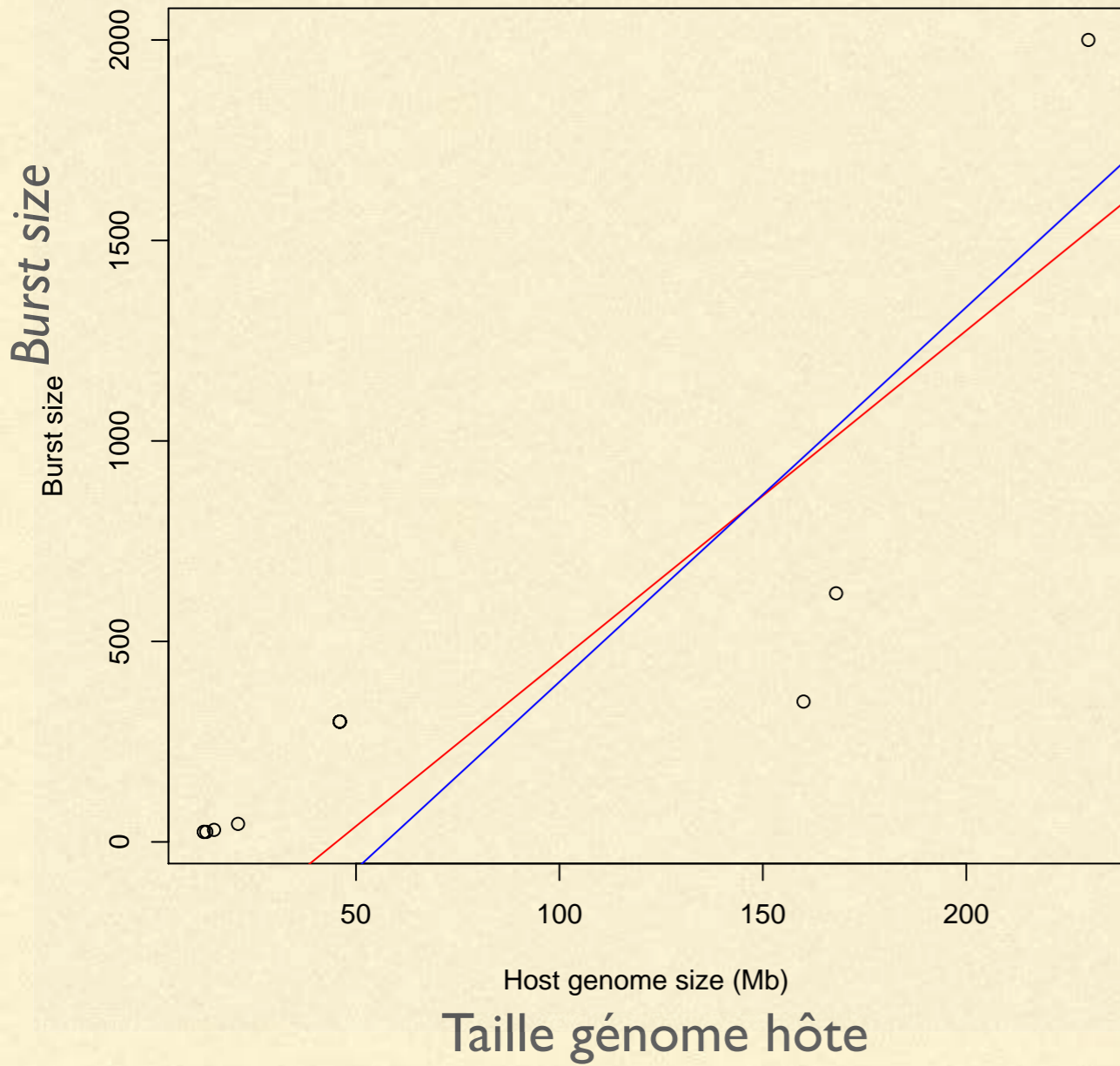
Taille virus

Taille génome virus

Taille génome hôte



Significatifs sans outliers (PdV, PsV, HcV)



BURST SIZE : CONCLUSIONS

- *Burst size* pas liée à la taille des virus, ni celle des hôtes. Donc pas un problème d'espace dans la cellule hôte.
 - *Burst size* pas liée à la taille du génome viral. On ne trouve pas ce *trade-off* négatif.
 - *Burst size* liée positivement à la taille du génome de l'hôte : supporte l'hypothèse que les nucléotides du génome de l'hôte, et/ou les gènes pour la synthèse nucléique sont une ressource limitante pour la production de virus
-

-
- **Les tailles des génomes de virus et de leurs hôtes sont positivement corrélées : course aux armements vers la complexité ?**
 - ➔ **Chez les Phycodnavirus, les tests en contexte phylogénétique ne confirment pas les hypothèses courantes sur les déterminants de la *burst size* et de la taille des virus.**
-

PERSPECTIVES

- Considérer la phase latente, possiblement liée à la *burst size*
 - D'autres facteurs pourraient influencer la *burst size* :
 - Environnement : température, lumière, salinité, pCO₂, Phosphate, Nitrate, ...
 - Physiologie de l'hôte
 - Densité de population des hôtes
-



Nathalie
Simon
University
Research
Assistant
Lecturer

ROSCOFF



BANYULS



Michel
Bellet
University
Research
Assistant
Lecturer



Nathalie Simon
University Lecturer



Elodie Foulon
Post-Doc



Roseline Edern
Research Assistant



ROSCOFF



Nigel Grimsley
Group Leader



Camille Clerissi
Ph.D. student



Hervé Moreau
Director BIOM



Lucie Subirana
Research Assistant ANR

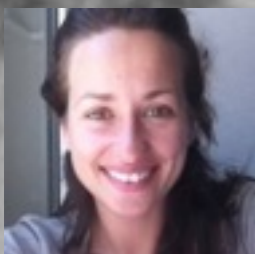


Laure Bellec
Ph.D. student

BANYULS



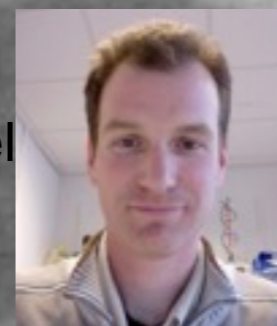
Evelyne Derelle
Research Assistant



Ana Carratala
Ph.D. student



Hugo Lebredonchel
Ph.D. student



Yves Desdevises
University Professor



Gwenaël Piganeau
Group Leader