



Journées PROTÉOME VERT des 8 et 9 juin 2021  
Visioconférence

Résumés / Abstracts

# Programme

Mardi 8 juin

14h00 – 14h05 : Accueil

14h05 – 14h50 : **Sophie Colombié** (Biologie du Fruit et Pathologie, Bordeaux) : Estimer le turnover des protéines du fruit grâce à la transcriptomique et à la protéomique

14h50 – 15h10 : **Willy Bienvenut** (PAPPSO, Gif-sur-Yvette) : Sub-optimal  $^{15}\text{N}$  metabolic labelling in plant to determine protein turnovers: A new look at the isotopic distribution

15h10 – 15h30 : **Emmanuelle Bancel** (GDEC, Clermont-Ferrand) : Proteomic and peptidomic tools combined with immuno-chemistry to analyze in vitro gastrointestinal digestibility of bread wheat

15h30 – 15h40 : Pause

15h40 – 16h00 : **Luciana de Oliveira** (PAPPSO, Gif-sur-Yvette) : SpecOMS, an open search approach challenging the identification of peptides showing sequence polymorphism

16h00 – 16h20 : **Maïté Leschevin** (BioEcoAgro, Amiens) : Mise en évidence d'une corrélation entre les caractères physiologiques, biochimiques de la réponse au stress salin chez Arabidopsis thaliana par une analyse protéomique quantitative par TMT

16h20 – 16h40 : **Gwendal Cueff et Loïc Rajjou** (IJPB, Versailles) : La germination : Un processus biologique pour améliorer les propriétés nutritionnelles et organoleptiques des graines !?

Mercredi 9 juin

09h30 – 10h15 : **Steven Moussu** (Université de Lausanne) : Bases structurales et biochimiques de la reconnaissance des peptides de signalisation RALF par les protéines LRX de la paroi cellulaire, pour orchestrer le remodelage de la paroi cellulaire

10h15 – 10h35 : **Artur Pinski** (LRSV, Auzeville-Tolosan ; Université de Silésie, Katowice) : Comparison of mass spectrometry data and bioinformatics predictions to assess the bona fide localization of proteins in plant cell walls and at the plasma membrane surface

10h35 – 10h55 : **Hasan Kolkas** (LRSV, Auzeville-Tolosan) : A comparative proteomic study reveals specific features of Marchantia polymorpha cell wall proteome in terms of cell wall proteins diversity

10h55 – 11h05 : Pause

11h05 – 11h25 : **Véronique Santoni** (BPMP, Montpellier) : Root ubiquitinome under osmotic stress

11h25 – 11h45 : **Delphine Aimé et Karine Gallardo-Guerrero** (Agroécologie, Dijon) : Protéomique shotgun des graines de féverole : vers l'identification de protéines associées à la résistance aux bruches

11h45 – 12h05 : **Olivier Langella** (PAPPSO, Gif-sur-Yvette) : X!TandemPipeline, plus qu'un pipeline

**Mardi 8 Juin 2021**

---

## **Estimer le turnover des protéines du fruit grâce à la transcriptomique et à la protéomique**

Sophie Colombié

INRAE Bordeaux, UMR Biologie du Fruit et Pathologie

La synthèse et la dégradation des protéines sont deux processus essentiels qui régulent l'état des cellules. Comme les expériences nécessaires pour déterminer ces propriétés sont délicates, en particulier pour des tissus tels que les fruits, nous avons développé une approche de modélisation pour estimer le turnover des protéines du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum*) basée sur les concentrations en transcrits et en protéines mesurées au cours du développement du fruit. Suite à un travail de recherche de méthode optimale pour exprimer les données protéomiques en quantification absolue, nous avons obtenu 2375 paires de profils protéine-transcrit. Le modèle mathématique simple, basé sur une équation différentielle ordinaire, résolu de façon satisfaisante, a permis d'estimer les constantes de traduction ( $k_t$ ) et de dégradation ( $k_d$ ) pour 1103 protéines. Les valeurs médianes indiquent que la synthèse d'une protéine est de 2 min environ et sa durée de vie est proche de 11 jours. Les constantes ont été validées pour leur ordre de grandeur à partir de données issues de la littérature et aussi pour leur pertinence biologique. Finalement ce travail se poursuit selon deux axes principaux : la validation expérimentale et la déclinaison de la même approche sur un panel de neuf espèces de fruit afin de mieux comprendre et prédire les régulations mises en place au cours du développement du fruit.

## **Sub optimal $^{15}\text{N}$ metabolic labelling in plant to determine protein turnovers: A new look at the isotopic distribution**

Willy Bienvenut, Olivier Langella, Thierry Bailliau, Filipo Rusconi, Marlène Davanture Mélisande Blein-Nicolas, Michel Zivy

Génétique Quantitative et Évolution - Le Moulon, Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS,  
AgroParisTech, Ferme du Moulon, 91190 Gif-sur-Yvette, France

Proteostasis is defined as the processes required maintaining the equilibrium between protein synthesis and degradation. Tight regulations from gene transcription to post-translational proteins modifications of these processes are required in cell cycle and survival to balance cellular development and environmental stresses.

It has been shown repeatedly that the abundance of proteins only moderately correlates with that of transcripts. While the analysis of protein abundance variations using label-free approaches is now common in comparative proteomics, the determination of protein turnover using pulsed SILAC metabolic labelling is popular for large scale protein turnover determination. Although used with small mammals (e.g. mice), such approach remains difficult with whole organisms and almost impossible with autotroph species like plants or algae.

Alternatively, it has been proposed to use inorganic sources of  $^{15}\text{N}$  and/or  $^{13}\text{C}$  isotopes that could be metabolically incorporated to *de novo* synthetized amino acids. Full  $^{15}\text{N}$  metabolic labelling of the plant proteins is almost impossible since amino acid recycling in plant is highly efficient. Instead of reaching high  $^{15}\text{N}$  labelling rates, we decide to remain at very low incorporation yield (5 - 10%  $^{15}\text{N}$  final).

This limited incorporation rate offers some advantages like a limited increase of mass spectrometry signal complexity. Indeed, the neo labelled translation products moderately modify the peptide natural isotopic distribution post  $^{15}\text{N}$  pulse since both labelled and unlabelled product appears as an overlapping isotopic distribution. Then, the accurate measurement of the experimental isotopic distribution provides relevant information to determine the  $^{15}\text{N}$  labelled protein fraction over time.

Thanks to our local bioinformatics developments including X!TandemPipeline, MassChroQ and the MCQR package, we propose an approach of MS signal processing that make it possible to determine the fold change in protein (FCP) and the labelled protein fraction (LPF) required to estimate protein turnover parameters i.e. protein half-life and synthesis/degradation rates at the proteomic scale.

This presentation highlights that accurate isotopic distribution measurement is possible and could be used from ordinary large-scale proteomics LC-MS/MS instruments to provide an interesting alternative to determine protein turnover determination at the proteome scale.

## **Proteomic and peptidomic tools combined with immuno-chemistry to analyze in vitro gastrointestinal digestibility of bread wheat**

**E Bancel<sup>1</sup>, T Sayd<sup>2,3</sup>, S Denis<sup>4</sup>, C. Chambon<sup>2,3</sup>, S Perrochon<sup>1</sup>, C Brossard<sup>5</sup>, C Larqué<sup>5</sup>, M Lavoignat<sup>1,6</sup>, S Denery<sup>5</sup>, M Hébraud<sup>3,4</sup> and C Ravel<sup>1</sup>**

1- INRAE - UCA UMR GDEC, Clermont-Ferrand, France, 2- INRAE - UR QuaPA, Saint-Genès Champanelle, France, 3- INRAE - PFEMcp, Saint-Genès Champanelle, France. 4- INRAE - UCA, UMR MEDiS, Clermont-Ferrand, France, 5- INRAE - UR BIA, Nantes, France, 6- AgroParisTech, Paris, France

Wheat grain storage proteins consist in gliadins and glutenins, which are rich in glutamine and proline. These storage proteins form the gluten, a network with remarkable cohesiveness and viscoelasticity properties. High molecular weight glutenins are able to form very large macropolymers driving dough elasticity and tenacity, while gliadins contribute to its viscous properties responsible for the dough extensibility. Therefore, they are key determinants of the wheat end-use quality.

Resistance of gluten to gastrointestinal digestion is involved in adverse reactions to wheat. Indeed, several peptides produced by the incomplete digestion can trigger, in predisposed individuals, an immune response responsible for celiac disease. It could also be involved in other adverse reactions including IgE-mediated allergies and non-celiac gluten sensibility. This resistance to digestion could be modulated by the wheat cultivars (and their own storage protein content/composition/physicochemical properties, quantity and physicochemical properties of starch) and the baking process.

In this context, this study aims at developing an approach to highlight the links between wheat cultivars and the digestibility of gluten proteins in bread.

To address this question, a set of sixteen cultivars illustrating the bread wheat (*Triticum aestivum*) diversity, including old and modern cultivars, was selected for baking. A TNO Gastro-Intestinal Model system was used to digest the breads prepared with the flour from single cultivar. The peptide pools from gastrointestinal digestion were characterized by nano-LC coupled to high resolution tandem mass spectrometry and proteins were identified and quantified. In addition, the digestibility of proteins was also evaluated by dot blot approach and immunochemistry using gluten-specific antibodies.

In the gastric compartment, after a 2-hours digestion, 473 unique peptides originating from 106 proteins were evidenced. Gluten proteins were identified as well as some  $\alpha$ -amylase inhibitors or serpins proteins. First results showed differential patterns of digestibility of these proteins according to the cultivars.

Such quantitative and qualitative differences between cultivars could help in the choice of varieties with an improved digestibility.

## **SpecOMS, an open search approach challenging the identification of peptides showing sequence polymorphism**

Luciana De Oliveira<sup>1</sup>, Olivier Langella<sup>1</sup>, Thierry Balliau<sup>1</sup>, Dominique Tessier<sup>2</sup>, Mélisande Blein-Nicolas<sup>1</sup>, and Michel Zivy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, GQE – Le Moulon, 91190, Gif-sur-Yvette, France, <sup>2</sup> BIA - Unité de recherche sur les Biopolymères, Interactions Assemblages – INRAE, 44316 Nantes

Proteomics studies are based on the characterization, identification and quantification of proteins. Besides biochemistry assays and bioinformatics improvements of analytical strategies that have made significant advances in this field, they are still unaware of a comprehensive solution. Generally, the protein identification methodology consists of a spectrum similarity search by comparing an experimentally acquired fragmentation spectrum against a theoretical spectrum derived from a protein sequence database. Additionally, to process a large universe of pairwise comparisons, most search engines start by selecting theoretical peptides based on their mass. Since the mass modifications must be declared in advance, it represents a challenge to identify unknown post-translation modifications (PTMs) and single amino acid variants (SAVs).

The Open Modification Search algorithms (OMS) use fast calculation methods to identify proteins without holding the mass precursor. Also, the expected mass changes do not need to be declared in advance. In this approach, the first step is to identify all peptides and then interpret the mass delta between the precursor ion and the theoretical peptide in terms of PTM or SAV.

In this work, we used the OMS algorithm called SpecOMS, intending to evaluate its performance for SAVs identification. We compared our results with those obtained from X!Tandem, which uses a classic approach to identify peptides. We used four corn lineages of Zea mays: - B73, F2, EA1192, and

MBS847), each one already sequenced. In order to evaluate the ability of SpecOMS in identifying SAVs, we performed self- and cross-interrogations over the databases. The false discovery rate (FDR) estimation was implemented to qualify the peptide spectrum match (PSM).

Finally, we will present our results in terms of the FDR implementation, refinement parameters and the

performance of SpecOMS to identify SAVs concerning the distribution of SAVs per peptide sequence and its accuracy of location prediction.

# **Mise en évidence d'une corrélation entre les caractères physiologiques, biochimiques de la réponse au stress salin chez *Arabidopsis thaliana* par une analyse protéomique quantitative par TMT**

**Maïté Leschevin<sup>1</sup>, Paulo Marcelo<sup>2</sup> Marwa Ismael<sup>1</sup>, Anthony Quero<sup>1</sup>, Hélène San Clemente<sup>3</sup>, Romain Roulard<sup>1</sup>, Solène Bassard<sup>1</sup>, Elisabeth Jamet<sup>3</sup>, Karine Pageau<sup>1</sup> et Catherine Rayon<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UMR INRAE 1158 BioEcoAgro, BIOlogie des Plantes et Innovation (BIOPI), Université de Picardie Jules Verne, 80039, Amiens, France. <sup>2</sup>Plateforme d'Ingénierie Cellulaire & Analyses des Protéines ICAP Université de Picardie Jules Verne, 80039 Amiens, France. <sup>3</sup>LRSV, Université de Toulouse, CNRS, UPS, 31320 Auzeville-Tolosane, France.

Le stress salin, qui altère 20% des terres irriguées, dans le monde est l'un des facteurs environnementaux limitant le plus sévèrement la croissance et le développement des plantes. Des plantes d'*Arabidopsis thaliana*, écotype Col-0, ont été cultivées en hydroponie pendant 3 semaines puis ont été soumises à un stress salin et récoltées à différents temps (24 h, 72 h et 96 h). La mesure de caractères physiologiques et biochimiques ainsi qu'une analyse protéomique quantitative par TMT (*Tandem Mass Tag*) ont été réalisées sur les feuilles de ces différents échantillons. Des analyses physiologiques montrent une réduction de la croissance des plantes exposées au stress salin. Cette réduction est associée à une dégradation des pigments photosynthétiques et des protéines. La réponse au stress chez Col-0 se caractérise également par une forte accumulation d'osmoprotectants tels que les anthocyanes, le galactinol, le raffinose, et la proline, ainsi qu'une faible capacité de détoxification des espèces réactives à l'oxygène. Le métabolisme pariétal est aussi altéré via la diminution de l'accumulation de pectines. Une analyse protéomique quantitative par marquage TMT montre une bonne corrélation des variations du niveau d'accumulation de certaines protéines avec les données physiologiques, biochimiques et métaboliques générées dans cette étude. Ainsi, l'analyse protéomique montre une plus faible abondance des aquaporines, une accumulation de protéines de la voie de dégradation des chlorophylles, une augmentation des protéines impliquées dans la voie des phénylpropanoïdes et une plus forte abondance de protéines pariétales et de défense impliquées dans la réponse au stress (*wall-associated kinases*, WAKs, *fasciclin arabinogalactan proteins*, FLAs ; oxidoréductases).

*Leschevin et al. (2021) Front Plant Sci (doi: 10.3389/fpls.2021.639154)*

*Leschevin et al. (2021) Proteomics (doi : 10.1002/pmic.202000293)*

## **La germination : Un processus biologique pour améliorer les propriétés nutritionnelles et organoleptiques des graines !?**

Gwendal Cueff<sup>1</sup>, Thierry Baillau<sup>2</sup>, Shuang Peng<sup>1</sup>, Gilles Clément<sup>1</sup>, Loïc Rajjou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IJPB, Institut Jean-Pierre Bourgin (INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay ; Saclay Plant Sciences) - RD10, F-78026 Versailles Cedex, France ; <sup>2</sup>PAPPSO, Plateforme d'Analyse de Protéomique Paris-Sud-Ouest – GQE - Le Moulon, Génétique Quantitative et Évolution (INRAE, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay), 91190, Gif-sur-Yvette, France.

Le processus de germination est complexe, il s'initie par la prise d'eau de la graine mature sèche et s'achève à la rupture des téguments et à l'émergence de l'embryon. Toutes les étapes avant la sortie de l'embryon peuvent être considérées comme des phases pré-germinatives. A l'inverse, après la sortie de l'embryon, les phases post-germinatives de croissance, d'elongation et de division cellulaire sont actives pour la formation de la jeune plantule. La consommation alimentaire de jeunes pousses (épinards, moutarde, soja, radis, etc...) est souvent associée à des vertus nutritionnelles telles que l'apport fibres douces, en vitamine C ou encore en carotènes. Toutefois, ces jeunes pousses verdoyantes et décoratives dans l'assiette ont, d'un point de vue nutritionnel et organoleptique, des propriétés significativement différentes de celles que l'on attribue aux graines. En effet, la teneur en nutriments par unité de biomasse est nettement supérieure dans les phases pré-germinatives et décroît fortement au cours de la mobilisation des réserves et de la croissance de la plantule. En fonction de l'espèce végétale considérée, les graines contiennent des réserves protéiques et des lipides ou des carbohydrates (souvent de l'amidon) mais également de nombreux composés anti-nutritionnels, tels que des phytates et des inhibiteurs enzymatiques. Le maintien en quiescence métabolique nécessite aussi de piéger des molécules vitales (vitamines, co-facteurs, minéraux) afin que l'embryon puisse survivre à l'état sec lors du stockage des graines. Des analyses protéomiques et métabolomiques combinées de légumineuses en germination (lentilles, pois-chiche, haricot ; Projets ProVegGas 2017-2021) permettent de révéler les changements métaboliques conduisant à impacter les propriétés fonctionnelles des graines. La pré-germination permet d'éliminer de manière très significative ces composés anti-nutritionnels, d'augmenter la digestibilité des protéines et le pool d'acides aminés libres, et de libérer les minéraux et certaines vitamines. Ainsi, la graine pré-germée constitue un excellent compromis pour obtenir les avantages nutritionnels de la jeune pousse et tout en conservant les réserves et les qualités organoleptiques de la graine sèche.

Contacts : [gwendal.cueff@inrae.fr](mailto:gwendal.cueff@inrae.fr) ; [loic.rajjou@agroparistech.fr](mailto:loic.rajjou@agroparistech.fr)

**Mercredi 9 Juin 2021**

---

## **Bases structurales et biochimiques de la reconnaissance des peptides de signalisation RALF par les protéines LRX de la paroi cellulaire, pour orchestrer le remodelage de la paroi cellulaire**

Moussu S<sup>1</sup>, Broyart C<sup>1</sup>, Santos-Fernandez G<sup>2</sup>, Augustin S<sup>1</sup>, Wehrle S<sup>3</sup>, Grossniklaus U<sup>2</sup>, Santiago J<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>*The Plant Signaling Mechanisms Laboratory, Department of Plant Molecular Biology, University of Lausanne, 1015 Lausanne, Switzerland,* <sup>2</sup>*Department of Plant and Microbial Biology and Zurich-Basel Plant Science Center, University of Zurich, 8008 Zurich, Switzerland,* <sup>3</sup>*Institute of Bioengineering, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, 1015 Lausanne, Switzerland.*

La reproduction des plantes repose sur la croissance hautement régulée du tube pollinique. Ce processus est contrôlé par les peptides de signalisation RALF sécrétés par le tube pollinique. Il a été précédemment démontré qu'ils sont perçus par les récepteurs-kinases membranaires CrRLK1L, ainsi que par les LEUCINE-RICH-REPEAT (LRR)- EXTENSINS (LRX). Ici, nous démontrons que les peptides RALF sont actifs en tant que protéines structurées, stabilisées par des ponts disulfures, qui peuvent se lier au domaine LRR des protéines LRX avec une affinité nanomolaire. Les structures cristallines des complexes LRX-RALF révèlent que les protéines LRX sont des dimères constitutifs sensibles au statut RedOx. Le domaine LRR N-terminal contenant le site de liaison aux RALF est étroitement lié au domaine extensine via une partie riche en cystéine. Enfin, ce travail de biochimie et biologie structurale révèle un réseau de signalisation complexe par lequel les ligands RALF peuvent instruire différentes protéines de signalisation - ici CrRLK1L et LRX - via des modes de liaison structurellement différents. Le tout permettant d'orchestrer le remodelage de la paroi cellulaire dans les tubes polliniques à croissance rapide.

## **Comparison of mass spectrometry data and bioinformatics predictions to assess the *bona fide* localization of proteins in plant cell walls and at the plasma membrane surface**

Artur Pinski<sup>a,b</sup>, David Roujol<sup>a</sup>, Cécile Pouzet<sup>c</sup>, Luc Bordes<sup>c</sup>, Hélène San Clemente<sup>a</sup>, Laurent Hoffmann<sup>a</sup>, Elisabeth Jamet<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Auzeville Tolosane, France;* <sup>b</sup>*Institute of Biology, Biotechnology and Environmental Protection, Faculty of Natural Sciences, University of Silesia in Katowice, 40-032 Katowice, Poland;* <sup>c</sup>*FR AIB-TRI Imaging Platform facilities, Université de Toulouse, CNRS, Auzeville Tolosane, France*

Plant cell walls have complex architectures made of polysaccharides among which cellulose, hemicelluloses, pectins and cell wall proteins (CWPs). Some CWPs are anchored in the plasma membrane through a glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor. The secretion pathway is the classical route to reach the extracellular space. Based on experimental data, a canonical signal peptide (SP) has been defined, and bioinformatics tools allowing its prediction have been designed. In the same way, the presence of GPI-anchor attachment sites can be predicted using bioinformatics programs. This article aims at comparing the bioinformatics predictions of the sub-cellular localization of proteins assumed to be CWPs to mass spectrometry (MS) data. The sub-cellular localization of a few proteins exhibiting particular features has been checked by cell biology approaches. Although the prediction of SP length is confirmed in most cases, it is less conclusive for GPI-anchors. Three main observations were done: (i) the variability observed at the N-terminus of a few mature CWPs could play a role in the regulation of their biological activity; (ii) one protein was shown to have a double sub-cellular localization in the cell wall and the chloroplasts; and (iii) peptides were found to be located at the C-terminus of several CWPs previously identified in GPI-anchored proteomes, thus raising the issue of their actual anchoring to the plasma membrane.

## **A comparative proteomic study reveals specific features of *Marchantia polymorpha* cell wall proteome in terms of cell wall proteins diversity**

H Kolkas, J Chourré, T Balliau, M Zivy, E Jamet

LRSV, UMR 5546 UPS/CNRS, Pôle de Biotechnologie végétale, 24 chemin de Borde Rouge -31320 Auzeville Tolosane – France.

Plant cell walls are the major components of plant biomass and play important roles during plant development and in response to environmental constraints. Typical components of the cell wall include cellulose, hemicelluloses, and pectic polysaccharides as well as a wide variety of cell wall proteins (CWPs) [1]. CWPs are essential components of the cell wall in which they are implicated cell wall polymer remodelling, signalling and defence against biotic and abiotic stresses [2-3]. The study here deals with cell wall proteome from *M. polymorpha* whole thallus. *M. polymorpha* is attracting attention as a new model system because of its genetic transformation potential and its small sequenced genome. The proteomic study started with technical difficulties caused by the presence of phenolics in *Marchantia* tissues. To evaluate the importance of that issue, polyphenols were extracted from whole thallus, where results show that the phenolics content in *M. polymorpha* raw material was closer to that of monocots which are known for their high phenolics content. The problem was solved by addition of TCEP (tris(2-carboxyethyl)phosphine) which is a strong reducing agent into the extraction buffer [4]. Then, proteins were extracted from purified cell walls of 5 week-old *M. polymorpha* through a two step-fractionation procedure using 5 mM sodium acetate buffer at pH 4.8 with 0.2 M CaCl<sub>2</sub> and 0.2 M LiCl, successively [5]. LC-MS/MS analysis and bioinformatics allowed the identification of proteins: 305 CWPs with predicted signal peptide were identified out of 638 proteins. The CWPs were classified under nine functional classes: proteins acting on carbohydrates (PACs), oxidoreductases (ORs), proteins with interaction domains, proteases, proteins involved in lipid metabolism or in signaling, miscellaneous proteins and proteins with yet unknown function. It was surprising that the proportion of PACs was lower in the *M. polymorpha* proteome and that the proportion of ORs was higher, compared to *A. thaliana* and *B. distachyon* cell wall proteomes. The presence of aromatic compounds in *M. polymorpha* cell walls could explain the high proportion of ORs such as class III peroxidases and polyphenol oxidases and that of numerous dirigent proteins. Remarkably, seven D-mannose lectins were identified, suggesting the presence of mannans, and this was confirmed by polysaccharide arrays using monoclonal antibodies against different cell wall epitopes.

## **Root ubiquitinome under osmotic stress**

Berger N, Demolombe V, Hem S, Rofidal V, Steinmann L, Krouk G, Verdoucq L, Véronique Santoni  
INRAE, Montpellier, France

Osmotic stress is detrimental for the plant which survival relies heavily on proteomic plasticity. Protein ubiquitination is a central post-translational modification in osmotic mediated stress. Plants use the ubiquitin proteasome system to modulate protein contents required to respond to and tolerate adverse growth conditions and a role for ubiquitin to mediate endocytosis and trafficking of plant plasma membrane proteins has recently emerged. In this study, using the K-ε-GG antibody enrichment method integrated with high-resolution mass spectrometry, a list of 786 ubiquitinated lysine (K-Ub) residues in 451 proteins of which 50 % were transmembrane proteins was compiled for *Arabidopsis* root membrane proteins, increasing the database of ubiquitinated substrates in plants. Ubiquitination particularly occurred within membrane proteins and the protein machinery involved in their internalization and sorting. Despite absence of identification of a strict ubiquitination motif, the presence of acidic residues close to K-Ub was evidenced. *In silico* interactomics analysis allowed to suggest two E2 ligases, UBC32 and UBC34 to target ubiquitination of membrane proteins. This study also showed a decrease of NRT2;1 with osmotic stress treatment, putatively mediated by its decreased ubiquitination, correlating with an increased  $\text{NO}_3^-$  influx. Then, this study revealed that a major plasma membrane aquaporin (PIP2;1) harbors two ubiquitination sites that may interfere with N-terminal acetylation and C-terminal phosphorylation, to putatively contribute to a decreased root hydraulic conductivity.

## **Protéomique Shotgun des graines de féveroles : vers l'identification de protéines associées à la résistance aux bruches**

Karine Gallardo<sup>1</sup>, Delphine Aimé<sup>1</sup>, Thierry Balliau<sup>2</sup>, Grégoire Aubert<sup>1</sup>, Jonathan Kreplak<sup>1</sup>, Michel Zivy<sup>2</sup>, Nadim Tayeh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Agroécologie, AgroSup Dijon, INRAE, Univ. Bourgogne Franche-Comté, 21000 Dijon ; <sup>2</sup>Plateforme d'Analyse de Protéomique Paris Sud-Ouest (PAPPSO), Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, UMR Génétique Quantitative et Évolution-Le Moulon, 91190 Gif-sur-Yvette.

Le protéome des graines en développement de lignées recombinantes issues du croisement entre des génotypes de féverole résistants et sensibles aux bruches a été étudié par l'approche shotgun. Ce travail a permis d'identifier 749 protéines au début du remplissage des graines, dont 80 sont différentiellement accumulées entre les lignées sensibles et résistantes aux bruches. En plus de fournir un premier aperçu des protéines présentes à ce stade clé du développement des graines chez la féverole, ces données ont fait émerger des protéines candidates pour améliorer la résistance des graines aux bruches. Parmi les protéines préférentiellement accumulée dans les lignées résistantes est une glycoprotéine pariétale inhibitrice des polygalacturonases d'origine pathogène qui dégradent les parois cellulaires végétales. Cette glycoprotéine est donc susceptible de jouer un rôle clé dans les mécanismes de défense lors du développement des graines. Ces résultats et les perspectives visant à mieux comprendre les mécanismes de résistance des graines de légumineuses aux bruches seront présentés.

## X!TandemPipeline, plus qu 'un pipeline

Thomas Renne, Filippo Rusconi, Luciana de Oliveira, Thierry Balliau, Mélisande Blein-Nicolas, Michel Zivy, Olivier Langella

PAPPSO, Université Paris-Saclay, INRAE, CNRS, AgroParisTech, GQE – Le Moulon, 91190, Gif-sur-Yvette

X!TandemPipeline a été créé pour manipuler des résultats d'identification. Il fournit une interface graphique qui permet de visualiser les peptides, de filtrer les résultats et de permettre l'inférence des protéines. Au fil des versions, X!TandemPipeline s'est enrichi de nouvelles fonctionnalités. Nous vous présentons ici les avancées : méthode OMS pour l'identification, prise en charge de la mobilité ionique, intégration de la quantification peptidique (MassChroQ, XICs), intégration de la quantification protéique (prise en charge de R et du paquet MCQR pour la protéomique).