

ÉTUDE DE LA FONCTION DU GÈNE *tdd8* (SCO2368) CODANT POUR UNE DES
PROTÉINES AYANT UN DOMAINE TerD CHEZ *STREPTOMYCES COELICOLOR*

par

François Daigle

thèse présentée au Département de biologie en vue
de l'obtention du grade de docteur ès sciences (Ph.D.)

FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, avril 2014

Le 30 avril 2014

le jury a accepté la thèse de Monsieur François Daigle dans sa version finale.

Membres du Jury

Professeur Carole Beaulieu
Directrice de recherche
Département de Biologie

Professeur François Malouin
Codirecteur de recherche
Département de biologie

Professeur Vincent Burrus
Membre interne
Département de biologie

Professeur Catherine Paradis-Bleau
Membre externe
Département de microbiologie, infectiologie et immunologie
Université de Montréal

Professeur Ryszard Brzezinski
Président-rapporteur
Département de biologie

SOMMAIRE

Le rôle des protéines avec un motif TerD est depuis toujours insaisissable. La séquence en acides aminés qui correspond au motif TerD est répandue dans les génomes de plusieurs espèces bactériennes. Les recherches effectuées dans le cadre de ce doctorat avaient pour objectif d'identifier le rôle du gène *tdd8* (SCO2368) qui code pour une protéine avec un motif TerD chez *Streptomyces coelicolor*. Sur la base d'une étude comparative du transcriptome de souches présentant une expression différentielle de *tdd8*, il a été possible de déterminer l'implication de *tdd8* dans plusieurs systèmes de régulation. Les résultats obtenus ont permis d'établir que le niveau d'expression de *tdd8* peut jouer un rôle dans le mécanisme de la différenciation morphologique et de la sporulation, dans le métabolisme de l'azote et dans l'équilibre redox. La protéine Tdd8 semble avoir un rôle dans divers processus cellulaires de par son implication dans l'homéostasie du calcium intracellulaire qui a été démontrée dans cette étude. Parmi les gènes qui semblent affectés par le taux d'expression de *tdd8*, ces recherches ont identifié un regroupement de gènes impliqués dans la réponse au stress redox. La plupart de ces gènes sont positionnés sur deux loci et leur expression implique un système de régulation analogue au régulon DosR retrouvé chez *Mycobacterium tuberculosis*. La croissance de la souche M145 de *S. coelicolor* en conditions de stress (hypoxie et présence d'oxyde nitrique) a permis de confirmer l'induction de ces gènes et des recherches bioinformatiques ont permis d'identifier un motif de liaison DosR dans les séquences qui précèdent la région codante de plusieurs gènes situés dans les deux loci identifiés. Les recherches ont également permis une meilleure caractérisation du métabolisme de l'azote et notamment une implication de *tdd8* dans la régulation de ce métabolisme. Ces travaux s'inscrivent dans un processus de recherche fondamentale qui permet de mieux comprendre le rôle des protéines avec un motif TerD.

Streptomyces, différenciation, sporulation, stress redox, puce à ADN, TerD, métabolisme de l'azote, signalisation calcium, *tdd*.

REMERCIEMENTS

J'aimerais prendre le temps de remercier toutes les personnes qui m'ont soutenu et conseillé durant mes années d'études doctorales. D'abord, je remercie grandement ma directrice de recherche, Carole Beaulieu, pour la confiance qu'elle m'a accordée, pour sa grande capacité d'analyse et pour son positivisme qui m'a servi de modèle. Je remercie également mon codirecteur François Malouin et mes conseillers, Ryszard Brzezinski et Vincent Burrus pour leurs conseils ainsi que leur pensée critique. Merci également à Colin P. Smith et Giselda Bucca pour leur collaboration, pour m'avoir permis d'utiliser leurs technologies et pour leur très grande hospitalité lors de mon stage au Royaume-Uni. Je suis également reconnaissant aux organismes subventionnaires qui ont financé mon projet et desquels j'ai obtenu des bourses, soient le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada et le Fonds de recherche Québec en Nature et Technologies.

J'ai passé de très beaux moments dans le laboratoire de Carole Beaulieu et c'est en grande partie grâce à de nombreuses personnes que j'ai eu la chance de connaître au cours de mes études. J'aimerais particulièrement remercier Sylvain Lerat et Anne-Marie Simao-Beauvoir pour leur disponibilité, leur écoute et leur esprit critique.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	iii
REMERCIEMENTS	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES	viii
INTRODUCTION	1
1.1 Les défis de l'ère post-génomique	1
1.2. Les streptomycètes	2
1.2.1 La respiration chez <i>Streptomyces coelicolor</i>	4
1.2.2. L'assimilation de l'azote chez les streptomycètes.....	6
1.2.3 La différenciation morphologique et le métabolisme secondaire.....	8
1.2.3.1 Différenciation morphologique en culture solide.....	8
1.2.3.2 Différenciation morphologie en culture liquide	9
1.2.3.3 Génétique associée à la différenciation morphologique	11
1.2.4 Régulation des gènes en réponse aux stress environnementaux.....	16
1.2.4.1 La régulation à deux composantes.....	17
1.2.4.2 Les facteurs sigma	17
1.2.4.3 Réponse aux stress anoxique chez les Streptomycètes.....	19
1.3 La technologie des puces à ADN	22
1.3.1 L'analyse des données.....	23
1.3.2 L'expression relative et différentielle.....	23
1.4 La justification du sujet à l'étude dans cette thèse : le motif TerD.....	24

1.4.1 Les gènes de <i>S. coelicolor</i> ayant un motif TerD	26
1.4.2 Le gène <i>tdd8</i> de <i>S. coelicolor</i>	27
1.5 Les objectifs du projet de doctorat	28
CHAPITRE 2.....	30
2.0 Identification d'un régulon DosR chez <i>Streptomyces coelicolor</i> par une comparaison transcriptomique du génome de souches présentant une expression différentielle de <i>tdd8</i> , un gène codant pour une protéine avec un domaine TerD ...	30
2.1 Identification of a DosR-like regulon in <i>Streptomyces coelicolor</i> via a comparative global genome transcriptomics in strains exhibiting differential expression of <i>tdd8</i> , a TerD domain-encoding gene	32
CHAPITRE 3.....	86
3.0 Tdd8, une protéine contenant un domaine TerD qui participe à l'homéostasie du calcium et qui est impliquée dans le contrôle du régulon DosR chez <i>Streptomyces coelicolor</i>	86
3.1 Tdd8, a TerD domain-containing protein participates to calcium homeostasis and is involved in control of the DosR-like regulon in <i>Streptomyces coelicolor</i>	88
DISCUSSION GÉNÉRALE	108
4.1 Les puces à ADN	109
4.1.1 L'ADN génomique et normalisation	109
4.1.2 La normalisation globale	110
4.1.3 L'analyse statistique	111
4.1.4 La confirmation des résultats par RT-qPCR	112
4.2 Implication et rôle de Tdd8 dans des systèmes de régulation	112
CONCLUSION	118
BIBLIOGRAPHIE	119

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 2

1.	Gene known to be involved in <i>S. coelicolor</i> morphological differentiation showing a differential expression	45
2.	Genes involved in nitrogen metabolism showing a differential expression between the wild-type strain M145 and $\Delta tdd8$ or <i>tdd8</i> ⁺ in 34-h and 77-h cultures, respectively	46
3.	Characteristics of a gene cluster possibly involved in redox stress response that was overexpressed in $\Delta tdd8$	51
S1.	Primers used for RT-qPCRs	63
S2.	Validation of transcriptomique expression from Microarray of redox-stress response loci genes in <i>S. coelicolor</i> by RT-qPCR, fold change is obtained by the differential expression at t_{OR} between $\Delta tdd8$ over M145.....	64
S3.	Quantitative data from MeV-Rank product output of all genes with differential expression between mutants and M145 at onset Red in all <i>S. coelicolor</i> identified transcripts	65
S4.	Quantitative data from MeV-Rank product output of all genes with differential expression between mutants and M145 at stationary phase of growth in all <i>S. coelicolor</i> identified transcripts	73
S5.	Gene upstream consensus sequences from genes in redox stress response loci with DosR-like motif binding, obtained by MEME software	85

CHAPITRE 3

1.	Differential gene expression between <i>S. coelicolor</i> M145 cultures exposed or not to various stresses	95
----	--	----

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

1. Assimilation de l'azote chez les procaryotes 7
2. Représentation schématisée du cycle de vie de *Streptomyces coelicolor* 9
3. Schématisation des étapes de développement à partir de cultures liquides et solides chez *Streptomyces coelicolor* 11
4. Schématisations et photo représentant différentes étapes de la différenciation morphologique pour la formation du mycélium aérien et de la sporulation chez *S. coelicolor* 14
5. Facteurs sigma chez *S. coelicolor* regroupés par l'alignement des séquences de la région 1,2 à 2,4 (domaine 2, qui inclut une région non conservée et la séquence qui lie la région -10 du promoteur) présentés selon les 4 différents groupes σ^{70} 19

CHAPITRE 2

1. Growth curve of *S. coelicolor* strains in R5⁻ medium. 40
2. Number of genes showing a differential expression in *tdd8*⁺ and Δ *tdd8* compared to the M145 strain at the visual onset of Red (t_{OR}) production 41
3. Schematic representation of the two putative *S. coelicolor* redox stress response loci..... 49

CHAPITRE 3

1. Relative expression of genes belonging to the redox-stress response cluster in *S. coelicolor* strains M145 and $\Delta tdd8$ grown in R5- and R5+ culture media 96
2. Time-course of nitrite concentration for *S. coelicolor* strains M145 (top panel), *tdd8+* (middle) and $\Delta tdd8$ (bottom) grown in R5- and R5+ culture media 98
3. Relative intracellular free Ca^{2+} in *S. coelicolor* strains determined by ratiometric detection at 530 nm of the 340/380 nm excitation of Fura2 AM fluorescent dye in various culture media 99

DISCUSSION GÉNÉRALE

1. Modèle sur l'impact d'une modulation de l'expression de *tdd8*..... 116

INTRODUCTION

1.1 Les défis de l'ère post-génomique

Les organismes vivants, peu importe leur nature, revêtent tous un caractère commun, l'ADN. La complexité de la séquence en acides nucléiques, l'organisation fonctionnelle sous forme de gènes et une transcription spécifique permettent à l'ADN d'être la recette de la grande diversité des organismes vivants. Comprendre le fonctionnement d'un gène ou d'un groupe de gènes est complexe et requiert souvent plusieurs années de recherche. L'avancement de nos connaissances sur leur fonctionnement est essentiel pour bien comprendre la biologie de ces organismes et leurs interactions avec leurs environnements.

La taille du génome est généralement corrélée à la complexité de l'organisme chez les procaryotes. Au niveau des gènes, on y retrouve certaines séquences conservées qui présentent des homologies avec d'autres séquences provenant d'espèces différentes. La similarité entre les séquences conservées peut être un indicateur d'une origine commune ou d'une fonction commune. De nos jours, les techniques de séquençage se sont grandement améliorées, si bien que les séquences complètes du génome de plusieurs organismes vivants ont pu être identifiées. À l'aide de la bioinformatique, il est maintenant possible de comparer plusieurs génomes de différentes espèces, d'origine rapprochée ou non, d'identifier les domaines conservés dans leurs séquences et de possiblement établir la fonction hypothétique des gènes. Par exemple, la séquence d'un gène non caractérisé qui possède une région similaire au motif « sigma-70 » que l'on retrouve chez des gènes qui codent pour un facteur sigma permettrait d'attribuer une fonction hypothétique à ce gène, sans toutefois en connaître le rôle précis dans la cellule. Malgré tout, une proportion importante de la plupart des génomes code pour des protéines dont la fonction demeure inconnue. Ainsi, le défi actuel et pour les années à venir n'est plus seulement de connaître la séquence d'un gène, son positionnement sur le génome ou même son niveau d'expression, mais bien de connaître sa fonction et son rôle au sein de la

cellule. Dans le cadre de ce travail, nous nous intéresserons au rôle du gène *tdd8* (SCO2368) chez *Streptomyces coelicolor*, un gène de fonction inconnue qui possède un motif *terD* très répandu chez plusieurs centaines d'espèces bactériennes et pour lequel la fonction demeure toujours insaisissable.

1.2. Les streptomycètes

En 2002, la séquence complète du génome linéaire de *Streptomyces coelicolor* A3(2) fut rendue publique (Bentley et al., 2002). Ce fut le premier génome chez les streptomycètes à être complètement séquencé et par le fait même, avec ses 8,67 Mpb qui composent son chromosome, il fut le plus grand génome bactérien à être séquencé. Son grand nombre de gènes, 7825, reflète le nombre impressionnant de protéines exigé par la complexité de son cycle biologique et de l'environnement dans lequel il évolue. À l'heure actuelle, environ le tiers de ces gènes demeure encore de fonction inconnue (Borodina et al., 2005). Beaucoup de gènes sont consacrés à la régulation, 965 protéines (12,3%) sont prédites comme étant de fonction de régulation, plus de 50 systèmes régulateurs à deux composantes et un nombre impressionnant de 65 facteurs sigma sont prédits et dans plusieurs cas leurs fonctions de régulateurs ont été démontrées. (Bentley et al., 2002; Laing et al., 2006; Prescott et al., 2005; Yang et al., 2008).

Du point de vue de la phylogénique, la famille des streptomycètes fait partie de l'ordre des actinomycétales. Ce sont des bactéries à Gram positif avec une composition du génome riche en guanine et cytosine (G+C) et appartenant à la classe des *Actinobacteria*. Il existe plus d'une centaine de genres différenciés, entre autres, par la séquence de l'ARN ribosomal 16S. Il s'agit de l'ordre possédant la plus grande diversité morphologique chez les procaryotes, en plus d'avoir le plus grand nombre de membres qui habitent le sol et les écosystèmes aquatiques (Hodgson, 2000; Stackebrandt et al., 1997). Il est intéressant de noter qu'il existe une très grande proximité phylogénétique entre les streptomycètes et les mycobactéries, tels que *Mycobacterium tuberculosis* et *Mycobacterium leprae* qui sont d'importants agents

pathogènes (responsables de la tuberculose et de la lèpre, respectivement) et dont les génomes ont également été séquencés (Alam et al., 2010). Il y a certainement beaucoup à apprendre en comparant la séquence des génomes et les systèmes de régulation que ces organismes ont en commun.

L'omniprésence des streptomycètes dans le sol est reconnue (Strap, 2006). Cet écosystème représente un défi pour la survie des streptomycètes puisqu'il s'agit d'un environnement particulièrement complexe et variable aux niveaux nutritionnel, physique et biologique. Plutôt rare chez les bactéries, les streptomycètes ont un cycle de vie complexe qui leur permet de faire face à ce défi à l'aide d'une différenciation morphologique qui prend forme d'abord par une croissance végétative filamenteuse en ramification, et qui se transformera en hyphes aériennes portant de longues chaînes de spores pour la dissémination. Les streptomycètes jouent un rôle de premier ordre dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique par la sécrétion de diverses enzymes extracellulaires hydrolytiques qui réduisent des polymères insolubles tels que les protéines, l'amidon, le xylane, la chitine et la cellulose. Ils sont donc un rouage important dans le recyclage du carbone et de l'azote piégés dans les débris organiques insolubles. Une des stratégies qui permet à ces bactéries de dégrader efficacement les polymères est de développer un mycélium végétatif immobile. Le mycélium permet la sécrétion au niveau local d'une concentration élevée de métabolites primaires telles des enzymes digestives (Hodgson, 2000). Ils sont aussi reconnus pour avoir une relation étroite avec la rhizosphère des plantes terrestres et aquatiques (Langlois et al., 2003).

Ce sont précisément pour leur importante activité dans le sol, notamment dans l'agriculture, que les streptomycètes ont d'abord été étudiés au début du XX^e siècle. Toutefois, il était clair pour les chercheurs de l'époque que ces bactéries disposent d'agents chimiques leur donnant un avantage compétitif par rapport aux autres microbes qui vivent dans le sol (Hopwood, 2007). C'est dans ce contexte que fut découvert, en 1943 chez *Streptomyces griseus*, le premier antibiotique isolé à partir d'une bactérie, la streptomycine. Cette découverte majeure fut loin d'être passée sous silence, puisqu'à cette même époque la tuberculose faisait rage dans plusieurs pays et que la streptomycine fut le premier remède à cette maladie. Dès lors, beaucoup d'importance fut accordée à la recherche sur les streptomycètes et leurs métabolites

secondaires. La compréhension du génome devint rapidement essentielle pour la caractérisation des mécanismes de biosynthèse. La découverte de la technologie de l'ADN recombinant en 1970 permit le développement de souches mutantes qui allaient servir d'outils à une meilleure compréhension du fonctionnement des différentes voies métaboliques et du mécanisme de différenciation morphologique complexe que l'on retrouve chez les streptomycètes (Hopwood, 2007). L'étude de l'espèce *Streptomyces coelicolor* était particulièrement intéressante pour les études génétiques puisque deux des antibiotiques produits par cette bactérie, l'undecylprodigiosine (Red) et l'actinorhodine (Act), ont une coloration rouge et violette, respectivement, permettant de visualiser leur production. La production d'antibiotiques pigmentés agissant comme marqueurs phénotypiques a ainsi permis à *S. coelicolor* d'être le sujet de nombreuses recherches dans lesquelles plusieurs fonctions de gènes furent identifiées. Aujourd'hui, cette bactérie est un outil de référence pour l'étude de la génétique des Actinomycètes (Hopwood, 2007). L'importance qu'accordent la médecine et l'industrie pharmaceutique aux streptomycètes s'orchestre au niveau d'une meilleure compréhension des voies métaboliques complexes desquelles résultent les métabolites secondaires. Les deux tiers des antibiotiques d'origine naturelle actuellement utilisés proviennent des streptomycètes. Ils sont également responsables de la production de plusieurs autres produits utilisés par l'industrie biopharmaceutique tels que des agents antitumoraux et immunosuppresseurs (Hopwood, 2007) et bien d'autres restent certainement à découvrir.

1.2.1 La respiration chez *Streptomyces coelicolor*

S. coelicolor est une bactérie aérobie stricte qui vit principalement dans le sol, là où la quantité d'oxygène disponible peut considérablement varier. Il a même été démontré que *S. coelicolor* avait la capacité de survivre plusieurs semaines en l'absence totale d'oxygène (van Keulen et al., 2007). Les principales voies métaboliques utilisées chez les bactéries aérobies strictes, notamment celles de la glycolyse et du cycle de Krebs, semblent être utilisées de façon préférentielle chez *S. coelicolor*. Toutefois, la bactérie dispose d'un cycle de vie complexe et

de plusieurs systèmes de régulation spécifiques qui lui permettent d'utiliser diverses stratégies et voies métaboliques alternatives encore méconnues, afin de survivre à différentes conditions de stress environnementaux.

La respiration est un processus fondamental dans lequel des électrons produits par l'oxydation de donneurs de faible potentiel redox, tel que le NADH, sont transférés successivement à travers une série de protéines liées ou associées à la membrane. L'ensemble de ces protéines constitue la chaîne de transport d'électrons (ETC). Le processus de transfert d'électron se termine par la réduction d'un accepteur d'électrons à haut potentiel redox, qui est généralement l'oxygène chez les organismes aérobies comme *S. coelicolor*. L'énergie libre libérée lors de ce processus est utilisée pour entraîner la translocation de protons à travers la membrane afin de générer un gradient électrochimique qui est utilisé pour la synthèse d'ATP, mais aussi à diverses fins, dont le transport actif. La ETC est composée de 4 complexes qui constituent la principale machinerie respiratoire : la NADH déshydrogénase (complexe I), la succinate-quinone oxidoréductase (complexe II), le quinol-cytochrome c oxidoréductase (complexe III) et finalement le cytochrome c oxydase (complexe IV). En condition aérobie, ce système s'assure de produire l'ATP via le complexe « ATP synthase » afin de générer l'énergie requise pour le bon fonctionnement de la cellule.

Lorsque les taux d'oxygène baissent, la bactérie s'adapte rapidement par la synthèse de cytochromes alternatifs, tels que le cytochrome bd qui présente une plus grande affinité pour l'oxygène et permet à la cellule de conserver un potentiel membranaire lui permettant de survivre en condition d'hypoxie au détriment d'une certaine efficacité énergétique (Borisov et al., 2011). L'énergie sous forme d'électron qui entre initialement dans la chaîne de transport d'électrons provient directement des molécules NADH et FADH₂ qui agissent en tant que donneurs d'électrons et qui sont principalement produites par le cycle de Krebs. Deux molécules de carbone entrent dans le cycle en tant qu'unité d'acétyle, alors que deux carbones quittent le cycle en tant que molécules de CO₂, un procédé dans lequel est produite une liaison phosphate de hautes énergies (ATP) et quatre transporteurs d'électrons (1x FADH₂, 3x NADH). Ces électrons, comme il a déjà été décrit, entrent dans la chaîne de transport des électrons et la phosphorylation oxydative mène à la formation d'ATP.

La plupart des molécules qui entrent dans le cycle de Krebs, comme l'acétyl-CoA, sont générées à partir du pyruvate, le produit final de la glycolyse. La glycolyse est une séquence de réactions cataboliques qui permet l'assimilation du glucose et la production d'énergie. Le glucose sera dégradé en pyruvate et de petites quantités de NADH et d'ATP seront formées [$Glucose + 2ADP + 2Pi + 2NAD^+ \rightarrow 2\text{ pyruvate} + 2\text{ ATP} + 2(NADH + H^+) + 2H_2O$].

1.2.2. L'assimilation de l'azote chez les streptomycètes

Les streptomycètes disposent d'une machinerie complexe de régulation pour métaboliser l'azote sous différentes conditions de croissance ainsi que d'un certain nombre d'enzymes polyvalentes permettant l'assimilation de l'azote. La source d'azote minéral de préférence pour la plupart des bactéries incluant *S. coelicolor* est l'ammonium. Les streptomycètes possèdent deux voies d'entrée pour l'assimilation de l'ammonium: la glutamate déshydrogénase (GDH) et la glutamine synthétase (GS) (figure 1). La GDH possède une affinité relativement faible pour l'ammonium (valeur K_m relativement élevée) et nécessite l'apport de l'oxoglutarate pour produire du glutamate. Ainsi, elle est généralement active lorsque l'azote est fortement disponible dans l'environnement ($> 1\text{mM}$ ammonium). Dans le cas contraire, c'est-à-dire sous condition limitée d'azote, c'est la voie de la GS qui est utilisée.

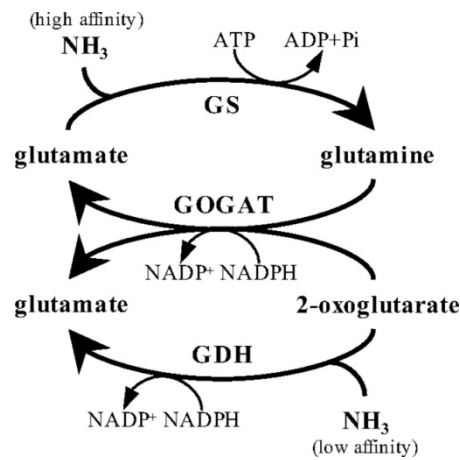


Figure 1 Assimilation de l'azote chez les procaryotes. L'assimilation de l'ammonium (NH_4^+) est médiée soit par la glutamine synthétase (GS) lors d'une faible concentration d'ammonium (forte affinité pour NH_4^+) ou par la glutamate déshydrogénase lors de forte concentration d'ammonium (faible affinité pour NH_4^+). Le glutamate peut être synthétisé par l'action couplée de la GS et la glutamate synthétase (GOGAT) ou par la GDH.(Yan, 2007)

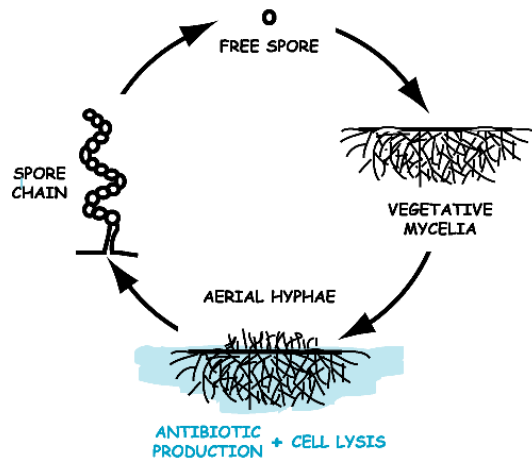
La GS joue un rôle clé dans le métabolisme de l'azote puisqu'elle agit sur deux fonctions essentielles, celle de l'assimilation de l'ammonium et celle de la synthèse de la glutamine. Les streptomycètes possèdent un impressionnant nombre de cinq gènes qui codent pour différentes GS (*glnA*, *glnA2*, *glnA3*, *glnA4* et *glnII*). L'activité de la GS provient principalement de l'enzyme GlnA (GSI) second e par l'enzyme de type eucaryote GlnII (GSII) qui est relativement rare chez les bactéries, même chez les actinobactéries. GlnII est surtout active pendant la phase de croissance stationnaire, alors que le rôle des trois autres enzymes (GlnA2, GlnA3 et GlnA4) demeure obscur. Chez *S. coelicolor*, le régulateur global qui contrôle les gènes impliqués dans le métabolisme de l'azote est GlnR. Il s'agit d'un régulateur réponse orphelin puisqu'il n'a pas de capteur kinase connu. Il a été démontré que GlnR régule au moins 13 gènes, dont 6 sont directement impliqués dans le métabolisme de l'azote (Tiffert et al., 2011).

1.2.3 La différenciation morphologique et le métabolisme secondaire

Le cycle de vie complexe des *Streptomyces* est certainement un des éléments qui leur permet d'évoluer aussi efficacement dans un environnement aussi complexe que le sol. Bien que certains évènements et gènes impliqués dans la différenciation morphologique chez *S. coelicolor* demeurent à être élucidés, plusieurs éléments sont maintenant connus et en voici un survol.

1.2.3.1 Différenciation morphologique en culture solide

Lorsque *S. coelicolor* évolue sur un substrat solide, la germination des spores est induite en conditions environnementales favorables. Un ou plusieurs tubes germinatifs émergent d'une spore et s'allongent par une extension des hyphes au niveau apical. Les hyphes forment des embranchements qui donnent naissance au mycélium végétatif qui poursuit sa croissance en se ramifiant dans différentes directions pour former un îlot qui s'étend progressivement dans le but d'atteindre les ressources du milieu (Manteca et al., 2007) (figure 2). Une cascade de signaux complexes, impliquant un processus de mort cellulaire programmée (MCP) sur plusieurs hyphes induit une différenciation cellulaire à partir des segments viables. Le développement de filaments évoluera vers un mycélium multinucléé et une épaisse couche hydrophobe caractérisera par la suite ce mycélium et permettra son érection dans l'air pour former un mycélium aérien (Flårdh et Buttner, 2009). Les hyphes aériennes multinucléiques s'organisent ensuite via plusieurs processus cellulaires qui impliquent une septation des cellules apicales permettant d'aboutir à la formation de chaînes de spores (Angert, 2005) (figure 2).



The Streptomyces Life Cycle

Figure 2 Représentation schématisée du cycle de vie de *Streptomyces coelicolor* (schéma de Camille M. Cao, Stanford University).

1.2.3.2 Différenciation morphologique en culture liquide

Dans un contexte de productions industrielles utilisant les streptomycètes, les bactéries sont habituellement cultivées en milieu liquide et c'est également le cas pour les recherches présentées dans cette thèse. Sous ces conditions, le processus de sporulation se concrétise rarement, seulement quelques espèces peuvent sporuler et uniquement sous des conditions nutritionnelles particulières (Daza et al., 1989; Manteca et al., 2008). Comme pour la croissance sur substrat solide, le cycle débute avec la germination des spores. Ensuite, des hyphes se forment par croissance apicale où des cloisonnements membranaires compartimentent les nucleoïdes, ce qui correspond à la phase du mycélium compartimenté (MI). Ces hyphes se développent en forme de boulettes et la croissance se poursuit de façon radiale. Un processus de MCP se déclenche à partir du centre de la masse sphérique du mycélium et ce processus coïncide avec un arrêt de croissance de la sphère appelée période de transition (Manteca et al., 2008). Cette MCP est un mécanisme enzymatique qui altère la perméabilité de la membrane jusqu'à une lyse cellulaire, mais seulement une partie du

mycélium en est affecté. Les protéines libérées sont diversifiées, mais elles sont généralement des enzymes impliqués dans la dégradation de macromolécules cellulaires, des protéines de régulation et des protéines de réponse au stress (Manteca et al., 2006b). Il est également plausible que le lysat cellulaire soit une source de nutriments rejetés qui pourrait être recyclée dans le cadre du processus de développement (Migueluez et al., 1999). D'ailleurs, la production d'antibiotiques immédiatement après cet évènement de MCP pourrait être liée à la protection de cette source de nutriments endogènes contre l'exploitation par d'autres organismes voisins (Chater, 2011). Le mécanisme qui induit la MCP est toujours à l'étude, il a été proposé que l'entrée dans cette phase puisse être déclenchée par l'épuisement de l'oxygène ou de nutriments au centre de la boulette (Manteca et al., 2008). Pour les portions du mycélium qui n'ont pas subi de mort cellulaire, la MCP demeure toutefois un évènement nécessaire à la différenciation vers la formation du second mycélium. Ce nouveau mycélium multinucléé (MII) arbore des septations sporadiques et va se développer à l'intérieur des boulettes ainsi qu'en périphérie, donnant lieu à une seconde phase de croissance. Le second mycélium MII est caractérisé par la production de métabolites secondaires. Ainsi, les antibiotiques Red, CDA (antibiotique dépendant du calcium) et Act sont produits par ce second mycélium, alors qu'ils ne peuvent l'être par le premier (Manteca et al., 2008). Dans le cas de l'antibiotique Red et CDA, l'expression des gènes impliqués dans sa production et son apparition visuelle dans un milieu de culture se produit pendant la phase de transition et marque le début de la production de l'ensemble des métabolites secondaires (Huang et al., 2001). Dans le cas de l'antibiotique Act, l'expression des gènes impliqués dans sa production se réalise généralement en début de phase stationnaire et est dépendante de l'expression de Red. La figure 3 schématise les grandes étapes du cycle de développement de *S. coelicolor*.

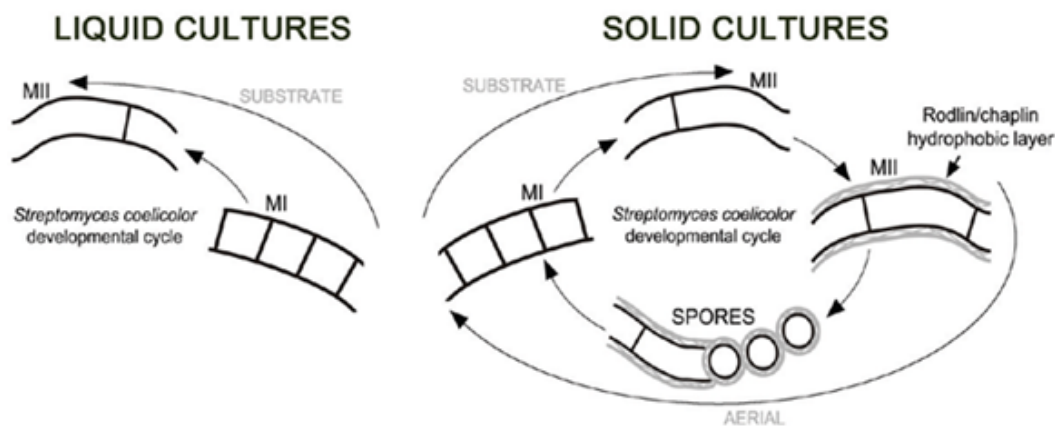


Figure 3 Schématisation des étapes de développement à partir de cultures liquides et solides chez *Streptomyces coelicolor* (Manteca et al., 2010).

1.2.3.3 Génétique associée à la différenciation morphologique

Concernant la génétique, la différenciation morphologique se caractérise par la régulation en cascade de gènes impliqués à chacune des étapes spécifiques. L'une des étapes qui présente un intérêt pour la recherche est celle de la transition entre le mycélium MI et le mycélium MII puisqu'elle marque le début d'une spécialisation du mycélium par la production de métabolites secondaires permettant à la cellule une forme d'adaptation à son environnement. Toutefois, peu d'évènements génétiques connus caractérisent cette période de transition, mis à part l'expression des gènes qui conduisent à la synthèse des antibiotiques Red et CDA; les gènes initiant la MCP étant toujours inconnus. Par contre, il est bien compris que le mécanisme de différenciation morphologique qui conduit au second mycélium MII s'opère initialement par l'activation de plusieurs gènes connus lors du développement du premier mycélium MI.

Tel que mentionné précédemment, la phase de croissance végétative sur milieu solide débute par la germination d'une spore. La germination implique le gonflement de la spore, suivie par l'établissement de la polarité cellulaire et d'une croissance apicale. Chez les *Streptomyces*, le

gène codant pour la protéine en superhélice DivIVA dirige la synthèse de la paroi cellulaire apicale. Cette protéine joue un rôle important dans la division cellulaire tout au long de la différenciation morphologique associée à la germination et à la présporulation (figure 4c) (Flärdh et Buttner, 2009). Le passage au mycélium végétatif à aérien nécessite au moins 3 différentes classes de protéines, le peptide SapB analogue aux lantibiotiques, les chaplines et les rodlines qui participent notamment à la formation de la structure de l'enveloppe hydrophobe enrobant l'hyphe pour lui permettre de se retirer du substrat aqueux et de s'étendre dans l'air.

Le peptide SapB ne semble pas posséder les propriétés antimicrobienne d'un lantibiotique, mais possède des propriétés surfactantes et fait partie du groupe de protéines Sap (spore-associated protein) que l'on retrouve sur l'enveloppe de la spore (Im, 1995). Le peptide SapB découle de la moitié C-terminale de la protéine codée par *ramS* et est le résultat d'un traitement protéolytique et d'une modification post-traductionnelle. RamS est codée par *ramS*, qui fait partie de l'opéron *ramCSAB* (rapid aerial mycelium operon). Les autres gènes dans l'opéron sont *ramC* qui code pour une protéine responsable de la modification post-traductionnelle de SapB et *ramAB* qui code pour un transporteur ABC qui exporte SapB vers l'enveloppe extérieure de l'hyphe (figure 4a) (McCormick et Flärdh, 2012). Le gène *ramR* code pour le régulateur de cet opéron (Willey et al., 2006).

Plusieurs gènes codent pour les chaplines et les rodlines. Les gènes *chpA*, *chpB* et *chpC* qui codent pour les chaplines longues et *chpD*, *chpE*, *chpF*, *chpG* et *chpH* qui codent pour les chaplines courtes, alors que les gènes *rldA* et *rldB* codent pour les rodlines. Les chaplines s'assemblent entre elles via leurs domaines chaplines pour former une structure analogue aux filaments amyloïdes sur la surface des hyphes aériennes et des spores. Les chaplines longues possèdent deux copies du domaine chapline, alors que les chaplines courtes n'en possèdent qu'une seule copie. Tous les deux contribuent différemment à l'assemblage des fibrilles de chaplines, mais la distinction exacte au niveau de leur rôle demeure inconnue (McCormick et Flärdh, 2012). Contrairement aux chaplines, les rodlines ne sont pas essentielles à la formation du mycélium aérien, mais elles jouent un rôle important dans l'organisation des filaments de chaplines en ultrastructure qui est assemblée sous forme de paire de bâtonnets

(« rodlet ») (figure 4b). Les rodlines ne sont pas elles-mêmes des composantes de la couche de bâtonnets distincts observée sur la surface des spores (Bibb et al., 2012; McCormick et Flärdh, 2012).

En culture immergée, les niveaux d'expression des gènes qui codent pour les chaplines, les rodlines et SapB sont similaires à ceux observés en culture solide (Manteca et al., 2010). Toutefois, leurs rôles pourraient différer puisqu'en condition liquide le mycélium (MII) ne possède pas de couche hydrophobe, mais leurs présences demeurent nécessaires à la formation de ce second mycélium (Manteca et al., 2010).

Les gènes qui codent pour SapB, les chaplines et les rodlines sont exprimés au cours de la phase végétative de développement. Leurs expressions sont toutefois dépendantes de celles des gènes « *bld* » (*bldA, B, C, D, G, H, J, K, L, M et N*) qui codent pour des régulateurs impliqués dans le contrôle de l'initiation de la formation du mycélium MII (Capstick et al., 2007; Elliot et al., 2003). La délétion d'un de ces gènes *bld* cause généralement une incapacité de formation du second mycélium (Hopwood et al., 1970). Le rôle de chacun de ces gènes régulateurs demeure encore à l'étude (McCormick et Flärdh, 2012). Notons simplement que l'expression de *bldN* qui code pour le facteur sigma ECF (fonction extracytoplasmique) σ^{BldN} et dont l'expression dépend de signaux extracellulaires joue un rôle important dans la régulation des gènes qui codent pour SapB, les chaplines et les rodlines (Bibb et al., 2012; Manteca et al., 2010). Également, notons que le complexe *bldK* (*bldKA, KB, KC, KD et KE*) intervient au début de la cascade de signalisation des gènes *bld*. Ce complexe code pour un transporteur d'oligopeptides qui agit comme le récepteur d'un signal extracellulaire et un régulateur impliqué au niveau de la différenciation morphologique et physiologique (Nodwell et Losick, 1998).

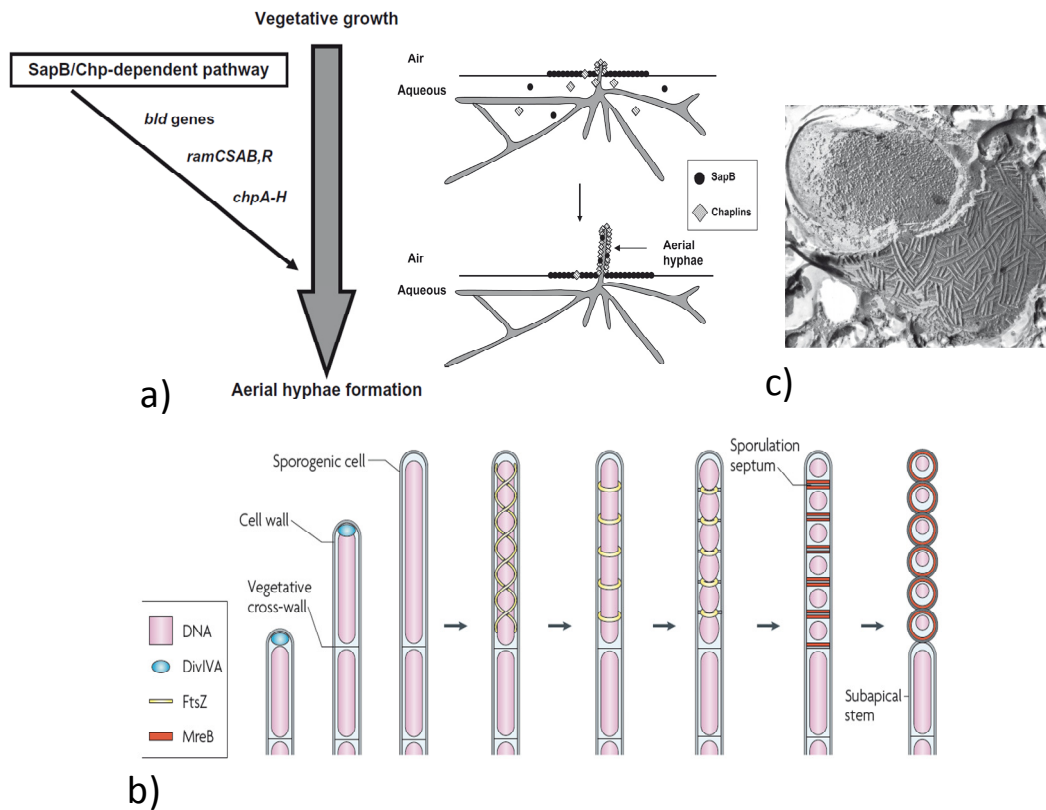


Figure 4 Schématisations et photo représentant différentes étapes de la différenciation morphologique pour la formation du mycélium aérien et de la sporulation chez *S. coelicolor*. a) *Schéma de gauche*- Régulation de la formation de l'hyphes aérienne en milieu riche où l'activité des gènes *bld* et ceux des gènes codant pour SapB et les chaplins sont nécessaires à leur formation. *Schéma de droite*-Modèle de l'activité des protéines morphogéniques SapB et les chaplins dans la formation d'une enveloppe hydrophobe autour des hyphes aériennes (Capstick et al., 2007; Elliot, 2008). b) Orchestration de l'ensemble de la paroi cellulaire et de la division cellulaire. Les hyphes aériennes croissent par extension apicale et sont structurées par DivIVA. La formation d'une cellule apicale sporogène implique l'arrêt de la croissance. FtsZ s'assemble en filaments hélicoïdaux qui sont remodelés en « Z-ring » et espacés de façon régulière pour orienter le cloisonnement de la sporulation. Après l'achèvement des cloisons, MreB va permettre de produire une épaisse paroi qui s'assemble

autour des présportes. Initialement, MreB est localisée dans les cloisons cellulaires apicales, mais se déploiera autour de la spore par la suite (Flärdh and Buttner, 2009); c) Ultrastructure des rodlets de spores. Préparation par « Freeze-etch » d'une spore montrant l'enveloppe de paires de rodlets caractéristique de la couche hydrophobe qui enrobe les hyphes aériennes et les spores (Elliot, 2008).

La différenciation de l'hyphe aérienne d'un stade de pré-sporulation à un stade de sporulation se réalise au niveau de la cellule sporogène qui est en fait la cellule apicale d'une hyphe aérienne qui s'allongera et sera convertie en spore. Un groupe de 5 gènes régulateurs clés sont strictement et non conditionnellement requis pour les premiers stades de la conversion des hyphes aériennes en spores, il s'agit de *whiA*, *whiB*, *whiG*, *whiH* et *whiI* (McCormick et Flärdh, 2012). La délétion d'un de ces gènes n'empêche pas la formation du mycélium aérien mais inhibe le processus de différenciation morphologique vers la formation des spores (Hopwood et al., 1970). La formation de spores dans les hyphes aériennes nécessite évidemment un contrôle temporel et spatial de la division cellulaire. Plusieurs gènes sont impliqués dans ce processus complexe. Parmi ceux-ci, d'abord, *ftsZ* dont la protéine codante, FtsZ, dirige la division cellulaire par un assemblage de filaments en anneau, nommé « z-ring » qui est nécessaire à la fois pour l'établissement des parois transversales de l'hyphe végétative et du cloisonnement des multiples copies du chromosome qui seront produites dans chaque cellule sporogène (Flärdh et Buttner, 2009). La structure de FtsZ permet également l'interaction avec d'autres composantes impliquées dans l'orchestration de la division, telles que SsgA qui aurait un rôle important pendant la ségrégation chromosomique pour le positionnement des septations dans la cellule sporogène (Noens et al., 2005) et CrgA qui contrôlerait la formation d'anneaux FtsZ (Del Sol et al., 2006; Flärdh et Buttner, 2009). Finalement, à la suite de la formation des cloisonnements, des gènes tels que *mreB* qui code pour une protéine impliquée dans l'épaississement de la paroi cellulaire qui sera synthétisée autour des présportes. Les nucléoïdes se condenseront dans les spores en maturation et les chaînes unigénomiques seront ainsi formées (Flärdh et Buttner, 2009). Les spores sont caractérisées par une coloration grise due à la présence d'un composé aromatique de type

polycétide (Kieser et al., 2000). Ces spores de reproduction, résistantes à la dessiccation, fournissent un mécanisme de dissémination efficace vers de nouveaux environnements pour ces bactéries non mobiles et sans capacité de chimiotactisme (Elliot, 2008).

Bien que quelques revues de littérature dressent un portrait plus large de la différenciation morphologique chez *S. coelicolor* (Bibb et al., 2012; Elliot, 2008; Flårdh et Buttner, 2009; McCormick et Flårdh, 2012; Willey et al., 2006), il est encore impossible de tracer un portrait complet des signaux et des voies de signalisation menant à la régulation génétique des gènes impliqués dans la différenciation cellulaire. Toutefois, plusieurs facteurs dont les stress environnementaux, entre autres perçus par plusieurs facteurs sigma, vont venir moduler l'expression de ces gènes (McCormick et Flårdh, 2012).

1.2.4 Régulation des gènes en réponse aux stress environnementaux

Les streptomycètes ont la capacité de percevoir et de répondre aux changements environnementaux, ce qui est crucial pour leur survie dans l'écosystème naturel. De façon générale, pour arriver à capter les signaux de l'environnement et à mettre en place une réponse adaptative, les bactéries utilisent différents mécanismes de signalisation cellulaire. La régulation à deux composantes et l'utilisation de facteurs sigma alternatifs sont les deux mécanismes fondamentaux utilisés (Staron et al., 2009). La nature complexe du sol signifie également que les streptomycètes ont dû acquérir et faire évoluer une large gamme de voies métaboliques pour leur permettre de survivre dans cet environnement variable. L'un des aspects d'intérêt sur le métabolisme de *S. coelicolor* est leurs évolutions dans un environnement possédant une tension d'oxygène variable allant jusqu'à l'hypoxie ou l'anaérobie, alors qu'ils sont des organismes identifiés « aérobies stricts ».

1.2.4.1 La régulation à deux composantes

Les systèmes de régulation à deux composantes sont gouvernés par au moins deux protéines. La première est un senseur (qui capte des signaux environnementaux) et qui comporte habituellement une kinase (kinase senseur). Cette protéine traverse la membrane cytoplasmique de sorte qu'un de ses domaines est exposé à l'environnement extracellulaire tandis que l'autre est exposée au cytoplasme. De cette façon, le senseur peut détecter des changements spécifiques dans l'environnement et communiquer l'information à l'intérieur de la cellule par un mécanisme de phosphorylation. La seconde composante est le régulateur-réponse, une protéine qui se fixe à l'ADN (Staron et al., 2009). Quand cette dernière protéine est activée par la kinase-senseur, le régulateur-réponse déclenche la transcription des gènes dont l'expression est nécessaire pour l'adaptation aux stimuli environnementaux détectés (Prescott et al., 2005). Le régulateur-réponse peut aussi réprimer la transcription de gènes qui ne sont pas requis dans des conditions spécifiques. Chez *S. coelicolor*, 84 gènes possèdent un domaine de senseurs kinases dont 67 sont adjacents à des gènes codant pour des régulateurs-réponses. La plupart de ces gènes ont des fonctions et cibles très peu caractérisées (Hutchings et al., 2004).

1.2.4.2 Les facteurs sigma

Les sous-unités de l'ARN polymérase (α , β , β^1 , ω) liées à un facteur sigma (σ) initient généralement le processus de transcription et cette liaison est déterminante pour la reconnaissance du promoteur sur l'ADN. Typiquement, la transcription lors de la croissance exponentielle est initiée par l'holoenzyme où l'ARN polymérase se lie au facteur sigma principal (σ). Des facteurs sigma alternatifs contrôlent des régulons spécialisés qui sont activés durant des conditions de stress, lors d'une étape de croissance en transition ou lors de différenciations morphologiques (Gruber et Gross, 2003). Les facteurs sigma sont divisés en

deux grandes familles, σ^{70} et σ^{54} , mais chez les bactéries à Gram positif riches en G+C, telles que les streptomycètes, seul le σ^{70} est retrouvé (Gruber et Gross, 2003). La famille σ^{70} est subdivisée en quatre groupes phylogéniques. Le groupe 1 contient le facteur sigma principal codé par *hrdB* chez *S. coelicolor*. Il est essentiel à la transcription de gènes impliqués dans des fonctions primaires essentielles (housekeeping). Les facteurs sigma du groupe 2 jouent un rôle similaire à celui du facteur principal, mais contrairement au facteur principal, ils ne sont pas indispensables à la croissance. Les facteurs sigma du groupe 3 possèdent des séquences plus divergentes que celles du groupe 1 et 2, ce qui leur permet généralement l'activation de régulateurs qui regroupent des gènes de fonctions spécifiques, tels que les gènes impliqués dans une réponse à un choc thermique ou les gènes qui initient le processus de sporulation, par exemple les gènes *whi*. Finalement, les facteurs sigma du groupe 4 nommé ECF (fonction extracytoplasmique) représentent le groupe le plus important en terme de nombre avec 51 des 65 facteurs sigma identifiés chez *S. coelicolor* (Gruber et Gross, 2003). Ces facteurs sigma du groupe 4, répondent généralement à des signaux extracellulaires. Les facteurs sigma ECF, sont souvent cotranscrits avec un facteur anti-sigma qui est situé au niveau transmembranaire et en absence de stimuli, ils vont séquestrer le facteur sigma correspondant (Gruber and Gross, 2003; Staron et al., 2009). Le facteur σ^{BidN} dont nous avons vu plus tôt l'implication dans la différenciation morphologique, σ^{E} nécessaire à l'expression des gènes impliqués dans la détection et la réponse aux changements de l'intégrité de l'enveloppe cellulaire et σ^{R} nécessaire à l'expression des gènes impliqués dans la détection et la réponse au stress oxydatif sont des exemples de facteurs sigma ECF. La figure 5 présente les différents gènes qui codent pour les différents groupes de facteurs sigma chez *S. coelicolor*.

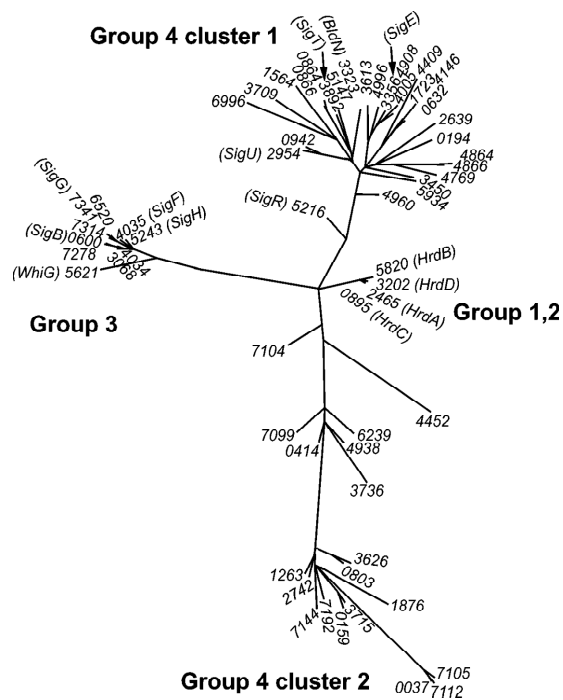


Figure 5 Facteurs sigma chez *S. coelicolor* regroupés par l'alignement des séquences de la région 1,2 à 2,4 (domaine 2, qui inclut une région non conservée et la séquence qui lie la région -10 du promoteur) présentés selon les 4 différents groupes σ^{70} . Les numéros correspondent à l'identification de gènes SCO du NCBI (Gruber et Gross, 2003).

1.2.4.3 Réponse aux stress anoxique chez les Streptomycètes

L'habilité à s'adapter à des conditions d'hypoxie ou à survivre à des conditions d'anaérobies permet aux organismes un avantage sélectif distinct dans un environnement naturel. Des études relativement récentes ont démontré que les membres de plusieurs genres, par exemple, *Pseudomonas aeruginosa* (Zimmermann et al., 1991), *Bacillus subtilis* (Nakano et al., 1997), *Arthrobacter globiformis* (Eschbach et al., 2004), précédemment identifiés à des organismes aérobies strictes sont capables de croître soit par fermentation et/ou par la respiration anaérobie avec du nitrate (van Keulen et al., 2007). Bien qu'il n'existe aucune démonstration que *S. coelicolor* puisse croître en anaérobiose, la séquence de son génome (Bentley et al., 2002) révèle plusieurs enzymes caractéristiques du métabolisme respiratoire par anaérobiose retrouvé normalement chez des organismes anaérobies facultatifs. Dans la plupart des cas, le

rôle de ces protéines demeure à être élucidé chez *S. coelicolor* et une meilleure compréhension de la fonction de ces gènes permettrait de donner un aperçu des stratégies développées par la bactérie pour survivre à la limitation d'oxygène. L'examen de la séquence du génome permet de constater qu'en plus des gènes de nitrate et nitrite réductase associés à l'assimilation de l'azote, l'organisme dispose de trois copies de l'opéron *narGHJ*, qui codent pour des nitrates réductases respiratoires. La nitrate réductase respiratoire est une molybdoenzyme associée à la membrane qui permet la réduction des nitrates pour la génération d'un gradient de protons. La présence de plus de deux copies de cet opéron dans une bactérie est inhabituelle (van Keulen et al., 2005). Également associé à la respiration cellulaire, le gémone de *S. coelicolor* possède une séquence qui correspond aux gènes de l'opéron *cydABCD* qui code pour le cytochrome b oxydase (cytochrome bd), un cytochrome alternatif dont l'expression est induite par une faible concentration d'oxygène (Borisov et al., 2011).

La régulation transcriptionnelle joue souvent un rôle clé dans le contrôle de la réponse des bactéries à l'apparition de l'anoxie. Le génome de *S. coelicolor* possède plusieurs régulateurs qui partagent une grande similarité avec des facteurs de transcription actifs en condition redox retrouvée chez d'autres micro-organismes. Mentionnons notamment deux histidines kinases et un régulateur de réponse présentant une similarité en acides aminés avec DosS-DosT-DosR de *Mycobacterium tuberculosis*, un système à deux composantes qui commande l'adaptation à anaérobiose par l'activation d'un processus de dormance. *S. coelicolor* code également pour au moins deux régulateurs de transcription appartenant à la famille CRP/FNR. Toutefois, aucun de ces régulateurs putatifs n'a le motif de signature de résidus cystéinyle en N- ou C-terminal nécessaires pour coordonner le centre [4Fe-4S], qui est impliqué dans la détection du dioxygène par FNR chez plusieurs genres bactériens (Korner et al., 2003). L'étude de ces régulateurs et les mécanismes d'adaptation en anoxie encore méconnus, permettra une meilleure compréhension des capacités de *S. coelicolor* à répondre à un stress à l'anoxie.

Au niveau expérimental, *S. coelicolor* supporte très bien des conditions d'hypoxie avec un taux de croissance similaires à celui observé en condition aérobie (van Keulen et al., 2007). Il faut souligner que contrairement à *Campylobacter jejuni*, une espèce microaérophile qui ne peut pas se développer en anaérobiose en raison d'un manque de la ribonucléotide réductase

indépendante de l'oxygène, *S. coelicolor* possède à la fois le moyen de faire la synthèse des désoxynucléotides par la voie d'enzyme dépendant et indépendant de l'oxygène, ce qui signifie qu'il existe une autres raison à son incapacité à se développer en anaérobiose (van Keulen et al., 2007).

Mycobacterium tuberculosis est également incapable de se développer en anaérobiose, en dépit d'une nitrate réductase respiratoire (Sohaskey and Wayne, 2003). *M. tuberculosis* est toutefois capable de survivre en condition d'anaérobie pour plusieurs mois voir même quelques années en entrant dans un état de dormance (Wayne et Hayes, 1996). Il est possible que la capacité de réduire le nitrate serve uniquement comme un moyen de fournir de l'énergie au cours de l'adaptation de *M. tuberculosis* pour l'anaérobiose et il est donc possible que ces enzymes respiratoires puissent aider *S. coelicolor* à s'adapter à l'anaérobiose (van Keulen et al., 2007). *S. coelicolor* est en mesure de survivre à une chute abrupte vers des conditions d'anaérobie et de maintenir un taux de survie de 80% après 6 semaines sous ces conditions (van Keulen et al., 2007). Toutefois, ce ne sont pas tous les *Streptomyces* qui ont cette capacité de survie sous les mêmes conditions, *S. avermitidis* est incapable de survivre dans des conditions d'anaérobies malgré une très grande similarité avec la structure du génome de *S. coelicolor*. Bien que la région centrale de leur génomes qui représentent plus de 50% des gènes soit presque identiques, les régions aux extrémités du génome présentent des variations considérables qui pourraient certainement expliquer la capacité d'adaptation à l'anaérobie de *S. coelicolor*. D'ailleurs, une des différences au niveau des deux génomes est l'absence de gène de code pour une nitrate réductase respiratoire, mais une expérience avec une souche mutante dépourvue de nitrate réductase respiratoire n'a pas permis de réduire la capacité de *S. coelicolor* à s'adapter à l'anaérobie. En dehors de ces enzymes d'anaérobies, il est difficile d'identifier un gène qui permettrait de fournir une explication simple à cette différence dans la survie à ce stress (van Keulen et al., 2007). Le génome de *S. coelicolor* code pour plus de 250 oxydoréductases (Bentley et al., 2002), dont beaucoup ont des fonctions inconnues. Il est concevable que plusieurs oxydoréductases puissent être induites en réponse à une anaérobiose, et qui grâce à l'utilisation d'accepteurs d'électrons exogènes disponibles, permettrait

cumulativement un bas niveau métabolique et donc le maintient d'un potentiel membranaire (van Keulen et al., 2007).

1.3 La technologie des puces à ADN

Une puce à ADN, communément appelée « microarray » en anglais, est constituée de fragments d'ADN produits par PCR ou fabriqués en tant qu'oligonucléotides qui sont immobilisés sur un support solide (généralement de verre) selon une disposition ordonnée. Le fonctionnement de la puce à ADN repose sur un principe qui origine de l'hybridation moléculaire utilisée dans les technologies du Southern blot et Northern blot. Le brin d'ADN simple disposé sur le support (sonde) est spécifiquement sélectionné pour capturer un brin complémentaire. Ce brin complémentaire d'ADN (cible) est produit à partir d'un échantillon d'ARN et marqué lors d'un processus de transcription inverse. Généralement, ce sont les fluorophores Cy3 et Cy5 qui servent pour le marquage. L'affinité naturelle qu'a l'ADN simple brin à se lier à sa séquence complémentaire va permettre, sous des conditions favorables à l'hybridation, aux ADN complémentaires marqués (cible) une liaison d'hybridation unique et spécifique avec une des séquences d'ADN des sondes fixées sur la puce à ADN. Cette technique permet de détecter et de quantifier l'abondance de transcrit pour chacune des séquences nucléiques spécifiques fixées sur la puce à ADN. L'hybridation s'effectue généralement avec deux cibles en même temps (chacun un fluorophore différent), ce qui permet de comparer sur une même puce à ADN deux échantillons différents. Un lavage va permettre de conserver uniquement les cibles hybridées avec leurs sondes complémentaires. La puce à ADN sera alors soumise à un laser d'une longueur d'onde correspondant au spectre maximal d'absorption du fluorophore utilisé et par numérisation l'intensité de l'émission produite par ce fluorophore fixé sur la cible sera mesurée. Cette émission (signal) sert d'estimation de l'abondance d'un transcrit. Puisque la séquence d'une sonde est généralement spécifique à la séquence d'un seul gène, le signal permet ainsi d'établir le niveau d'expression de chaque gène correspondant.

1.3.1 L'analyse des données

Pour procéder à la quantification et l'analyse des données, un logiciel de quantification doit préalablement identifier les mauvaises images et être en mesure de distinguer et soustraire le bruit de fond par rapport au signal réel émis par la sonde hybridée (Bogard, 2008). Les données brutes acquises doivent ensuite être normalisées.

La normalisation consiste essentiellement à ajuster l'intensité individuelle du signal mesuré d'une hybridation pour équilibrer et réaliser des comparaisons qui sont biologiquement significatives. Il existe plusieurs raisons pour effectuer une normalisation de nos données, que ce soit une quantité ou une qualité inégale d'ARN au départ, une différence dans le marquage, l'efficacité de la détection entre les fluorophores utilisés ou le biais systématique lors de la mesure des niveaux d'expression (Bogard, 2008; Quackenbush, 2002). Il existe une quantité impressionnante de revues de littérature dédiées uniquement à la normalisation qui identifient et expliquent les très nombreuses façons de normaliser des données brutes à partir de puces à ADN (Bilban et al., 2002; Meiklejohn and Townsend, 2005; Park et al., 2003; Quackenbush, 2002; Smyth and Speed, 2003; van Bakel and Holstege, 2004; Wolkenhauer et al., 2002). Les résultats dans cette thèse proviennent de données normalisées à partir de l'ADNg comme référence commune et du type de normalisation globale dont nous discuterons à la section: discussion générale.

1.3.2 L'expression relative et différentielle

Généralement, les valeurs utilisées pour calculer les ratios sont celles provenant de la médiane, car elles sont moins sensibles que les intensités moyennes aux biais provoqués par les valeurs extrêmes (Lin, 2004). L'intensité du signal pour chaque spot correspond à la différence entre la médiane d'intensité de tous les pixels dans une région cible et la moyenne du bruit de fond local à cette même région cible (Talaat et al., 2002).

Les ratios procurent une mesure intuitive des changements d'expression, toutefois, ils ont le désavantage de traiter les modulations (augmentation ou diminution) de façons différentes. Un gène qui est modulé par une augmentation d'un facteur de 2, aura un ratio d'expression de 2, alors qu'un gène qui est modulé par une diminution du même facteur aura un ratio d'expression de 0,5. Le logarithme permet de transformer le ratio d'expression en fonction linéaire. La transformation la plus couramment utilisée pour pallier ce désavantage est d'utiliser le logarithme de base 2, qui permet de produire un spectre continu de valeur qui traite les augmentations et les diminutions de la même façon. Un rappel que le logarithme traite symétriquement un nombre et leur inverse : $\log_2(1) = 0$, $\log_2(2) = 1$, $\log_2(1/2) = -1$, $\log_2(4) = 2$, $\log_2(1/4) = -2$ et ainsi de suite. Donc, le \log_2 (ratio) est généralement utilisé pour représenter les niveaux d'expression (Quackenbush, 2002).

L'expression relative correspond au ratio (T_1) de l'intensité du signal de l'ADN c_1 par rapport à l'ADNg (la référence commune). Pour obtenir l'expression différentielle, le ratio T_1 est comparé avec un autre ratio (T_2) qui correspond à l'intensité du signal de l'ADN c_2 par rapport à la référence commune. Le calcul du ratio des ratios (T_1/T_2) est mathématiquement équivalent que de comparer ADN c_1 /ADN c_2 . Ainsi, une fois normalisé, le ratio utilisé pour interpréter l'expression différentielle d'un gène peut être fait en comparant deux puces à ADN qui contiennent chacune une condition expérimentale et une même référence commune selon l'équation suivante :

$$\text{Expression différentielle} = \log_2 \left(\frac{\text{ADNc1}/\text{ADNg}}{\text{ADNc2}/\text{ADNg}} \right) = \log_2 \left(\frac{\text{ADNc1}}{\text{ADNc2}} \right);$$

1.4 La justification du sujet à l'étude dans cette thèse : le motif TerD

Bien que largement étudié par la communauté scientifique, *S. coelicolor* M145 possède un grand génome dont l'expression génique est régulée par des systèmes de contrôles complexes encore peu caractérisés. Ces systèmes de contrôle permettent notamment la croissance ou la survie de la bactérie sous différentes conditions de stress. Au niveau du protéome, il est

intéressant de constater que certaines des protéines qui possèdent un motif TerD sont parmi les protéines les plus exprimées. Initialement identifiées à un mécanisme de résistance au tellurite, les protéines ayant un motif TerD ont une fonction inconnue (Thomas et al., 2012).

L'étude de la résistance naturelle à des substances considérées nocives pour la plupart des bactéries a permis l'identification de mécanismes et molécules qui sont impliqués dans la réponse aux stress. C'est le cas du tellure, un métalloïde et un puissant oxydant généralement toxique à faible dose pour les bactéries, qui a été fortement utilisée sous forme de tellurite de potassium comme marqueur sélectif pour l'isolement d'agents pathogènes tels *Escherichia coli* STEC (Shiga Toxin-producing *Escherichia coli*). La recherche d'un marqueur génétique lié à la capacité de résistance de certaines souches bactériennes au tellurite a conduit à la découverte d'un groupe de 7 gènes *ter* regroupés en opéron, *terZABCDEFG*, qui étaient présents chez les souches résistantes. Des études de délétion génétique dans cet opéron ont établie que *terD* était l'un des gènes qui joue un rôle central dans la résistance au tellurite, puisque le mutant *terD* perd sa tolérance (Kormutakova et al., 2000). Plus récemment, il a été établi que plusieurs dizaines de gènes étaient impliqués dans le mécanisme de la résistance au tellurite et que *terD* était un des gènes de ce regroupement (Prigent-Combaret et al., 2012). Le motif *terD* est présent chez plus de 630 espèces parmi les Actinomycètes, Firmicutes, Proteobacteries et quelques organismes eucaryotes primitifs tels que les amibes et diatomées, et plusieurs de ces espèces ne présentent pas de tolérance au tellurite, tel que *S. coelicolor*. Le fait que les gènes de motif *terD* soient si nombreux et conservés chez les procaryotes suggère qu'ils n'ont pas évolué pour rendre les bactéries résistantes au tellurite, mais plutôt pour une ou plusieurs autres fonctions cellulaires importantes (Pan et al., 2011). L'étude de l'architecture des domaines des gènes de motif *terD* chez différentes espèces a permis d'observer des fusions variées avec notamment des domaines de nucléase, de liaison à l'ARN, des domaines liés à l'ubiquitine et des domaines de liaison aux métaux (Anantharaman et al., 2012). Bien que la fonction du motif TerD demeure obscure, sur la base de l'étude de la fusion de domaine associée au motif *terD*, un système impliquant des gènes de motif *terD* pourrait permettre de mobiliser différents types de systèmes de réparation, de régulation et de signalisation à la fois à la surface cellulaire et dans la cellule. De meilleures connaissances sur le rôle du motif TerD

pourraient permettre de définir de nouveaux systèmes de régulation et éventuellement aider au développement de nouvelles thérapies anti-bactériennes ou permettre d'augmenter la production de molécules d'intérêt.

1.4.1 Les gènes de *S. coelicolor* ayant un motif TerD

Chez *S. coelicolor*, il est possible d'identifier, par recherche en bio-informatique, 21 gènes répartis sur l'ensemble du génome qui possèdent un ou deux motifs *terD*, 17 de ces gènes avaient été initialement décrits par Sanssouci et al. (2011), quatre autres gènes, SCO0854, SCO2365, SCO2411 et SCO4953, s'ajoutent à cette liste. Les protéines codées par ces gènes sont toutes de fonction inconnue et désignées par le NCBI (National Center for Biotechnology Information) comme protéine hypothétique, protéine de résistance au tellurite, protéine de stress, protéine associée au transport ou à l'exportation. Ces fonctions n'ont toutefois pas été démontrées expérimentalement. En fait, avant les travaux présentés dans cette thèse, seulement deux études ont porté sur des protéines de motif TerD chez *S. coelicolor*, dont la dernière est présentée en annexe de cette thèse (Sanssouci et al., 2012). Dans la première de ces deux études réalisées par Sanssouci et al. (2011), il a été établi que les gènes qui codent pour des protéines avec motif TerD allaient porter l'appellation *tdd* pour gènes codant pour des « *TerD domains* » chez *S. coelicolor*. Ces deux études ont notamment porté sur les effets d'une délétion des gènes *tdd7* (SCO2367), *tdd8* (SCO2368) et *tdd13* (SCO4277) sur la différenciation morphologique et la sporulation. Ces gènes avaient été choisis à l'origine en raison de leur grande similarité avec le gène *terD* identifié initialement chez *Serratia marcescens* d'où provient l'identification de ce motif. Toutefois, bien que les séquences de ces trois gènes aient une très grande similarité entre elles, leurs mutations produisent toutes des effets différents sur la différenciation morphologique. Par exemple, les colonies produites par le mutant $\Delta tdd13$ étaient beaucoup plus petites que celles produites par la souche sauvage M145, alors que celles du mutant $\Delta tdd7$ avaient une croissance très lente et étaient beaucoup plus crevassées que M145 (Sanssouci et al., 2012).

1.4.2 Le gène *tdd8* de *S. coelicolor*

La première étude de Sanssouci et al., (2011), a porté exclusivement sur le gène *tdd8* de *S. coelicolor* M145. Pour étudier les impacts de la modulation de l'expression de *tdd8*, deux souches mutantes ont été produites, une par la délétion du gène *tdd8* ($\Delta tdd8$) via la méthode redirect et l'autre par recombinaison où une copie de *tdd8* avec son promoteur a été placée sur un plasmide pour permettre une surexpression de *tdd8* (*tdd8+*). Cette étude a démontré que l'absence ou la surexpression de *tdd8* n'affectait pas significativement le niveau de tolérance au tellurite qui est très faible avec une CMI (concentration inhibitrice minimale) de tellurite de potassium à 10-15 μM alors qu'une souche tolérante telle qu'*E. coli* pTE53 présentera une résistance allant jusqu'à 4 mM (Sanssouci et al., 2011). Ensuite, il a été démontré qu'il existait une grande différence en ce qui a trait à la sporulation tant au niveau de la morphologie des chaînes de spores, qu'au niveau de l'efficacité de leur production entre le mutant de délétion, la souche recombinante surexprimant le gène et la souche M145. Une surproduction de spores a été observée chez la souche mutante avec une morphologie de longues chaînes de petites spores avec une enveloppe dense et non sphérique (de forme cubique). Alors que pour la souche qui surexprime *tdd8*, une très faible production de spores a été observée et les chaînes de spores étaient courtes, avec des spores de formes irrégulières et de tailles variées (Sanssouci et al., 2011).

Bien que peu d'études aient directement été faites sur les gènes qui codent pour des protéines avec un motif TerD, plusieurs études portant sur *S. coelicolor* ont observé des modulations dans l'expression de gènes *tdd*, souvent *tdd8*, et ces études étaient associées à des expériences sous conditions de stress. Par exemple, il a été observé qu'un stress à l'éthanol (Novotna et al., 2003) ou qu'une délétion du gène codant pour le régulateur global de l'assimilation de l'azote, GlnR (Tiffert et al., 2011) augmentaient la présence de Tdd8 dans la cellule. Il a été établi que *tdd8* est fortement exprimé tout au long de la croissance bactérienne (Jayapal et al., 2008; Sanssouci et al., 2011), ce qui suggère un rôle d'importance dans un mécanisme cellulaire. Une étude protéomique a également révélé que Tdd8 était présent à la fois dans le protéome

intra et extracellulaire et plusieurs isoformes méthylés ont été identifiés (Sanssouci, 2010). Une étude sur le phosphoproteome de *S. coelicolor* a également observé une forme phosphorylée de Tdd8 à la fin de la différenciation morphologique liée à la présporulation (MII), ce qui suggère que *tdd8* puisse également être impliqué dans un mécanisme cellulaire de signalisation post-traductionnel dépendant de la phosphorylation (Manteca et al., 2011).

Une expérience par cristallisation a permis de publier dans PDB (Protein Data Bank) que Tdd8 possède deux sites de liaison aux ions calcium (PDB numéro 3IBZ). Une autre étude a aussi démontré que d'autres protéines ayant le motif TerD possédaient un ou des sites de liaison aux ions calcium et a permis d'identifier la séquence en acide aminé caractéristique de ce site de liaison (Pan et al., 2011). Cette découverte permet de supposer que la capacité à lier le calcium est déterminante dans la fonction biologique du motif TerD. Toutefois, le défi reste de taille, bien que l'importance du calcium en tant que régulateur cellulaire soit établie chez les eucaryotes, notamment à titre de messenger universel où l'ion calcium transmet un signal de la surface vers l'intérieur de la cellule, le rôle du calcium au niveau de la régulation cellulaire chez les procaryotes demeure toujours évasif (Dominguez, 2004).

1.5 Les objectifs du projet de doctorat

Dans un effort pour identifier le rôle d'une protéine avec un motif *terD* chez un organisme non résistant à la tellurite, nous avons ciblé le gène *tdd8* de *S. coelicolor* comme sujet de recherche. Pour l'étude de ce gène, nous disposons de trois souches (M145, délétion ($\Delta tdd8$), surexpression (*tdd8+*) qui permettent trois contextes d'expression de *tdd8*. L'hypothèse soutenant le travail était que le rôle du gène *tdd8* pourrait être éclairci en comparant les effets d'une modulation dans l'expression de ce gène sur le transcriptome. Il pourrait ainsi être possible d'établir le rôle cellulaire de *tdd8* en comparant la fonction des gènes qui seraient différemment exprimés entre les souches.

Dans un premier temps, une analyse transcriptomique globale à partir de la technologie des puces à ADN permettra de comparer les transcriptomes de *Atdd8* et *tdd8+* avec celui de la souche de référence M145 à différents stades de développement. À partir des résultats générés par l'analyse transcriptomique, des regroupements de gènes différemment exprimés fait sur la base de fonction commune (connue ou prédite) pourront permettre d'avancer des hypothèses sur l'implication de Tdd8 dans différent système.

Dans un deuxième temps, les regroupements de gènes qui présentent un intérêt seront analysés plus en détail, notamment par l'étude de leur expression transcriptomique lors de différents stress. Des mécanismes d'actions de Tdd8 seront par la suite proposés.

CHAPITRE 2

2.0 Identification d'un régulon DosR chez *Streptomyces coelicolor* par une comparaison transcriptomique du génome de souches présentant une expression différentielle de *tdd8*, un gène codant pour une protéine avec un domaine TerD

Bien que *S. coelicolor* ne soit pas résistant à la tellurite, il possède plusieurs gènes portant le motif *terD* décrit comme étant impliqué dans la résistance à ce minéral. La fonction des gènes qui codent pour un domaine TerD (*tdd*) chez *S. coelicolor* demeure énigmatique malgré le fait que Tdd8 est parmi les protéines les plus abondantes du protéome de *S. coelicolor*. Cette étude vise à déterminer la fonction globale de *tdd8* en comparant, à partir de puces à ADN, le profil d'expression génique globale de la souche *S. coelicolor* M145 avec ceux d'un mutant de délétion pour *tdd8* ($\Delta tdd8$) et d'une souche recombinante qui surexprime *tdd8* (*tdd8+*). L'expression de plusieurs gènes a été modulée par la délétion ou la surexpression de *tdd8*, incluant plusieurs gènes impliqués dans la différenciation morphologique et l'assimilation de l'azote. Également, plusieurs des gènes orthologues de *M. tuberculosis* impliqués dans un phénomène de dormance permettant sa survie sous conditions d'hypoxie ont été régulés à la hausse dans le mutant de délétion à l'apparition visuelle de la production de l'antibiotique au pigment rouge, l'undecylprodigiosine. L'analyse de la séquence de ces gènes prédit un rôle dans la réponse au stress redox, ce qui est supporté par un faible ratio NAD⁺/NADH chez $\Delta tdd8$. Ce groupe de gènes potentiellement impliqués dans la réponse au stress redox inclut deux grands loci (SCO0161-SCO0181 et SCO0197-SCO0220). Un motif de liaison similaire au site de liaison DosR de *M. tuberculosis* a été identifié dans les séquences en amont de la plupart des gènes dans ces loci. Cette étude suggère que Tdd8 est impliquée dans l'homéostasie redox.

Les travaux sont présentés à la section 2.2 « *Daigle, F., Lerat, S., Bucca, G., Smith, C.P., Malouin, F. et Beaulieu, C. Identification of a DosR-like regulon in Streptomyces coelicolor*

via a comparative global genome transcriptomics in strains exhibiting differential expression of tdd8, a TerD domain-encoding gene (soumis pour publication) ». Les expériences avec les puces à ADN et la normalisation des données pour les résultats présentés dans cet article ont été réalisées par François Daigle au laboratoire de Colin P. Smith à l'Université de Surrey au Royaume-Uni sous les conseils de Giselda Bucca. Les analyses statistiques et de regroupements provenant des données recueillies à partir des puces à ADN ont également été réalisées par François Daigle. Les résultats d'expression transcriptomique par RT-PCR quantitatif pour la corrélation des résultats provenant des puces à ADN ont été réalisés conjointement par François Daigle et Sylvain Lerat. Les expériences sur la détermination des ratios NAD⁺/NADH ont été réalisées par Sylvain Lerat. Finalement, les analyses de bio-informatique pour la recherche de séquences ont toutes été réalisées par François Daigle. François Malouin a agi comme conseiller pour la mise au point de méthodes expérimentales et la révision du présent manuscrit. Carole Beaulieu a agi comme directrice de recherche, conseillère pour la planification des travaux et superviseuse dans la rédaction de ce manuscrit.

2.1 Identification of a DosR-like regulon in *Streptomyces coelicolor* via a comparative global genome transcriptomics in strains exhibiting differential expression of *tdd8*, a TerD domain-encoding gene

Francois Daigle¹, Sylvain Lerat¹, Giselda Bucca², Colin P. Smith², François Malouin¹, Carole Beaulieu^{1*}

¹Centre d'Étude et de Valorisation de la Diversité Microbienne, Département de biologie, Université de Sherbrooke, Québec, Canada J1K 2R1, ²Department of Microbial and Cellular Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Surrey, Guildford, GU2 7XH, UK.

*Corresponding author: Mailing address: Département de biologie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada J1K 2R1. Tel: 819 821 8000, ext. 62997. Fax: 819 821 8049. Email: Carole.Beaulieu@usherbrooke.ca

ABSTRACT

Although *Streptomyces coelicolor* is not resistant to tellurite, it possesses several genes encoding proteins carrying the TerD motif described as being involved in resistance to this mineral. The function of TerD domain-encoding (*tdd*) genes in *S. coelicolor* thus remains enigmatic despite the fact that Tdd8 is among the most abundant proteins of *S. coelicolor* proteome. This study aims at understanding the global function of *tdd8* by comparing, from microarray data, the global gene-expression profile of the *S. coelicolor* strain M145 with those of a *tdd8* deletion mutant ($\Delta tdd8$) and of a recombinant strain overexpressing *tdd8* (*tdd8+*). Expression of several genes were modulated by deleting or overexpressing *tdd8*, including several genes involved in morphological differentiation and nitrogen assimilation. Furthermore, several orthologs of *Mycobacterium tuberculosis* genes involved in dormancy survival were upregulated in the deletion mutant at the visual onset of undecylprodigiosin production. Gene sequence analysis predicted a role for these genes in the redox stress response which was supported by the low NAD⁺/NADH ratio in $\Delta tdd8$. This putative redox stress response cluster included two large loci. A binding motif similar to the DosR binding site of *M. tuberculosis* has been identified in the upstream sequences of most genes in these loci. This study suggests that Tdd8 is involved in redox homeostasis.

Keywords: differentiation, microarray, nitrogen metabolism, redox stress response, SCO2368, tellurite

INTRODUCTION

Streptomyces coelicolor M145 is a soil-dwelling, obligatory aerobic Gram-positive bacterium with a high G+C content (1). This filamentous bacterium exhibits a tip growth, forming first, vegetative hyphae and after a short transition period during which a programmed cell death (PCD) takes place, an aerial mycelium develops and finally fragments to produce chains of smooth spores (2). The transition period and the aerial mycelium growth period, also mark the time when several genes are modulated in order to allow the production of secondary metabolites, such as the undecylprodigiosin (Red) antibiotic. Although no or limited sporulation occurs in liquid media, morphological differentiation is also observed. A compartmentalized mycelium is first produced and replaced by a second multinucleated mycelium (3, 4).

S. coelicolor M145 has a large genome 7845 predicted genes whose expression is regulated by complex control systems often poorly characterized. These control systems allow the growth or the survival of the bacterium under various environmental stresses. The 21 TerD domain-encoding genes (*tdd* genes) figure among the genes that are often expressed under stress conditions (5-9). The TerD motif, defined as a bacterial stress protein motif (10), has been originally associated with Gram-negative bacteria where it was shown to be involved in resistance to tellurite and toxic xenobiotic compounds. In addition to *S. coelicolor*, other actinobacteria, Firmicutes and Proteobacteria, as well as primitive eukaryotes like amoebas and diatoms, have genes with a *terD*-like motif. Nevertheless, *S. coelicolor* does not exhibit resistance to tellurite (11). The presence of *tdd* genes in a wide range of microorganisms suggests that these genes play important roles in the natural environment and it has been proposed that tellurite resistance was a consequence of other undetermined biological functions (10, 12).

If the function of *S. coelicolor tdd* genes remains enigmatic, several studies showed that *tdd* gene expression was modulated in response to different stress conditions such as nitrogen or phosphate deficiency (7, 8, 13), ethanol shock (5) and growth in the presence of plant extracts

(6). Tdd8 (SCO2368) is one of the most abundant proteins of *S. coelicolor* proteome (7) and secretome (6, 14). Tdd8 was even overproduced during the transition phase in cells undergoing PCD (2). Furthermore, Sanssouci et al. (2011) demonstrated that deletion or overexpression of *tdd8* affect morphological differentiation and spore production in *S. coelicolor*. Interestingly, Tdd7 (SCO2367) and Tdd13 (SCO4277) were also shown to be necessary to the proper development of *S. coelicolor* (15).

This study aims at understanding the global function of *tdd8* in *S. coelicolor* by comparing, from microarray data, the global gene-expression profile of the wild-type strain M145 with those of a deletion mutant ($\Delta tdd8$) and of a recombinant strain overexpressing *tdd8* (*tdd8+*).

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains and culture conditions. *S. coelicolor* strains M145, M145 Δ SCO2368 ($\Delta tdd8$) and M145pFDES2368 (*tdd8+*) (11) were used in this study. These strains were cultivated at 30°C in liquid culture media under shaking (250 rpm). Kanamycin and apramycin (Sigma-Aldrich) were respectively added to *tdd8+* and $\Delta tdd8$ culture media (25 μ g/ml). For spore production, strains were grown on sporulating mannitol-soya flour-agar medium (MS) (16) for 5-7 days. For transcriptomics studies, *Streptomyces* strains were cultivated by adding 20 μ l of a dense spore suspension (5×10^8 cfu) in 50 ml of R5 medium (16) modified as follows. The modified R5- medium (pH 7.2) was deprived of KH_2PO_4 , CaCl_2 , and L-proline and supplemented with 6% PEG 8000 to enhance cell dispersal (3, 16). Bacteria were grown in 250 ml flasks containing 4 g of glass bead (3 mm diameter). A growth curve in the R5-medium was determined for each *Streptomyces* strain by periodically measuring the optical density of the culture at 450 nm. For DNA extraction of *S. coelicolor* M145, the bacterium was grown in 25 ml YEME medium (16) for about 40 h. The microarray experiment was replicated twice for each strain and sampling time.

RNA extraction and cDNA labelling. To examine the changes in transcriptome profiles associated with different expression levels of the *tdd8* gene, total RNA was extracted from the wild-type strain M145, $\Delta tdd8$ and *tdd8*⁺, at the visual onset of Red production (respectively M145-t_{OR}, $\Delta tdd8$ -t_{OR} and *tdd8*⁺-t_{OR}). RNA was also extracted from 34-h-old cultures of the wild-type strain (M145-t_{34h}) and *tdd8*⁺ (*tdd8*⁺-t_{34h}) and from 77-h-old cultures of wild-type strain (M145-t_{77h}) and $\Delta tdd8$ ($\Delta tdd8$ -t_{77h}). These two sampling times corresponded to the beginning of the stationary phase of growth (t_{SG}) for *tdd8*⁺ and $\Delta tdd8$, respectively.

Prior to RNA extraction, culture samples were treated with RNA Protect Bacterial Reagent (Qiagen) and the bacterial cells were pelleted by centrifugation (4000× g for 10 min) to be suspended in 1 ml TE buffer (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8.0). Cells were centrifuged and pelleted again and stored at -80°C. For RNA extraction, a hybrid protocol between the procedures proposed by the manufacturers of the RNeasy™ PLUS mini kit (Qiagen) and mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion) was developed. Bacterial pellets were suspended in 0.2 ml lysozyme buffer (15 mg/ml in TE) and incubated for 15 min at room temperature. RLT buffer (0.6 ml) from Qiagen RNeasy™ PLUS mini kit was added and samples were transferred to 2 ml tubes containing a stainless steel bead and agitated on a TissueLyser (Qiagen) twice for 2 min. The mixture was centrifuged at 10 000× g for 5 min and the supernatant was recovered. Two phenol/chloroform extractions and a final chloroform extraction were performed. The upper aqueous layer was transferred to a “gDNA eliminator filter” (Qiagen RNeasy™ PLUS mini kit) and centrifuged at 10,000× g for 30 s. The extraction continued following the manufacturers protocol of mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion). The RNA was eluted with 100 µl of purified water and quantified using a Nanodrop-ND-1000 spectrophotometer. The RNA quality was checked using an Agilent Bioanalyser RNA chip. Fluorescently labelled cDNA was produced for each RNA sample by reverse transcription; 10-15 µg of RNA was used for each cDNA synthesis/labelling in a total volume of 30 µl with 5.1 µg of random primers (Invitrogen). The RNA-primer mix was denatured at 70°C for 10 min. After snap cooling on ice, 6 µl of First Strand Buffer, 3 µl of 100 mM DTT, 0.6 µl of a dNTP solution (25 mM dATP, dGTP, and dTTP, 10 mM dCTP),

400 U of Superscript III (Invitrogen) and 1.5 μ l Cy3-dCTP were added. The reactions were incubated in the dark at 25°C for 10 min, to allow primers to anneal, then at 42°C for 4 h.

Genomic DNA labelling. DNA of *S. coelicolor* M145 was extracted according to the procedure described in Kieser *et al.* (16). Fluorescently labelled genomic DNA (gDNA) was generated using 2-3 μ g DNA that were added to 3 μ g random primers in a total volume of 41.5 μ l, and denatured at 95°C for 5 min. One μ l of dNTP mixture (5 mM dATP, dGTP and dTTP; 2 mM dCTP), 1.5 μ l Cy5-dCTP and 5 μ l Klenow DNA polymerase buffer and 1 μ l of Klenow polymerase (5 U/ μ l) were added to the DNA solution and the mixture was incubated overnight at 37°C in the dark. The labelled samples were purified through MiniElute PCR Purification Kit (Qiagen).

Microarray hybridization and data processing. *S. coelicolor* M145 genome arrays 105K ink-jet *in situ* synthesized (IJISS) high density microarray (Agilent Technologies), designed by Colin P. Smith's team of University of Surrey (UK) in collaboration with Oxford Gene Technologies (OGT) were used in this study. Each array comprises 105K unique 60-mer probes covering coding and non-coding regions. For hybridization on microarray, 40 pmol of Cy3 and 30 pmol of Cy5 labeled cDNA/gDNA (respectively) in a total volume of 44 μ l were mixed with 11 μ l of Agilent blocking buffer and 55 μ l of 2 \times hybridization buffer (oligo aCGH hybridization kit, Agilent Technologies) and denatured at 94°C for 3 min. After loading of the labelled samples on the OGT v2 slide, the slide was placed in a hybridization chamber (Agilent Technologies) and rotated at 10 rpm for 40 h at 65°C. Each slide was washed into "Wash 1 cGH buffer" (Agilent Technologies) for 5 min and then successively transferred into warm (37°C) "Wash 2 cGH buffer" (Agilent Technologies) for 1 min, an acetonitrile filled container for 1 min and a "Drying and stabilisation solution (Agilent Technologies)" for 30 s.

Microarrays were scanned at 532 nm for the Cy3 channel and 635 nm for the Cy5 channel with Agilent DNA microarray dual laser scanner. The resulting images were processed using the Agilent Feature Extraction software (v 9.1, Agilent Technologies) with the defaults setting applied, except for within-array normalisation and the background correction was used. The

feature extraction output files were imported into R (software programming language) (version 2.5.0; <http://www.R-project.org>) and normalized using the LIMMA package (17); global median within-array normalization followed by the ‘scale’ across-array normalization were applied to the log₂ cDNA/gDNA ratios of the expression arrays. Flagging of poor quality spots was conducted as described by Bucca et al. (18) and an individual probe was filtered out of the dataset if it did not yield a good quality spot across gene expression datasets. Probes targeting the coding regions of a gene were averaged such that each annotated protein-encoding gene of *S. coelicolor* was represented by a single value. For each tested condition, the averaged dataset from two independent experiments were then analysed for differential expression between M145 and $\Delta tdd8$ or M145 and *tdd8*⁺ using Rank Products analysis at P<0.01.

Correlation of microarray transcriptomics results with real-time quantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR). RNA used in qRT-PCR analyses were treated with the Turbo DNA-free Kit (Ambion) to remove possible DNA contamination, according to the manufacturer’s instructions. cDNA was synthesized from 2 µg of RNA using the SuperScript® III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen) according to the manufacturer’s specifications. Primers used for real-time PCR are listed in supplemental data Table S1. qRT-PCR were run on a Stratagene Mx3000P (Agilent Technologies). Reactions were performed with 2 µl of 0.1× cDNA, 500 nM of each primer using the iTaq Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad) in a final volume of 20 µl. Two samples of the three replicates were analyzed. PCR conditions were 95°C for 3 min, 35 cycles at 95°C for 10 s and 60°C for 30 s followed by a dissociation curve. Differential expression were calculated using the REST 2009 software (19) using *gyrA* (SCO3873) as reference gene.

NAD/NADH ratio quantification. The ratio between nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) and its reduced form (NADH) were determined on cell extracts with the NAD/NADH Quantitation Kit (Sigma-Aldrich). *S. coelicolor* cultures were sampled at the onset of Red production and the cells were pelleted (10,000× g). Cell extracts were obtained according to

the manufacturer's instructions. Two samples of each culture were analyzed and the experiment was repeated three times.

Bioinformatics. Regulatory motifs were predicted with a two-step MEME search. The MEME program (20) is a tool for motif discovery resulting in an output of position-specific scoring matrix (PSSM) representing the predicted motif. The input for MEME search was build using 300 bp upstream from sequence segments of a subset of genes identified by transcriptomics. The PSSM for the predicted binding box was then used to search all the gene upstream sequences in the entire *S. coelicolor* genome using the MAST algorithm (20) and only motifs with E-value <10 were considered.

RESULTS

Growth kinetics. Growth curves of both $\Delta tdd8$ and *tdd8+* differed from the one of the wild-type strain (Fig. 1). A significant growth delay was observed for $\Delta tdd8$ but not for *tdd8+*. Production of Red (t_{OR}) was also slightly delayed in $\Delta tdd8$ compared to both the wild-type and *tdd8+* strains. Both mutants have an early growth arrest compared to wild-type strain (Fig. 1). The beginning of the stationary phase of growth corresponded to 34-h and 77-h cultures for *tdd8+* and $\Delta tdd8$, respectively.

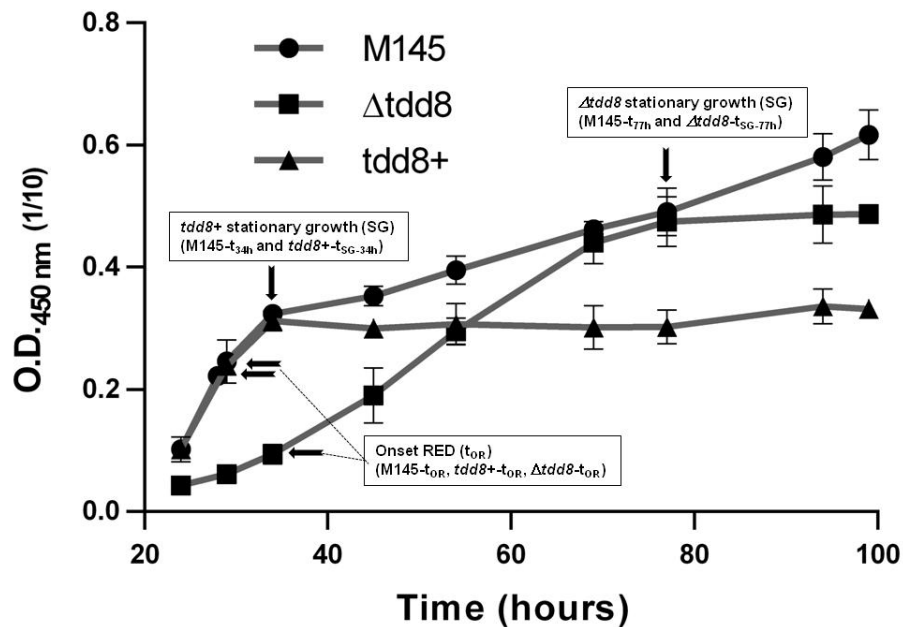


FIG. 1 Growth curve of *S. coelicolor* strains in R5⁻ medium. The horizontal arrows indicate the visual onset of Red production. The vertical arrows indicate the beginning of the stationary phase of growth for strains $\Delta tdd8$ and *tdd8+*, respectively. Cultures for microarray analysis were sampled at t_{OR} for the M145, $\Delta tdd8$ et *tdd8+* (M145- t_{OR} , $\Delta tdd8$ - t_{OR} and *tdd8+*- t_{OR} , respectively), at 34 h for *tdd8+* (*tdd8+*- t_{SG-34h}) and M145 (M145- t_{34h}) and at 77 h for $\Delta tdd8$ ($\Delta tdd8$ - t_{SG-77h}) and M145 (M145- t_{77h}). Each point on the curves represents an average of three replicates and error bars, the standard deviations.

Deletion or overexpression of the *tdd8* gene modifies the transcriptome profile of *S. coelicolor*. The performance of the *S. coelicolor* M145 microarray was validated by quantitative real-time PCR with 11 genes present in the redox stress response gene cluster and in all cases, the data supported the microarray analysis regarding differential expression although the level of expression between microarray and qRT-PCR experiments could vary (Supplementary Table S2). As growth kinetic differed within strains, the transcriptome of M145, $\Delta tdd8$ and *tdd8+* has been compared at the visual onset of Red production which is

known to correspond to the transition period between the compartmentalized mycelium (first mycelium) and multinucleated mycelium (second mycelium) in a liquid culture (3, 4). When compared to the wild-type strain M145, a total of 390 and 255 genes showed a differential expression (up or down regulated) at the onset of Red biosynthesis in $\Delta tdd8$ and $tdd8+$, respectively (Fig. 2, Supplementary Table S3). Among down-regulated genes, 28 genes were found in both $tdd8+$ and $\Delta tdd8$, but no specific functional cluster seems to link these genes. Among upregulated genes, 94 genes were associated with both $tdd8+$ and $\Delta tdd8$ including the gene cluster responsible for the calcium dependent antibiotic production (SCO3210 to SCO3222 and SCO3227 to SCO3249) and two operons of conservon (*cvn*) with unknown function, *cvn7* and *cvn9*. No gene was down-regulated in $\Delta tdd8$ and up-regulated in $tdd8+$ (or vice versa), except SCO1865 that codes for a diaminobutyrate-2-oxoglutarate aminotransferase involved in amino acid metabolism (Fig. 2).

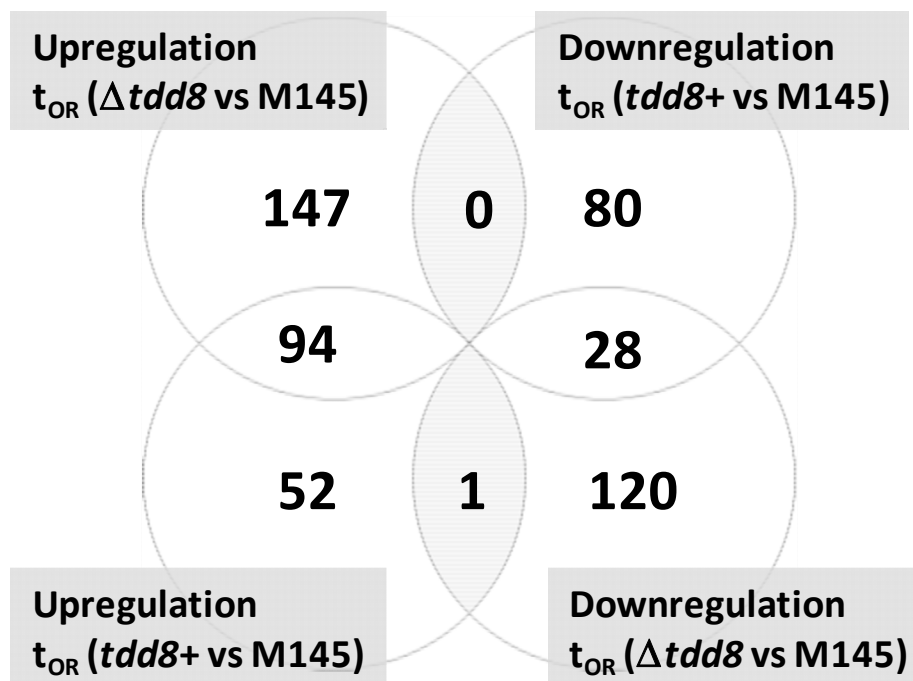


FIG. 2 Number of genes showing a differential expression in $tdd8+$ and $\Delta tdd8$ compared to the M145 strain at the visual onset of Red (t_{OR}) production.

To decipher the physiological process responsible for the early growth arrest in $\Delta tdd8$ and $tdd8+$, the transcriptomes of the deletion mutant and the recombinant strain were compared to the ones of a 33-h and 77-h culture of strain M145, respectively, as previously indicated on Fig. 1. Differential expression was observed for 531 genes of $\Delta tdd8$ (Supplementary Table S4) when the mutant entered the stationary phase of growth ($\Delta tdd8$ -t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}) while 525 genes were differentially expressed between $tdd8+$ and M145 in a 34 h culture ($tdd8+$ -t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}) (Supplementary Table S4).

Deletion or overexpression of *tdd8* affects expression of genes encoding sigma factors.

A differential expression of four genes (*sigU*, *sigE*, *bldM* and *bldN*) encoding sigma factors was observed between the wild-type strain and $\Delta tdd8$ or $tdd8+$ (Table 1). The gene encoding for sigma factor σ^E (*sigE*) involved in the cell envelope stress response, was overexpressed in the absence of Tdd8 at the onset of Red production ($\Delta tdd8$ -t_{OR} vs. M145-t_{OR}). In the 77-h culture, this gene was still more transcribed in $\Delta tdd8$ than in M145 ($\Delta tdd8$ -t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}). The genes encoding the global morphologic differentiation sigma factor σ^U (*sigU*) and the cognate anti-sigma factor *RsuA* were overexpressed at the beginning of the stationary phase of growth in $\Delta tdd8$ ($\Delta tdd8$ -t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}) but not in $tdd8+$.

bldN exhibited a different expression profile within the three strains. The *bldN* gene codes for the sigma factor σ^{bldN} that controls early and late developmental genes, with among others *bldM*. This first gene, its cognate anti-sigma factor gene *rsbN* (21) and *bldM* were 3- to 10-fold overexpressed in $\Delta tdd8$ ($\Delta tdd8$ -t_{OR} vs. M145-t_{OR}) at the onset of Red production. When $\Delta tdd8$ and $tdd8+$ entered the stationary phase of growth, both *bldN* and *bldM* were overexpressed ($tdd8+$ -t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h} and $\Delta tdd8$ -t_{SG-77h} vs M145-t_{77h}, respectively).

Deletion and overexpression of *tdd8* affect transcription of genes involved in morphological differentiation. Deletion or overexpression of *tdd8* has a marked effect on *S. coelicolor* differentiation (11). In $\Delta tdd8$, aerial mycelia led to the formation of numerous long chains of short and cubic spores whereas in $tdd8+$ the spores produced were scarce (11). In

addition to genes encoding the sigma factors mentioned above, several genes that are known to be involved in morphological differentiation and sporulation were differentially expressed within the three strains tested. Table 1 presents the list of these genes.

The bald (*bld*) genes control the onset of aerial hyphae formation (22) but only few of them appears to be affected by the expression level of *tdd8*. In addition to the *bldN* and *bldM* mentioned above, the *bldK* genes that encode a transport complex for an extracellular oligopeptidyl signal involved in morphological and physiological differentiation were differentially expressed within the three strains. Several *bldK* genes were downregulated at the onset of Red biosynthesis in $\Delta tdd8$ and *tdd8*⁺ ($\Delta ttd8$ -t_{OR} vs. M145-t_{OR} and *tdd8*⁺-t_{OR} vs. M145-t_{OR}, respectively), but when growth arrest occurred, some *bldK* genes were less expressed in $\Delta tdd8$ than in the wild-type strain ($\Delta ttd8$ -t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}) while they were overexpressed in *tdd8*⁺ (*tdd8*⁺-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}). Furthermore, expression of *cabC*, a gene encoding an EF-hand calcium-binding protein, involved in the development of the aerial hyphae (23), appeared to be negatively correlated with the expression level of *tdd8*.

Erection of the aerial mycelium depends on the expression of chaplin genes (24). When compared to the wild-type strain, expression of the most chaplin genes was increased in $\Delta tdd8$ at the onset of red production ($\Delta tdd8$ -t_{OR} vs. M145-t_{OR}) while overexpression of *tdd8* did not modify expression of the chaplin genes at that moment. Differential expression of the chaplin genes was also observed when the mutants entered the stationary phase of growth. Most chaplin genes were overexpressed in a 77-h culture of $\Delta tdd8$ ($\Delta tdd8$ -t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}) while they were down-regulated when *tdd8*⁺ growth stopped (*tdd8*⁺-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}). While expression of the chaplin genes appeared to be negatively correlated to the presence of Tdd8, transcription of the rodlin genes, which code for the other major components of the hydrophobic protein sheath of aerial mycelium and spores (24), was not affected by the expression level of *tdd8* at the sampling times tested.

The maturation of the mycelium leads to a differentiation of aerial hyphae to spores. The segregation of chromosomes into prespore compartments requires a complex control system

that includes the regulator *ssgA* (25) and *minD2*, which plays a role in septum formation (26). These two genes were downregulated at the beginning of the stationary phase of growth when *tdd8* was overexpressed (*tdd8*⁺-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}). Furthermore, *crgA* that codes for a septation inhibitor protein (26, 27) and the conserved morphogenic cluster, encoding for RodA, penicillin-binding protein and serine-threonine kinase (SCO3846, SCO3847, SCO3848, respectively) (27, 28), were all overexpressed in *tdd8*⁺ at this same period (*tdd8*⁺-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}).

The *whi* genes play an important regulatory role in sporulation but most of these genes did not depend on *tdd8* transcription. Only *whiB* showed a differential expression; this gene was overexpressed when *tdd8*⁺ reached the stationary phase of growth (*tdd8*⁺-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}). *whiB*-like (*wbl*) genes were also differentially expressed within the strains. *wblA* was overexpressed in the absence of Tdd8 ($\Delta tdd8$ -t_{OR} vs. M145-t_{OR} and $\Delta tdd8$ -t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}) while *wblC* was up-regulated at the beginning of the stationary phase of growth when *tdd8* was overexpressed (*tdd8*⁺-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}). Interestingly, *sapA* that encodes a spore-associated protein showed an expression profile similar to most chaplin genes in $\Delta tdd8$ and *tdd8*⁺ and the *ramR* gene coding for a two-component system response regulator of the operon *ramSABC*, which is responsible for export of spore-associated proteins (29), was down-regulated at the onset of Red production when *tdd8* was overexpressed (*tdd8*⁺-t_{OR} vs. M145-t_{OR}).

Table 1 Gene known to be involved in *S. coelicolor* morphological differentiation showing a differential expression.

SCO number	Gene assignment	Protein function	Fold change*	
			Onset of Red production (t _{OR})	Beginning of stationary phase of growth (t _{SG})
Up regulation in <i>Δtdd8</i>			<i>Δtdd8</i>-t_{OR} vs. M145-t_{OR}	<i>Δtdd8</i>-t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}
SCO0409	<i>sapA</i>	Spore-associated protein precursor	3.31	1.73
SCO1674	<i>chpC</i>	Chaplin C	2.33	2.29
SCO1675	<i>chpH</i>	Chaplin H	6.20	2.84
SCO1800	<i>chpE</i>	Chaplin E	15.60	-
SCO2699	<i>chpG</i>	Chaplin G	2.90	1.64
SCO2716	<i>chpA</i>	Chaplin A	-	1.60
SCO2717	<i>chpD</i>	Chaplin D	4.40	2.67
SCO2953	<i>rsuA</i>	Anti-sigma factor	-	1.95
SCO2954	<i>sigU</i>	sigma factor U	-	3.02
SCO3323	<i>bldN</i>	sigma factor bldN	10.73	3.37
SCO3324	<i>rsbN</i>	Anti-sigma factor	2.97	-
SCO3579	<i>wblA</i>	Regulatory protein	4.34	1.68
SCO4768	<i>bldM</i>	Two-component regulator	4.64	2.44
SCO5147	<i>sigE</i>	sigma factor E	2.39	1.95
SCO7647	<i>cabC</i>	Calcium binding protein	2.24	1.87
Down regulation in <i>Δtdd8</i>			<i>Δtdd8</i>-t_{OR} vs. M145-t_{OR}	<i>Δtdd8</i>-t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}
SCO5112	<i>bldKA</i>	ABC transport system integral membrane protein	0.42	0.57
SCO5113	<i>bldKB</i>	ABC transport system lipoprotein	0.49	0.59
SCO5114	<i>bldKC</i>	ABC transport system integral membrane protein	0.35	-
SCO5115	<i>bldKD</i>	ABC transporter intracellular ATPase subunit	0.40	0.60
SCO5116	<i>bldKE</i>	Peptide transport system ATP-binding subunit	0.37	0.51
Down regulation in <i>tdd8+</i>			<i>tdd8+</i>-t_{OR} vs. M145-t_{OR}	<i>tdd8+</i>-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}
SCO0409	<i>sapA</i>	Spore-associated protein precursor	-	0.61
SCO1674	<i>chpC</i>	Chaplin C	-	0.59
SCO1675	<i>chpH</i>	Chaplin H	-	0.36
SCO1800	<i>chpE</i>	Chaplin E	-	0.30
SCO2699	<i>chpG</i>	Chaplin G	-	0.41
SCO2717	<i>chpD</i>	Chaplin D	-	0.38
SCO3034	<i>whiB</i>	Sporulation regulatory protein	-	0.57
SCO3926	<i>ssgA</i>	Regulator	-	0.65
SCO5007	<i>minD2</i>	Septum site-determining protein	-	0.65
SCO7647	<i>cabC</i>	Calcium binding protein	-	0.60
SCO5112	<i>bldKA</i>	ABC transport system integral membrane protein	0.66	-
SCO5114	<i>bldKC</i>	ABC transport system integral membrane protein	0.64	-
SCO9985	<i>ramR</i>	Two-component system response regulator	0.65	-
Up regulation in <i>tdd8+</i>			<i>tdd8+</i>-t_{OR} vs. M145-t_{OR}	<i>tdd8+</i>-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}
SCO1800	<i>chpE</i>	Chaplin E	2.35	-
SCO3323	<i>bldN</i>	sigma factor BldN	3.37	1.86
SCO3846	<i>rodA</i>	FtsW/RodA/SpoVE family cell cycle protein	-	1.73
SCO3847		Secreted penicillin-binding protein		1.81
SCO3848		Serine/threonine protein kinase		1.52
SCO3854	<i>ergA</i>	Septation inhibitor protein	-	2.03
SCO4768	<i>bldM</i>	Two-component regulator	1.97	-
SCO5112	<i>bldKA</i>	ABC transport system integral membrane protein	-	1.87
SCO5113	<i>bldKB</i>	ABC transport system lipoprotein	-	1.93
SCO5114	<i>bldKC</i>	ABC transport system integral membrane protein	-	1.84
SCO5115	<i>bldKD</i>	ABC transporter intracellular ATPase subunit	-	-
SCO5116	<i>bldKE</i>	peptide transport system ATP-binding subunit	-	-
SCO5190	<i>wblC</i>	DNA-binding protein	-	2.68

*: significant change based on Rank product p<0.01, - : No significant change

Deletion and overexpression of *tdd8* affect transcription of genes involved in nitrogen metabolism. Most of the well-characterized genes that participate in nitrogen metabolism were up-regulated in *tdd8*⁺ and down-regulated in Δ *tdd8* at the beginning of their stationary phase of growth (Δ *tdd8*-t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h} and *tdd8*⁺-t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}, respectively). Table 2 presents the list of these genes. This list includes the *amtB-glnK-glnD* operon, the nitrite reductase operon, the urease operon as well as *glnR*, *glnA* and *glnII*. This list also includes genes involved in nitrate and nitrite assimilation, *ndgR* that codes for a regulator for nitrogen source-dependent growth (9) and genes involved in glutamate assimilation. Other genes possibly involved in nitrogen metabolism have a modulated expression similar to the nitrogen metabolism genes (30, 31). This is the case for SCO2211, that forms an operon with *glnII*, *glnA2* coding for glutamine synthetases with no known GlnR regulation and SCO2195, an uncharacterized gene containing a GlnR binding site.

Table 2 Genes involved in nitrogen metabolism showing a differential expression between the wild-type strain M145 and Δ *tdd8* or *tdd8*⁺ in 34-h and 77-h cultures, respectively

SCO number	Gene assignment	Protein function	Fold change	
			Δ <i>tdd8</i> -t _{SG-77h} vs. M145-t _{77h}	<i>tdd8</i> ⁺ -t _{SG-34h} vs. M145-t _{34h}
SCO1234	<i>ureC</i>	Urease alpha subunit	0.57	1.61
SCO1235	<i>ureB</i>	Urease beta subunit	0.61	1.61
SCO1236	<i>ureA</i>	Urease gamma subunit	0.32	1.96
SCO2195		Hypothetical protein	0.42	4.30
SCO2198	<i>glnA</i>	Glutamine synthetase I	0.21	3.32
SCO2210	<i>glnII</i>	Glutamine synthetase	0.06	22.37
SCO2211		Hypothetical protein	0.22	5.41
SCO2238	<i>nadE</i>	NAD(+) synthase (glutamine-hydrolysing)	0.51	2.05
SCO2241	<i>glnA2</i>	Glutamine synthetase	0.46	2.26
SCO2473	<i>nasA</i>	Nitrate reductase	0.67	1.49
SCO2486	<i>nirB</i>	Nitrite reductase	0.47	2.36
SCO2487	<i>nirB</i>	Nitrite reductase large subunit	0.37	3.47
SCO2488	<i>nirC</i>	Nitrite reductase small subunit	0.33	4.45
SCO2958	<i>nnaR</i>	Uroporphyrinogen-III synthetase	0.55	2.04
SCO2959	<i>narK</i>	Nitrate extrusion protein	0.55	2.71
SCO4159	<i>glnR</i>	Transcriptional regulatory protein	0.44	2.20
SCO5774	<i>gluD</i>	Glutamate permease	0.43	2.01
SCO5775	<i>gluC</i>	Glutamate permease	0.47	2.01
SCO5776	<i>gluB</i>	Glutamate binding protein	0.44	2.14
SCO5583	<i>amtB</i>	Ammonium transporter	0.07	15.26
SCO5584	<i>glnB</i>	Nitrogen regulatory protein P-II	0.08	12.32
SCO5585	<i>glnD</i>	PII uridylyl-transferase	0.49	2.23
SCO6102	<i>nirA</i>	Nitrite/sulphite reductase	0.28	-
SCO5552	<i>ndgR</i>	Regulator	0.66	-

*: significant change based on Rank product p<0.01, -: No significant change

Redox homeostasis is impaired in the *tdd8* mutants. The genome sequence of *S. coelicolor* reveals a number of genes related to the ones of facultative anaerobes involved in adaptation to anaerobic conditions, energy production and growth under O₂ limiting conditions (32). Several of these genes were up-regulated in $\Delta tdd8$ at the onset of Red biosynthesis. Table 3 presents the list of these genes, their probable function and their characteristics.

Two gene loci located in an arm region of the chromosome were clearly up-regulated in $\Delta tdd8$ at the visual onset of Red biosynthesis (t_{OR}). The first region is located between positions SCO0161 and SCO0181, and the second between SCO0197 and SCO0220. In the second locus, 20 out of 24 genes were up-regulated in $\Delta tdd8$ (Table 3). This locus includes orthologs of the respiratory nitrate reductase genes (SCO0216 to SCO0219) of *B. subtilis* along with SCO0213, a gene sharing similarity with *narK2* of *M. tuberculosis* that encodes a nitrate/nitrite transporter. It also includes genes the SCO0203, SCO0204 and SCO0211 sharing sequence similarities with *dosS*, *dosR* and *dosT* of *M. tuberculosis* encoding a two component regulatory system involved in respiration under limiting O₂ conditions. Several genes of this second locus were related to those found in the first one: a putative alcohol dehydrogenase gene (SCO0199), genes with an Usp (Universal stress protein) motif (SCO0198 and SCO0200), CBS (cystathionine β -synthase) motif (SCO0210) or pyridoxamine 5'-phosphate oxidase motif (SCO0197 and SCO0214) and a putative nitroreductase gene (SCO0215). Out the 21 genes of the first locus (SCO0161 to SCO0181), 17 were more expressed in the deletion mutant (Table 3). This first locus includes a gene encoding a transcriptional regulator member of CRP/FNR (SCO0168), a putative alcohol dehydrogenase (SCO0179), 5 genes with the Usp motif (SCO0167, SCO172, SCO178, SCO180 and SCO181), a nitroreductase gene (SCO0162), genes containing CBS motif (SCO0169 and SCO0170) and a gene coding for a probable pyridoxamine 5'-phosphate oxidase with DNA-binding motif (SCO0174). Several genes of these two loci have orthologs found in *M. tuberculosis* where they have been shown to be regulated by DosR (DevR) in response to hypoxia, NO and carbon monoxide (CO) (33).

Other genes located outside these two loci but also possibly involved in redox stress responses were up-regulated in $\Delta tdd8$ at t_{OR} . This is the case for SCO7310, a gene encoding a member of the CRP/FNR transcriptional regulators, the *cydABCD* operon, the succinate dehydrogenase/fumarate reductase gene and orthologs of the *nsrR/hmpA1* regulation system of *B. subtilis* that is implicated in NO detoxification (34). These last genes and the two loci described above may represent a cluster of genes that responds to redox stress. Up-regulation of genes associated to this putative redox stress response cluster suggests that the deletion of *tdd8* causes redox imbalance in *S. coelicolor*. NAD/NADH ratio, an indicator of redox status in the bacterial cells, varied at the onset of Red production within $\Delta tdd8$, M145 and *tdd8+*, it confirms that it was different. The ratio was greatly lower in the $\Delta tdd8$ (1.01 ± 0.18) compared to the ratio observed for both the wild-type strain (5.23 ± 0.79) and *tdd8+* (7.13 ± 0.72). $\Delta tdd8$ appeared to still suffer from a redox imbalance even at its stationary phase of growth, since between others, the expression of genes encoding the succinate dehydrogenase/fumarate reductase, the cytochrome bd and the NADH dehydrogenase operon (*nuoA-N*) were overexpressed in the 77-h culture ($\Delta tdd8$ - t_{SG-77h} vs. M145- t_{77h}).

Identification of a DosR-like binding motif in several genes of *S. coelicolor* redox stress responses cluster. The presence of two gene loci where most genes were simultaneously up-regulated suggests the presence of a common binding site in the promoter region of these genes. Several of these genes also share homology with those of *M. tuberculosis* belonging to the DosR regulon. A binding motif search using the upstream sequences of genes up-regulated within two genetic loci described in Table 3 (Supplementary Table S2), revealed a regulatory motif with a GGG-CG inverted repeat separated by 2 bp of non-conserved sequence. This motif was related to DosR regulon binding site of *M. tuberculosis*, consisting of a conserved GGG-C---G-CCC upstream sequence (35-37). In *S. coelicolor*, this putative binding motif occurred at 22 intergenic points within the two loci (Fig. 3), supporting the hypothesis that these genes belong to a functional cluster possibly responding to a redox imbalance and under the control of the DosR-like (SCO0204) regulator. When all ORF upstream sequences of *S. coelicolor* genome were screened for the presence of

the DosR-like binding motif, more than half of the identified sites (11/16) were located in the two redox stress response loci.

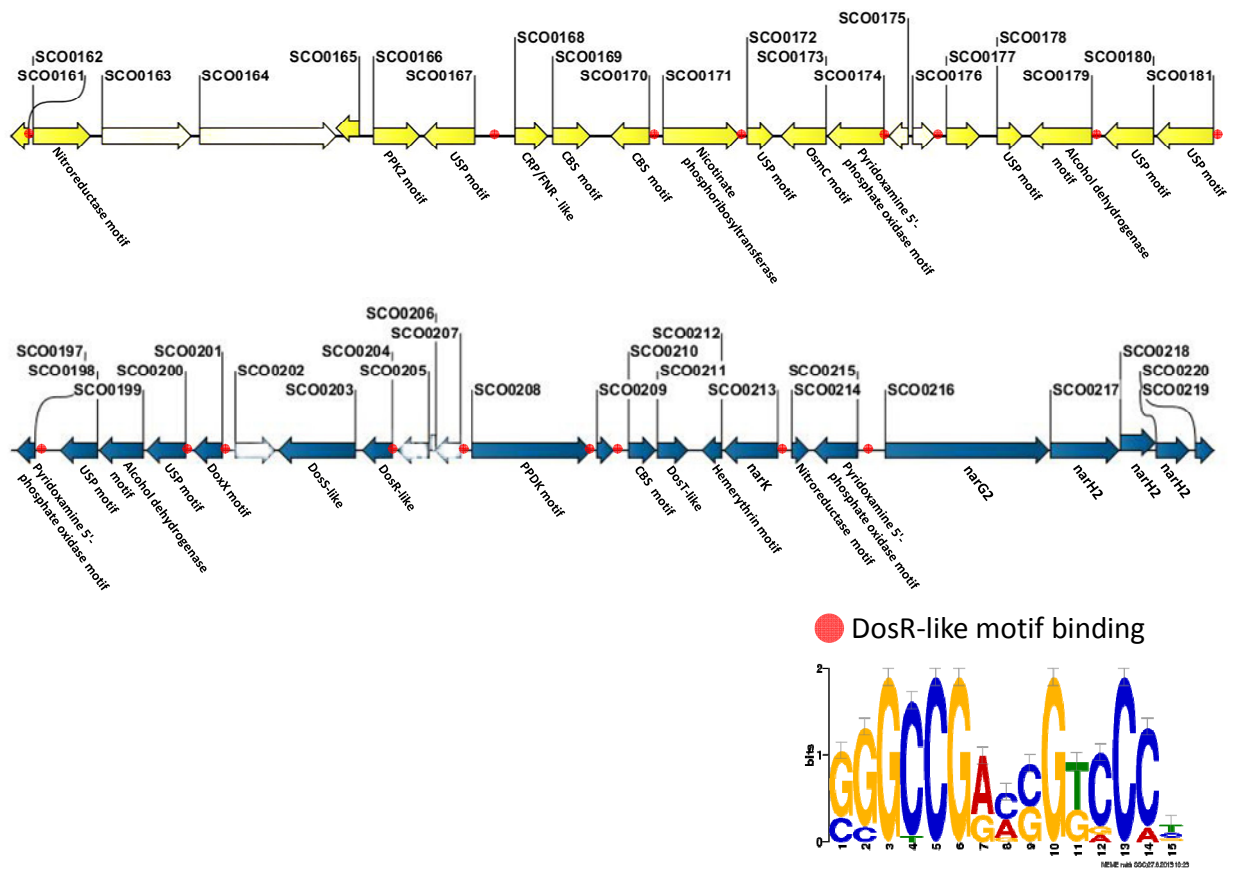


FIG. 3 Schematic representation of the two putative *S. coelicolor* redox stress response loci. Genes up-regulated in $\Delta tdd8$ at the onset of Red production are presented as colored arrows. The red dots indicate the presence of a DosR-like binding motif in intergenic regions. The consensus sequence motif is shown with the size of the base representative of its degree of conservation in the 31 input sequences analyzed.

Table 3. Characteristics of a gene cluster possibly involved in redox stress response that was overexpressed in $\Delta tdd8$

SCO number	Putative function of the corresponding protein	Fold Change		Comment
		$\Delta tdd8$ -t _{OR} vs. M145-t _{OR}	$\Delta tdd8$ -t _{SG-77h} vs. M145-t _{77h}	
Redox stress response cluster				
First redox stress response locus				
SCO0161	Hypothetical protein	3.27		
SCO0162	Nitroreductase	5.92		32.6% identity to Acg Nitroreductase of <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is induced by hypoxia and regulated by DosR (35);
SCO0165	Hypothetical protein	3.45		
SCO0166	Regulator	2.32		65.6% identity to polyphosphate kinase 2 (PPK2) of <i>M. tuberculosis</i> ;
SCO0167	Universal stress protein	19.71		Usp motif; 32.7% identity to Usp TB31,7 (Rv2623) of <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is induced by hypoxia and regulated by DosR (35);
SCO0168	Transcriptional regulator	27.13	2.13	Member of CRP/FNR family of transcriptional regulators;
SCO0169	Cystathionine β -synthase	18.07		31.5% identity to Hrp1, a hypoxic response protein regulated by DosR in <i>M. tuberculosis</i> (33);
SCO0170	Cystathionine β -synthase	8.40		56.7% and 47.3% identity to SCO0169 and SCO0210, respectively;
SCO0171	Nicotinate phosphoribosyltransferase	4.93		27.6% identity to PncB (Nicotinate phosphoribosyltransferase) from <i>E. coli</i> involved in NADH/NAD homeostasis (38);
SCO0172	Universal stress protein	3.47		Identity to SCO0167 (33.3%), SCO0178 (40.7%), SCO0180 (38.8%), SCO0181 (34.5%), SCO0198 (39.4%) and SCO0200 (37.3%);
SCO0173	OsmC	6.94		41.5% identity to OsmC, a regulator of disulfide bond formation in redox proteins of <i>Herbaspirillum seropedicae</i> ;
SCO0174	Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase	16.85		38% identity to Rv0569 from <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is regulated by DosR (33);
SCO0177	Membrane protein	12.01	1.81	
SCO0178	Universal stress protein	2.15		Identity to SCO0167 (34.4%), SCO0172 (40.7%), SCO0180 (30.3%), SCO0181 (40.6%), SCO0198 (33.8%) and SCO0200 (26.3%);
SCO0179	Alcohol dehydrogenase	14.00		
SCO0180	Universal stress protein	4.80		Identity to SCO0167 (46.4%), SCO0172 (38.8%), SCO0178 (30.3%), SCO0181 (33.9%), SCO0198 (63.5%) and SCO0200 (34.3%);
SCO0181	Universal stress protein	9.48		Identity to SCO0167 (31.8%), SCO0172 (34.5%), SCO0178 (40.6%), SCO0180 (33.9%), SCO0198 (34.9%) and SCO0200 (65.3%);

Continuation Table 3

SCO number	Putative function of the corresponding protein	Fold Change		Comment
		$\Delta tdd8$ -t _{OR} vs. M145-t _{OR}	$\Delta tdd8$ -t _{SG-77h} vs. M145-t _{77h}	
Redox stress response cluster				
<i>Second redox stress response locus</i>				
SCO0197	Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase	7.10		42.1% identity to Rv0080 of <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is regulated by DosR (33); 62.2% and 31.1% identity to SCO0214 and SCO0174, respectively;
SCO0198	Universal stress protein	6.07		Identity to SCO0167 (50.3%), SCO0172 (39.4%), SCO0178 (33.8%), SCO0180 (63.5%), SCO0181 (34.9%) and SCO0200 (36.6%);
SCO0199	Alcohol dehydrogenase	10.90		31.6% identity to SCO179;
SCO0200	Universal stress protein	13.49		Identity to SCO0167 (34.4%), SCO0172 (37.3%), SCO0178 (26.3%), SCO0180 (34.3%), SCO0181 (65.3%) and SCO0198 (36.6%);
SCO0201	Thiosulfate dehydrogenase (quinone)	10.24		DoxX motif;
SCO0203	DosS-like	2.38		43.5% identity to redox sensor histidine kinase DosS of <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is regulated by DosR (33);
SCO0204	DosR-like	12.63		60.6% identity to transcriptional regulatory protein DosR (DevR) from <i>M. tuberculosis</i> ;
SCO0208	Pyruvate phosphate dikinase	3.48		
SCO0209	Hypothetical protein	9.32	2.25	
SCO0210	Cystathionine β -synthase	4.00		44.4% and 47.3% identity to SCO0169 and SCO0170, respectively;
SCO0211	DosT-like	2.93		42.9% identity to hypoxia sensor histidine kinase response regulator DosT where the corresponding gene is regulated by DosR (33);
SCO0212	Hemerythrin domain-containing protein	21.77		
SCO0213	Nitrate/nitrite transporter	15.82		49.4% identity to NarK2 of <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is regulated by DosR (33);
SCO0214	Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase	8.03		46.5% identity to Rv0080 of <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is regulated by DosR (33); 62.2% and 36.6% identity to SCO0197 and SCO0174, respectively;
SCO0215	Nitroreductase	2.93		35.7% identity to Rv3131, a nitroreductase from <i>M. tuberculosis</i> where the corresponding gene is induced by hypoxia and regulated by DosR (35); 43.0% identity to SCO0162;
SCO0216- SCO0219	Respiratory nitrate reductases G2,H2, J2, I2	narG2:12.94 narH2:11.34 narI2:8.14 narJ2:16.89		Identity to nitrate reductases NarG, H, J and X of <i>M. tuberculosis</i> (63.3%, 60.6%, 43.1% and 47.7% respectively) where <i>narX</i> is regulated by DosR (35);
SCO0220	Hypothetical protein	10.76		SnoaL domain-containing protein;

Continuation Table 3

SCO number	Putative function of the corresponding protein	Fold Change		Comment
		$\Delta ddd8$ -t _{OR} vs. M145-t _{OR}	$\Delta ddd8$ -t _{SG-77h} vs. M145-t _{77h}	
Redox stress response cluster				
Genes outside the loci				
SCO0922- SCO0924	Succinate dehydrogenase/ fumarate reductases BAC	sdhB:2.71 sdhA:3.12 sdhC:3.51	sdhC:1.64	Identity to succinate dehydrogenase/fumarate reductase SdhBAC of <i>B. subtilis</i> (30.9%, 37.5% and 24.6%, respectively);
SCO3945- SCO3947	Cytochrome bd complex (CydABCD)	cydA:4.87 cydB:3.89 cydCD:2.26	cydA:2.24 cydB:2.05	Identity to cytochrome bd ubiquinol oxidase CydA, CydB and CydCD of <i>M. tuberculosis</i> (48.6%, 47.8% and 44.4%, respectively);
SCO4562- SCO4575	NADH dehydrogenase (NuoA-N)		Between 2.18-1.58	
SCO4947- SCO4948	Respiratory nitrate reductase (narGH)	narG:3.71 narH:3.04		Identity to nitrate reductases NarG, NarH of <i>M. tuberculosis</i> (62.8%, 67.1, respectively);
SCO6535- SCO6534	Respiratory nitrate reductase (narGH)	narG:2.27 narH:2.14		Identity to nitrate reductases NarG, NarH of <i>M. tuberculosis</i> (65,9%, 67,2% for G, H, respectively);
SCO7310	Transcriptional regulator	2.10		Member of CRP/FNR family of transcriptional regulators;
SCO7427	Regulatory protein	4.07		38.5% identity to NsrR (NO-dependent activator of the ResDE regulon) of <i>B. subtilis</i> ;
SCO7428	Flavoheмоprotein	2.10		35.4% identity to HmpA1 (nitric oxide dioxygenase) of <i>B. subtilis</i> ;

DISCUSSION

Sanssouci et al. (11) constructed strains of *S. coelicolor* that did not express ($\Delta tdd8$) or overexpressed *tdd8* (*tdd8+*) and showed that these genetic modifications affected both growth and differentiation. This study presents a genome-wide transcriptomic analysis of these strains to explain the phenotypes associated with the differential expression of *tdd8* in *S. coelicolor*.

Transcription of several genes were affected by deleting or overexpressing *tdd8*, and a significant number of the genes were similarly up- or down-regulated in both $\Delta tdd8$ and *tdd8+*. Not much is known about the role of *tdd* genes in *S. coelicolor*, but Tdd8 shows calcium binding properties (39) (PDB number 3IBZ) and it has been suggested that Tdd proteins may play an important role in calcium homeostasis (10, 12). Since metal ions are involved in several physiological functions, an up- or down-regulation of the metal ions homeostasis systems may cause a general stress in both strains.

The onset of Red production is a key point for morphological differentiation in *S. coelicolor*. It corresponds to the transition period between the compartmentalized mycelium and the multinucleate mycelium (22). Among the genes involved in morphological differentiation, most chaplin genes were overexpressed at the onset of Red production in the $\Delta tdd8$ deletion mutant. σ^{bldN} and anti-sigma factor σ^{bldN} (*rsbN*) play a role in the expression level of chaplin genes (21) and effectively, chaplin genes, *bldN*, *rsbN* and *bldM*, a direct target of *bldN*, were overexpressed in $\Delta tdd8$ at the visual onset of Red biosynthesis. Overexpression of the chaplin genes during the exponential growth phase, alongside with other genes involved in morphological differentiation such as gene σ^{U} , *rsuA*, and the *bldK* genes (40, 41) may explain the improper development of the strain and its overproduction of cubic spores (11). In contrast, when growth arrest occurred in *tdd8+*, most of the above mentioned genes were less expressed than in wild-type M145 even if this last strain was still in its exponential growth. This lower expression combined with the up-regulation of genes such as *crgA* and *rodA*

responsible for septation inhibition and rod shape determination, respectively, might explain the phenotype of *tdd8*⁺, i.e. a low production of spores with irregular shapes and sizes (11).

The effect of deleting or overexpressing *tdd8* on sporulation may possibly be due to the calcium binding property of Tdd8 since Ca²⁺ is known to promote sporulation in streptomycetes (42). Interestingly, modulation of *tdd8* expression affected transcription of *cabC* which encodes another calcium-binding protein. Disruption or overexpression of *cabC* also results in sporulation defects (23) and in phenotypes similar to those observed in $\Delta tdd8$ and *tdd8*⁺. Overexpression of *cabC* at the onset of Red biosynthesis in the deletion mutant might thus represent a compensatory mechanism to cope with the absence of Tdd8.

The most striking observation was, however, the fact that several genes probably involved in redox stress response were overexpressed in $\Delta tdd8$ at the onset of Red production. Most of these genes were located in two distinct loci. As part of these loci, the *dosS*-like (SCO0203), *dosR*-like (SCO0204) and *dosT*-like (SCO0211) genes have orthologs in *M. tuberculosis* where in which DosS and DosT act as redox-stress (respiration-impairing gases such as NO and CO) and hypoxia sensors for the DosR transcriptional factor (43). In *Mycobacterium*, DosR controls the expression of genes necessary for dormancy survival (37, 43). Nitroreductase genes, CBS motif-containing genes and pyridoxamine 5'-phosphate oxidase genes belong to the DosR regulon in *M. tuberculosis* (33) and similar genes were found in multiple copies in the two loci (SCO0161-SCO0181 and SCO0197-SCO0220) identified in this study. A remarkable redundancy of genes with USP motif was detected in these loci. USP motif-containing genes are also present in several bacterial genomes where they appear to be involved in survival under anoxic conditions (44). The genome of this aerobic bacterium contains an impressive number of genes with putative functions usually ascribed to anaerobic metabolism. Although *S. coelicolor* cannot grow in total absence of oxygen, it is capable of microaerobic growth and can maintain viability through several weeks of strict anaerobiosis, but the molecular mechanisms linked to this resistance has not be determined yet (32).

Gene promoters controlled by DosR in *M. tuberculosis* possess a DosR binding motif in their promoter region (35-37). In the two redox stress response loci identified in this study, several genes presented a sequence similar to the DosR binding motif of *M. tuberculosis* in their upstream regions, suggesting that they could be part of a DosR-like regulon in *S. coelicolor*. Although a DosR binding motif has been found in a variety of actinobacteria (37), this is first report of a DosR like-binding motif in a *Streptomyces* species. As reported in several *Mycobacterium* species, in *Rhodococcus* sp., in *Nocardia farcinica*, and in *Saccharopolyspora erythrea*, *S. coelicolor* thus also appears to possess a DosR-like regulon. Among the genes presenting a DosR-like motif, genes coding for a nitrate reductase (SCO0216-0219) were found. The presence of active membrane-associated respiratory nitrate reductases has previously been demonstrated in *S. coelicolor* (45). The bacterium exhibits the capacity for nitrate reduction during aerobic growth but the exact role of respiratory nitrate reductases remains unclear under these conditions. It has been postulated that respiratory nitrate reductases might play a role to dissipate excess reductants (46). The high amount of NADH present in $\Delta tdd8$ cells at the visual onset of Red biosynthesis indicates the need for the mutant to balance its redox status and its nitrate reductases may participate in dissipating these excess reductants.

Nitric oxide inhibition of respiration induced the expression of the DosR regulon in *Mycobacterium* (47). Interestingly, *nsrR* and *hmpA1* that code for a NO-sensitive repressor and a flavohemoprotein were overexpressed in $\Delta tdd8$. Orthologs of these genes in other bacterial species are responsible for sensing and detoxification of NO (48). Upregulation of *nsrR* and *hmpA1* in $\Delta tdd8$ in the absence of an external source of nitric oxide is intriguing especially since no nitric oxide synthetase (NOS) orthologs was found in *S. coelicolor* genome. However, other species such as *S. antibioticus* produces high amount of Hmp in the absence of an exogenous supply of a NO (49) and *Saccharomyces cerevisiae*, that also lacks NOS orthologs, appears to produce NO (50). Endogenous production of NO by *S. coelicolor* cannot thus be excluded.

The $\Delta tdd8$ and $tdd8^+$ strains reached their stationary phase of growth earlier than did the wild-type strain. The early entry in the stationary phase for $tdd8^+$ appeared to be due to a lack of nitrogen. Effectively, several genes involved in nitrogen assimilation were up-regulated in this recombinant strain when growth arrest occurred ($tdd8^+$ -t_{SG-34h} vs. M145-t_{34h}). The gene exhibiting the largest differential expression between $tdd8^+$ and the wild-type strain in 34-h cultures was *glnII*, a gene encoding a eukaryotic-type glutamine synthetase. The activity of *glnII* was previously observed at late phases of growth and under nitrogen limiting conditions (51). In the case of $tdd8^+$, the high NAD/NADH ratio indicated a rapid metabolism that possibly promotes nitrogen assimilation. In *S. coelicolor*, GlnR controls expression of genes involved in nitrogen assimilation such as *glnA* or *glnII* (30). GlnR is an orphan response regulator and the cellular mechanism that promotes its transcription is unknown. However, a relationship has been established between *tdd8* and *glnR*. While this study showed that *glnR* is up-regulated in $tdd8^+$ at the stationary phase, Tiffert et al. (8) showed that Tdd8 biosynthesis was reduced in a *glnR* null mutant. Previously, σ^R was identified as a candidate for the regulation of *glnR* transcription (52) and *tdd8* is also a potential member of the σ^R regulon since the consensus motif (GGGAAN₁₈₋₂₀CGTT) related to σ^R binding site is present in its promoter region (53, 54). The sigma factor σ^R plays an important role in the physiological response to oxidative stress and redox homeostasis, specifically by responding to adverse changes in the thiol-disulphide redox balance (55, 56).

If the entry in the stationary phase of growth appeared to result from a nitrogen depletion in $tdd8^+$, it is unlikely the case for $\Delta tdd8$. Comparison of transcriptomes for 77-h cultures ($\Delta tdd8$ -t_{SG-77h} vs. M145-t_{77h}) revealed that most nitrogen assimilation genes were downregulated in $\Delta tdd8$ at the beginning of the stationary phase compared to the wild-type strain that still was in the late exponential growth. This down-regulation may reflect a low utilization of some amino acids by $\Delta tdd8$. In conditions of the redox imbalance, some amino acids, such as glutamate are poorly catabolized (57). Overexpression of genes encoding the cytochrome bd and NADH dehydrogenase (Nuo) in the 77-h culture of $\Delta tdd8$ suggests that the growth arrest could rather result from a redox imbalance.

Modulation of *tdd8* expression has a considerable impact on *S. coelicolor* growth, differentiation, nitrogen assimilation and redox homeostasis but the precise mode of action of Tdd8 still has to be determined. This study brought evidence for the presence of a DosR-like regulon in *S. coelicolor*. The role of this DosR-like regulon in *S. coelicolor* differentiation process is currently under study.

ACNOWLEDGMENTS

We thank Ryszard Brzezinski and Chantal Binda for critical reading of the manuscript. This work was supported by a grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC).

REFERENCES

1. **Hopwood, D. A.** 2007 *Streptomyces* in nature and medicine : the antibiotic makers. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.
2. **Manteca, A., U. Mader, B. A. Connolly and J. Sanchez.** 2006. A proteomic analysis of *Streptomyces coelicolor* programmed cell death. *Proteomics*. **6**:6008-6022.
3. **Huang, J., C. J. Lih, K. H. Pan and S. N. Cohen.** 2001. Global analysis of growth phase responsive gene expression and regulation of antibiotic biosynthetic pathways in *Streptomyces coelicolor* using DNA microarrays. *Genes Dev.* **15**:3183-3192.
4. **Manteca, A., R. Alvarez, N. Salazar, P. Yague and J. Sanchez.** 2008. Mycelium differentiation and antibiotic production in submerged cultures of *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**:3877-3886.
5. **Novotna, J., J. Vohradsky, P. Berndt, H. Gramajo, H. Langen, X. M. Li, W. Minas, L. Orsaria, D. Roeder and C. J. Thompson.** 2003. Proteomic studies of diauxic lag in the differentiating prokaryote *Streptomyces coelicolor* reveal a regulatory network of stress-induced proteins and central metabolic enzymes. *Mol. Microbiol.* **48**:1289-1303.
6. **Langlois, P., S. Bourassa, G. G. Poirier and C. Beaulieu.** 2003. Identification of *Streptomyces coelicolor* proteins that are differentially expressed in the presence of plant material. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**:1884-1889.
7. **Thomas, L., D. A. Hodgson, A. Wentzel, K. Nieselt, T. E. Ellingsen, J. Moore, E. R. Morrissey, R. Legaie, W. Wohlleben, A. Rodriguez-Garcia, J. F. Martin, N. J. Burroughs, E. M. Wellington and M. C. Smith.** 2012. Metabolic switches and adaptations deduced from the proteomes of *Streptomyces coelicolor* wild type and *phoP* mutant grown in batch culture. *Mol. Cell. Proteomics*. **11**:M111 013797.
8. **Tiffert, Y., M. Franz-Wachtel, C. Fladerer, A. Nordheim, J. Reuther, W. Wohlleben and Y. Mast.** 2011. Proteomic analysis of the GlnR-mediated response to nitrogen limitation in *Streptomyces coelicolor* M145. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **89**:1149-1159.
9. **Yang, Y. H., E. Song, E. J. Kim, K. Lee, W. S. Kim, S. S. Park, J. S. Hahn and B. G. Kim.** 2009. NdgR, an IclR-like regulator involved in amino-acid-dependent growth, quorum sensing, and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **82**:501-511.
10. **Anantharaman, V., L. M. Iyer and L. Aravind.** 2012. Ter-dependent stress response systems: novel pathways related to metal sensing, production of a nucleoside-like metabolite, and DNA-processing. *Mol. Biosyst.* **8**:3142-3165.
11. **Sanssouci, E., S. Lerat, G. Grondin, F. Shareck and C. Beaulieu.** 2011. tdd8: a TerD domain-encoding gene involved in *Streptomyces coelicolor* differentiation. *Antonie Van Leeuwenhoek.* **100**:385-398.
12. **Pan, Y. R., Y. C. Lou, A. B. Seven, J. Rizo and C. Chen.** 2011. NMR structure and calcium-binding properties of the tellurite resistance protein TerD from *Klebsiella pneumoniae*. *J. Mol. Biol.* **405**:1188-1201.

13. **Perez-Redondo, R., A. Rodriguez-Garcia, A. Botas, I. Santamarta, J. F. Martin and P. Liras.** 2012. ArgR of *Streptomyces coelicolor* is a versatile regulator. PLoS One. **7**:e32697.
14. **De Mot, R., G. Schoofs and I. Nagy.** 2007. Proteome analysis of *Streptomyces coelicolor* mutants affected in the proteasome system reveals changes in stress-responsive proteins. Arch. Microbiol. **188**:257-271.
15. **Sanssouci, E., S. Lerat, F. Daigle, G. Grondin, F. Shareck and C. Beaulieu.** 2012. Deletion of TerD-domain-encoding genes: effect on *Streptomyces coelicolor* development. Can. J. Microbiol. **58**:1221-1229.
16. **Kieser, T., M. J. Bibb, M. J. Buttner, K. F. Chater and D. A. Hopwood.** 2000. Practical *streptomyces* genetics. John Innes Foundation, Norwich, United Kingdom.
17. **Smyth, G. K. and T. Speed.** 2003. Normalization of cDNA microarray data. Methods. **31**:265-273.
18. **Bucca, G., E. Laing, V. Mersinias, N. Allenby, D. Hurd, J. Holdstock, V. Brenner, M. Harrison and C. P. Smith.** 2009. Development and application of versatile high density microarrays for genome-wide analysis of *Streptomyces coelicolor*: characterization of the HspR regulon. Genome Biol. **10**:R5.
19. **Pfaffl, M. W., G. W. Horgan and L. Dempfle.** 2002. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Res. **30**:e36.
20. **Bailey, T. L., M. Boden, F. A. Buske, M. Frith, C. E. Grant, L. Clementi, J. Ren, W. W. Li and W. S. Noble.** 2009. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. Nucleic Acids Res. **37**:W202-208.
21. **Bibb, M. J., A. Domonkos, G. Chandra and M. J. Buttner.** 2012. Expression of the chaplin and rodlin hydrophobic sheath proteins in *Streptomyces venezuelae* is controlled by σ^{BldN} and a cognate anti-sigma factor, RsbN. Mol. Microbiol. **84**:1033-1049.
22. **Manteca, A., H. R. Jung, V. Schwammle, O. N. Jensen and J. Sanchez.** 2010. Quantitative proteome analysis of *Streptomyces coelicolor* Nonsporulating liquid cultures demonstrates a complex differentiation process comparable to that occurring in sporulating solid cultures. J. Proteome Res. **9**:4801-4811.
23. **Wang, S. L., K. Q. Fan, X. Yang, Z. X. Lin, X. P. Xu and K. Q. Yang.** 2008. CabC, an EF-hand calcium-binding protein, is involved in Ca^{2+} mediated regulation of spore germination and aerial hypha formation in *Streptomyces coelicolor*. J. Bacteriol. **190**:4061-4068.
24. **McCormick, J. R. and K. Flärdh.** 2012. Signals and regulators that govern *Streptomyces* development. FEMS Microbiol. Rev. **36**:206-231.
25. **Noens, E. E., V. Mersinias, B. A. Traag, C. P. Smith, H. K. Koerten and G. P. van Wezel.** 2005. SsgA-like proteins determine the fate of peptidoglycan during sporulation of *Streptomyces coelicolor*. Mol. Microbiol. **58**:929-944.
26. **Flärdh, K. and M. J. Buttner.** 2009. *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. Nat. Rev. Microbiol. **7**:36-49.

27. **Del Sol, R., J. G. Mullins, N. Grantcharova, K. Flardh and P. Dyson.** 2006. Influence of CrgA on assembly of the cell division protein FtsZ during development of *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* **188**:1540-1550.
28. **Mistry, B. V., R. Del Sol, C. Wright, K. Findlay and P. Dyson.** 2008. FtsW is a dispensable cell division protein required for Z-ring stabilization during sporulation septation in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* **190**:5555-5566.
29. **Willey, J. M., A. Willems, S. Kodani and J. R. Nodwell.** 2006. Morphogenetic surfactants and their role in the formation of aerial hyphae in *Streptomyces coelicolor*. *Mol. Microbiol.* **59**:731-742.
30. **Tiffert, Y., P. Supra, R. Wurm, W. Wohlleben, R. Wagner and J. Reuther.** 2008. The *Streptomyces coelicolor* GlnR regulon: identification of new GlnR targets and evidence for a central role of GlnR in nitrogen metabolism in actinomycetes. *Mol. Microbiol.* **67**:861-880.
31. **Reuther, J. and W. Wohlleben.** 2007. Nitrogen metabolism in *Streptomyces coelicolor*: transcriptional and post-translational regulation. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **12**:139-146.
32. **Van Keulen, G., J. Alderson, J. White and R. G. Sawers.** 2007. The obligate aerobic actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2) survives extended periods of anaerobic stress. *Environ. Microbiol.* **9**:3143-3149.
33. **Honaker, R. W., R. K. Dhiman, P. Narayanasamy, D. C. Crick and M. I. Voskuil.** 2010. DosS responds to a reduced electron transport system to induce the *Mycobacterium tuberculosis* DosR regulon. *J. Bacteriol.* **192**:6447-6455.
34. **Kommineni, S., A. Lama, B. Popescu and M. M. Nakano.** 2012. Global transcriptional control by NsrR in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* **194**:1679-1688.
35. **Florczyk, M. A., L. A. McCue, A. Purkayastha, E. Currenti, M. J. Wolin and K. A. McDonough.** 2003. A family of *acr*-coregulated *Mycobacterium tuberculosis* genes shares a common DNA motif and requires Rv3133c (*dosR* or *devR*) for expression. *Infect. Immun.* **71**:5332-5343.
36. **Chauhan, S., D. Sharma, A. Singh, A. Surolia and J. S. Tyagi.** 2011. Comprehensive insights into *Mycobacterium tuberculosis* DevR (DosR) regulon activation switch. *Nucleic Acids Res.* **39**:7400-7414.
37. **Gerasimova, A., A. E. Kazakov, A. P. Arkin, I. Dubchak and M. S. Gelfand.** 2011. Comparative genomics of the dormancy regulons in mycobacteria. *J. Bacteriol.* **193**:3446-3452.
38. **Liang, L., R. Liu, G. Wang, D. Gou, J. Ma, K. Chen, M. Jiang, P. Wei and P. Ouyang.** 2012. Regulation of NAD(H) pool and NADH/NAD(+) ratio by overexpression of nicotinic acid phosphoribosyltransferase for succinic acid production in *Escherichia coli* NZN111. *Enzyme Microb. Technol.* **51**:286-293.
39. **Agranoff, D. and S. Krishna.** 2004. Metal ion transport and regulation in *Mycobacterium tuberculosis*. *Front. Biosci.* **9**:2996-3006.
40. **Nodwell, J. R. and R. Losick.** 1998. Purification of an extracellular signaling molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* **180**:1334-1337.

41. **Gordon, N. D., G. L. Ottaviano, S. E. Connell, G. V. Tobkin, C. H. Son, S. Shterental and A. M. Gehring.** 2008. Secreted-protein response to σ^U activity in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* **190**:894-904.
42. **Daza, A., J. F. Martin, A. Dominguez and J. A. Gil.** 1989. Sporulation of several species of *Streptomyces* in submerged cultures after nutritional downshift. *J. Gen. Microbiol.* **135**:2483-2491.
43. **Boon, C. and T. Dick.** 2012. How *Mycobacterium tuberculosis* goes to sleep: the dormancy survival regulator DosR a decade later. *Future Microbiol.* **7**:513-518.
44. **Sass, A. M., C. Schmerk, K. Agnoli, P. J. Norville, L. Eberl, M. A. Valvano and E. Mahenthiralingam.** 2013. The unexpected discovery of a novel low-oxygen-activated locus for the anoxic persistence of *Burkholderia cenocepacia*. *ISME J.* 1-14.
45. **van Keulen, G., J. Alderson, J. White and R. G. Sawers.** 2005. Nitrate respiration in the actinomycete *Streptomyces coelicolor*. *Biochem. Soc. Trans.* **33**:210-212.
46. **Fischer, M., J. Alderson, G. van Keulen, J. White and R. G. Sawers.** 2010. The obligate aerobic *Streptomyces coelicolor* A3(2) synthesizes three active respiratory nitrate reductases. *Microbiology.* **156**:3166-3179.
47. **Hu, Y. and A. R. Coates.** 2011. *Mycobacterium tuberculosis acg* gene is required for growth and virulence in vivo. *PLoS One.* **6**:e20958.
48. **Tucker, N. P., M. G. Hicks, T. A. Clarke, J. C. Crack, G. Chandra, N. E. Le Brun, R. Dixon and M. I. Hutchings.** 2008. The transcriptional repressor protein NsrR senses nitric oxide directly via a [2Fe-2S] cluster. *PLoS One.* **3**:e3623.
49. **Sasaki, Y., N. Takaya, A. Nakamura and H. Shoun.** 2004. Isolation of flavohemoglobin from the actinomycete *Streptomyces antibioticus* grown without external nitric oxide stress. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**:1106-1112.
50. **Lewinska, A., E. Macierzynska, A. Grzelak and G. Bartosz.** 2011. A genetic analysis of nitric oxide-mediated signaling during chronological aging in the yeast. *Biogerontology.* **12**:309-320.
51. **Fink, D., N. Weisschuh, J. Reuther, W. Wohlleben and A. Engels.** 2002. Two transcriptional regulators GlnR and GlnRII are involved in regulation of nitrogen metabolism in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.* **46**:331-347.
52. **Kang, J. G., M. Y. Hahn, A. Ishihama and J. H. Roe.** 1997. Identification of sigma factors for growth phase-related promoter selectivity of RNA polymerases from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nucleic Acids Res.* **25**:2566-2573.
53. **Eng, C., C. Asthana, B. Aigle, S. Hergalant, J. F. Mari and P. Leblond.** 2009. A new data mining approach for the detection of bacterial promoters combining stochastic and combinatorial methods. *J. Comput. Biol.* **16**:1211-1225.
54. **Touzain, F., S. Schbath, I. Debled-Rennesson, B. Aigle, G. Kucherov and P. Leblond.** 2008. SIGffRid: a tool to search for sigma factor binding sites in bacterial genomes using comparative approach and biologically driven statistics. *BMC Bioinformatics.* **9**:73.
55. **Paget, M. S., J. B. Bae, M. Y. Hahn, W. Li, C. Kleanthous, J. H. Roe and M. J. Buttner.** 2001. Mutational analysis of RsrA, a zinc-binding anti-sigma factor with a thiol-disulphide redox switch. *Mol. Microbiol.* **39**:1036-1047.

56. **Kallifidas, D., D. Thomas, P. Doughty and M. S. Paget.** 2010. The sigmaR regulon of *Streptomyces coelicolor* A32 reveals a key role in protein quality control during disulphide stress. *Microbiology*. **156**:1661-1672.
57. **Pruss, B. M., J. M. Nelms, C. Park and A. J. Wolfe.** 1994. Mutations in NADH:ubiquinone oxidoreductase of *Escherichia coli* affect growth on mixed amino acids. *J. Bacteriol.* **176**:2143-2150.

Supplementary Table S1. Primers used for RT-qPCRs.

SCO number	Primer Name	Sequence (5'→3') forward and reverse primers
SCO0162	SCO0162F	GACGTCCTTGACCTCTCATC
	SCO0162R	GAGCCGAAGGACCATCT
SCO0168	SCO0168F	GCCGATCGCTTCTGGATCGTGCGT
	SCO0168R	TGCCACCGGTACGGAGGAAAGTGC
SCO0171	SCO0171F	CGCGACG TTCAGTCTGTT
	SCO0171R	GAAAGGCGCTGAGGTAGTC
SCO0174	SCO0174F	CGTGCGACTGGCTGATG
	SCO0174R	CAGTGTCGGATTGCGAAGAG
SCO0204	SCO0204F	AAGCCCGGTCAGGGTCTTCCTCCT
	SCO0204R	CCACGGTGATGTCCGGTTCGTCGT
SCO0212	SCO0212F2	ATCGAGGCGGTGCTGTA
	SCO0212R2	CCTGTTTCCTTGAGGATGTGTT
SCO0215	SCO0215F	CGTTCCGGACATCGTGAG
	SCO0215R	GGCGCGTTTCGGTGATA
SCO0216	SCO0216F	GCGTACGGGTGGCCGTTTCGATGAT
	SCO0216R	GGTCATGGTCGTCAGCGCCAGGAA
SCO2368	SCO2368F	AACGTTTCGCTGACCAAGGAGGCC
	SCO2368R	AGAAGATGAAGTGCGCGTTCGCTGGC
SCO3873	SCO3873F	GCGACGACCGCAAGACCAAGCTGAT
	SCO3873R	TGACGACGATGTCCTCCTCGGCGAT
SCO3945	SCO3945F	CAGGTCTTCCACAGCTTCTC
	SCO3945R	CACCGGGATGTGCTTCTT
SCO7427	SCO7427F	GACGAAGTTCACCGACCTG
	SCO7427R	GGCCAGTGGTTCGTCAC
SCO7428	SCO7428F	CCGTATCTCGCACAAGCA
	SCO7428R	ATCAGCCAGTAGACCTCGT

Supplementary Table S2. Validation of transcriptomic expression from Microarray of redox-stress response loci genes in *S. coelicolor* by RT-qPCR, fold change is obtained by the differential expression at t_{OR} between $\Delta tdd8$ over M145.

SCO number	Gene assignment	Protein function	Fold change	
			RT-qPCR	Microarray
SCO0162		Putative nitroreductase motif	3.877	5.92
SCO0168		Crp-Fnr like regulator	3.719	27.13
SCO0171		Nicotinate phosphoribosyltransferase	8.644	4.93
SCO0174		DNA-binding protein with pyridoxamine 5'-phosphate oxidase motif	12.729	16.85
SCO0204		DosR-like regulator	12.438	12.63
SCO0212		Putative hemerythrin motif	5.769	21.77
SCO0215		Putative nitroreductase motif	7.639	2.93
SCO0216	<i>narG</i>	Nitrate reductase	4.136	12.94
SCO3945	<i>cydA</i>	Cytochrome BD	10.339	4.87
SCO7427	<i>nsrR</i>	NO sensitive transcriptional repressor	2.028	4.07
SCO7428	<i>hmpA1</i>	NO dioxygenase	32.074	2.10

Supplementary Table S3 Quantitative data from MeV-Rank product output of all genes with differential expression between mutants and M145 at onset Red in all *S. coelicolor* identified transcripts.

Supplementary Table S3. Quantitative data from MeV-Rank product output of all genes with differential expression between mutants and M145 at onset Red in all *S. coelicolor* identified transcripts.

Up regulated Δ_{red} Δ_{red} vs M145 Δ_{red}	Description	Primary 5' E	Primary 3' E	En strand	p-Values (Up)	q-Values (Up)	RP-Values (Up)	Fold Change	Mean	std.dev	WT2	WT3	D2	D3
SC00038	sigma factor	31274	31146	-	0.0028865594	0.17098485	150.69057	2.9376892628	2.120689	0.9320383	1.7079175	0.9901619	25.502758	3.2765769
SC00161	hypothetical protein	150525	150313	-	0.001717611	0.12851185	116.765045	3.2651439638	1.0000438	0.99364056	-1.7391197	-1.9755378	-0.06415698	-0.2273626
SC00162	hypothetical protein	150679	151571	-	8.0562974	0.05004763	50.69792	5.3129845894	0.6055704	1.4867516	-0.5611235	-0.7524069	2.038376	1.7400115
SC00165	hypothetical protein	156120	155707	-	0.0014720563	0.11985893	107.692345	344.99972915	-0.02031814	1.0639522	-0.6358586	-1.224572	0.735409	0.4023864
SC00166	regulator	156938	157141	-	0.0064764035	0.23627473	213.05202	2.3127729549E-1	-2.888934	0.7123425	-1.7382536	-1.9620456	-0.5209709	-0.7442661
SC00167	hypothetical protein	158073	157189	-	0.0	0.0	4.7381372	13.7067660796	2.72437	2.4383684	0.6562063	0.4525036	4.8674803	4.8617874
SC00168	regulator protein	158732	159304	-	0.0	0.0	1.7320508	27.1275493005	2.1920537	2.7546668	0.0220384	-0.3984193	4.608946	4.9380483
SC00169	hypothetical protein	159972	160025	-	0.0	0.0	7.238434	18.0710110136	2.6228229	2.4134517	0.6536755	0.978466	4.6831	4.6984025
SC00170	hypothetical protein	161027	160256	-	1.2149391E-4	0.030645162	34.5237	8.9393010188	1.1199234	1.7721156	-0.44214937	-0.892267	2.699916	2.6103277
SC00171	nicotianate phosphoribosyltra	161237	162553	-	4.3622726E-4	0.079183675	61.976814	4.9323888011	0.29882625	1.3312929	-0.7973687	-0.9074407	1.5194684	1.9036453
SC00172	hypothetical protein	162661	162119	-	0.0014605449	0.12148936	107.31242	3.4693488063E1	0.08687356	1.0412717	-0.8194329	-0.7978846	1.1118747	0.8603376
SC00173	hypothetical protein	164017	163235	-	2.1486123E-4	0.046666667	43.605676	6.9384152509E1	0.7857026	1.647091	-0.47379047	-0.7494106	2.5643969	1.8201645
SC00174	DNA-binding protein	164934	164023	-	7.6736155E-6	0.0075	8.899211	16.8529161072E1	1.9339313	2.3694752	-0.7277287	-0.8553347	3.5251631	3.1264261
SC00177	membrane protein SC125	166039	166614	-	2.4297638E-9	0.011975	16.66988	12.0067418934E1	0.6368825	2.0797992	-0.8992777	-1.0484203	2.7892768	2.4440112
SC00178	hypothetical protein	166921	167397	-	0.007948567	0.29176405	260.1047	2.1449217185E1	-0.2579429	0.6522724	-0.8525576	-0.7639776	0.9438094	0.3438806
SC00179	zinc-containing dehydrogenase	168514	167444	-	1.1510424E-5	0.0075	12.162052	14.0016409923E1	2.2483959	2.1952266	0.30038212	0.3741622	4.1257713	4.169971
SC00180	hypothetical protein	169556	168705	-	5.6017394E-4	0.07689411	67.182236	4.7351879310E1	0.6605078	1.328034	-0.9005059	-0.4011892	0.0682085	1.5136657
SC00181	hypothetical protein	170570	169594	-	6.9062546E-5	0.02	28.952531	9.4781456235E1	1.4510596	1.8794156	-0.2042228	-0.1930633	3.240396	2.9063263
SC00197	hypothetical protein	187459	187019	-	1.8644572E-4	0.04264706	41.20564	7.1032223786E1	0.49790006	1.6424822	-0.7780167	-1.0644963	2.073989	1.7468936
SC00198	hypothetical protein	188858	187992	-	2.9381345E-4	0.053853853	48.901788	6.0652579296E1	1.5984212	1.5077107	-0.0141585	-0.0424629	2.73042	2.8977584
SC00199	alcohol dehydrogenase	189886	188884	-	3.9687013E-5	0.01631979	21.252598	10.6939369933E1	1.1361446	1.9985816	-0.1072739	-0.4751963	3.269321	2.897137
SC00000	hypothetical protein	190380	189925	-	1.9184039E-5	0.011538462	13.522799	13.4302016136E1	1.8903215	2.1844664	-0.0580011	0.1225956	0.0886887	3.4482005
SC00201	integral membrane protein S	191654	190983	-	5.4394245E-5	0.0172	24.83005	10.236206587E1	1.9279375	1.9406639	0.24668926	0.2571727	3.749502	3.4654381
SC00203	two-component sensor	194637	193880	-	0.0064405397	0.23785363	212.22116	2.3836126061E1	0.9809972	0.74370915	0.16263379	0.5564108	1.6881539	1.5371303
SC00204	LuxX family two-component	194641	194760	-	2.4299783E-5	0.011875	16.288664	12.6310477519E1	2.276719	2.1145403	0.34808302	0.5464265	0.468727	4.1368139
SC00208	pyruvate phosphate dikinase	197221	199917	-	0.0014369672	0.1263799	106.46308	3.4786259444E1	0.16289817	1.0509981	-0.74574447	-0.7270149	1.2607296	0.8686119
SC00209	hypothetical protein	200024	200429	-	7.1623215E-5	0.019310344	22.02762	9.3122949498E1	2.5830987	1.8602392	0.94766667	1.0070084	4.1684008	4.128549
SC00210	hypothetical protein	200728	201369	-	8.9141336E-4	0.09171052	85.451035	3.9999568000E1	0.96667844	1.1568365	-0.0029466	0.02269306	2.0312543	1.90201
SC00211	hypothetical protein	201374	202030	-	0.0024632036	0.15532528	140.14264	2.9354916505E1	0.99979671	0.91210157	-0.4887965	-0.6847272	0.9613474	0.790348
SC00212	hypothetical protein	202849	202070	-	0.0	0.0	3.309751	21.7669523884E1	1.6518896	2.5666883	-0.50701296	-0.6332715	3.9280014	3.8193452
SC00213	nitrate/nitrite transporter	204101	202869	-	7.6736155E-6	0.0075	9.620993	15.8184197272E1	1.8188446	2.3189607	-0.25148293	-0.09436191	4.164471	3.4557517
SC00214	hypothetical protein	204387	204800	-	1.278936E-4	0.03125	35.418278	8.03269151217E1	0.9812492	1.7429676	-0.7146064	-0.3287806	2.480768	2.5303032
SC00215	hypothetical protein	205888	204981	-	0.002974981	0.15749578	143.34239	2.95897139080E1	-0.08843711	0.9271426	-1.0411242	-0.3092556	0.9310254	0.4446882
SC00216	nitrate reductase alpha chain	206480	210131	-	2.3020048E-5	0.01267143	14.840817	12.9397943617E1	1.6770917	1.1390607	-0.0593025	-0.23849197	5.577772	3.7441566
SC00217	nitrate reductase beta chain	210189	211751	-	3.9647013E-5	0.01631579	20.50551	11.346659684E1	0.9808247	2.0245256	-0.7568994	-0.78569126	2.8226264	2.6435271
SC00218	nitrate reductase delta chain	211748	212551	-	1.1683817E-4	0.030333333	34.10172	8.1367427584E1	0.6366828	1.7633088	-0.7955573	-0.9578832	2.48443	1.8607287
SC00219	nitrate reductase delta chain	212561	213821	-	5.1157435E-6	0.0057142857	8.425732	16.8916238002E1	1.8134931	2.3664467	-0.19709185	-0.17848753	4.005227	3.757072
SC00220	hypothetical protein	213427	213870	-	3.9047013E-5	0.01691579	21.251868	10.761123032E1	0.6020843	1.991344	-0.8494719	-1.3601181	2.245243	2.866688
SC00221	hypothetical protein	221093	221093	-	0.007986036	0.32166666	224.4275	2.09890113080E1	1.0799446	0.7022939	0.2689617	0.2289446	1.365512	1.676326
SC00242	hypothetical protein	231022	231485	-	0.0045427906	0.22062112	193.66441	2.4651438588E1	0.15749505	0.7611067	-0.6202926	-0.3654779	0.8842136	0.7533206
SC00243	hypothetical protein	231475	231654	-	0.006870316	0.28414894	221.36782	2.40003557200E1	0.93967175	0.7398584	0.00546684	0.6107189	1.0797967	1.3945248
SC00268	hypothetical protein	256281	256442	-	6.7783007E-4	0.08153846	75.01787	4.67446270400E1	2.671806	1.4353434	0.95219576	1.266616	4.28105	3.266077
SC00281	glycolyl transferase	395399	397414	-	0.0026436025	0.16023266	144.43889	2.94423483782E1	0.8032782	0.9332463	-0.2669933	0.31236683	1.6819726	1.4824766
SC00289	lipoprotein	409327	410772	-	0.009501215	0.13478813	287.48985	2.06936202140E1	-0.41693074	0.6136285	-1.0287724	-0.8539629	0.028498414	0.1910268
SC00290	hypothetical protein	411734	411906	-	0.007986036	0.32166666	241.3426	7.1671712454E1	0.9279431	0.4494397	-0.0839983	-0.0987678	0.10149466	0.3164547
SC00385	epimerase/dehydratase	412531	416976	-	0.0054431516	0.23644444	212.33815	2.5833895397E1	0.63293975	0.7156286	-0.04226205	0.07040235	1.0399917	1.3017977
SC00400	epimerase	422172	422693	-	0.009169971	0.13100043	281.90994	2.06131476193E1	-0.8307404	0.628032	-1.3490698	-1.3698336	0.4688802	-0.1340281
SC00409	spore-associated protein pre-cytochrome P450	429956	429492	-	0.0017662105	0.12441414	118.44573	3.3063561291E1	2.3404148	0.9991266	1.4900131	1.5167491	3.2920462	3.1138467
SC00584	hypothetical protein	627831	626369	-	0.0080112545	0.29134884	261.62004	2.19053605680E1	-1.1951322	0.63299946	-0.7193005	-0.76691	0.3753913	0.3288565
SC00585	ATP/GTP binding protein	628164	627626	-	0.006918191	0.3026126	272.3655	2.0979306921E1	-0.16761419	0.65427975	-0.4603806	-0.9426368	0.250887	0.4237521
SC00586	serine kinase	630912	629182	-	0.005810268	0.23722727	210.19393	2.9757291394E1	0.5192931	0.7281575	-0.1892672	-0.0201	1.1594407	1.123249
SC00617	putative phosphatase	-	-	-	0.006357946	0.2440107	220.63774	2.30186713190E1	-0.8775094	0.7104991	-1.8832584	-1.5747509	-0.11911884	-0.4331838
SC00673	hypothetical protein	2512776	2512776	-	0.007400336	0.2804327	251.22177	2.18384405063E1	0.77478886	0.65707856	0.20623675	0.21447004	1.2252269	1.4509208
SC00683	hypothetical protein	725580	725056	-	0.0036017728	0.17602941	155.26065	2.88817522139E1	0.89891394	0.96014094	-0.23701164	0.49970663	1.9285768	1.4402279
SC00684	hypothetical protein	726305	726191	-	0.004396982	0.2189909	189.61435	2.55187515614E1	0.06943869	0.8154257	-0.8794461	-0.333242	0.842567	0.6408995
SC00702	regulator	743394	742816	-	0.009436389	0.13195745	286.4888							

Continuation supplementary Table S3

SC03947	ABC transporter	4343538	4343256 +	0.006369385	0.25397755	231.19078	2.25856228868	0.4900599	0.68671125	-0.14906791	-0.04621697	0.3597549	1.1357697
SC03957	hypothetical protein	4368827	4368056 -	0.0015730913	0.120588236	111.76182	3.802699754136	3.3151202	1.0161892	2.464785	2.4081933	4.129936	4.252566
SC03968	integral membrane protein	4369809	4368955 -	0.0014208978	0.12076087	105.924126	3.523764264747	3.1003942	1.0755154	1.938121	2.4504302	4.140135	8.8779307
SC04080	hypothetical protein	4474777	4474193 -	0.004785778	0.22357055	198.27582	2.45681526844	0.8602961	0.80224466	0.3215131	0.078567898	1.2368459	1.8033575
SC04138	DNA-binding protein	4607362	4607787 +	0.0063010102	0.24284211	222.06206	2.29466444474	2.7569775	0.6919795	2.1698829	2.152446	3.9300798	3.3241402
SC04139	hypothetical protein	4607810	4609451 +	0.004863793	0.22907638	200.05258	2.437313158611	35.26169	0.7526134	2.7866127	2.9844219	4.294687	4.0511309
SC04441	DNA-binding protein	4836320	4836507 +	0.0077901204	0.28913048	254.452	2.18582018221	1.8550205	0.6763144	1.118813	1.4025135	2.4381112	2.3923902
SC04425	cytochrome biogenesis relat	4893909	4895051 +	0.009378437	0.31397407	285.49442	2.038430530795	0.7025498	0.5983262	0.2525049	0.12519025	1.2948755	1.176829
SC04689	hypothetical protein	5117228	5117560 +	0.0010039647	0.09691358	90.5062	3.89353811441	-0.048212639	1.1373042	-1.082522	-0.95466125	1.1520444	0.69227374
SC04680	hypothetical protein	5117634	5117876 +	0.0041015474	0.2138	182.29872	2.53329881367	-0.4540188	0.78486145	-1.079513	-1.1697037	0.36750835	0.05471336
SC04768	two-component regulator	5119727	5180388 +	5.359841E-4	0.073968254	69.88203	4.64278332200	1.6669883	1.3041829	0.2871314	0.831851	2.6193445	2.9296222
SC04772	transposase	5184449	5185669 +	8.87581555E-4	0.09783778	85.20359	4.039371470035	0.33957627	1.206304	-0.6636849	-0.669145	0.94448	1.7466677
SC04854	integral membrane protein	5284773	5285383 +	0.0060023227	0.24802389	225.77391	2.257318765844	0.2249416	0.6304374	-0.1797821	-0.44586179	0.3463882	0.7513616
SC04948	nitrate reductase beta chain	5394940	5395495 +	0.0022394168	0.14591667	133.48755	3.035841142604	-0.782951	0.9253865	-1.5634212	-1.6045771	0.045122879	-0.0089285625
SC05147	RNA polymerase sigma factor	5539690	5594361 +	0.0051093493	0.23226744	205.87387	2.89770234823	3.3380027	0.7396481	2.8224566	2.596677	3.8322318	4.1006455
SC05176	reductase	5625410	5625622 +	0.0034058064	0.18622378	164.5809	2.653125960765	-0.36700106	0.81408805	-1.1270618	-1.0146334	0.3246977	0.393513
SC05177	hypothetical protein	5625610	5626359 +	0.0016869105	0.123271026	115.81352	3.877030699204	0.25967386	1.0083852	-0.5227441	-0.6967665	1.0524496	1.2057564
SC05218	integral membrane protein	5676345	5677070 +	0.004132242	0.2139735	183.16476	2.605494127395	0.7418301	0.82380086	-0.17586522	0.27739004	1.3625736	1.5026224
SC05219	lipoprotein	5677676	5678932 +	0.006693951	0.26301506	237.06238	2.245858191394	0.424917858	0.8977535	-0.253276	-0.02770385	0.8839387	1.1346663
SC05361	regulatory protein	5818975	5819478 +	0.0058818264	0.24333334	221.62027	2.858870393975	2.736754	0.7366105	1.9075051	2.3319037	3.3085763	3.4070263
SC05390	alkanol monooxygenase (luc)	5889896	5985866 +	0.0033712763	0.18805936	163.60364	2.7732910664	0.7555111	0.9047061	-0.27222079	0.30850625	1.2562267	1.7285322
SC05405	transcriptional regulator	5887884	5871405 -	0.0057035274	0.2425063	213.04475	2.5141422538	2.8288008	0.8387075	2.1119304	2.5251882	3.26	3.802386
SC05409	hypothetical protein	5880528	5880572 +	0.0066925435	0.2405946	217.6155	2.349858272399	0.6325228	0.75253296	0.31438085	-0.28244892	1.2204617	1.2766176
SC05444	glycogen phosphorylase	5951973	5951416 -	0.0058848339	0.2364832	210.78468	2.488029901541	0.9984036	0.8284125	-0.02562002	0.7074287	1.8155523	1.4362788
SC05466	hydrolase	6033266	6033463 +	0.0064778104	0.2571066	233.4614	2.38530132574	0.5469566	0.9451948	-0.0166204	0.44140276	1.2801802	0.953873
SC05536	hypothetical protein	6033266	6033463 +	0.0064778104	0.2571066	233.4614	2.38530132574	0.5469566	0.9451948	-0.0166204	0.44140276	1.2801802	0.953873
SC05605	hypothetical protein	6107812	6108128 +	0.006944622	0.26748767	242.06863	2.32226498492	1.2945176	0.7783654	0.9887766	0.98963046	2.178747	1.603996
SC05623	hypothetical protein	6253335	6252847 -	0.0092275233	0.31360564	283.1394	2.03887199162	2.862501	0.6128975	2.555992	2.1616313	3.3578038	3.894969
SC05803	LexA repressor (EC 3.4.21.88)	6346368	6345664 -	0.003234429	0.18194245	160.4101	2.75767315138	1.8616722	0.86198	0.93280077	1.3270919	2.6627	2.5240298
SC05826	hypothetical protein	6375779	6376387 +	5.365352E-4	0.07866793	65.49874	4.713403843001	0.8906669	1.3025222	-0.43127885	-0.024183815	1.3810305	2.0370145
SC05927	hypothetical protein	6376584	6377946 +	0.0047938668	0.2287035	198.62156	2.40871292298	-0.24280092	0.735749	-0.9772853	-0.87389374	0.31839883	0.4653145
SC06041	protoporphyrinogen oxidase	6633983	6634714 +	0.008364242	0.29853015	268.4071	2.168204067897	0.48185664	0.6952012	-0.2241045	0.07182328	1.3224227	0.7579111
SC06042	hypothetical protein	6633983	6634714 +	0.008364242	0.29853015	268.4071	2.168204067897	0.48185664	0.6952012	-0.2241045	0.07182328	1.3224227	0.7579111
SC06073	cyclase	6666219	6668399 +	0.006046681	0.23211785	204.49275	2.36009570343	0.017077869	0.7156174	-0.6019418	-0.6027478	0.6083382	0.664679
SC06338	transposase	6997078	6997411 -	0.0053679394	0.23711805	210.4762	2.41069710056	-1.7200329	0.73941215	-2.013043	-2.6964139	-1.233089	-0.975885
SC06393	transposase	7063975	7061838 +	0.0014025443	0.12148396	107.25259	3.495883630139	0.17567428	1.0460385	-0.8112754	-0.6942011	1.0092329	1.3454036
SC06394	IS element ATP binding prote	7031835	7061838 +	0.0040228334	0.21256757	180.62422	2.57152774032	-0.3038174	0.8188675	1.399439	1.8388522	-0.4235945	-0.0474816
SC06484	hypothetical protein	7174911	7174933 +	0.0084269038	0.2395	269.38022	2.1259668711	0.7573985	0.610322	0.00985681	0.413979	1.3048599	1.3007693
SC06531	ATP/GTP binding protein	7223286	7223711 +	0.009317048	0.31400862	284.5229	2.06785746513	2.2958939	0.60691	1.8442709	1.7295709	2.7823646	2.857507
SC06534	nitrate reductase beta chain	7226553	7224959 -	0.008117407	0.2924885	264.0653	2.145808871555	-0.761731	0.6380177	-1.3048875	-1.3009363	-0.21767746	-0.20426309
SC06535	nitrate reductase alpha chain	7226553	7226553 -	0.0060519205	0.24774869	225.10822	2.272613932005	-0.08399792	0.6839979	-0.6612813	-0.6910702	0.5174035	0.4882674
SC06551	oxidoreductase	7248767	7247938 -	0.009261396	0.3125974	283.5286	2.05039214606	2.0581126	0.6016491	1.5684897	1.505774	2.6298683	2.5350234
SC06623	hypothetical protein	7357519	7353832 +	0.00494393	0.2251515	193.62992	2.438975134941	1.4549569	0.76013494	0.765777	0.8576199	2.291304	1.3049427
SC06750	isopentenyl-diphosphate dicit	7506001	7506008 +	0.004969945	0.22934083	202.4807	2.476696760181	2.6967444	0.78724444	1.7715166	2.3135552	3.36515	3.396756
SC06766	hypothetical protein	7523406	7524428 +	0.005556977	0.23614131	214.63063	2.303291850893	1.2873031	0.6980585	0.74888714	0.62192196	1.8881273	1.895176
SC06906	hypothetical protein	7671207	7669418 -	0.006317344	0.25333333	230.44167	2.261652883777	0.17246479	0.6876988	-0.4819756	-0.3504748	0.873525	0.851722
SC07310	regulatory protein	8111780	8117195 -	0.008887325	0.30884445	277.3857	2.098385445581	-0.4620107	0.6227376	-1.0985551	-0.8967459	0.07917184	0.06608643
SC07427	hypothetical protein	8241835	8242281 +	8.77800404E-4	0.08527778	84.525264	4.06697213152	2.396971	1.2029387	1.5752479	2.2747393	3.956887	3.9410403
SC07428	flavonoprotein	8242355	8242551 +	0.002007546	0.31169716	273.46167	2.10494330739	0.8330834	0.6692569	0.1915158	0.40154159	1.66039	0.079521
SC07536	integral membrane protein	8355539	8357755 +	0.019642858	0.2129507	203.12907	9.22941152411	2.8895908	1.856143	1.1314318	1.4025277	4.571367	4.9747473
SC07647	calcium binding protein	8474625	8475174 +	0.006784755	0.28525	238.82845	2.24160704216	-0.05232767	0.6930896	-0.9166396	-0.6433856	0.34252474	0.7519431
SC07657	secreted protein	8483781	8485538 +	0.0061374855	0.23219652	206.29877	2.383191105285	3.0099683	0.73222244	2.2201323	2.4769036	3.73932	3.3333114

Continuation supplementary Table S3

Down regulated $\Delta t5f$ t_{0h} vs M145 t_{0h}

Description	Primary 5' E	Primary 3' E	En strand	p-Values (Down)	q-Values (Down)	RP-Values (Down)	Fold Change	Mean	std dev	WT2	WT3	D2	D3	
S000323	hypothetical protein	325069	324467	-	0.0018785768	0.22257575	122.70489	1.994574	1.6371266	0.7382173	1.7875058	2532768	15441558	0.7850162
S000441	hypothetical protein	46180	462102	+	0.004169331	0.31907805	183.97894	1.7596394	1.9990078	0.49663496	2.2601542	2581351	1.7183386	1.464368
S000892	integral membrane protein	98240	99720	-	0.004916233	0.3447622	192.28351	1.801936	-0.736301	0.55664164	-0.04922534	-0.6937808	-1.234068	-1.218791
S001529	pyridoxamine biosynthesis prot	1628967	1627456	-	0.0027688963	0.26728395	147.68048	2.0173815	2.2930391	0.6914621	3.14707	24519088	20753174	1.4978366
S001620	glycine betaine transport syst	1794674	1732259	-	0.002674255	0.26976933	145.3847	1.8865239	0.4659603	0.6387573	1.1318468	0.724828	-0.0005742	-0.2367678
S001621	glycine betaine transport ATT	1726361	1734867	+	0.004013696	0.3143	180.46152	1.7695286	-1.52082	0.48042697	-0.860285	-1.0005113	-1.730611	-1.734193
S001680	transcriptional regulator	1820108	1819461	-	0.0	0	5.477226	0.4862849	2.2501805	1.2094234	3.4060833	31.25761	1.5675311	0.9013469
S001700	hypothetical protein	1820463	1820169	-	1.023148795	0.016	11.575192	3.7180182	34710674	1.2011534	4.902367	39385256	2894202	2.154375
S001709	integral membrane transport	1830306	1828915	-	0.003157993	0.27741572	156.22922	1.8208307	-0.1804483	0.5115298	0.42698282	0.16157188	-0.6032067	-0.5375273
S001710	integral membrane transport	1831737	1830346	-	1.869461514	0.05944446	36.207306	2.6471732	-0.06253946	0.8606667	0.9725732	0.26665237	-0.7760667	-0.7520327
S001929	glyoxylate ferredoxin subu	2055714	2053397	-	0.0023609155	0.24613393	137.11262	1.9309144	2.4599403	0.60437504	3.200259	2.6377119	2.003941	1.868853
S001963	integral membrane export pr	2101947	2100946	-	5.34535264	1.130625	65.721394	2.8056734	0.6069148	0.762795	1.575679	0.8493388	0.1494004	-0.1347589
S002015	nucleotidase	2157930	2157938	-	0.0022291863	0.23876712	133.32524	1.9552848	1.4831592	0.8092964	1.6212858	3.2134113	1.6260526	0.3788677
S002114	hypothetical protein	2271915	2271664	-	8.888804644	0.15785454	85.29947	2.0311818	2.7530875	0.60961425	3.2997196	3.228774	2.05876	2.4252794
S002138	glutamine synthetase I	2364305	2366314	-	0.0036669522	0.2998325	168.84627	2.097408	2.6382575	0.8763206	3.8693807	2462042	2.17224	2.0365674
S002210	glutamine synthetase	2374913	2375350	+	0.003068936	0.43967414	280.4222	1.7040056	-0.021711	0.5171398	0.6870427	0.03883077	-0.38444239	-0.4273937
S002275	lipoprotein	2444536	2445690	-	0.001236411	0.135	101.639725	1.3623221	-0.00328688	0.57302545	0.5176662	0.9811809	-0.6984002	-0.9282161
S002397	oxoreductase	2569882	2568888	-	0.0018864305	0.22014325	123.07211	1.9016254	-1.2297784	0.61555236	-0.8938164	-0.3908919	-1.805511	-1.6582768
S002401	dehydratase	2574004	2573570	-	0.003584869	0.28857142	163.23868	1.8131005	-0.5868095	0.55237085	0.07656981	-0.3917288	-1.20427	-0.8305009
S002628	amino acid permease	2848406	285074	-	0.00389436	0.31071427	177.81969	1.8052735	-0.3638539	0.5275089	0.3034089	-0.15849794	-0.81012064	-0.7494036
S002682	hypothetical protein	293292	292280	-	0.0067978	0.49136715	275.79886	1.6230367	0.95872806	0.411045	0.66715823	0.0289996	0.3023027	1.0365113
S002746	ABC transporter protein, ATP	2934448	2934001	-	0.0071261896	0.42587797	245.52461	1.6538187	-0.41638589	0.4222428	-0.044801798	-0.02943295	-0.8194347	-0.7152546
S002785	secreted protease	3034404	3034404	-	0.0012176471	0.18166667	90.89152	1.9318441	0.7241065	0.6065667	1.4339341	1.0378795	0.1030537	0.8694819
S002786	sugar binding secreted prote	3051258	3052583	+	0.0010461937	0.17041667	92.06998	2.052021	-1.1225296	0.6284002	-0.8647818	-0.8706441	-1.6880014	-1.5749484
S002786	cellulose transport permease	3052899	3053002	-	0.0028814427	0.27144578	150.55737	1.854222	-1.5169421	0.5860505	-0.7867164	-1.3832051	-0.2107007	-1.8183008
S002845	GntR family transcriptional r	3104891	3104547	-	0.0022790637	0.24081081	134.82729	1.9439611	-1.4202404	0.5563285	-0.9404449	-1.0068728	-2.1381024	-1.9301885
S002907	PTS transmembrane compon	3192929	3190479	-	0.006131267	0.40978458	226.52026	1.7440203	-0.44300842	0.50440717	0.20229289	-0.2889007	-0.8332225	-0.8521346
S002910	cysteine synthase	3162897	3161747	-	0.0013198619	0.19111112	102.72744	1.8960029	1.002397	0.6117594	1.458436	1.9362489	0.00482215	0.6028523
S002911	hypothetical protein	3162962	3162704	-	7.584981454	0.15170792	80.7659	2.0711553	1.6534241	0.6373694	2.403056	1.946449	1.0667987	1.1805139
S002920	secreted protease	3171684	3169339	-	2.340452864	0.0732	45.36215	2.618217	1.9229106	0.9039306	3.204535	2.009325	1.9491391	1.1003894
S003064	peptide permease	3367162	3368658	+	0.008517713	0.48280807	270.94525	1.6843915	0.69883984	0.4831284	1.3294242	0.8206648	0.27261436	0.3728378
S003074	integral membrane protein	3368334	3367747	-	0.008932088	0.45631916	278.00735	1.6220074	1.1800686	0.55447346	1.1357021	1.9238292	1.008555	0.823454
S003413	hypothetical protein	3445310	3445110	+	0.0068602104	0.42571428	240.29956	1.6931789	-1.7578933	0.4691123	-1.2122525	-1.5389693	-0.2111037	-0.2980205
S003416	secreted protein	3451110	3447861	-	0.009132862	0.48300728	281.43027	1.6699004	1.254079	0.4520846	1.7869884	1.5787828	1.044867	0.8001967
S003416	hypothetical protein	3451110	3473867	-	0.0021256561	0.23922672	131.15328	1.975301	-0.2329431	0.5956919	0.8444242	0.06819944	0.7880511	-0.9500632
S003862	hypothetical protein	3721331	3721331	-	1.688135554	0.056	39.78704	2.8970788	0.6132857	0.72868764	1.2295043	2.1839444	-0.04668516	0.011979304
S003536				-	0.0023813788	0.245	138.00983	1.9016818	-1.4256499	0.61564493	-0.6113621	-1.3126616	-0.2041979	-1.7641777
S003720	small membrane protein			-	0.006884384	0.39667392	221.72119	1.702184	0.5850093	0.5292424	1.160366	0.8000494	-0.0925227	0.5318389
S003730	hypothetical protein	4167894	4165816	-	0.009204613	0.49616438	283.7754	1.9036279	3.8222936	0.91073114	3.1418388	3.914227	3.719568	1.9169436
S003821	serine/threonine protein kin	4200767	4204337	+	0.0060799394	0.3610939	205.30952	1.738279	0.92004947	0.4889042	1.4250975	1.2126491	0.542008	0.4998304
S003897	hypothetical protein	4232877	4231764	-	6.363189764	0.13881111	72.48517	2.14787	0.8690304	0.671019	1.629846	1.948498	0.38566604	0.2711644
S004001	hypothetical protein	4398546	4398671	-	0.0070186215	0.44455204	254.11361	1.6448691	-0.4831931	0.45526314	-0.30439305	0.1521427	-0.7840547	-0.6247108
S004011	integral membrane protein	4407941	4408414	+	7.686045464	0.15025	79.711975	2.1479537	1.5152204	0.77497417	1.6321286	2.5012753	1.2885667	0.6162135
S004020	two component system resp	4415129	4415944	-	0.004494181	0.33159044	192.37456	1.8236832	0.4715952	0.621754	0.7538463	1.0579314	0.4572678	-0.3850163
S004027	anti sigma factor antagonist	4424049	4426029	-	0.0064202584	0.41839332	232.29738	1.687369	0.672778	0.46104464	1.1871036	0.9130207	0.1721364	0.418864
S004032	MARCKS regulatory protein	4431652	4425662	-	0.0013622299	0.18994286	104.16225	2.0054471	-1.9305288	0.6667073	-1.0781596	-1.7897002	-2.5958393	-2.2265828
S004189	phosphate ABC transport syst	4504413	4503893	-	6.363189764	0.13881111	72.48517	2.14787	0.8690304	0.671019	1.629846	1.948498	0.38566604	0.2711644
S004140	phosphate ABC transport syst	4505531	4504447	-	6.306254665	0.09857143	283.65784	3.0791764	2.7772863	1.15832	4.0587416	3.118376	0.6502776	1.2813908
S004141	phosphate ABC transport syst	4505538	4505528	-	0.001363141	0.19236693	103.95896	2.316044	3.1328685	0.9795088	4.3760978	3.102304	3.0748446	1.9732161
S004156	two component system resp	4573859	4573113	-	0.008518786	0.4177869	234.16762	1.710223	0.8692258	0.46038254	1.3612891	1.5113468	0.5667465	0.39752048
S004157	protease	4574931	4573948	-	0.006858786	0.298081	169.28906	1.832639	0.26389754	0.5415521	0.7006238	0.7011137	0.0677011	-0.4138712
S004164	thiosulfate sulfurtransferase			+	0.002392002	0.2697647	152.03189	1.8091074	1.922857	0.7025521	2.8485978	1.932396	1.1464406	1.7891975
S004165	hypothetical protein	4581874	4582161	-	0.0041539837	0.32159117	183.66476	1.7485385	3.4370585	0.5160936	3.9520765	3.7149875	2.7722218	3.2761489
S004224	hypothetical protein	4639889	4629734	-	0.0019478134	0.22397059	125.29758	1.9041481	0.12364585	0.5461159	0.48016542	0.696272	-0.27742535	-0.40442863
S004225	integral membrane protein	4639405	4639738	-	2.174191165	0.02125	14.539442	3.3442557	1.682089	1.1838703	2.0222796	2.9096138	1.8649187	0.2656262
S004229	sensor kinase	4639139	4634479	-	3.29349684	0.1608889	86.851385	2.3860004	3.0987344	0.86204004	3.9037704	3.5184073	3.059245	1.9138741
S004526	protein kinase	4946742	4943049	-	0.0049162238	0.35260504	201.23969	1.7495117	0.06514169	0.5294394	0.7152992	0.22106218	-0.45639177	-0.17940284
S004705	S33 ribosomal													

Continuation supplementary Table S3

Down regulated *td68* + *t_{OR}* vs M145-*t_{OR}*

Description	Primary 5' En	Primary 3' En strand	p-Values (Down)	q-Values (Down)	RP-Values (Down)	Fold Change	Mean	std dev	WT2	WT3	SS2	SS3	
SC00098	transposase	62441	81602	0.0028072644	0.5628205	147.15308	1.7648914	-3.5783424	0.6601231	-2.6123953	-3.72417	-3.8928545	-4.03841
SC00200	hypothetical protein	249755	250304	0.0041399156	0.5994445	182.39014	1.7250158	0.6398449	0.6267546	1.5053179	0.5013998	0.2268785	0.2639888
SC00567	insertion element transpos	603617	610365	0.002454278	0.516257	137.53928	1.7958392	-3.543089	0.6410325	-2.6226282	-3.6166594	-3.8614512	-4.071961
SC01026	transcription regulatory pr	109435	108219	0.009178825	0.7036747	261.04306	1.4394139	2.0030356	0.9451957	2.5366859	2.8434667	3.1158987	2.168819
SC01393	acetyl-CoA synthetase [c	147972	1477536	0.0056925436	0.6643284	215.0536	1.573475	-0.008756615	0.9816461	0.962779	0.27391183	-0.2857108	-0.980065
SC01428	acyl-CoA dehydrogenase	1524393	1529218	0.0022036005	0.5067647	130.97945	1.6620204	0.5020395	0.4247367	0.8479506	0.8885555	1.07653169	0.90573806
SC01767	DNA hydrolase	1887218	1886499	0.007919171	0.72847056	258.82184	1.4836948	0.36947114	0.3881085	0.40071585	0.88742065	0.006092247	0.14365578
SC01848	cobryc acid synthase	1978949	1978367	0.0072745876	0.72923076	246.36982	1.5104236	1.1634994	0.36855096	1.3012844	1.6206675	0.9014997	0.93054566
SC01850	chitinase	1982004	1984022	0.0067297007	0.69236945	236.208	1.487688	1.056624	0.4741506	0.9286288	1.7576672	0.8307286	0.78515216
SC01853	precarnin-2 C20-methyltra	1986075	1986806	0.00569405	0.6881018	230.62842	1.5022966	1.1651126	0.4304144	1.1378317	1.7802205	0.9109983	0.8335205
SC01856	precarnin-6r C5,15-methylr	1988469	1989701	0.008070085	0.7038888	261.57593	1.4683146	1.01119057	0.4322236	0.9382746	1.6446979	0.7226715	0.7469785
SC01857	bifunctional protein (CbGH)	1989779	1991500	0.0048036836	0.626	197.53646	1.5293088	1.272949	0.48566707	1.2623191	1.891365	1.0020027	0.960288
SC01858	hypothetical protein	1991527	1993444	0.0077430727	0.72130954	255.22878	1.4926325	0.879028	0.38036588	0.9469851	1.36886	0.6248231	0.55537885
SC01939	6-phosphogluconolactonase	2072529	2073814	0.001376136	0.48903092	102.39887	1.7343887	1.7267108	0.58810065	1.9810509	2.289743	1.7447112	0.9103827
SC02172	hypothetical protein	2396003	2389755	0.0073359419	0.7282228	247.66531	1.5009999	1.750179	0.45444778	2.12839	2.015926	1.7462417	1.1116426
SC02279	acyl-CoA dehydrogenase	3032085	3035225	0.008815263	0.712292	274.8984	1.5342162	-0.2267893	0.35184485	0.07869109	-0.0192028	-0.58886206	-0.5717771
SC02899	groES family molecular ch	3104226	3153670	7.405039E-4	0.41357142	74.04157	1.7660134	0.36747258	0.64556104	0.23062803	1.3406234	-0.03672743	-0.06881373
SC02919	hypothetical protein	3169192	3168948	0.0014707763	0.47916666	106.182625	1.7477907	2.391292	0.4878562	2.8386997	2.754247	2.1644478	1.812638
SC02951	malate oxidoreductase	3208452	3207037	0.005904847	0.66913044	213.53465	1.6163328	1.9205592	0.44670435	2.49946	2.0343626	1.6470686	1.5013255
SC03014	translation initiation factor	3200726	3208964	0.0086436875	0.5377368	169.10515	1.56928	1.868394	0.46539837	1.8692287	2.5175424	1.6364724	1.451093
SC03036	UPP0-FD 2-phospho-L-lactate	3322269	3323225	0.008273981	0.6887294	265.1877	1.476377	1.4099774	0.4109428	1.3805794	1.968592	1.2262694	1.0529989
SC03055	hypothetical protein	3349694	3349323	0.008094388	0.7032222	261.8922	1.5062546	-0.8586047	0.36911093	-0.4936674	-0.2349026	-0.6748304	-1.0262961
SC03089	ABC transporter ATP-binding	3391453	3382223	0.0015669686	0.4375	103.20453	1.9818644	1.0085844	0.7220363	0.2062613	0.85092014	0.675947	0.4452274
SC03180	ABC transporter integral mer	3382330	3384861	1.436565E-4	0.13	36.518032	2.0713723	1.1886529	0.6255946	1.8690509	1.5583866	0.7608182	0.5583866
SC03016	hypothetical protein	3418505	3417578	0.0034878582	0.568125	165.39575	1.6119125	1.5226802	0.39772186	1.8683325	1.8653013	1.1700937	1.1865373
SC03182	UTP-glucose-1-phosphatase	3478461	3488550	0.008870699	0.7150153	278.79456	1.6126996	2.9707876	0.5838995	3.203678	2.2000856	2.1299076	1.9222795
SC03363	acetyltransferase	3721342	3721788	0.009489704	0.70666665	286.7859	1.4880616	1.1063098	0.3576879	1.250684	1.5516769	0.8639411	0.7006557
SC03465	transposase	3862973	3827312	0.004485229	0.6065515	190.18188	1.7002923	-3.471514	0.6842236	-2.8363067	-3.6421106	-3.7748826	-3.935575
SC03467	transposase			0.0094083643	0.5670125	163.61063	1.7374157	-3.5064	0.6504944	-2.952323	-3.6626241	-3.8076571	-4.002176
SC03486	lact family transcriptional re	3880226	3849177	0.006549405	0.6828	231.90622	1.484913	2.582758	0.45922705	2.4783983	3.29799	2.3028975	2.2917361
SC03486	aldehyde dehydrogenase	3880388	3851866	0.001877478	0.45875	120.5736	1.68527	2.373075	0.4331667	2.615648	2.8606975	2.0129228	2.0038245
SC03539	transposase			0.006448267	0.671305	210.44469	1.6902581	-3.523258	0.62942315	-2.9366249	-3.692833	-3.8294774	-3.9752183
SC03727	stress response protein	4101399	4102223	1.5868835E-4	0.138	37.670346	2.0707484	0.82774067	0.64945276	1.6444316	1.0811005	0.9711844	0.2361452
SC03967	ferredoxin	4251661	4251445	0.001513976	0.45892307	107.75385	1.6602539	1.9305041	0.52231624	1.9930094	1.9999311	1.1103261	0.7658686
SC03923	hypothetical protein	4317659	4317976	0.002057808	0.48757577	126.1217	1.6923052	1.1559153	0.44409003	1.6228887	1.4488035	0.7935528	0.7938996
SC03924	hypothetical protein	4318118	4318300	0.0015628597	0.45259258	109.06375	1.6939952	1.1856663	0.4661136	1.5857784	1.541794	0.6128004	0.998824
SC03956	ABC transporter ATP-binding	4365390	4365652	0.0013147661	0.54	100.40346	1.8685513	1.7497624	0.6801063	2.7655253	1.6349746	1.339914	1.2923267
SC03957	integral membrane protein	4366869	4367850	0.0014042716	0.4773913	103.59241	1.872881	0.64210993	0.7082529	1.6713766	0.5181026	0.2003882	0.118572034
SC03958	ABC transporter ATP-binding	4367947	4368759	8.837447E-4	0.008306	81.8616	1.9071752	1.615835	0.64866876	2.484678	1.6784818	1.1685904	1.1166264
SC03959	integral membrane protein	4369720	4369489	0.008273981	0.6887294	265.1877	1.566292	0.7389426	0.4122259	1.222383	0.8473958	0.4283675	0.0034154
SC03992	hypothetical protein	4385844	4389254	9.39757E-4	0.43338384	87.362755	1.7780584	-1.3746752	0.5115673	-1.4274614	-1.6915861	-2.5642107	-2.154424
SC03993	hypothetical protein	4388862	4388939	4.975061E-4	0.23923705	62.63816	1.8476503	-1.385526	0.5400053	-1.4046662	-1.6608662	-2.5851538	-2.2315974
SC04016	hypothetical protein	4413004	4412957	0.003623225	0.5448077	168.66817	1.5922488	-0.51150884	0.41548385	-0.3196884	-0.93238268	-0.7323040	-0.96174276
SC04040	hypothetical protein	4491229	4483923	8.2107688E-4	0.40125	178.3834	1.7843834	-0.35140445	0.57256806	-0.7157974	-0.3515875	-1.002073	-1.7002074
SC04076	US2-like protein	4470578	4470261	0.0048938246	0.62768883	193.3862	1.61261	2.3261583	0.41739766	2.800087	2.9416274	2.0698265	1.8994367
SC04089	valine dehydrogenase (EC:1.4	4483948	4483284	0.004683003	0.6179661	194.12079	1.5948097	1.794979	0.4148419	1.943465	2.31209	1.9578683	1.387076
SC04171	serated protein	4588537	4588389	0.0058493913	0.5542	166.62006	1.8075449	0.9838264	0.4104571	1.1310301	1.4988684	0.6210003	0.68566114
SC04231	lipoprotein	4636042	4636317	0.009537025	0.68891586	286.42126	1.5068876	1.4865913	0.34869304	1.8075857	1.7571689	1.1085488	1.273622
SC04328	lipoprotein	4739869	4739405	0.007706875	0.7280041	254.72655	1.5993339	2.36726	0.6057429	3.2688513	2.1431398	1.9645209	2.0925276
SC04584	hypothetical protein	5006187	5007449	0.0063166646	0.7055714	227.36771	1.5580339	1.7310591	0.38948804	2.0457062	2.086849	1.582618	1.2864176
SC04739	lipoprotein	5152417	5153223	0.009031846	0.6990719	278.46678	1.5301284	1.4294825	0.38086667	1.8302707	1.8523471	1.1239971	1.1213151
SC04782	integral membrane protein	5203296	5203197	0.007398737	0.7132184	253.2226	1.513931	0.4786888	0.36022447	0.7943049	0.6304788	0.2026607	0.15130392
SC04800	isobutyryl CoA mutase, small	5224492	5224908	0.0033661539	0.5721739	162.375	1.6161147	1.9361181	0.40277838	2.2897225	2.2661605	1.5303832	1.647493
SC04827	malate dehydrogenase (EC:1	5263717	525806	0.0042972424	0.6109091	188.40439	1.6751747	1.8768252	0.5022002	2.5468369	1.8511253	1.6168729	1.393466
SC04930	enoyl-CoA hydratase	5363797	5364597	0.008791406	0.7267893	274.39822	1.4514129	0.09934553	0.4575741	-0.04388885	0.779738	-0.15693007	-0.18217698
SC05049	enoyl-CoA hydratase	5364399	5364166	0.008102058	0.6961538	262.00858	1.4927652	1.5866679	0.35759383	1.673981	1.9819421	1.2156491	1.283699
SC05504	integral membrane protein	5991461	5992087	0.004344077	0.6049287	186.09762	1.5877191	1.738134	0.4213249	1.930366	2.172858	1.5801264	1.2191861
SC05576	acylphosphatase	6073850	6073931	0.003388873	0.5972645	160.38404	1.6223264	0.6835124	0.4077117	0.9322344	0.9759036	0.3297325	0.1827383
SC05639	hypothetical protein	6139225	6136765	0.009353953	0.7140367	293.1309	1.5248117	-2.3149886	0.3711653	-1.8778583	-2.1433878	-2.661027	-2.55746
SC05766	hypothetical protein	6304564	6304648	0.009502496	0.700934	286.9645	1.4691356	1.0593991	0.37693036	1.055392	1.6252267	0.7070085	0.6567501
SC05780	secreted protein	6318786	6317771	0.0066862706	0.678	214.20589	1.5527518	0.1786933	0.37200835	0.42322412	0.58874175	-0.10521917	-0.18246949
SC05867	hypothetical protein	6423417	6424001	0.0075003936	0.739125	250.57382	1.5193671	1.0225017	0.35889712	1.2992743	1.3491048	0.6486132	0.7930476
SC05875	potassium uptake protein	6431627	6430947	0.007603274	0.725	252.63888	1.5343098	1.5394244	0.3682988	1.8179646	1.8793861	1.311398	1.1493001
SC05967	hypothetical protein	6539280	6539870	0.001664534	0.4								

Continuation supplementary Table S3

Up regulated $\Delta ttds^{-} t_{OR}$ vs M145- t_{OR} and $ttds^{+} t_{OR}$ vs M145- t_{OR}

	Description	Primary 5' End	Primary 3' End strand	p-Values (Up)	q-Values (Up)	RP-Values (Up)	Fold Change	Mean	stddev	WT2	WT3	D2	D3	
										WT2	WT3	S52	S53	
SC00004	hypothetical protein	6979	7175 +	Dtts-IOR vs wt-tc: 0.0023853886 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0074050394 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0015487913 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0015641286	0.1731579 0.4655305 0.11211 0.18815365	152.36627 248.36709 110.81665 109.157136	2.88483297E-06 1.718951438E-10 9.437128072E-10 2.23905297E-10	-0.3647123 -1.3300651 -1.6031867 1.9275141	0.93045997 0.52130668 1.0672007 0.78894925	-1.680082 -1.8067491 -2.2268196 -2.2268196	-1.8067491 -1.2483513 -2.7628214 -1.8097977	0.060289458 -0.6317221 -0.9479472 -0.0073669		
SC00010	hypothetical protein	12366	13457 +	Dtts-IOR vs wt-tc: 0.00789615 ttds-IOR vs wt-tc: 0.004667632 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0026793708 ttds-IOR vs wt-tc: 5.78079E-4	0.2520662 0.4286302 0.15992366 0.10277277	258.97438 230.49399 145.51176 67.300125	2.161079052E-22 1.689459731E-22 3.674740623E-04 5.150492223E-04	-2.179184 -2.355513 -4.6974573 -4.4539237	0.6441848 0.4502366 2.416169 2.5597312	-2.694761 -2.694761 -3.8039105 -3.8039105	-2.7728274 -2.7728274 -1.0511104 -1.0511104	-1.6762758 -1.6762758 -1.8495939 -1.8495939		
SC000382	UDP-glucose/GDP-mannose f	397485	398810 +	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0025489139 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0023943074 Dts-IOR vs wt-tc: 0.001779442 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0040260903	0.15294 0.22918117 0.12401786 0.30862746	142.26681 160.2545 118.934106 179.56767	2.97526849E-06 2.004028721E-09 3.2301538001E-04 1.944680764E-10	0.9755194 0.699506 0.46854506 0.103212215	0.92159945 0.689706 0.994116 0.62840563	-0.04377789 -0.04377789 -0.9560941 -0.9560941	0.44016206 0.44016206 -1.8541845 -1.8541845	1.60707225 1.60707225 1.388415 0.8672188		
SC000393	transferase	414434	415303 +	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0050530755 ttds-IOR vs wt-tc: 0.009297864 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0013461785 ttds-IOR vs wt-tc: 2.8542422E-4	0.2305264 0.5192874 0.04942105 0.17847458	204.63458 262.3949 101.473724 101.473724	2.373664665E-10 1.667517378E-10 2.445412461E-07 2.8542422E-04	0.12116921 -1.3859792 0.1765675 0.8757152	0.72078515 0.46917874 0.17651114 0.6897809	-0.5431646 -0.5431646 -0.4616131 -0.4616131	0.74216413 0.74216413 0.74216413 1.2438441	0.74216413 0.74216413 0.74216413 2.2035984		
SC000882	hypothetical protein	725013	734639 +	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0020404204 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0007502383 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0038171083 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0014605449	0.19794872 0.4547287 0.1818978 0.18721311	129.4527 250.6594 159.06119 105.31006	3.123677205E-05 1.829703159E-08 3.446215263E-11 2.703687428E-08	0.67579395 0.28999916 1.161381 0.9863885	0.9649576 0.61951816 1.349876 1.1211971	-0.3825002 -0.3825002 -0.5991136 -0.5991136	0.09090704 0.09090704 1.386829 2.0242887	1.4953996 1.4953996 2.675467 2.0242887	1.5581875 1.5581875 1.430279 1.3893175	
SC001163	hypothetical protein	1224134	1223236 -	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0082857859 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0008248519 Dts-IOR vs wt-tc: 5.7189433E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 5.7189433E-4	0.40936232 0.07706896 0.07706896 0.07706896	271.3091 67.90529 67.90529 67.90529	1.694114679E-10 4.994486084E-10 4.994486084E-10 4.994486084E-10	0.21009289 1.838579 1.597825 1.597825	0.5660747 0.9253805 0.9253805 0.9253805	-0.7036317 -0.7036317 -0.7036317 -0.7036317	0.46858642 0.46858642 0.46858642 0.46858642	0.23944029 0.23944029 0.23944029 0.23944029		
SC01474	hypothetical protein	1574728	1575279 +	Dts-IOR vs wt-tc: 2.9799205E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0016101804 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0069410286 ttds-IOR vs wt-tc: 6.1028536E-4	0.0776667 0.12105769 0.044575 0.07682851	49.77943 113.12539 237.89066 59.97231	3.46958181E-05 3.388758997E-07 1.796816041E-07 5.0138942944E-06	1.5756987 0.3644362 -0.8221538 0.3492562	1.2803981 1.0228007 0.9393659 1.3429526	-0.2258065 -0.2258065 -0.2258065 -1.000709	1.5262688 1.2626103 1.2626103 0.9975424	2.2197967 2.2197967 0.13247772 1.3028804		
SC01626	cytochrome P450	1741561	1740005 -	Dts-IOR vs wt-tc: 5.051797E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 8.9013943E-4 Dts-IOR vs wt-tc: 5.7680014E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 0.004308556	0.102765784 0.0928 0.10488372 0.22845238	70.67654 85.370926 70.67654 201.07237	1.694114679E-10 3.982514465E-04 2.6058574E-06 2.444571568E-04	0.21009289 0.04133744 0.24802636 -0.40371174	0.5660747 1.677556 0.95238125 0.7762266	-0.7036317 -0.7036317 -0.7036317 -0.7911377	0.46858642 0.46858642 0.46858642 0.618394	0.23944029 0.23944029 0.23944029 0.3188234		
SC01629	hypothetical protein	1743058	1742651 -	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0020718763 ttds-IOR vs wt-tc: 5.5200397E-4 Dts-IOR vs wt-tc: 7.301508E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 5.7189433E-4	0.225 0.07714286 0.12979724 0.07706896	126.47616 66.85629 77.27779 68.00208	2.070267911E-05 4.821468494E-10 2.610592014E-22 4.679766125E-10	0.5239894 0.21720794 0.2253289 0.17942049	0.71891904 1.3307074 0.880756 1.293602	-0.5991136 -0.75574 -1.079482 -0.9443156	1.386829 1.606662 0.0023470 0.9352799	1.430279 1.606662 0.0023470 1.1144678		
SC01800	integral membrane protein	1744680	1743055 -	Dts-IOR vs wt-tc: 4.4506972E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 0.006666664 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0036515E-6 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0036515E-6	0.09666664 0.22845238 0.0075 0.0075	59.54314 201.07237 10.06874 170.27869	2.772160325E-04 15.401673061E-10 6.773615E-6 3.0398642	0.20429299 0.13936093 0.0075 0.3150268	0.9527655 2.3118382 0.0075 1.021784	-0.9443156 -0.1016938 -0.1016938 -0.1016938	0.9352799 0.00228193 0.6238158 0.6107072	1.0606668 1.4304246 1.4304246 1.180127		
SC01968	secreted hydrolase	2108409	2109278 +	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0023621945 ttds-IOR vs wt-tc: 5.422589E-4 Dts-IOR vs wt-tc: 0.004294667 ttds-IOR vs wt-tc: 0.008001023	0.1501626 0.106 0.2152641 0.4793994	137.13822 85.95376 187.43048 260.61002	3.912866698E-08 3.650207791E-21 3.453678586E-05 2.497734428E-02	3.2787776 1.513375 1.7471213 2.8230176	1.564941 1.939989 1.870788 1.5005599	-0.6691843 -0.6691843 -0.6691843 -0.6691843	3.8001911 3.8001911 3.8001911 3.8001911	4.088349 4.088349 4.088349 4.088349		
SC01969	DNA-methyltransferase	2109316	2109870 +	Dts-IOR vs wt-tc: 0.004294667 ttds-IOR vs wt-tc: 0.008001023 Dts-IOR vs wt-tc: 0.006800102 ttds-IOR vs wt-tc: 0.002006504	0.2152641 0.4793994 0.2645275 0.2209892	187.43048 260.61002 239.1183 124.75076	3.453678586E-05 2.497734428E-02 2.539437128E-01 2.910476787E-10	1.7471213 2.8230176 1.698874 1.638213	1.870788 1.5005599 0.970585 0.8862878	-0.6691843 -0.6691843 -0.6691843 -0.6691843	3.8001911 3.8001911 3.8001911 3.8001911	4.088349 4.088349 4.088349 4.088349		
SC02136	hypothetical protein	2363105	2363320 +	Dts-IOR vs wt-tc: 0.00180001023 ttds-IOR vs wt-tc: 0.00180001023 Dts-IOR vs wt-tc: 0.00180001023 ttds-IOR vs wt-tc: 0.00180001023	0.2152641 0.4793994 0.2152641 0.4793994	187.43048 260.61002 239.1183 124.75076	3.453678586E-05 2.497734428E-02 2.539437128E-01 2.910476787E-10	1.7471213 2.8230176 1.698874 1.638213	1.870788 1.5005599 0.970585 0.8862878	-0.6691843 -0.6691843 -0.6691843 -0.6691843	3.8001911 3.8001911 3.8001911 3.8001911	4.088349 4.088349 4.088349 4.088349		
SC02286	alkaline phosphatase	2457821	2461645 -	Dts-IOR vs wt-tc: 0.006525131 ttds-IOR vs wt-tc: 1.3497231E-4 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0015117022 ttds-IOR vs wt-tc: 0.00943471	0.25767678 0.00944499 0.12185667 0.5239195	234.41447 85.93994 109.08697 284.78509	3.094767231E-11 4.129787891E-09 3.4361225405E-08 1.767091099E-04	1.7815173 1.2121216 0.8894175 0.40992483	1.5286272 1.870788 1.032452 0.614889	-0.3560173 -0.3560173 -0.3560173 -0.74557275	2.2629849 2.2629849 2.2629849 2.0730061	1.8975555 1.8975555 1.8975555 1.8975555		
SC02302	hypothetical protein	2471382	2472050 +	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0093121371 ttds-IOR vs wt-tc: 8.361452E-4 Dts-IOR vs wt-tc: 8.361452E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 8.361452E-4	0.31287072 0.1306 0.0912867 0.0912867	281.12128 78.66562 88.8719 88.8719	2.726636156E-11 3.064152631E-08 3.99864543E-06 3.99864543E-06	1.9506743 2.0348573 0.6010289 0.6010289	1.319475 1.564941 1.1604399 1.1604399	-0.2238647 -0.2238647 -0.6691843 -0.6691843	3.8202347 3.8202347 3.8202347 3.8202347	4.07036 4.07036 4.07036 4.07036		
SC02311	indoleglycerol phosphate syn	3512176	3520900 +	Dts-IOR vs wt-tc: 1.3428826E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 8.809439E-4 Dts-IOR vs wt-tc: 1.3428826E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 0.006284691	0.095675 0.26526158 0.26526158 0.2532897	89.78588 41.66344 41.66344 229.77312	3.886570200E-06 3.546339864E-01 2.297125344E-10 2.192824101E-10	0.0675111 0.1597425 0.1597425 0.19302174	1.376425 1.7898979 1.7898979 0.669435	-1.0561646 -1.0561646 -1.0561646 -0.9306245	0.9791309 0.9791309 0.9791309 0.5978712	0.99570394 0.99570394 0.99570394 0.44654088		
SC02313	anthranilate synthase compo	3523299	3522697 -	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0017815578 ttds-IOR vs wt-tc: 3.3554413E-4 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0045224176 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0045224176	0.12374394 0.086875 0.22289394 0.1930537	119.06296 53.8679 193.0537 133.51855	3.196824405E-04 2.467004462E-03 2.3677306221E-10 6.561317611E-10	0.2470763 0.2357964 0.19812836 0.1252129	0.999716 0.7838984 0.720636 1.6030207	-0.6424097 -0.6424097 -0.4292832 -0.67789	1.3807072 0.8940638 0.4233632 0.9399376	1.3807072 0.8940638 0.4233632 1.103545	0.7897991 0.8940638 0.8919245 1.1941316	
SC02314	anthranilate synthase compo	3524831	3523296 -	Dts-IOR vs wt-tc: 0.0045224176 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0045224176 Dts-IOR vs wt-tc: 2.5322931E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 2.5322931E-4	0.22289394 0.1930537 0.050769232 0.022	133.51855 133.51855 46.50463 15.842916	2.467004462E-03 2.3677306221E-10 6.561317611E-10 5.404672707E-03	0.2357964 0.19812836 0.1252129 0.3952394	0.7838984 0.720636 1.6030207 1.4890001	-0.6424097 -0.6424097 -0.6424097 -0.67789	0.8940638 0.4233632 0.9399376 1.103545	0.8940638 0.4233632 1.103545 1.1941316	0.8919245 1.1941316 1.1941316 2.274495	
SC02318	hypothetical protein	3531485	3531250 -	Dts-IOR vs wt-tc: 0.001519376 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0 ttds-IOR vs wt-tc: 0.0	0.1916129 0.0 0.0 0.0	107.7979 0 0 0	2.429614981E-10 3.6629416 2.128520203E-10 14.665319801E-08	1.0673093 0.1589102 2.589192 2.289473	0.9188686 0.9398132 0.9798517 0.9798517	-0.67789 -0.67789 -0.67789 -0.67789	1.1941316 1.1941316 1.1941316 1.1941316	2.210613 2.210613 2.210613 2.210613		
SC02320	secreted protein	3533939	3532971 -	Dts-IOR vs wt-tc: 5.806369E-4 ttds-IOR vs wt-tc: 0.02207692 Dts-IOR vs wt-tc: 0.0017815578 ttds-IOR vs wt-tc: 3.3554413E-4	0.07442623 0.02207692 0.12374394 0.086875	68.7513 20.02028 119.06296 53.8679	4.620037490E-08 4.710200439E-08 3.196824405E-04 2.467004462E-03	0.8312305 0.84517276 0.2470763 0.2357964	1.282253 1.2912076 0.999716 0.7838984	-0.3099864 -0.3099864 -0.6424097 -0.6424097	0.2854988 0.2854988 1.3807072 0.8940638	1.008621 1.008621 1.3807072 0.8940638	1.7695301 1.955269 0.7897991 0.8940638	
SC02321	prephenate dehydrogenase {	3534946	3534942 -	Dts-IOR vs wt-tc: 0.001519376 ttds-IOR vs wt-tc: 0.001519376 Dts-IOR vs wt-tc: 0.001519376 ttds-IOR vs wt-tc: 0.001519376	0.1916129 0.1916129 0.1916129 0.1916129	107.7979 107.7979 107.7979 107.7979	2.429614981E-10 3.6629416 2.128520203E-10 14.665319801E-08	1.0673093 0.1589102 2.589192 2.289473	0.9188686 0.9398132 0.9798517 0.9798517	-0.67789 -0.67789 -0.67789 -0.67789	1.1941316 1.1941316 1.1			

Continuation supplementary Table S3

SC03235	ABC transporter	3687647	3688300	td89-1OR vs wt-1: 0.0035157949	0.29880434	166.044	2.349114993E-011680162	1.0136594	-0.6455719	-0.35294229	-0.13937436	1.6059049
SC03236	oxygenase	3688688	3687887	td89-1OR vs wt-2: 2.5093722E-4	0.04756757	44.134088	6.626136798E-04928452	1.5760689	-0.916903	-0.8255746	1.3064696	1.8073889
SC03237	hypothetical protein	3690134	3688746	td89-1OR vs wt-3: 4.9483822E-5	0.20428715	20.86962	4.523979630E-021746176	1.2801396	-0.916903	-0.8255746	1.013382	1.598428
SC03238	hypothetical protein	3691306	3690146	td89-1OR vs wt-4: 2.3002048E-5	0.01287143	14.738566	1.311105294E-010920255	2.1597238	-1.0649115	-0.46369183	0.0861124	2.8285928
SC03239	hypothetical protein	3692182	3691319	td89-1OR vs wt-5: 6.3946795E-6	0.008393394	7.08168	9.029148000E-062522684	1.8621398	-1.0649115	-0.46369183	2.174384	2.6551266
SC03240	hypothetical protein	3692889	3692179	td89-1OR vs wt-6: 0.00072248	0.21395974	181.72099	2.505485918E-06226884	0.7664224	-1.2525267	-1.3861496	0.00028689	0.049650739
SC03241	putative isomerase	3693758	3692886	td89-1OR vs wt-7: 8.526663E-4	0.15254545	90.22609	2.234927479E-073222106	0.7003253	-1.2525267	-1.3504386	-0.8692402	0.11361051
SC03242	putative transferase	3694630	3693755	td89-1OR vs wt-8: 1.7852663E-4	0.12791666	170.33044	2.585446151E-0115591205	0.7919411	-0.8650334	-0.8172056	0.5634679	0.4851197
SC03243	myo-inositol phosphate synt	3695793	3694627	td89-1OR vs wt-9: 7.5521155E-5	0.00025	77.68416	2.326892265E-02319174	0.7169786	-0.8650334	-0.7102361	0.5997463	0.5453951
SC03244	secreted protein	3696640	3695843	td89-1OR vs wt-10: 4.948382E-4	0.00025	61.9538	4.943243853E-02285006	1.3227127	-1.3047051	-1.464603	0.0003006	0.8060676
SC03245	3-oxoacyl-(acyl carrier protei	3699009	3698017	td89-1OR vs wt-11: 3.2229186E-4	0.08129032	24.236183	4.243691434E-0629242	1.2359092	-1.3047051	-1.464603	0.34747615	1.011952
SC03246	3-oxoacyl-(acyl carrier protei	3699008	3699006	td89-1OR vs wt-12: 1.9416678E-4	0.05584634	267.05785	4.507842178E-056114936	1.2577848	-0.6397368	-0.4169908	1.0367512	1.6859513
SC03247	3-oxoacyl-(acyl carrier protei	3699007	3699006	td89-1OR vs wt-13: 3.9931225E-4	0.069444446	56.08177	5.459495009E-077036574	0.84892243	-0.6973887	-0.59308822	1.2221383	1.6769469
SC03248	3-oxoacyl-(acyl carrier protei	3699006	3699006	td89-1OR vs wt-14: 3.5810204E-5	0.023393333	19.75554	4.8643986015E-06238574	1.3630405	-0.856134	-0.50308822	1.6741618	1.9730313
SC03249	acyl carrier protein	3699005	3699005	td89-1OR vs wt-15: 1.1713794E-4	0.006666667	5.397892	5.753266505E-1574045	1.5043002	-1.23327255	0.735745	2.368039	2.6731312
SC03323	RNA polymerase sigma facto	3675442	3675975	td89-1OR vs wt-16: 1.38892E-5	0.015	22.533	1.073300221E-1474365	1.991888	-0.4553627	-0.0190999	2.9020625	3.8917718
SC03328	hypothetical protein	3680268	3680265	td89-1OR vs wt-17: 0.004245094	0.21545455	185.76219	2.613942881E-16678	0.8063394	3.190063	3.8382497	4.994255	4.7286361
SC03384	DNA-binding protein	4192477	4193454	td89-1OR vs wt-18: 0.003730506	0.304375	171.32823	1.970164071E-396284	0.6506016	3.190063	3.8382497	4.6034945	4.2984695
SC04335	hypothetical protein	4750677	4750439	td89-1OR vs wt-19: 3.4831273E-4	0.12494113	117.669	3.941314256E-050636359	0.9805956	-0.6941533	-0.9340434	0.943237	0.8472736
SC04347	hypothetical protein	4761673	4761245	td89-1OR vs wt-20: 3.345352E-4	0.07886793	65.85045	2.178897675E-02538943	0.861944	-0.6941533	-0.9340434	-0.3285664	0.9778007
SC04348	hypothetical protein	4763841	4761670	td89-1OR vs wt-21: 0.0028776058	0.2743025	143.18262	2.181647077E-1694342	0.8385884	-1.24784	-2.360566	-1.7717878	-0.49178296
SC04349	hypothetical protein	4765553	4763838	td89-1OR vs wt-22: 0.004183399	0.1218813	105.8454	3.487039447E-02462507	0.9034792	-0.941622	-1.3531446	0.4798904	0.8284055
SC04350	integrase	4766925	4765553	td89-1OR vs wt-23: 5.345352E-4	0.07886793	65.85045	3.269157110E-051683986	1.1631706	-1.2299254	-0.375287	0.2844025	1.530038
SC04442	hypothetical protein	4846861	4848472	td89-1OR vs wt-24: 0.005659125	0.3661111	202.76752	4.857275736E-14746	1.2888732	-2.14784	-2.360566	-1.6772728	0.09178814
SC04675	hypothetical protein	5107239	5106331	td89-1OR vs wt-25: 1.2174191E-5	0.01898824	14.838042	4.230521810E-027637948	1.240524	-1.24836	-1.3787466	0.6760206	0.8514679
SC04677	regulatory protein	5108811	5108377	td89-1OR vs wt-26: 0.0030328234	0.14618644	132.8117	2.059373381E-02538943	0.861944	-0.6941533	-0.9340434	-0.3285664	0.9778007
SC04768	two-component regulator	5179727	5180338	td89-1OR vs wt-27: 0.0033835E-5	0.036111113	27.987373	3.946745769E-0119474	1.2038399	-1.0269485	-0.8113267	0.957064	1.5279467
SC04920	Deak family transcriptional r	5384229	5385182	td89-1OR vs wt-28: 1.1741911E-5	0.01698889	203.07584	4.642783322E-16693883	1.3041829	0.2871314	0.831851	2.6139445	2.9296222
SC04947	nitrate reductase alpha chain	5381148	5384831	td89-1OR vs wt-29: 0.0012009039	0.11047036	98.19477	3.712703635E-08073038	1.066111	-1.1971548	-0.8543965	0.985301	0.7478413
SC05101	hypothetical protein	5542208	5542899	td89-1OR vs wt-30: 0.003859287	0.2503631	177.02586	4.120397948E-0874073	1.28462	2.2093256	3.4971385	0.502841	4.7683268
SC05174	transferase	5621465	5623244	td89-1OR vs wt-31: 0.0010253634	0.14612944	203.07584	1.971785840E-1049248	0.689705	0.2871314	0.831851	1.12821	1.9484979
SC05249	nucleotide-binding protein	5902964	5711030	td89-1OR vs wt-32: 0.0010053636	0.10158366	92.79908	8.834167846E-020173078	1.1273857	-1.2038489	-1.1341446	0.19432013	0.9271406
SC05389	hypothetical protein	5858397	5858789	td89-1OR vs wt-33: 0.004368845	0.23846153	187.3961	1.973826266E-06807363	0.6980503	-1.2038489	-1.1341446	-0.6892225	0.3006284
SC05582	regulator	6084219	6085721	td89-1OR vs wt-34: 0.001154737	0.1903651	95.52601	3.768077594E-15746683	1.1411601	0.2793162	0.9561889	2.61787	2.445204
SC06248	gamma-butyrolactone bindin	6891175	6890528	td89-1OR vs wt-35: 0.003912205	0.3059	175.34188	2.198389734E-11895754	0.74270743	0.2793162	0.9561889	1.4451014	2.0132678
SC06266	ScbA protein	6891293	6892237	td89-1OR vs wt-36: 4.0670164E-4	0.069130436	57.094235	5.463809682E-1269536	1.6174178	-0.19759026	0.2815468	1.579001	3.4425968
SC06267	hypothetical protein	6892363	6893207	td89-1OR vs wt-37: 1.7961025E-5	0.2804613	175.34188	5.674078671E-2941662	1.869945	-0.19759026	0.2815468	1.579001	3.4425968
SC06280	regulatory protein	6938012	6939643	td89-1OR vs wt-38: 0.0011547061	0.14666666	104.13003	2.857176120E-02538943	0.861944	-0.19759026	0.2815468	1.579001	3.4425968
SC06323	TetK family transcriptional r	6983887	6983231	td89-1OR vs wt-39: 1.422888E-4	0.106	65.72671	3.818916501E-10232147	1.69236	-0.1131861	0.2241443	0.9459297	3.484028
SC06794	membrane protein	7555369	7557321	td89-1OR vs wt-40: 0.005877926	0.23661202	214.30888	2.907366874E-1231087	0.7196888	-1.6670073	-2.0041436	-0.5847656	-0.7204511
SC06795	hypothetical protein	7557438	7557872	td89-1OR vs wt-41: 3.233917E-4	0.14156863	83.40386	4.120397948E-0874073	1.28462	2.2093256	3.4971385	0.502841	4.7683268
SC06796	ATP/GTP binding protein	7558302	7558856	td89-1OR vs wt-42: 0.004368845	0.23846153	187.3961	1.973826266E-06807363	0.6980503	-1.2038489	-1.1341446	-0.6892225	0.3006284
SC06798	hypothetical protein	7558853	7559428	td89-1OR vs wt-43: 1.6139884E-4	0.08575576	53.70122	2.85132038E-012851962	0.9487174	-0.6245097	-0.59308822	1.4032092	1.3975705
SC07251	hypothetical protein	8061733	8060696	td89-1OR vs wt-44: 0.0010053636	0.10158366	92.79908	8.834167846E-020173078	1.1273857	-1.2038489	-1.1341446	-0.6892225	0.3006284
SC07252	regulatory protein	8062135	8063843	td89-1OR vs wt-45: 2.180584E-4	0.0762564	64.44718	4.975912848E-1482026	1.38916	-0.8366316	-0.7328877	1.3113531	1.9169788
SC07717	secreted protein	8552420	8552007	td89-1OR vs wt-46: 3.8368075E-6	0.0060	6.4021716	2.69363892E-1039889	0.90075815	-0.8366316	-0.7328877	1.3113531	1.9169788
SC07837	membrane protein	8651142	8654051	td89-1OR vs wt-47: 0.007282135	0.274662	247.11371	1.679563766E-036941845	0.7824303	-0.2486159	-0.381394	1.205774	0.8368564
SC07842	transposase	8660321	8663201	td89-1OR vs wt-48: 0.006846144	0.1428267	80.72826	1.63704976E-23880238	0.7343687	-0.2486159	-0.381394	1.205774	0.8368564
SC07843	hypothetical protein	8661282	8660385	td89-1OR vs wt-49: 0.0017419107	0.12494113	117.669	3.941314256E-050636359	0.9805956	-0.6941533	-0.9340434	-0.3285664	0.9778007

Supplementary Table S4 Quantitative data from MeV-Rank product output of all genes with differential expression between mutants and M145 at stationary phase of growth in all *S. coelicolor* identified transcripts.

Supplemental Table S4. Quantitative data from MeV-Rank product output of all genes with differential expression between mutants and M145 at stationary growth phase in all *S. coelicolor* identified transcripts.

Up regulated Δ ttt8- t_{56-77h} vs M145- t_{7h}

Description	Primary 5' E	Primary 3' E	strand	p-Values (Up)	q-Values (Up)	RP-Values (Up)	Fold Change	Mean	std.dev	D2_5	D1_5	WT2_5	WT1_5	
SC00010	hypothetical protein	12366	13457	+	0.99569	1.0142266	7691.6914	1.8724055	-1.2905227	0.53410065	-0.96943545	-0.70671695	-1.7079784	-1.77796
SC00038	sigma factor	31274	31146	-	0.9991073	1.0211791	7631.3027	1.6917949	2.0968647	0.44932225	2.3784504	2.579834	1.7923499	1.642829
SC00168	regulator protein	158732	159304	+	0.9997544	1.0106115	7727.5107	2.1302447	1.985792	0.6679341	1.7897784	2.0788248	1.0671706	0.61339426
SC00177	membrane protein SC126	160593	166514	+	0.9993375	1.0106102	7657.5513	1.806495	0.47179062	0.52017975	0.7239062	1.0723487	0.1542265	-0.063539006
SC00284	LuxR family two-component	195461	184760	+	0.9994045	1.0101615	7675.2544	2.010203	1.7821669	0.5704863	2.1790264	2.1980786	1.6618204	0.89345197
SC00209	hypothetical protein	200024	200428	+	0.999592	1.0062279	7764.2446	2.2470524	1.8955288	0.6786878	2.411203	2.5378887	1.8871768	1.2358454
SC00242	hypothetical protein	231022	231465	+	0.99879513	1.0250866	7954.028	1.632904	0.17628546	0.4240846	0.41247854	0.64753234	-0.11078149	-0.25208758
SC00268	hypothetical protein	256281	256442	+	0.99963295	1.0131083	7702.4816	1.8953476	3.1755147	0.53678143	3.6793518	3.9999398	2.876721	2.640846
SC00374	ABC transport protein	387750	389519	+	0.9984256	1.0266557	7568.4854	1.560886	0.02393117	0.37105277	0.332452	0.35669944	-0.03523134	-0.2902576
SC00381	glycosyl transferase	395939	397414	+	0.99917126	1.0200444	7637.984	1.6748934	2.0524952	0.42982024	2.420708	2.4283516	1.6636062	1.6971623
SC00382	UDP-glucose/GDP-mannose	397485	398810	+	0.9983451	1.0271132	7561.946	1.5525694	2.2171235	0.3666484	2.547347	2.521558	1.9093159	1.8905735
SC00383	hypothetical protein	398881	400104	+	0.9988886	1.0237659	7607.7225	1.6184644	1.6292226	0.4011218	1.9704154	1.9825555	1.2690042	1.2948154
SC00409	spore-associated protein pr	429956	429492	-	0.9992595	1.019602	7647.1959	1.7267232	3.446255	0.4646164	3.9540208	3.7269847	3.0323613	3.0726523
SC00494	iron-siderophore binding lip	527898	526786	+	0.9990587	1.0213964	7624.689	1.6720264	3.2297144	0.43520537	3.6320416	3.5089895	2.8316293	2.886202
SC00499	peptidomonoxygenase	532325	530370	+	0.9971617	1.0353007	7482.3525	1.5239477	1.7898679	0.37372997	2.1930342	1.9945151	1.3837318	1.6081306
SC00584	cytochrome P450	627631	626369	+	0.9997762	1.0102416	7730.741	2.010678	0.13884357	0.5852880	0.58647555	0.7014456	-0.3925139	-0.3396203
SC00585	ATP/GTP binding protein	628164	627628	-	0.9995951	1.0044553	7809.998	2.4454675	0.59801763	0.7457944	1.2160705	1.2700582	-0.009707014	-0.0843623
SC00586	hypothetical protein	628588	628247	+	0.99897426	1.0223796	7616.809	1.6685987	-0.19832004	0.4841343	0.13197339	0.20881751	-0.660113	-0.47637007
SC00587	hypothetical protein	629058	628600	+	0.9981724	1.0286951	7548.312	1.5422229	0.002376169	0.36647567	0.23941857	0.39034498	-0.2899554	-0.3316347
SC00588	sensor kinase	630912	629185	-	0.99965465	1.0126053	7708.7295	1.9165417	0.8778803	0.548518	1.2461722	1.44811	0.38186008	0.4519111
SC00644	membrane protein	687444	685288	+	0.9996668	1.0036893	7678.4985	2.5415595	1.2573714	0.77829516	1.894360	1.9610256	0.6313654	0.576728
SC00671	hypothetical protein	711633	711379	+	0.99785525	1.0310863	7527.1562	1.5159885	-0.44547894	0.34882078	-0.08488253	-0.20410219	-0.7292355	-0.75567995
SC00673	hypothetical protein	712736	712209	+	0.9989759	1.0074781	7572.498	2.1500046	1.6356573	0.611867	2.113709	2.2614957	1.1209552	1.0460198
SC00682	hypothetical protein	725013	724639	-	0.9996036	1.0040636	7781.742	2.4860992	3.1385667	0.7664594	3.650753	3.9370751	2.5248718	2.4165674
SC00683	hypothetical protein	725580	725056	+	0.9996229	1.0039432	7783.9995	2.5088025	1.2469982	0.76943046	1.8303679	1.9906798	0.6143344	0.55051786
SC00684	hypothetical protein	725995	725510	+	0.9992476	1.0089988	7741.742	2.0814969	0.84208893	0.61471615	1.2842898	1.4574466	0.30422778	0.22244806
SC00685	hypothetical protein	726808	726401	+	0.99895933	1.0077211	7749.9005	2.161714	2.1798854	0.64312736	2.7468223	2.7251234	1.6669726	1.6666224
SC00725	hypothetical protein	795688	770065	+	0.9989837	1.0239832	7603.718	1.6107414	0.44770335	0.39717169	0.9381554	0.8938161	0.3317495	0.2758874
SC00752	protease precursor	796002	794689	-	0.998707	1.025327	7591.881	1.6003705	1.0380121	0.3962305	1.3607215	1.5053087	0.7421918	0.7602454
SC00924	cytochrome b subunit	871320	870589	+	0.99881925	1.0312268	7611.3467	1.6404755	-0.91446489	0.42006144	-0.64177775	-0.47037075	-1.2207314	-1.322312
SC00930	lipoprotein	978444	977491	-	0.9996939	1.0034349	7787.248	2.305532	0.78312695	2.980799	2.9861064	1.6553863	1.9589858	
SC00943	hypothetical protein	988826	989341	+	0.99873644	1.0249534	7594.3174	1.6097912	1.5649782	0.4035809	1.8194456	1.9973843	1.2011458	1.241937
SC00944	hypothetical protein	989560	990210	+	0.9987339	1.0251199	7593.9717	1.5983949	0.9531871	0.39145023	1.2729584	1.310527	0.8589905	0.63067245
SC00991	hypothetical protein	1046251	1047414	+	0.9980944	1.0291578	7543.7085	1.5318301	0.6182155	0.356003	0.4485362	0.4903704	-0.16579901	-0.1295186
SC00992	cysteine synthase	1047111	1048133	+	0.9998145	1.0091068	7738.736	2.07075	-0.663495	0.6123863	-0.23618132	-0.04059322	-1.2278173	-1.492076
SC00994	integral membrane protein	1049361	1050626	+	0.9989308	1.0228707	7611.476	1.6217653	0.16268986	0.40406132	0.48807302	0.5348598	-0.15365502	-0.21854272
SC00995	methyltransferase	1050595	1051344	+	0.9995536	1.0148695	7688.7026	1.8283916	-0.00177394	0.5034308	0.46773962	0.39928948	-0.44533476	-0.4305871
SC01030	hypothetical protein	1097803	1098321	+	0.9993508	1.0193273	7657.676	1.724634	0.3000483	0.46235486	0.5386556	0.8475332	-0.010368049	-0.07150755
SC01121	secreted protein	1179994	1179844	+	0.9995181	1.0063535	7763.999	2.2623932	0.35192726	0.68176514	0.79099786	0.8907605	-0.30481804	-0.3654747
SC01139	integral membrane protein	1197776	1198321	+	0.99851006	1.0274027	7575.833	1.577820	-0.11077378	0.3854741	0.31978393	0.29660636	-0.42253843	-0.45364929
SC01157	ATP/GTP binding protein	1217655	1217041	+	0.9993682	1.0185167	7667.7446	1.7399182	0.079426624	0.6155538	0.46751857	0.4903542	-0.33484823	-0.3051803
SC01158	hypothetical protein	1218137	1217724	+	0.9987516	1.0245657	7595.416	1.6093328	0.26907486	0.39424059	0.6156687	0.6035549	-0.0567962	-0.037244614
SC01159	hypothetical protein	1218599	1218156	+	0.99916357	1.020303	7637.4927	1.6714098	0.35481003	0.42929196	0.68299252	0.76763036	-0.023137545	-0.088037161
SC01160	hypothetical protein	1221178	1218590	+	0.9994066	1.0182903	7667.2344	1.7716906	0.35311672	0.48047295	0.69032687	0.8410334	-0.045800544	-0.070932684
SC01161	integral membrane protein	1221975	1221241	+	0.9990284	1.0065572	7798.739	2.209472	0.5974014	0.66878486	1.0393182	1.2991862	0.025144607	0.02955656
SC01163	hypothetical protein	1224134	1223235	+	0.9994117	1.017765	7667.97	1.7733179	0.15747416	0.48278782	0.4807454	0.6065407	-0.25089946	-0.2603046
SC01195	hypothetical protein	1267515	1267321	+	0.998808	1.0242203	7599.9834	1.6274404	0.7895257	0.40917377	1.1727742	1.0444864	0.45113095	0.36551143
SC01196	secreted protein	1268493	1267630	+	0.9998389	1.0087407	7744.68	2.1689908	0.85028195	0.65113357	1.510539	1.3063949	0.33368507	0.24990866
SC01240	hypothetical protein	1313640	1313120	+	0.999552	1.019602	7647.4976	1.719192	0.3525159	0.4601794	0.6017044	0.6301455	-0.03101252	-0.03718643
SC01276	RNA polymerase ECF sigma	1386693	1347289	+	0.9982031	1.0280492	7550.617	1.5406549	-1.3237992	0.36115274	-0.9368994	-1.0273962	-1.6677026	-1.6801125
SC01356	iron sulphur protein (secret)	1434218	1434715	+	0.9995523	1.0154977	7684.718	1.8164704	0.604997	0.49768057	1.0556325	1.0155057	-0.1593977	-0.19209399
SC01357	hypothetical protein	1434718	1435179	+	0.9998491	1.0083606	7646.727	2.1359146	1.1321148	0.6329677	1.7152163	1.4386765	0.6033152	0.5666005
SC01474	hypothetical protein	1574728	1575279	+	0.999789	1.0097326	7733.75	2.0362775	0.37711382	0.5941567	0.8362003	0.9489615	-0.11868848	-0.1548018
SC01507	integral membrane protein	1612032	1611310	+	0.99818265	1.0282991	7545.1777	1.5412204	1.2129729	0.36406097	1.5882087	1.4618104	0.8918932	0.9100335
SC01533	hypothetical protein	1640971	1640405	+	0.9997531	1.0107409	7726.703	2.0138788	-0.5927584	0.5952703	-0.23429732	0.058757246	-1.0929178	-1.023758
SC01541	regulator	1650311	1650790	+	0.9981673	1.0288255	7547.9155	1.586872	0.5627018	0.4078813	0.78033945	1.0612559	0.2347958	0.2246211
SC01571	hypothetical protein	1681979	1682566	+	0.99873644	1.0249534	7594.227	1.5990552	0.8483125	0.39259017	1.1435964	1.2302458	0.1023499	0.04067797
SC01573	oxidoreductase membrane	1683419	1684756	+	0.9996125	1.013613	7698.982	1.8901097	0.06249082	0.53613895	0.4279939	0.6158724	-0.41939744	-0.39043127
SC01626	cytochrome P450	1741561	1740009	+	0.9999795	1.0031871	7792.7495	2.6798012	1.455295	0.2808204	2.1062259	2.2232566	0.7229664	0.76873153
SC01627	ATP-GTP binding protein	1742167	1741637	+	1.0	1.0012805	7810.25	3.811301	0.9846458	1.0018424	1.7348198	1.9624912	0.1317575	0.0977463
SC01628	hypothetical protein	1742654	1742238	+	0.9999578	1.0047121	7778.248	2.4872041	0.2350395	0.7373389	0.8934782	1.029394	-0.33232505	-0.2933393
SC01629	hypothetical protein	1743058	1742451	+	0.9995527	1.0050459	7773.7914	2.407725	1.1379268	0.745				

Continuation supplementary Table S4

SC02495	hypothetical protein		+	0.99943984	1.0171313	7672.9946	1.7800793	0.15088926	0.4811717	0.5306396	0.60307956	-0.29158866	-0.23057848
SC02512	hypothetical protein	2709370	2709164	-	0.9987953	1.0243416	7598.6846	1.6015353	-0.84524574	0.3953067	-0.55493563	-0.45210028	-1.1525211
SC02513	hypothetical protein	2709485	2710118	-	0.9996854	1.0115588	7714.2573	2.0060956	1.3912877	0.602485	0.2852528	1.7017131	0.946113
SC02529	metalloproteinase	2725295	2724600	-	0.9985356	1.0258244	7577.655	1.6202201	-0.12072644	0.42145053	0.081002936	0.37973403	-0.41717046
SC02529	metalloproteinase	2727564	2728634	+	0.99825805	1.0274292	7554.4946	1.5441061	0.46952404	0.36244476	0.75185436	0.80196565	0.15019657
SC02560	hypothetical protein	2762177	2759799	-	0.99976337	1.01049	7728.2363	2.0052376	0.52736706	0.5857307	0.9257082	1.132719	0.013805739
SC02572	integral membrane protein	2778973	2780259	+	0.9998044	1.009357	7736.6797	2.101633	0.54003817	0.6390404	0.87983817	1.2717489	-0.005344926
SC02658	secreted sugar-binding protein			+	0.9994999	1.0161345	7681.4434	1.8346903	-1.8730797	0.51578194	-1.0599407	-0.8106821	-0.7856177
SC02660	sugar transport membrane	2891886	2892797	+	0.99823767	1.027814	7557.2744	1.6263964	-1.6413232	0.48611887	-1.3768361	-1.2041312	-1.1071121
SC02699	small membrane protein	2943092	2943364	+	0.99894613	1.026185	7611.8545	1.641461	1.5269754	0.41594607	0.1879477	1.1705689	1.2314408
SC02703	hypothetical protein	2945917	2945615	-	0.99795115	1.0305045	7534.065	1.524024	-1.1049293	0.3538956	-0.444207	-1.4443809	-1.3797634
SC02785	hypothetical protein	2947370	2947104	-	0.9980405	1.0236279	7538.882	1.5337164	0.8075677	0.3644453	1.040646	1.13852027	0.36239606
SC02716	secreted protein			-	0.99874926	1.0246375	7595.1987	1.5999345	-0.70572114	0.392353	-0.36585638	-0.36757314	-1.0090274
SC02717	small membrane protein	2961331	2961104	-	0.9999795	1.0031871	7793.4985	2.6692498	1.7411517	0.81793505	2.4303708	2.4683673	1.0376666
SC02788	monoxygenase	3037106	3038347	+	0.9983451	1.027112	7561.5935	1.5823032	-0.6712345	0.39540285	-0.2585951	-0.421848	-1.0955913
SC02804	hypothetical protein	3061961	3061566	+	0.9992173	1.019692	7642.7324	1.694932	1.0213379	0.44251892	1.3987668	1.4651363	0.637815
SC02805	hypothetical protein	3062230	3063669	+	0.99988599	1.0026789	7795.249	2.7003791	0.6077343	0.8276494	1.3013388	1.3472917	-0.10797499
SC02819	hypothetical protein	3079803	3079189	-	0.9999322	1.0057204	7767.748	2.305092	1.8995063	0.69810975	2.4318292	2.572008	1.279139
SC02864	hypothetical protein			-	0.9990702	1.0212747	7626.5	1.6755239	3.6096174	0.48661144	4.0478487	3.9039984	3.2809714
SC02905	hypothetical protein	3157540	3157315	-	0.99951270	1.0175712	7600.2275	1.0243955	-0.02523100	0.6005940	0.3674525	0.44076007	-0.5601451
SC02927	4-Hydroxyphenylpyruvate di	3179765	3178620	-	0.47022638	1.1299016	3224.1125	2.3941575	0.7476308	1.3786266	2.0065727	-0.08849919	0.22530006
SC02953	hypothetical protein	3211094	3211386	-	0.999711	1.011483	7718.4844	1.9548048	1.32579	0.5591785	1.7329946	1.9250929	0.8078284
SC02954	RNA polymerase sigma fact	3212730	3212154	-	0.9999499	1.0017896	7883.26	3.0224589	2.311411	0.9221923	3.0677798	3.1501647	1.4857761
SC02961	integral membrane protein	3201178	3218973	-	0.9999424	1.0095427	7770.237	2.338947	-0.34063122	0.70875573	0.91501684	0.22957991	-0.7121163
SC02962	bi-functional transferase/de	3225250	3220316	-	0.99915075	1.0204232	7636.115	1.6852177	0.059160054	0.4963958	0.48572436	0.3855308	-0.33897784
SC02976	hypothetical protein	3244444	3240815	-	1.0	1.0012805	7801.7495	3.3545265	1.8387984	1.0140681	2.5777006	2.8460052	0.9732477
SC02977	hypothetical protein	3241532	3242731	+	0.9983579	1.0268561	7563.3806	1.5617492	-0.25454587	0.37639097	-0.0076489	0.14175595	-0.5767905
SC03108	hypothetical protein	3404444	3404641	+	0.99958813	1.0139829	7695.152	1.864279	1.4470351	0.52365774	1.9750946	1.9122554	0.9951959
SC03112	hypothetical protein			-	0.9994552	1.0166177	7674.247	1.7898827	1.2723536	0.48292547	1.6545431	1.732275	0.8637557
SC03113	hypothetical protein			+	0.999788	1.010115	7713.979	2.0357704	3.177015	0.5994645	3.5887382	3.782708	2.6101847
SC03134	two-component system rnf	3435441	3434985	-	0.99860466	1.0254912	7583.1777	1.5807284	0.9351995	0.8818803	1.2789654	1.2526231	0.88483523
SC03155	hypothetical protein	3501532	3502212	+	0.9979997	1.000106	7597.1924	1.5257102	1.2599205	0.3592106	1.5466762	1.5826095	0.91233814
SC03196	fructose-specific permease	3504346	3502247	-	0.9998985	1.0024244	7798.4985	2.8978644	1.2125551	0.87649865	1.6931402	2.0967717	0.5013477
SC03197	1-phosphofruktokinase	3505421	3504674	-	0.9997975	1.0031871	7797.749	2.679701	0.903808	0.9250557	1.5980158	1.7902324	0.22935112
SC03198	Death family transcriptional	3506179	3505418	-	0.9998985	1.0024244	7798.25	2.7866887	0.63040384	0.8584625	1.3188711	1.5260035	-0.050505426
SC03258	regulatory protein	3606776	3608420	-	0.9982031	1.0280492	7550.551	1.56845	-1.1553624	0.3905832	-0.961993	-0.70029193	-1.4482895
SC03288	integral membrane protein	3636856	3637587	+	0.9998975	1.0021687	7799.7485	2.8540072	0.6808482	0.8801983	1.3118881	1.5627974	-0.03023251
SC03289	large membrane protein	3637594	3639204	+	1.0	1.0012805	7809.749	3.3017292	-0.17729315	1.001854	0.5452078	0.82342774	-1.000579
SC03290	hypothetical protein	3639201	3639950	+	1.0	1.0012805	7815.0	3.703538	1.0897909	1.093338	1.9484524	2.1383934	0.16364254
SC03323	RNA polymerase sigma fact	3675442	3675975	+	1.0	1.0012805	7810.4995	3.8652954	2.990542	1.011575	3.8860104	3.8458007	2.1597655
SC03350	hypothetical protein			-	0.99921346	1.0198212	7642.487	1.681722	-0.31584698	0.48300226	0.6385216	0.054939254	-0.8971901
SC03365	hypothetical protein	3732356	3732244	-	0.99988616	1.0072289	7754.9927	2.189504	1.3868217	0.658993	0.60082	0.8071483	-0.3872103
SC03371	hypothetical protein	3732598	3739277	+	0.9982517	1.027558	7595.1724	1.5407312	-0.04584659	0.36073855	0.8091806	0.25098783	-0.3347158
SC03445	small membrane protein	3808335	3808168	-	0.9993222	1.0187353	7675.625	1.769557	0.3573212	0.4888491	0.6371967	0.900834	-0.00848696
SC03464	transposase	3820584	3820243	-	0.9987964	1.0244589	7577.4688	1.6205515	-0.065099204	0.4065874	0.5050486	0.2079398	-0.43316584
SC03579	regulatory protein	3957782	3957444	-	0.99920577	1.0199465	7641.972	1.6820863	5.177485	0.49337664	5.5646027	5.5357656	4.80337
SC03646	oxidoreductase	4025406	4024981	-	0.99829394	1.0279309	7587.79	1.547916	-0.14852834	0.36384606	1.04498001	1.67991477	-0.45113102
SC03656	hypothetical protein	4035809	4035252	-	0.999554	1.0049666	7775.5	2.3804975	0.5360229	0.7232103	1.1202744	1.2030344	-0.086480125
SC03685	hypothetical protein	4067767	4068168	+	0.99795115	1.0305045	7534.201	1.5217656	-1.0989688	0.3529166	-0.7410017	-0.8511258	-1.3823986
SC03713	hypothetical protein	4089171	4088998	-	0.9980701	1.0294038	7541.335	1.5393174	0.7293201	0.3687949	0.5003646	0.6805663	-0.07950631
SC03714	transposase	4090508	4089285	-	0.99985674	1.0078484	7749.2466	2.1256373	1.8577199	0.6285327	2.3825583	2.4027768	1.3951452
SC03800	acyl-CoA dehydrogenase			+	0.9995434	1.0151228	7687.229	1.8357375	0.18666556	0.5110424	0.54576975	0.70392114	-0.121291243
SC03924	hypothetical protein	4318118	4318390	+	0.9988797	1.023891	7606.668	1.685069	2.9398937	0.48775785	2.9398394	2.6007756	2.064485
SC03925	transcriptional regulator	4318648	4319373	+	0.9991854	1.0081768	7598.9644	1.5398368	-0.63494897	0.3601827	-0.32436398	-0.32276562	-0.9218164
SC03942	hypothetical protein	4377878	4380965	+	0.997717	1.0191498	7525.863	2.2254264	0.94167026	0.9076495	-0.13872896	1.3716512	-0.58415785
SC03945	cytochrome oxidase subunit	4403892	4343437	-	0.9999156	1.0064805	7783.2466	2.2402058	-0.3452102	0.6772047	0.14045539	0.3223397	-0.8916736
SC03946	cytochrome oxidase subunit	4342458	4343462	+	0.99978	1.010115	7791.465	2.046012	-0.4564786	0.60651674	-0.05472488	0.17457984	-0.8988731
SC03963	hypothetical protein	4364465	4363348	-	0.9991124	1.0210508	7613.7397	1.657311	-0.24597291	0.4222033	0.8026277	1.58883076	-0.5909664
SC03964	hypothetical protein			-	0.99972373	1.0112242	7722.237	1.9795763	0.1898088	0.56897914	0.67424554	0.688908	-0.28777596
SC03965	hypothetical protein	4367286	4366750	-	0.9999962	1.0015233	7806.0	3.0776916	1.1127471	0.974093	1.8954457	1.9618973	0.39995445
SC03966	secreted protein	4367933	4367283	-	1.0	1.0012805	7817.5	4.041778	0.26216257	1.165211	1.2049875	1.3343277	-0.63708306
SC03967	hypothetical protein	4368827	4368066	-	1.0	1.0012805	7810.25	3.392298	2.6387954	1.0179096	3.5188639	3.5209846	1.795395
SC03968	integral membrane protein	4369809	4368955	-	1.0	1.0012805	7809.0	3.248452	1.7048843	0.9857134	2.450304	2.6592166	0.8991659
SC03991				-	0.9990331	1.0217711	7622.2305	1.63803	0.800043				

Continuation supplementary Table S4

SC04570	NADH dehydrogenase subu	4994949	4990084 +	0.9998013	1.0092306	777.7405	2.0690194	0.5459507	0.613086	0.9567409	1.1841071	0.05543195	-0.01247629
SC04571	NADH dehydrogenase subu	4990081	4990938 +	0.9998747	1.0071003	775.241	2.1804805	0.5776031	0.65672904	1.019931	1.2599213	0.00403843	0.26521757
SC04572	NADH dehydrogenase subu	4990935	4991234 +	0.9995806	1.0141066	7694.1787	1.0841532	-1.1902614	0.5401335	-0.8669713	-0.5993635	-1.6101094	-1.6393445
SC04574	NADH dehydrogenase subu	4993219	4994790 +	0.9996611	1.0123495	7059.667	1.9460912	0.68178766	0.57019603	1.0000156	1.3240391	0.2104603	0.1924585
SC04575	NADH dehydrogenase subu	4994787	4996445 +	0.9985356	1.0258244	7577.7036	1.5789786	0.89551615	0.8232657	1.1203178	1.209515	0.4922622	0.519259
SC04632	ATP/GTP binding protein	5055820	5058728 +	0.99824786	1.0276892	7553.745	1.5453081	-0.7819814	0.3635364	-0.4992847	-0.43678964	-1.0839478	-1.1085956
SC04677	regulatory protein	5108811	5108877 +	0.99997437	1.0033107	7783.245	2.5778139	2.428106	0.7890244	1.3138857	3.0885015	1.7039204	1.7806135
SC04678	hypothetical protein	5108924	5109772 +	0.9998635	1.0088682	7794.3995	2.0873678	1.0122787	0.6148339	1.4986084	1.5876337	0.9085896	0.4541364
SC04679	hypothetical protein	5109769	5109960 +	0.99897426	1.0223796	7616.8986	1.6512644	-0.10237998	0.42462113	0.1677887	0.95102245	-0.4473296	-0.48100147
SC04768	two-component regulator	5179727	5180338 +	0.9999591	1.0044553	7780.2485	2.435847	2.683829	0.74164955	3.312659	2.0403923	2.0403923	2.0403923
SC04769	RNA polymerase sigma fact	5180620	5181207 +	0.9989512	1.0236343	7687.746	1.6139491	1.2052121	0.9995211	1.6379691	1.9396628	0.98912394	0.9613285
SC04772	transposase	5184449	5185669 +	0.99978	1.0110115	7731.7363	2.0259922	2.1312502	0.5881209	2.6545276	2.7066174	1.6843373	1.6797504
SC04789	integral membrane protein	5209775	5210290 +	0.9999373	1.0055962	7769.4866	2.3140306	-0.015025169	0.698943	0.5815385	0.9588219	-0.6075714	-0.63389857
SC04793	NPL/P60 family secreted prt	5215302	5214259 -	1.0	1.0012805	7813.0	3.5451424	1.0702391	1.054040	1.938332	2.9304885	0.4112843	0.1734841
SC04799	secreted lipase	5224098	5223103 -	0.9995984	1.0138818	7696.7387	1.8781387	-0.7927699	0.52982026	-0.42542148	-0.25081477	-1.2423387	-1.2525048
SC04854	integral membrane protein	5284273	5283653 +	0.999679	1.0121053	7712.498	1.9347159	0.9489962	0.55242175	1.3582171	1.491897	0.46895453	0.4771605
SC04883	peptidase	5315652	5316884 +	0.9985036	1.0264559	7574.711	1.57214	1.4341505	0.37905684	1.7105346	1.8104961	1.1075914	1.1079799
SC04895	RNA polymerase factor sigr	5329422	5328418 +	0.9991278	1.020993	7863.2324	1.6682788	0.84514284	0.42638075	1.2169471	1.2116991	0.46567506	0.4862501
SC04903	hypothetical protein	5336536	5336333 +	0.9999962	1.0015333	7606.997	3.2589073	0.8181638	0.9879582	1.752137	1.5888773	0.03125252	-0.9597123
SC04920	Deaf family transcriptional	5342229	5350512 +	0.9997090	1.0079521	7520.2405	2.1572044	3.1379100	0.6407020	3.6446620	3.7000367	2.6662120	2.66645
SC04964	integral membrane transpo	5390968	5399929 +	0.99901265	1.0218938	7670.742	1.6375277	-0.8185971	0.41091883	-0.47832346	-0.45173147	-1.1797316	-1.168862
SC05015	secreted protein	5450794	5451405 +	0.9797959	1.0301425	7556.8213	1.531446	-0.14578485	0.3603998	0.93663785	0.2355677	-0.42001582	-0.47444046
SC05028	ATP-binding protein	5463012	5464337 +	0.9993963	1.0184126	7655.4624	1.7652017	1.4540493	0.48147398	1.774744	1.9564745	1.0630645	1.0159146
SC05108	integral membrane protein	5551418	5550582 -	0.9995639	1.0144846	7651.3667	1.8830317	-1.7908887	0.5465666	-1.5094045	-1.1577154	-2.220861	-2.25174
SC05147	RNA polymerase sigma fact	5593590	5594361 +	0.999679	1.0121053	7712.717	1.9454909	3.5688558	0.5570445	4.050973	4.047206	3.3139316	3.203819
SC05148	hypothetical protein	5594358	5595347 +	0.9990459	1.0216506	7623.7393	1.638829	1.4230102	0.4125932	1.9486464	2.01043	1.2855878	1.2477707
SC05174	transferase	5621463	5622844 +	0.999922	1.0062729	7764.487	2.275445	1.1727759	0.6906197	1.8880373	2.0483273	0.7022775	0.9565925
SC05175	integral membrane protein	5623391	5624458 +	0.99965465	1.0126053	7708.7188	1.9118587	0.12869093	0.5411058	0.5974552	0.5949025	-0.38464084	-0.2925925
SC05176	reductase	5624510	5625622 +	0.9996805	1.0035619	7786.748	2.5744376	0.23550857	0.7925662	0.8280591	1.0432154	-0.4369723	-0.42026797
SC05177	hypothetical protein	5625610	5626359 +	0.9999795	1.0019371	7779.299	2.6875148	0.9899464	0.8282848	1.6009936	1.804372	0.23620918	0.31661114
SC05218	integral membrane protein	5676345	5677670 +	0.9978844	1.0302666	7536.2095	1.5245926	1.1261952	0.351968	1.4127203	1.480894	0.8014937	0.8426673
SC05234	sugar transporter integral m	5694641	5695471 +	0.99790514	1.0307292	7540.6685	1.5892677	-0.1635920	0.4159516	-1.731364	-1.9277279	-2.659161	-2.3362052
SC05244	anti-sigma factor	5705502	5706090 +	0.9991482	1.0206872	7635.6885	1.685921	2.7186794	0.48974548	3.016417	3.1644785	2.3846312	2.3791902
SC05248	hypothetical protein	5709316	5708738 +	0.9992608	1.0193373	7647.7983	1.7559933	1.1504085	0.8258039	1.4125313	1.6586297	0.80437916	0.9293938
SC05311	secreted protein	5789372	5789216 -	0.999789	1.0097236	7733.465	2.0442761	-0.4081022	0.601562	0.9118166	0.12407861	-0.8211371	-1.0267241
SC05338	regulatory protein	5810810	5811163 +	0.9994603	1.0164906	7674.867	1.8172613	-0.49042982	0.5115655	-0.18763023	0.683565	-0.9906525	-0.851973
SC05351	regulatory protein	5818975	5819478 +	0.9998926	1.0067165	7756.741	2.19264	3.9723566	0.65513104	4.550687	4.526953	3.642729	3.359315
SC05390	alkal m onooxygenase (lut	5859896	5859868 +	0.9980104	1.029876	7753.2637	1.5393651	1.9474237	0.36284257	2.1730208	2.3390923	1.6478289	1.629529
SC05405	transcriptional regulator	5877884	5877408 +	0.9989999	1.020045	7619.499	1.6314721	2.2919264	0.40813762	2.6232224	2.6660048	1.9457996	1.9318787
SC05409	hypothetical protein	5880228	5880572 +	0.9993183	1.0188643	7675.8594	1.9086394	-0.38561314	0.5936554	0.23811948	-0.07880122	-0.5891561	-1.116447
SC05444	glycogen phosphorylase			0.9994246	1.0173806	7665.9888	1.7725598	1.1372042	0.4781018	1.5295686	1.5706741	0.6862288	0.76234525
SC05447	neutral zinc m metalloprote	5929742	5929788 +	0.9997323	1.0111125	7722.9966	1.9848987	-0.1430721	0.57217145	0.31510267	0.80788396	-0.6140562	-0.66112876
SC05460	Abaa-like regulatory protei	5947312	5947974 +	0.9980854	1.0292939	7546.2866	1.530402	2.9697645	0.3610527	2.25228	2.259442	1.7311691	1.951154
SC05466	hydrolase	5951973	5951416 +	0.9999591	1.0044553	7780.735	2.500542	1.9477539	0.77916396	2.4209251	2.7866226	1.396533	1.226793
SC05511	membrane associated phop	5995949	6000278 +	0.9995655	1.0100484	7776.488	2.3959449	1.1995341	0.7260025	1.7907295	1.8637698	0.50427154	0.5913668
SC05582	hypothetical protein	6084219	6085721 +	0.9980575	1.026335	7575.454	1.5715986	2.5013871	0.37887055	2.7897209	2.8652873	2.2096627	2.140879
SC05605	hypothetical protein	6107947	6108128 +	0.9977913	1.0315455	7523.496	1.6202461	2.7905599	0.3671139	3.0402192	3.1028922	2.9946117	2.7893144
SC05611	transcriptional regulator	6111177	6111392 +	0.99473464	1.0358704	7358.6704	1.6658286	-2.3206637	0.5313101	-2.059822	-1.8452653	-3.064532	-2.3134199
SC05629	ATP/GTP-binding protein	6131020	6128360 +	0.99891037	1.0238958	7610.3936	1.6322105	-1.0634011	0.41867322	-0.78227186	-0.63770324	-1.3765094	-1.45757
SC05630	hypothetical protein			0.9947184	1.016238	7677.493	1.8552793	0.38701245	0.48961133	0.7560858	0.6621427	-0.07925407	-0.01425396
SC05632	trans-integrase fusion prot	6132679	6132437 +	0.9999949	1.0017896	7680.2476	3.029613	3.0133204	0.9323846	3.6910381	3.9473663	2.233754	2.107353
SC05742	hypothetical protein	6265601	6265362 +	0.9981737	1.0054303	7548.3403	1.5555853	1.1485143	0.37702164	1.390494	1.4389918	0.7853926	0.8942183
SC05826	hypothetical protein	6375779	6376357 +	0.9999514	1.0052224	7773.4897	2.3754804	2.317039	0.7807802	2.7927113	3.089586	1.6923759	1.694829
SC05827	hypothetical protein	6376354	6377946 +	0.9999411	1.0070003	7773.2305	1.7872266	0.5829953	0.4883215	0.92176247	1.0823531	0.61929798	0.1568685
SC05970	hypothetical protein	6418187	6418177 +	0.9991085	1.0108664	7752.5985	1.9969989	1.0040237	0.57896395	2.0360056	2.1490888	1.1244501	1.008036
SC05987	secreted protein	6560777	6560770 +	0.9995409	1.0147839	7693.976	1.835932	0.910054	0.582132	2.3644719	2.365044	1.4763435	1.4434244
SC05996	hypothetical protein	6568779	6571592 +	0.9988325	1.0241109	7602.9	1.6164378	0.13963844	0.4015587	0.5129325	0.49515765	-0.11278786	-0.24067025
SC06129	DNA-binding protein	6731834	6730923 +	0.997845	1.031212	7526.2944	1.5298086	0.4802156	0.36397436	1.0506474	1.2584482	0.5263191	0.55743515
SC06193	transposase	7060375	7061838 +	0.9996125	1.013613	7698.889	1.8740919	1.0861855	0.52392566	1.5168301	1.5617324	0.6075678	0.5861136
SC06394	IS element ATP binding prot	7061835	7062605 +	0.99950635	1.0158768	7682.732	1.8077615	-0.18881938	0.4941348	0.2265152	0.25005037	-0.65173763	-0.580105
SC06396	hypothetical protein			0.99914694	1.0208139	7635.5	1.663695	0.28631145	0.42439559	0.6311527	0.675861	-0.07925407	-0.01425397
SC06484	hypothetical protein	7174911	7177493 +	0.9986456	1.0253986	7586.912	1.5885497	1.0825436	0.38950208	1.3502396	1.4825759	0.7621265	0.7321604
SC06484	hypothetical protein	7237214	7237894 +	0.998519	1.026077	7576.3853	1.57389	-0.5975819	0.3817495	-0.31716245	-0.22366677	-0.8764091	-0.9370894
SC06624	hypothetical protein	7347440	7347312 +	0.9981788	1.0284306	7564.6284	1.5385665	7.048996	0.36244965	7.338852	7.385527	6.79469	6.6815157
SC06629	hypothetical protein	7397519	7398352 +	0.99843204	1.0265273	7568.403	1.5629773	1.7385156	0.37584648	2.003262	2.1180658	1.4485949	1.3841693
SC06650</													

Continuation supplementary Table S4

Down regulated $\Delta ttd8$ - t_{66-77h} VS M145- t_{77h}

	Description	Primary 5' ER	Primary 3' ER strand	p-Values (Down)	q-Values (Down)	RP-Values (Down)	Fold Change	Mean	std.dev	D2_S	D1_S	WT2_S	WT1_S
SCO0045	hypothetical protein	36817	36689	0.99981173	1.0216872	7572.344	1.9811149775	-3.765982	0.70064416	-3.759302	-4.75904046	-3.2724426	-3.2731893
SCO0256	short chain oxidoreductase	245986	246703 +	0.9992836	1.0100940	7650.491	1.68310244253	0.8289882	0.4452632	0.3414726	-0.36718093	1.2606345	1.1502649
SCO0257	hypothetical protein	246868	247869 +	0.9965983	1.038004	7417.1084	1.51951898107	-0.89115095	0.38570994	-1.8222121	-1.0093656	-0.51749337	-0.6119399
SCO0297	secreted protein	291315	292592 +	0.99885666	1.028674	7604.9614	1.56389709769	1.269672	0.37258703	0.93809605	0.9561025	1.5989808	1.5855988
SCO0320	hypothetical protein	302110	320583 +	0.9988477	1.0239924	7604.4062	1.60911350397	1.0034165	0.41252565	0.7430911	0.5774758	1.232846	1.460253
SCO0379	catalase (EC:1.11.1.6)	393498	394961 +	0.99833226	1.0285888	7615.225	1.5320968982	3.0592606	0.36249414	2.6692204	2.8337991	3.97181	3.3368423
SCO0408	methyltransferase	428615	429403 +	0.9989385	1.0234146	7613.248	1.57626587469	1.0.75034255	0.37939583	0.44594178	0.3982323	1.0939514	1.0572808
SCO0678	hypothetical protein beta (EC:3.5.1.3)	721158	720985 +	0.9979064	1.0315481	7590.8687	1.48246862988	2.4095135	0.38320817	2.093984	2.1516416	2.7609386	2.6260898
SCO0694	hypothetical protein	736312	736503 +	0.99835277	1.0282034	7563.172	1.60949648277	1.0.4387031	0.4463991	0.3328886	-0.142087	0.8384676	0.7258483
SCO0885	thioredoxin	931393	931797 +	0.9987991	1.0247487	7598.8965	1.57728031016	1.0.748248	0.38649362	1.4736339	1.6185694	2.2554774	2.1516182
SCO0888	secreted protein	933788	934271 +	1.0	0.99987215	7603.7495	3.87994236817	2.332039	1.1343896	1.1550852	0.952948	2.2526806	3.0942152
SCO0969	hypothetical protein	954429	953440 +	0.9987223	1.0253427	7592.9977	1.545786186895	0.5632037	0.36370168	0.25919777	0.2386877	0.89228	0.8624681
SCO0989	hypothetical protein	1044394	1043990 +	0.99814296	1.0300224	7586.426	1.51350981564	1.0.750327	0.35254678	0.7079104	0.8447963	1.194559	1.4286276
SCO1174	aldehyde dehydrogenase	1237012	1238535 +	0.99939764	1.0176182	7665.417	1.70313765644	1.0.215890	0.44866094	-0.24451545	-0.09189928	0.6325482	0.5672474
SCO1178	hypothetical protein	1242788	1242394 +	0.9995211	1.0120782	7597.1855	1.84171406854	0.028305769	0.5118227	-0.46205518	-0.36238232	0.4209426	0.5171663
SCO1192	hypothetical protein	1264780	1265149 +	0.99888616	1.0079386	7754.471	2.13006428107	-0.17948086	0.6391644	-0.8129562	-0.63692254	0.36598364	0.3659316
SCO1214	6-phosphofruktokinase	1285457	1286482 +	0.9996273	1.0089387	7742.996	2.00793455418	1.3593973	0.58380204	0.9221942	0.78008814	1.8781325	1.8354944
SCO1234	urease subunit alpha (EC:3.5.1.3)	1309975	1308254 +	0.9995536	1.0151331	7688.495	1.76353562086	0.19746296	0.47448567	-0.22891335	-0.19463141	0.5570591	0.5663875
SCO1235	urease subunit beta (EC:3.5.1.3)	1310279	1309968 +	0.9992352	1.0201097	7644.726	1.64719397870	-0.23122686	0.41865265	-0.531024	-0.6514402	1.02021066	1.3729559
SCO1236	urease subunit gamma (EC:3.5.1.3)	1310595	1310299 +	0.9998885	1.0025529	7798.7495	3.15972968903	1.3527412	0.9584103	0.9556163	0.46286163	2.1475177	2.1250238
SCO1244	biotin synthase (EC:2.8.1.6)	1316289	1317512 +	0.9995741	1.0146267	7692.3634	1.77011480705	0.4376319	0.48013797	0.19277224	0.25222513	1.0371444	1.0680855
SCO1245	adenosylmethionine-8-amino	1317695	1318799 +	0.9994449	1.0132097	7613.674	1.58132543218	0.1895827	0.30218197	-0.17481994	-0.14734967	0.48113929	0.5110627
SCO1246	dithiobiotin synthetase (EC:2.8.1.6)	1318793	1319509 +	0.9988157	1.0242282	7610.1885	1.56156891453	0.5139762	0.37407818	0.6437397	0.54116243	1.2120996	1.258649
SCO1293	hypothetical protein	1367555	1368913 +	0.99958056	1.0143498	7693.9375	1.79039168398	1.9176724	0.49390385	1.6089807	1.3860888	2.163638	2.9352565
SCO1383	hypothetical protein	1462039	1461293 +	0.9987236	1.0252094	7598.1636	1.54760790115	1.6063405	0.3675331	1.2979195	1.2853126	1.9854678	1.8572531
SCO1453	hypothetical protein	1550134	1551066 +	0.9986725	1.0295611	7588.8286	1.5684611459	0.539580546	0.38253388	0.12797911	0.2942335	0.6024857	0.8127086
SCO1511	hypothetical protein			0.9986277	1.0268635	7585.5615	1.5473706157	1.720713	0.37247512	2.5000207	2.3115823	3.0652474	3.0075764
SCO1512	hypothetical protein	1616388	1616528 +	0.9992582	1.0196006	7646.886	1.83518106703	2.8609247	0.5636755	2.2851217	2.560085	3.5708687	3.0629632
SCO1655	lipoprotein oligopeptide bin	1771550	1769946 +	0.99928635	1.0186988	7650.99	1.6534455069	1.0141126	0.42020654	0.7666865	0.6266361	1.4140042	1.3388966
SCO1703	hypothetical protein	1835007	1834903 +	0.99946415	1.0168914	7676.956	1.72180251372	1.557239	0.45304152	1.1447909	1.1857674	1.9351919	1.9260857
SCO1811	hypothetical protein	1941431	1941315 -	0.9994884	1.0163871	7679.9243	1.85196811429	1.197558	0.5460967	0.53311026	0.97294664	1.5880072	1.7039881
SCO1814	enoyl-acyl carrier protein	1944505	1945798 -	0.99929917	1.0184463	7653.737	1.66602247131	1.2552316	0.42877742	0.94657177	0.8274894	1.6472467	1.5996244
SCO1815	3-oxoacyl-(acyl) reductase	1945215	1944511 -	0.9992836	1.0130148	7650.613	1.67839395211	1.030379	0.4438237	1.5749954	1.3307356	2.253792	2.1539927
SCO1821	oxidoreductase	1962217	1962972 +	0.9981954	1.0293972	7590.0264	1.50123258701	0.81523275	0.34823208	0.5256984	0.5186194	1.1823632	1.039799
SCO1857	hydroxylase	2009562	2001804 +	0.9996061	1.0138495	7597.8924	1.82659745080	2.428771	0.5168959	2.0547952	1.9335881	3.0025621	2.741359
SCO1878	secreted protein	2011522	2010725 -	0.9981878	1.0295252	7549.521	1.508803878620	-1.0400196	0.34621174	-1.3986409	-1.2740726	-0.760553	-0.728105
SCO1985	integral membrane protein	2124631	2122775 -	0.9996841	1.0110632	7713.9355	1.87636067476	0.11721495	0.5306002	-0.30254689	-0.37116085	0.47767	0.6649045
SCO2008	branched chain amino acid l	2149264	2150520 +	0.99803555	1.0308639	7539.4935	1.49426731814	3.1909933	0.3372728	2.852842	2.9497066	3.499789	3.461637
SCO2015	nucleotidase	2157990	2159798 +	0.9987223	1.0253427	7592.9924	1.54256131044	-0.0595693	0.36129764	-0.3560446	-0.38842186	0.24815077	0.28003846
SCO2161	hypothetical protein	2342724	2342468 +	0.9981468	1.0298904	7654.6753	1.53862239698	3.8005316	0.3767206	3.6484258	3.3885189	4.124801	4.0938087
SCO2195	hypothetical protein	2363105	2363320 +	0.9995954	1.0046566	7775.247	2.38193939453	2.0366282	0.78173183	1.54204	1.2790804	2.70612	2.618814
SCO2196	integral membrane protein	2363402	2364106 +	0.9997353	1.0102003	7723.4253	1.93254309318	2.4339299	0.56479186	2.1080556	1.8094295	2.9760616	2.8424426
SCO2198	glutamine synthetase I	2364905	2366314 +	1.0	0.99987215	7615.75	1.66602247131	1.2552316	1.3003321	1.5756323	1.492751	3.8311308	3.7490506
SCO2210	glutamine synthetase	2374919	2376350 +	1.0	0.99987215	7615.75	1.66602247131	1.2552316	1.3003321	1.5756323	1.492751	3.8311308	3.7490506
SCO2211	hypothetical protein	2375406	2376335 +	1.0	0.99987215	7615.75	1.66602247131	1.2552316	1.3003321	1.5756323	1.492751	3.8311308	3.7490506
SCO2218	NAD(+) synthase (glutamine	2408829	2406988 -	0.999799	1.0092112	7733.49	1.95743977838	1.0143094	0.5597314	0.57321195	0.5224389	1.4797694	1.1988872
SCO2241	glutamine synthetase (EC:6.3.1.2)	2410423	2411784 +	0.9999118	1.0066601	7761.4937	2.16314425308	1.0215813	0.6403271	0.461293	0.46879394	1.5201535	1.404725
SCO2305	hypothetical protein	2470166	2469576 +	0.998065	1.0070581	7543.1343	1.48752619291	1.1964684	0.39518016	0.9758773	0.8441443	1.0909468	1.0776073
SCO2310	ABC transporter ATP-binding	2474063	2474989 +	0.99808794	1.0306458	7542.487	1.49091408628	-0.07259074	0.33494292	-0.38549277	-0.3395888	1.8011701	1.2509147
SCO2305	integral membrane efflux protein			0.99916357	1.0203463	7637.405	1.62826193784	-0.39579645	0.40705356	-0.77057934	-0.7243446	-0.60939668	-0.101323382
SCO2367	hypothetical protein	2537915	2537340 +	0.99936944	1.0179873	7662.8486	1.69914266398	2.9125224	0.4490564	2.4742494	2.591388	3.3787563	3.2164513
SCO2388	ACP S-malonyltransferase	2559340	2560290 +	0.99975187	1.0098256	7726.4517	1.93242764814	1.2645928	0.56093001	0.9279913	0.9513799	1.7575005	1.7040939
SCO2389	3-oxoacyl-(acyl) carrier protein	2560307	2561338 +	0.9996414	1.0079628	7745.2446	2.03114263963	2.1317222	0.9931395	1.6295595	1.5489539	2.643449	2.6422868
SCO2389	acyl carrier protein	2561443	2561691 +	0.99972373	1.0104499	7722.2495	1.89922403734	3.5397494	0.5328043	3.1199632	3.0386906	4.014	3.9863446
SCO2390	3-oxoacyl-(ACP) synthase II	2561801	2563090 +	0.999799	1.0092112	7733.2983	1.9480904914	2.2897196	0.5610164	1.8985707	1.7188566	2.8062115	2.73529
SCO2471	secreted protein	2661637	2660813 +	0.9998972	1.0026802	7793.5985	3.0133114895	0.8013426	0.32021847	-0.02369778	0.03941895	1.5401427	1.563891
SCO2473	nitrate reductase	2662608	2665067 +	0.9982211	1.0292879	7551.487	1.49401404597	-0.31839105	0.33479005	-0.5941121	-0.6218637	-0.40298486	-0.104603627
SCO2481	hypothetical protein	2671941	2671552 +	0.9986341	1.0267951								

Continuation supplementary Table S4

SC09569	hypothetical protein	3977697	3976959 +	0.998018	1.0305136	7542.769	1.495152917024	-0.19820264	0.3586685	-0.46484624	-0.50895457	0.045365073	0.13562512
SC09567	secreted protein	3985146	3983677 -	0.9988747	1.00723	755.2344	2.117730930939	1.8567815	0.63521034	0.63262707	0.39841657	1.6727874	1.532204
SC09568	hypothetical protein	3985750	3985241 -	0.997854	1.0320386	7527.0137	1.548143532048	1.552716	0.40405202	1.4476441	1.0272444	1.9117349	1.8242369
SC09569	fructose-bisphosphate aldol	4028773	4027742 -	0.992582	1.0196006	7646.8086	1.674606674667	2.462837	0.44545242	2.230459	1.9513929	2.8739471	3.935492
SC09570	heat shock protein	405840	4050163 +	0.9982517	1.0289124	7554.0845	1.615648003295	3.8761315	0.4506415	3.75601	3.80414	4.3874267	4.106949
SC09571	hypothetical protein	4167894	4165816 -	0.996419	1.0124612	7705.3574	1.058553658674	1.7183956	0.5366686	1.4403443	1.1022666	2.2620356	2.1004961
SC09572	hypothetical protein	4171328	4171693 +	0.9978718	1.0317852	7528.4004	1.471142509866	0.39240873	0.3240021	0.124938866	0.1035467	0.7180747	0.6232469
SC09580	thioredoxin reductase (NAD)	4281551	4280583 -	0.9989705	1.0229112	7616.2417	1.589289155607	2.1490404	0.38328397	1.8361	1.8770561	2.46361	2.4793956
SC09593	hypothetical protein	4317659	4317976 +	0.99939376	1.0178794	7665.2295	1.690716260106	1.1135137	0.4868812	0.7667509	0.70264184	1.4700227	1.5146391
SC09599	lipoprotein	4394003	4395133 +	0.99914694	1.0206859	7635.642	1.638857978206	0.6180215	0.42099375	0.96212397	0.6122869	1.0167906	0.9335432
SC04005	RNA polymerase sigma factor	4597899	4596372 +	0.9955984	1.0141249	7656.7163	1.797327460338	2.458139	0.49524975	2.1189926	1.9515523	2.9373887	2.8246227
SC04052	MafR regulatory protein	4430162	4428662 -	0.999624	1.0130992	7781.2217	1.479586639087	0.1024856	0.33122958	0.6709117	0.78886634	1.3307216	1.2594492
SC04118	TetR family transcriptional r	4524395	4523052 -	0.998555	1.0077173	7748.249	2.047863030878	2.1156034	0.5981117	1.6422522	1.5548345	2.6361163	2.4292101
SC04158	LacI-family regulatory prote	4576134	4575112 -	0.9980165	1.024611	7595.2485	1.551971401761	1.4013869	0.36687344	1.105248	1.0633878	1.7387528	1.898087
SC04159	transcriptional regulatory pr	4576980	4576177 -	0.9993986	1.0054694	7779.0	2.269271790681	1.6032584	0.6831911	1.0462055	0.79808194	2.058496	2.1288969
SC04164	thiosulfate sulfurtransferase			+	0.999693	7787.4895	2.663708032888	0.7505984	0.8212314	0.28118026	0.955503458	1.5812609	1.5922498
SC04165	hypothetical protein	4581874	4582161 +	0.999962	1.0015333	7803.9985	3.444527622132	2.436284	1.0397995	1.7142013	1.374061	3.297191	3.3568895
SC04171	secreted protein	4585937	4586589 +	0.9985036	1.0275468	7574.585	1.559838379538	0.7747716	0.38832438	0.58975947	0.31838706	1.0497726	1.141167
SC04199	hypothetical protein	4607810	4608451 +	0.9987645	1.0295823	7556.4663	1.568084733778	3.2398827	0.38605952	2.930922	2.8398402	3.649554	3.4792147
SC04216	hypothetical protein	4624796	4624907 -	0.9990251	1.0120702	7607.345	1.071012404011	1.2921244	0.5322701	1.07366	-1.6165941	-0.04303663	-0.030969
SC04240	ABC transporter ATP-binding	4646311	4646179 -	0.999523	1.0161579	7684.68	1.752102628291	1.9357302	0.4701367	1.4748094	1.5866518	2.359989	2.3215904
SC04248	hypothetical protein	4659348	4658526 -	0.997331	1.033803	7520.729	1.479586639087	0.1024856	0.33122958	0.6709117	0.78886634	1.3307216	1.2594492
SC04253	secreted protein	4660813	4660280 -	0.9989759	1.0074781	7757.7285	2.117201051748	3.309339	0.6349315	2.8059402	2.6304953	3.8357463	3.6550281
SC04252	hypothetical protein	4661262	4660813 -	0.9974409	1.0355849	7498.419	1.49511214598	3.034523	0.3600346	2.684264	2.5841639	3.3700988	3.2732706
SC04253	hypothetical protein	4662919	4661315 -	0.99907535	1.021948	7626.9834	1.635804465191	3.1051059	0.42635292	2.894004	2.606646	3.474513	3.4449255
SC04255	hypothetical protein	466257	4666989 +	0.9980074	1.030971	7537.9316	1.480099318108	0.3770446	0.3297626	0.14806059	0.40033456	0.674377	0.654455
SC04256	hydrolytic protein	4667076	4668815 +	0.9997455	1.0100801	7724.9644	1.918562177311	1.8949187	0.55380044	1.541107	1.3087404	2.42726	2.3025997
SC04257	hydrolytic protein	4668591	4670033 +	0.9995511	1.0153943	7687.866	1.79204772951	1.476572	0.5025474	1.1395192	0.9180345	1.9730016	1.8217332
SC04258	hydrolytic protein	4670132	4671589 +	0.9995843	1.0142422	7649.6234	1.817637716595	1.7930229	0.5149143	1.4702532	1.1737838	2.2484424	2.1196682
SC04260	hypothetical protein			-	0.9996163	7699.23	1.798777633161	1.5561231	0.49385756	1.2169474	1.0482824	1.831591	1.7376108
SC04261	response regulator	4675222	4674563 +	0.99912524	1.0214645	7632.917	1.62004579869	3.1851743	0.40512855	2.7605555	2.8137581	3.5402014	3.4261813
SC04293	threonine synthase (EC 4.2.1)	4708607	4709899 +	0.99847674	1.0277896	7571.596	1.51690989659	0.2701312	0.34951946	-8.867795E-4	-0.06188659	0.5495308	0.5937676
SC04294	hypothetical protein	4709890	4710165 +	0.99914694	1.0206659	7635.46	1.694212878781	4.953443	0.47393474	1.322595	0.8974761	1.8935676	1.857796
SC04297	oxidoreductase	4712991	4714321 -	0.9982367	1.0130337	7551.6934	1.503408106407	-0.21054234	0.34135858	-0.5414417	-0.4873343	0.03847713	0.1002873
SC04329	reductase	4754290	4753436 -	0.9982223	1.0291535	7551.7954	1.501098590102	0.6391256	0.34018004	0.54942442	0.34227398	0.8696324	0.7532654
SC04352	oxidoreductase	4767684	4766766 +	0.99942466	1.0171157	7665.991	1.707491362226	1.9832617	0.4848517	1.0554607	0.9391485	1.7888327	1.7495880
SC04368	lipase (secreted protein)	4783492	4782332 -	0.999578	1.014459	7693.4927	1.779000465038	-0.3415874	0.48065937	-0.7497549	-0.7644685	0.01001076	0.39891046
SC04425	sigma-like protein	4842573	4842382 -	0.9981326	1.008845	7788.6245	2.111501110056	2.5671391	0.6454849	1.8151151	2.240894	3.086669	3.1295077
SC04498	proton transport protein	4916551	4917873 +	0.99954087	1.0156478	7686.9136	1.779165686106	0.11476606	0.4917581	-0.16961053	-0.43205833	0.5218914	0.38064166
SC04704	S05 ribosomal al protein L23	5129246	5129665 +	0.9996368	1.0125871	7704.9062	1.844250602238	4.5134172	0.52401245	4.512628	3.9925368	5.0802738	4.829556
SC04705	S05 ribosomal al protein L2	5129706	5130542 +	0.99907917	1.0218182	7627.1245	1.616970245011	3.7138035	0.40927258	3.4481262	3.291188	4.132263	3.988637
SC04711	S05 ribosomal al protein S17	5132708	5132395 +	0.9994795	1.0166423	7678.834	1.772800698908	5.277754	0.48452928	4.974344	4.755133	5.8076593	5.573882
SC04761	co-chaperonin GroES	5172737	5173048 +	0.99868655	1.0258447	7589.6177	1.67198888595	5.932764	0.4850401	5.621675	5.302288	6.405996	6.201097
SC04869	succinyl-CoA synthetase sub	5236206	5237099 +	0.9977631	1.035813	7486.331	1.52474625820	3.3300767	0.39719835	3.247344	2.8084499	3.8441533	3.584669
SC04884	lipoprotein	5317104	5318147 +	0.9990229	1.0226791	7621.2456	1.59302742514	1.0050061	0.3894546	0.70395315	0.63305346	1.3534421	1.2390585
SC04885	lipoprotein	5318421	5319467 +	0.9996368	1.0125871	7704.236	1.819249745101	0.8315705	0.503537	0.4641552	0.3348467	1.1813129	1.2088873
SC04945	dehydrogenase	5398989	5399390 -	0.9994894	1.016999	7627.941	1.716502946207	-0.07293849	0.48198184	-0.50724465	-0.41430402	0.39899752	0.296399
SC04965	transcription elongation fac	5400524	5400027 -	0.9986712	1.0260986	7588.6577	1.542892694422	2.4545755	0.3664368	2.2011168	2.0823963	2.8140728	2.720716
SC04994	hypothetical protein	5483210	5484163 +	0.9980955	1.0302495	7549.9883	1.482016544448	0.8586848	0.32799664	0.5874864	0.5623242	1.154769	1.1301621
SC05051	hypothetical protein	5467868	5467332 -	0.9996534	1.0119485	7707.724	1.949524471938	0.931208	0.601068	0.71415025	0.1609689	1.4400227	1.3604122
SC05032	alkyl hydroperoxide reductase	5468429	5468775 -	0.99940203	1.0221814	7623.348	1.744700124433	1.1529272	0.5245765	1.0519255	0.4509495	1.5639014	1.5449319
SC05042	fumarate hydratase (EC 4.2.1)	5482009	5480624 -	0.99866223	1.0262243	7588.0084	1.544344874698	0.8006324	0.3629542	0.46780105	0.5065888	1.0875082	1.1148076
SC05070	hydroxylacyl-CoA dehydrog	5513452	5512268 -	0.9991278	1.0212	7633.2026	1.615672671178	0.6590166	0.40103558	0.2895285	0.33637008	1.0392495	0.970874
SC05071	hydroxylacyl-CoA dehydrog	5514249	5519809 +	0.99997824	1.0030571	7799.210	2.851414772213	3.6627116	0.8794464	2.9229434	2.9980017	4.456448	4.008586
SC05072	hydroxylacyl-CoA dehydrog	5514323	5515246 +	0.9999731	1.0030571	7789.749	2.791361476088	3.4214493	0.87939355	2.7299041	2.6469005	4.170979	4.112428
SC05073	oxidoreductase	5515243	5515230 -	1.0	0.9998715	7805.85	3.71630949451	3.110395	1.0842098	2.4501116	2.3144668	4.3583731	4.248025
SC05074	dehydratase	5516299	5516943 +	0.9996662	1.0116394	7710.993	1.838089653101	3.4284267	0.507076	0.9979027	1.9831965	3.8654056	3.685662
SC05075	oxidoreductase			+	0.9998834	7784.2495	2.921841357278	3.9712956	0.8933469	3.1720345	3.2335565	4.793943	4.745514
SC05076	integral membrane protein	5517894	5519495 +	0.9996036	1.0044565	7792.2405	2.512957525213	2.5779596	0.7677403	1.8975767	1.9289544	3.2586994	3.267640
SC05077	hypothetical protein	5519497	5519892 +	0.99978185	1.0310808	7536.0923	1.53794752378	2.668317	0.37892836	2.2136252	2.5002025	3.020895	2.938045
SC05078	hypothetical protein	5519987	5520832 +	0.999629	1.042012	7784.2495	2.59475471481	3.021813	0.7970641	2.4138725	2.2541442	3.688697	3.7905386
SC05079	hypothetical protein	5520857	5521741 +	0.9998975	1.0020403	7800.25	3.179592914811	3.111158	0.9638134	2.305792	2.2476811	3.9521513	3.9390663
SC05080	hololase	5521738	5522883 +	0.9999744	1.0014062	7807.2495	3.60714835804	3.7241929	1.0701436	2.8188844	2.778642	4.717199	4.5802456
SC05081	hypothetical protein	5522876	5523217 +	0.9999662	1.0015333	7804.25	3.4037095669						

Continuation supplementary Table S4

SC05544	membrane protein SCLC225	604567	604078	-	0.998211	1.0288072	7556.7334	1.496116672081	1.2009358	0.3366583	0.928978	0.8916709	1.5214218	1.4589725
SC05552	regulator	6051815	6051099	-	0.9984067	1.0280313	7570.0396	1.524931873661	1.2771932	0.3534512	0.9126265	1.0163782	1.5960433	1.5670968
SC05581	hypothetical protein	6083772	6083101	-	0.9992565	1.0198655	7646.733	1.644880417444	1.3392941	0.4148637	0.99315053	0.9674549	1.6823074	1.7142634
SC05583	ammonium transporter	6086931	6087377	+	1.0	0.99987215	7818.0	1.415917174506	1.8668675	0.2208032	-0.01710642	-0.07282922	3.7826207	3.8247793
SC05584	nitrogen regulatory protein P-II				1.0	0.99987215	7817.0	12.5961194127	2.2057743	2.110552	0.9369202	0.420249	4.0065227	4.059993
SC05585	Pil uridylyl-transferase (EC:2)	6087777	6090284	+	0.9998239	1.0008012	7743.4927	2.021761635716	0.2938847	0.5868091	-0.20099196	-0.22685155	0.7768836	0.82649875
SC05774	glutamate permease	6312860	6311361	-	0.999527	1.0050945	7773.4959	2.329231029531	0.5032533	0.7655774	-0.05126189	-0.16208537	1.1554388	1.0709265
SC05775	glutamate permease	6313525	6312857	-	0.9990666	1.0067307	7759.499	2.13737690846	0.9598963	0.6337623	0.43068177	0.93262975	1.6491155	1.4666184
SC05776	glutamate binding protein	6314446	6313610	-	0.9993373	1.0055962	7769.75	2.252301052106	1.0678985	0.6784422	0.53263086	0.4176636	1.6959511	1.6112544
SC05777	glutamate uptake system A1	6315348	6314572	-	0.9996239	1.0042012	7784.4985	2.60991759289	1.7036054	0.80259013	1.0462737	0.97693276	2.480991	2.3102249
SC05798	secreted protein	6338635	6337406	-	0.9983274	1.0204955	7561.4536	1.509460096506	1.560896	0.9427718	1.3088744	1.2248911	1.892113	1.8181058
SC05800	transcriptional regulator	6353195	6359390	+	0.9992145	1.0133593	7700.469	1.797714250022	0.7712795	0.4846982	1.9599939	1.7004013	2.5743582	2.4146486
SC05869	hypothetical protein	6424551	6425303	+	0.998574	1.0273486	7581.034	1.555187935432	0.434241	0.38410306	3.8304696	3.6008308	4.4243784	4.281286
SC05883	hypothetical protein	6441208	6440423	-	0.999161	1.0205649	7656.954	1.6236283840	1.0085374	0.40393454	0.6427004	0.715835	1.3467798	1.3695164
SC05884	hypothetical protein	6442166	6441276	-	0.998519	1.0274273	7576.7017	1.536583596902	0.964749	0.360929	0.59954333	0.67568847	1.2787408	1.2759796
SC05885	hypothetical protein	6442614	6442174	-	0.9993388	1.0182213	7659.6284	1.686902182952	2.4955876	0.4800965	2.0750012	2.1617975	2.8956699	2.909647
SC05886	3-oxoacyl-(acyl-carrier-prote)	6443976	6442753	-	0.99979156	1.0089533	7734.7466	1.968778325798	2.9013975	0.5650649	2.4203308	2.4051628	3.426537	3.3535583
SC05888	3-oxoacyl-(acyl carrier prote)	6444587	6445594	+	0.9988771	1.0237541	7606.5005	1.57963940844	1.9082711	0.3835878	1.5349846	1.6234576	2.2041522	2.2720225
SC05896	phosphoenolpyruvate-utilizing enzyme				0.9986417	1.022608	7586.674	1.538236719248	1.0912112	0.35933483	0.7581691	0.8027957	1.4554383	1.3881565
SC05907	oxidase	6462296	6460400	+	0.9990264	1.0262972	7595.2232	1.65036024242x	2.09046	0.30409704	2.4730041	2.0270005	3.2225061	3.2174000
SC06005	lipoprotein	6584624	6586039	+	0.99871725	1.0256068	7593.6123	1.571782110131	0.9532951	0.38957446	0.54426855	0.7099204	1.1314364	1.2475551
SC06009	solute-binding protein	6595375	6596390	-	0.9995997	1.0139946	7656.913	1.797714250022	0.7712795	0.4846982	1.9599939	1.7004013	2.5743582	2.4146486
SC06010	ABC transporter ATP-binding	6598959	6591441	+	0.9990504	1.0123391	7786.609	1.852728218851	1.8313917	0.51987796	1.2667764	1.4067306	2.35391	2.206693
SC06011	ABC transporter transmem	6591638	6592930	+	0.9991278	1.0212	7633.8735	1.62136505155	1.0815793	0.4024693	0.9409184	0.70153127	1.413693	1.4883992
SC06044	integral membrane protein	6637220	6636431	-	0.99911755	1.0215901	7673.4217	1.6123458654	0.9285407	0.39825305	0.56931883	0.5986193	1.2807444	1.258122
SC06054	transmembrane transport protein				0.99984527	1.0078368	7746.244	2.03919808014	0.3620326	0.5963593	-0.0815816	-0.22241396	0.88676095	0.850031
SC06065	secreted substrate-binding i	6656904	6657866	+	0.9991444	1.0209501	7765.2183	1.617706614218	0.873923	0.40159002	0.51053274	0.54217523	1.2499374	1.1906770
SC06094	transport system integral m	6684888	6693977	-	0.99952424	1.0160271	7684.959	1.745068010478	-0.56521887	0.46629557	-0.92723626	-1.0064788	-0.20774181	-0.11541863
SC06095	ABC transporter ATP-binding	6695669	6694875	-	0.99903697	1.0224438	7622.5864	1.6316580351	-0.12459794	0.41963983	-0.46911051	-0.48643175	0.10776643	0.34944003
SC06096	lipoprotein	6698805	6695702	-	0.99968284	1.0111328	7713.7256	1.86382937316	-0.34452334	0.5210337	-0.7560584	-0.83125006	0.56935285	0.5128271
SC06097	sulfate adenylyltransferase:	6698421	6697066	-	0.9989632	1.0230439	7615.8804	1.59429344879	-0.35703456	0.39862755	-0.6314722	-0.7555142	-0.067836256	0.205884425
SC06098	sulfate adenylyltransferase:	6699362	6698424	-	0.99956036	1.0044565	7782.4985	2.57068020969	0.4709173	0.78846186	-0.1666438	-0.25370726	1.0992467	1.0207704
SC06099	adenylyl/sulfate kinase	6698395	6699359	-	0.9989256	1.0060979	7756.495	2.101078709444	1.3134958	0.62118876	0.8487123	0.70714825	1.6371252	1.8660971
SC06100	phosphoenolpyruvate phosphic	6700715	6700005	-	0.9999578	1.0048413	7779.2485	2.4656801099110	0.6414083	0.7571505	0.9595642	-0.114337485	1.2551089	1.329172
SC06101	hypothetical protein	6700991	6700712	-	1.0	0.99987215	7808.5	3.76458683283x	1.2313952	1.104982	0.31665942	0.235394	2.1569307	2.1210511
SC06102	nitrite/sulfite reductase	6702585	6700888	-	0.9999962	1.0015333	7806.5	3.6130606519x	1.0018556	1.0727719	1.1670039	-0.016781843	1.9143099	1.9427466
SC06103	acetyltransferase	6703541	6702969	-	0.9979486	1.0131554	7835.9287	1.473422372015	0.84565306	0.3233102	0.582354	0.5497803	1.1133689	1.3130931
SC06108	esterase	6709909	6711471	+	0.9993936	1.0177494	7665.497	1.69620988803x	1.0474434	0.4144899	0.6971166	0.635456	1.4569252	1.4002486
SC06109	secreted hydrolase	6711507	6713030	+	0.99866223	1.0262243	7588.0913	1.55043406184	-0.16107664	0.3692314	-0.49309355	-0.46173182	0.22512926	0.0953896
SC06195	acetyl-coenzyme m.e.a synthet	6804196	6805872	+	0.9999156	1.0060918	7763.2485	2.17719905378	0.4357997	0.6488912	-0.118719935	-0.13215452	1.0388222	0.95525104
SC06196	acyl-CoA synthetase (EC:2.3	6805869	6807494	+	0.9999156	1.0060918	7763.2485	2.16774613559x	0.021388524	0.6447852	-0.1550236	-0.55840516	0.9379774	0.6561651
SC06197	secreted protein	6808222	6807680	-	0.9999706	1.0036392	7787.9966	2.72392116514	0.2925424	0.8437434	2.2870677	2.0523314	3.710654	3.5201154
SC06198	secreted protein	6808799	6812269	+	0.9999322	1.0057204	7767.9985	2.24789589758	1.4543798	0.6772327	0.89629	0.4848828	2.1070774	2.107454
SC06199	secreted esterase	6812417	6814648	+	0.9997184	1.0167669	7767.2085	1.73667010180	0.44601636	0.46655843	0.93724752	0.1584617	1.0827674	1.005989
SC06271	acyl-CoA carboxylase complex A subunit				0.9991353	1.0301505	7565.908	1.489589136211	0.3962225	0.3353605	0.15034355	0.95037820	0.684979	0.6388993
SC06272	secreted FAD-binding protei	6899170	6900822	+	0.9996273	1.0093387	7742.491	2.01072520826	0.58957946	0.5802189	0.9719189	1.0005109	1.1160390	1.0880487
SC06273	type I polyketide synthase	6907356	6906990	-	0.99857156	1.0147556	7682.247	1.770286771038	0.4840395	0.4741228	0.68709790	0.857070719	0.91424	0.9791314
SC06276	secreted protein	6932285	6933607	+	0.9996854	1.0109338	7713.397	1.85006629272	2.5022326	0.5127583	2.0761998	2.4040172	2.9607694	2.9417710
SC06277	epoxide hydrolase	6933604	6934464	+	0.9920577	1.020346	7641.9424	1.63413098262	2.5485467	0.40964496	1.1805568	1.1980311	1.8726215	1.922957
SC06278	integral membrane transpor	6934507	6936138	+	0.9998887	1.0071017	7695.4876	2.10924185401	1.5995467	0.6217305	1.0570595	1.0653093	2.1496713	2.1261466
SC06279	diaminobutyrate-pyruvate a	6936149	6937705	+	0.99997824	1.0030571	7790.999	2.83624282695	0.0591132	0.86977243	2.3171384	2.2971082	3.871758	3.750473
SC06281	FAD-binding protein	6939907	6941544	+	0.99929917	1.0184463	7653.4834	1.66055922559	0.6906122	0.4224806	0.32440537	0.3250659	1.0651183	1.0166310
SC06283	hypothetical protein	6942661	6943506	+	0.9994232	1.0172468	7669.242	1.7002751552x	0.6480243	0.4832448	0.3828255	0.32274551	0.42208	0.4039767
SC06284	decarboxylase	6943673	6945265	+	0.9997085	1.0106931	7717.74	1.87632538934	2.3176892	0.5250941	1.8971038	1.8903525	2.7537076	2.7895687
SC06285	hypothetical protein	6945280	6946548	+	0.9994373	1.0052147	7707.7427	2.39528086442x	2.074961	0.7171718	1.6142287	1.1120956	2.6964009	2.677479
SC06343	hypothetical protein	7001411	7001530	-	0.9981625	1.0136557	7549.1475	1.49211662562	-0.8723135	0.3340157	-1.1785421	-1.1495453	-0.5538785	-0.4158991
SC06403	lipase-protein ligase	7095617	7095451	-	0.99787825	1.0316554	7538.762	1.478889792395	0.841509	0.32409748	0.549128	0.57425123	1.052876	1.1497753

Continuation supplementary Table S4

Up regulated *ttd8+*- ζ_{6-30} vs M145- ζ_{30}

	Description	Primary 5' E _r	Primary 3' E _r strand	p-Values (Up)	q-Values (Up)	RP-Values (Up)	Fold Change	Mean	std.dev	WT1_3	WT2_3	SS1_3	SS2_3
SC00045	hypothetical protein	36817	36689	1.626216E-5	0.111818182	11.149985	5.64039651987E-4	-1.8225633	1.7348745	-6.59241	-4.2653137	-2.7109244	-1.518406
SC00095	hypothetical protein	79702	78983	0.007123394	0.25313637	241.02939	1.54814722384E-1	-9.051609	0.3816664	-1.8363259	-1.8045307	-1.0503935	-1.3293856
SC00379	catalase (EC:1.11.1.6)	393498	394961	0.0040798057	0.19216867	176.75183	1.65292070261E-2	8.132155	0.45396024	2.41137	2.4894514	3.3871996	2.9642572
SC00614	hypothetical protein	653165	652881	0.007058447	0.25200912	239.68211	1.58899710945E-1	-1.1005528	0.36273895	-1.4613544	-1.3617419	-1.7515888	-0.8275262
SC00641	tellurium resistance protein		+	0.008306689	0.26938842	262.7366	1.52914050957E-3	3.588703	0.38660723	3.444724	3.3119924	3.9956143	3.794125
SC01118	integral membrane protein	1177579	1176089	0.003858549	0.18396342	171.93361	1.63760196119E-1	-0.3618058	0.41272008	-0.73637944	-0.69881636	0.038456876	-0.050483685
SC01160	hypothetical protein	1221178	1218590	0.0026000768	0.15401515	139.42764	1.70783327619E-1	-0.017998815	0.4493004	-0.34251115	-0.465536	0.3978883	0.33818063
SC01161	integral membrane protein	1221975	1221241	0.001096048	0.103253014	89.889206	1.88261482397E-1	0.041065596	0.53073555	-0.33820257	-0.49240407	0.4913012	0.25676783
SC01189	hypothetical protein	1262121	1262546	0.00501215	0.21651934	197.75662	1.59748185739E-1	0.78225297	0.3940155	0.4491244	0.439582	1.187213	1.0530925
SC01234	urease subunit alpha (EC:3.1.1.3)	1309975	1308254	0.004920667	0.2161236	195.77722	1.611877863501E-1	0.19632599	0.41393273	-0.13290168	-0.16318074	0.4780957	0.40248865
SC01235	urease subunit beta (EC:3.5.1.3)	1310279	1309868	0.0046540475	0.20794286	190.05669	1.60725734552E-1	-0.2560522	0.39947946	-0.531458	-0.4652473	0.1097462	0.06270197
SC01236	urease subunit gamma (EC:3.1.1.3)	1310595	1310293	7.2899344E-4	0.08028169	73.846274	1.96012325255E-1	4.133035	0.5733063	0.9962478	0.8406147	0.202369	1.7687824
SC01319	hypothetical protein		+	1.355672E-4	0.036551725	32.763234	2.470112259191E-1	5.055157	0.75525	0.8878189	0.8192728	1.2168858	2.0487222
SC01456	hypothetical protein	1554174	1553815	6.535363E-4	0.07884375	70.03785	2.03515518933E-1	-0.9455527	0.60100746	-1.4724326	-1.4443166	-0.5006706	-0.3059404
SC01491	elongation factor P	1594085	1593519	0.001795626	0.12763636	115.67659	1.78706798971E-2	9.234319	0.50657254	2.6572971	2.951972	3.3321353	3.446823
SC01505	30S ribosomal protein S4	1609590	1608976	0.0074280603	0.25699115	246.8492	1.54024443063E-1	5.0921545	0.39067087	4.9696285	4.5942206	5.3971133	5.410355
SC01516	preprotein translocase subunit	1622716	1621004	0.007816856	0.26344827	253.77751	1.53075126210E-1	1.2754551	0.36612788	1.0251894	0.9114812	1.6784751	1.4866749
SC01517	secreted protein	1623460	1622951	0.0036961248	0.18407643	167.8401	1.667013544401E-1	1.5174882	0.458228	1.3227824	0.9749286	1.999243	1.7724813
SC01567	lipoprotein	1669883	1669056	0.0038636659	0.18309091	172.05055	1.64517121601E-1	-0.8345476	0.48322217	-1.1499986	-1.2431543	-0.3299737	-0.162070537
SC01571	hypothetical protein	1681979	1682566	0.006704182	0.24268518	233.04443	1.5430753370E-1	0.40983117	0.36158934	0.1696159	0.024237828	0.7251896	0.720281
SC01627	ATP-GTP binding protein	1742167	1741637	0.005123474	0.21537635	200.47722	1.59679910044E-1	0.12335417	0.39802902	-0.10695016	-0.24152339	0.55550034	0.3662039
SC01654	hypothetical protein	1742168	1741638	0.004362634	0.19964913	184.0667	1.61822106563E-1	-0.3378382	0.4064117	-0.6183393	-0.75174606	0.077550374	-0.05818932
SC01655	hypothetical protein	1766159	1765257	0.0049789975	0.21627779	197.26978	1.597124037411E-1	0.930386	0.39620113	0.7372429	0.5679595	1.315464	1.3408095
SC01659	lipoprotein oligopeptide bin	1771550	1769946	0.0015820437	0.122475244	107.80158	1.802393700240E-1	0.9200572	0.48991832	0.57394165	0.4158237	1.493458	1.705175
SC01666	phosphatase	1786596	1785910	0.008013813	0.26327732	257.28033	1.51367453579E-1	0.53073025	0.34883496	0.2781633	0.1852421	0.79057467	0.688407
SC01823	integral membrane protein	1954303	1954009	0.0026691393	0.15574627	141.74939	1.71061709553E-1	-1.7865525	0.4591772	-2.251456	-2.0961657	-1.279115	-1.0007768
SC01840	ABC transporter ATP binding	1963992	1967794	0.009670035	0.2908077	286.0202	1.48534535987E-1	0.42539257	0.3307679	0.14976865	0.1302811	0.74411047	0.6774307
SC01845	low-affinity phosphate trans	1979343	1975214	0.0031794437	0.16911565	195.79262	1.67263762056E-1	0.70727205	0.48027803	0.38451815	0.28790107	1.0783932	1.0777298
SC01865	diaminobutyrate-2-oxoglutarate	1999110	2000381	0.0022176749	0.14820513	128.65578	1.75120092981E-1	2.3467531	0.48334408	2.0340401	1.8508574	2.876533	2.6271793
SC01866	L-lectoine synthase	2000500	2000898	0.006873002	0.24651375	236.43669	1.57150916739E-1	2.6092002	0.42206153	2.3786004	2.1876497	3.148438	2.721131
SC01903	transport associated protein	2037030	2038229	0.007239772	0.19225	168.95056	1.650954523281E-1	1.399158	0.42306027	1.0795645	0.9999612	1.8345178	1.687896
SC01922	ABC transporter ATP-binding	2053589	2054625	0.008831053	0.28183675	271.79462	1.51988421056E-1	1.737345	0.35990873	1.9888053	1.9640089	2.0952387	1.9479352
SC01946	phosphoglycerate kinase (EC:1.1.1.11)	2060088	2079797	0.007975444	0.26423728	256.716	1.53845540559E-1	1.212322	0.3703879	1.3551534	1.3555313	2.0410671	1.7973558
SC01963	integral membrane export p	210347	2100946	0.0017431896	0.1262037	113.93558	1.778181829988E-1	0.04586673	0.47944105	-0.38533993	-0.43232515	0.46657798	0.3696377
SC01965	export associated protein	2104918	2104340	0.0022637167	0.14628099	129.91935	1.73345422341E-1	3.610873	0.46409434	3.2381432	3.199087	4.09644	3.919608
SC01982	hypothetical protein	2120395	2120213	0.0042562988	0.1957647	188.89462	1.6265914759E-1	2.7088223	0.4205396	2.2620852	2.4536474	3.158602	2.969544
SC01985	integral membrane protein	2124631	2122775	0.0072848187	0.25542602	243.85818	1.52942936393E-1	0.066896	0.36029187	-0.21443115	-0.26477036	0.2946442	0.45214128
SC02008	branched chain amino acid I	214264	2150520	1.662167E-5	0.011818182	11.23133	4.40605711245E-1	2.997851	1.2677472	2.0603166	1.795869	4.3990984	3.744192
SC02009	branched chain amino acid II	2150635	2151567	2.5195038E-4	0.051842105	42.740726	2.3527667700E-1	0.038365006	0.7453922	-0.5462188	-0.61141074	0.3263477	0.38764575
SC02010	branched chain amino acid I	2151573	2153939	5.9342623E-4	0.07483871	66.34551	2.03263467437E-1	-0.5160887	0.6068607	-1.039809	-1.0157208	0.16484971	-0.135674
SC02011	branched chain amino acid I	2154305	2154334	4.923903E-4	0.0712963	60.81101	2.08834427190E-1	0.0344349	0.6503402	0.55330247	0.45520785	1.2075405	1.376540
SC02012	branched chain amino acid I	2154331	2155047	1.649973E-4	0.0409125	36.526344	2.46462136872E-1	1.2922698	0.7730493	0.6763866	0.6068041	2.1623987	1.722079
SC02136	secreted protein	2298750	2297707	5.99579E-4	0.09287879	72.35944	2.00797201810E-1	1.1634477	0.5046245	0.74093837	0.8002174	1.6685487	1.6540067
SC02155	cytochrome c oxidase subunit	2318494	2316759	0.003118613	0.22929385	278.87405	1.50234042102E-1	2.1864517	0.35125955	1.9927054	1.8002964	2.5477893	2.4123259
SC02156	cytochrome c oxidase subunit	2319450	2318491	0.0030809574	0.16680852	151.0721	1.68775021107E-1	3.1482253	0.4497789	2.8405457	2.7009949	3.6415957	3.4095562
SC02162	quinolinate synthase		+	0.0042358957	0.19597633	180.23822	1.62549405959E-1	2.4393051	0.41062555	1.0266583	2.0468027	2.8463683	2.727271
SC02195	hypothetical protein	2363105	2363320	1.7905102E-5	0.01076923	11.50984	4.30476681465E-1	1.351202	1.2268595	0.4011729	0.19509609	2.5763454	2.231937
SC02198	glutamine synthetase I	2364905	2366314	4.732063E-4	0.020555556	18.44418	3.3214895241E-1	3.1371262	1.0008974	2.3183677	2.2240553	4.0322623	3.7818188
SC02210	glutamine synthetase II	2374819	2373950	0.0	0.0	6.1	22.3689801299E-1	1.9396074	2.5896127	-0.28639293	-0.3178201	4.2726016	4.090407
SC02211	hypothetical protein	2375406	2376335	5.1157435E-4	0.0080	15.0335555	4.51050824583E-1	0.2093212	1.4064208	0.78872037	0.8345177	3.253286	3.2400776
SC02217	secreted protein	2380490	2381395	0.0015040287	0.1225	105.17532	1.8437959982E-1	0.038155124	0.53032655	-0.3560459	-0.450314	0.25529076	0.3068362
SC02238	NAD(+) synthase (glutamine	2408829	2406988	5.8831053E-4	0.07540984	66.10778	2.05164562392E-1	0.9394718	0.59907746	0.42685133	0.41531065	1.487006	1.376540
SC02241	glutamine synthetase (EC:6.3.1.2)	2410423	2411784	3.0822395E-4	0.054772727	64.173584	2.26304004025E-1	0.615366	0.6909236	0.27209416	0.18037261	2.5452298	1.26376
SC02255	hypothetical protein		+	0.0076748943	0.26091304	251.15477	1.5177690124E-1	0.39950767	0.34833777	0.34693877	0.10793693	0.7089416	0.6921338
SC02268	hypothetical protein	2537915	2537940	7.852663E-4	0.08527778	76.66693	1.94934854938E-1	3.5060592	0.5623053	3.2242986	3.1177002	4.2352254	4.0276797
SC02369	thiol-specific antioxidant pri	2538555	2538097	5.7940545E-4	0.07482333	65.12904	2.02021302406E-1	2.77134	0.58536374	2.263637	2.2557397	3.2747	

Continuation supplementary Table S4

SC09045	secreted protein	9334969	336392 +	0.003406942	0.17655629	161.17928	1.6659615366	0.5824948	0.4307033	0.2334948	0.1951621	1.0500093	0.85132223
SC09048	hypothetical protein	9341075	3399802 -	2.557818E-5	0.0125	14.947503	3.8512008405	2.4876401	1.1365589	1.5362311	1.1668405	3.0524525	3.725566
SC09050	hypothetical protein	9342928	3341880 -	0.005513493	0.22453125	208.65057	1.57420420828	0.28709347	0.3792017	-0.3902417	-0.0391159	0.85014166	0.5802767
SC09064	peptide transporter	9357162	3358659 +	0.0058984524	0.23292929	216.96915	1.5715164472	0.5465765	0.3832628	0.25561607	0.18571457	0.9242509	0.7902746
SC09086	lipoprotein	9379423	3380202 +	5.1157435E-6	0.0080	6.825249	5.16487147785	1.6328498	1.3789073	0.64543512	0.431532	3.0324922	2.60194
SC09096	phosphopyruvate hydratase	3391821	3390541 -	0.0015539071	0.12272725	106.54153	1.016216473824	1.7395683	0.5174235	1.411371	1.1666293	2.2766523	2.0234077
SC09097	secreted protein	3392817	3392083 -	2.9287633E-4	0.055853657	45.034063	2.27331084195	1.9890047	0.7084727	1.5378588	1.2555458	2.7593695	2.4051108
SC09105	hypothetical protein	3401899	3402504 +	5.588955E-4	0.074067794	64.45354	2.06063416016	1.2244852	0.60379785	0.6707776	0.69910425	1.1793122	1.6928666
SC09106	lipoprotein	3402554	3403453 +	3.8368077E-4	0.057693208	52.305992	2.16042214648	0.35142905	0.64220893	-0.17146075	-0.2369491	0.88893967	0.95123165
SC09127	phosphoenolpyruvate carb	3429867	3427132 -	0.007915335	0.26448718	255.76901	1.51935912282	-0.14595667	0.35135585	-0.43320596	-0.4673988	0.20636536	0.10753936
SC09145	secreted protein	3444689	3445196 -	0.0031474615	0.16856164	154.31245	1.67816855424	1.3600249	0.40377292	1.0019401	0.97122216	1.788995	1.0779523
SC09146	secreted protein	3445502	3445110 -	8.4921345E-4	0.009233765	79.80864	1.92450893166	0.8939816	0.55662445	0.424501	0.3677186	1.4864227	1.1948308
SC09156	penicillin-binding protein (s	3457367	3458992 +	7.085305E-4	0.082666566	73.84561	1.974251441936	0.5841683	0.5721863	0.13692337	0.0501063	1.1627362	0.9869803
SC09157	penicillin-binding protein (s	3459077	3460852 +	8.3642406E-4	0.0872	79.084984	1.949361057924	1.304936	0.5565843	0.0503031	0.8418378	1.012063	1.7601014
SC09194	lipoprotein	3500071	3501294 +	1.534723E-5	0.012	10.977202	4.63903591926	2.3904428	1.2847601	1.2623898	1.3046713	3.6553283	3.3398824
SC09206	transmembrane efflux prote	3515160	3519316 -	3.031078E-4	0.05511628	45.86136	2.25800370296	2.4598962	0.6784659	1.8800613	1.8626893	3.0402314	3.0498185
SC09207	TetR family transcriptional r	3516036	3515302 -	0.0029799207	0.1676259	150.1794	1.682808706141	1.752779	0.44113359	3.306617	3.4480023	4.198579	4.0579176
SC09323	RNA polymerase sigma fact	3675442	3675975 +	0.0012840517	0.109130435	97.82665	1.86144900029	3.086847	0.5327447	2.781865	2.495403	3.9353453	3.476577
SC09341	integral membrane protein	3691173	3698670 -	1.7905102E-5	0.01076923	11.524668	4.43842914355	0.14906298	1.2575985	-0.9247041	-0.9260486	1.4754772	0.9715273
SC09342	glycine-rich secreted prote	3699000	3699215 -	1.2709395E-5	0.011111111	10.10735	4.72074622202	2.4304510	1.0657000	1.2072521	1.3997204	1.0653002	0.3502402
SC09356	ECF sigma factor	3715604	3716137 +	0.0029632945	0.16789955	149.7381	1.69016714502	3.7893063	0.46623896	3.9861392	3.4228200	4.263947	4.0394444
SC09357	hypothetical protein	3716134	3716802 +	8.4537636E-4	0.09897368	78.43481	1.95939814751	2.5028377	0.56507313	1.9679959	2.0785004	3.082395	2.9896596
SC09359	integral membrane lysyl-tR	3761969	3763524 +	0.009877232	0.2348771	289.21895	1.4024530405210	1.9772474	0.2305097	-0.0925359	-0.0005619	0.13403416	0.4448625
SC09411	membrane protein	3779367	3777455 -	0.0064616935	0.23502487	220.02245	1.57083104973	0.09397244	0.3893732	-0.17617886	-0.2874043	0.52641093	0.3098319
SC09470	transposase	3813525	3803698 -	0.001214912	0.105333336	94.999475	1.84021702503	0.4944544	0.51455754	0.08103466	0.0213988	0.9900075	0.8770373
SC09478	hypothetical protein	3906801	3906605 -	0.0050249393	0.21587913	198.1336	1.597912129661	1.2606435	0.40394542	1.0249038	0.920195	1.6740118	1.5236322
SC09571	transcriptional regulator	3950326	3951000 -	0.009514004	0.2905894	283.249	1.501234164608	2.52555	0.350425	2.265736	2.1991242	3.9249485	3.7123
SC09649	fructose-bisphosphate aldol	4028773	4027742 -	0.0012789359	0.10898011	97.501724	1.864139465221	2.559936	0.544416	2.1746087	2.0467532	3.201119	3.0172626
SC09676	integral membrane protein	4059415	4060467 +	5.203735E-4	0.074285716	62.557587	2.05682175788	1.6653128	0.6074552	1.1419752	1.1482337	2.2624441	2.0747979
SC09712	hydrolase	408148	4088984 +	0.0079294E-4	0.04617647	39.28391	2.35287463163	1.1905395	0.7140643	0.5941293	0.597525	1.793337	1.9561696
SC09791	hypothetical protein	4161358	4165495 +	0.0032421027	0.17128378	157.55302	1.67186904945	-0.52624196	0.48802374	-0.8870158	-0.9062997	0.00662256	-0.3170844
SC09792	methionyl-tRNA synthetase	4165611	4171227 +	0.006135056	0.29514706	222.30981	1.56939549928	1.3851008	0.3819565	0.9479315	0.7497931	1.7385886	1.0776504
SC09793	hypothetical protein	4171328	4171659 +	2.5579715E-6	0.0090	5.566315	5.66717947096	1.3056779	1.4703016	0.2550102	0.2551458	3.096307	2.4236796
SC09797	serine/threonine protein kir	4209767	4203423 +	0.0011731053	0.102912135	93.122566	1.86550078125	1.1321081	0.52786866	0.693836	0.6700971	1.6943465	1.4658249
SC09843	hypothetical protein	4212734	4212846 -	9.860595E-4	0.09759494	65.44117	1.9028579545	0.356668	0.5472339	0.5349725	0.45041278	1.5498924	1.2166330
SC09844	secreted protein	4228257	4228775 -	0.004180841	0.19458333	179.076714	1.65531789238	0.829244	0.4465999	0.5682002	0.5761295	1.3484937	1.0355331
SC09845	protein phosphatase	4228917	4230464 +	0.004454915	0.20560694	188.25204	1.61627610738	1.0651081	0.41101682	0.7501486	0.6673975	1.5233957	1.299554
SC09846	FtsW/RodZ/SpoV family c	4230492	4231391 -	0.0025041564	0.14946565	137.02028	1.72616260071	0.5547076	0.46531776	0.2295537	0.9212812	1.0481766	0.84897714
SC09847	secreted protein	4231928	4234000 +	0.0016805219	0.12514286	111.34612	1.80868680841	0.3556735	0.507509	-0.02605113	-0.11749974	0.920245	0.6460439
SC09848	serine/threonine protein kir	4233591	4235612 -	0.008022765	0.2624686	257.44147	1.52141120017	2.1227705	0.38687238	1.8849091	1.7551408	2.49959	2.351361
SC09854	putative septation inhibitor	4239330	4239584 +	6.190055E-4	0.076825395	75.95654	2.02538524700	1.6406413	0.6162869	1.2295264	1.0335598	2.580176	1.9540705
SC09874	DNA gyrase subunit B	4265438	4263970 -	0.003632178	0.18322581	166.41461	1.65978847797	1.7673024	0.48472108	1.3227578	1.3040772	2.180653	1.8977624
SC09891	hypothetical protein	4292357	4291764 -	0.009565162	0.29101156	284.25116	1.50720664084	0.7634987	0.36408663	0.50854343	0.42657962	1.207476	0.9110701
SC09901	secreted penicillin-binding	4296215	4296860 +	0.007582811	0.2599089	249.60055	1.53144352181	1.1855415	0.36556068	0.91493996	0.8477963	1.9354772	1.9254802
SC09966	secreted protein	4367993	4367280 -	0.002252062	0.1478932	129.62937	1.74756075900	-0.3389205	0.4707346	-0.7123956	-0.7507931	0.21207072	-0.064811246
SC09991	lipoprotein	4394003	4395133 +	7.2771456E-4	0.081285715	73.78836	1.98540191139	1.2529813	0.57378893	0.5000008	0.60952675	1.593344	1.6205336
SC04066	amidophosphoribosyltransf	4479261	4480853 +	0.002468055	0.14768	132.81519	1.72829458073	2.2044203	0.4614097	1.8939794	1.7284759	2.971312	2.6424224
SC04059	transcriptional regulatory pr	4576980	4576177 -	3.6193884E-4	0.058958333	150.274963	2.19966877387	2.1278806	0.6606057	1.6250087	1.4994466	2.2762262	2.3680253
SC04163	secreted protein	4579824	4580561 +	9.796494E-4	0.09280513	85.348145	1.90645563571	1.170761	0.5457804	0.7689954	0.46163375	1.7935646	1.5388093
SC04064	thiosulfate sulfurtransferase			0.00533163	0.21947369	204.85725	1.59394686646	2.8661523	0.4051347	2.5793614	2.0461233	3.3369281	3.0679965
SC04209	phosphoglyceromutase	4618020	4618781 +	0.0022956901	0.14475806	130.8661	1.74514292258	1.5901558	0.4780516	1.7222785	1.1046878	2.1062684	1.9778886
SC04277	tellurium resistance protein	4693458	4692883 -	0.0031052565	0.16744828	153.91815	1.67993761388	3.281248	0.44625843	2.977952	2.89361366	3.772206	3.3368834
SC04289	secreted protein	4704590	4705072 +	5.1157435E-6	0.0080	6.9640093	5.16438575544	0.58213925	1.3789109	1.0622499	-0.58106894	1.9821286	1.5007467
SC04424	secreted protein	4841760	4842290 +	7.034148E-5	0.025	21.657368	3.03251989424	0.3940641	0.9277511	0.16163026	0.2529809	1.8904359	1.6983
SC04471	secreted protein	4893161	4898459 +	3.5812026E-4	0.03957447	48.712414	2.21907138741	0.7774598	0.6957310	0.12996801	0.17900158	1.9557381	1.9062464
SC04505	hypothetical protein	4935106	4935106 +	0.0058495404	0.2357143	216.32102	1.50751808610	0.1913953	0.48174009	-0.13710944	-0.21138714	0.9857221	0.9826254
SC04513	hypothetical protein	4956350	4956562 -	0.005637217	0.2706185	211.34166	1.592467110928	0.57725215	0.41021995	0.30279653	0.18044396	1.0732497	0.75284314
SC04515	hypothetical protein	4993164	4993959 -	0.005583844	0.26261761	210.36243	1.59587992318	1.16					

Continuation supplementary Table S4

SC04926	propionyl-CoA carboxylase c	5360610	5359109	-	0.006429211	0.23989096	227.87642	1.555508717455	0.20272721	0.37299598	-0.095291214	-0.14664087	0.5893661	0.45347485
SC04934	lipoprotein	536677	5369921	+	0.001556465	0.11217	106.67996	1.83292768106	3.398175	0.5445418	3.0952232	2.826798	0.464767	3.6237593
SC05105	hypothetical protein	5546599	5547831	+	0.0029389947	0.16773723	149.03978	1.69513521958	-0.7751877	0.4533827	-1.1965525	-1.11523	-0.264913	-0.5241837
SC05111	GTP-binding protein	5554541	5556448	+	0.003399417	0.1772	160.92809	1.66689661505	1.4338785	0.4282437	1.078998	1.032692	1.6578385	1.7470831
SC05112	BldK, ABC transport system	5557355	5558386	+	0.001378629	0.11468085	100.57966	1.86619435029	2.0093615	0.5690109	1.5923952	1.5262285	2.7413266	2.1774957
SC05113	BldK, ABC transport system	5558490	5560300	+	0.0011305794	0.104	91.18897	1.92990805532	2.480174	0.6037679	2.047371	1.9644449	3.26303	2.6458050
SC05114	BldK, ABC transport system	5560414	5561391	+	0.0015526282	0.12387755	106.526405	1.8441944813	0.830800171	0.54858065	-0.45411855	-0.36272193	0.7166092	0.42582001
SC05190	DNA-binding protein	5647747	5648115	+	1.0998849E-4	0.03818185	28.644156	2.68031799078	0.5214813	0.84205616	-0.17362057	-0.20582101	1.068056	1.0052811
SC05191	hypothetical protein	5648112	5648435	+	1.4835656E-4	0.037419356	34.617194	2.56438701380	1.9540747	0.8122666	1.2764101	1.7231256	2.891763	2.750272
SC05195	hypothetical protein	5652152	5653906	+	3.7344936E-4	0.0584	50.87236	2.20524759836	0.787011	0.67443484	0.19551787	0.23765352	1.5534993	1.1814734
SC05196	hypothetical protein	5653920	5654600	+	8.6967644E-5	0.028933334	24.735256	2.81828482905	0.43689728	0.88299364	-0.23844076	-0.38758212	1.3995672	0.9639454
SC05197	hypothetical protein	5654618	5655379	+	1.7393529E-4	0.041212123	37.254112	2.49273579398	1.935997	0.7853286	1.2407851	1.355479	2.8132644	2.3364659
SC05204	integral membrane protein	5659273	5660941	+	0.0049379181	0.12726257	197.14041	1.60775439226	2.13321676	0.4145217	1.8020521	1.7772361	2.6218152	2.3231971
SC05281	alpha-ketoglutarate decarb	5753664	5749846	+	0.005026218	0.21358696	198.20413	1.5992428544	2.503734	0.9988342	2.195433	2.134642	2.9932602	2.7515972
SC05357	transcription termination factor	Rho	+	0.0040874793	0.19137725	176.93628	1.63322848905	2.1303015	0.41600117	1.797479	1.7953794	2.5774612	2.3908687	
SC05358	hypothetical protein	5828747	5828995	+	0.0016242486	0.124250904	109.1684	1.79318349309	-0.24453235	0.48980984	-0.66739535	-0.6641924	0.24705268	0.10645609
SC05360	peptide chain release factor	5830353	5831429	+	0.0072617983	0.25576577	243.50786	1.52738470956	0.7595506	0.35365358	0.4766705	0.43035012	1.0837038	1.0464609
SC05366	ATP synthase subunit I	5836773	5837207	+	0.0018672465	0.103035715	118.01176	1.76794892466	1.5519826	0.47673556	1.1838042	1.9808404	1.9772476	1.928767
SC05375	F0F1 ATP synthase subunit f	5837433	5838254	+	5.6509417E-4	0.07892308	70.13228	2.01799294981	1.8719344	0.5879325	1.428745	1.3022029	2.148953	2.339805
SC05405	transcriptional regulator	5077904	5077400	-	0.000002302	0.26400040	257.35525	1.53110053426	2.0310695	0.20214023	2.604017	2.4426507	2.029391	2.040400
SC05409	hypothetical protein	5880228	5880572	+	0.0022777847	0.1459836	130.34521	1.72662099063	-0.62786555	0.45393405	-0.86667019	-1.0576106	-0.24391647	-0.22886804
SC05457	lipoprotein	5943733	5944983	+	0.006125056	0.23514706	222.34991	1.56808444478	-0.0939185	0.386862205	-0.3787896	-0.47556946	0.33868086	0.1105704
SC05473	ATP/GTP binding protein	5952973	5955941	+	0.0062450405	0.23487961	224.5047	1.55748190772	0.17780568	0.3703957	-0.13939333	-0.14359776	0.5345008	0.46036097
SC05477	oligopeptide-binding lipopri	5962174	5964976	+	0.0010461697	0.10098766	87.6556	1.94625153898	3.3773639	0.61813897	2.993088	2.810954	4.180621	3.5348172
SC05478	oligopeptide transport syste	5965085	5966083	+	0.0037050773	0.18335444	168.20695	1.66654778625	1.6719425	0.46040085	1.3303285	1.2763938	2.2542932	1.8264542
SC05490	aspartyl/glutamyl-tRNA ami	5984016	5985112	+	0.006780918	0.24433179	234.64525	1.548205316788	0.4481793	0.36399214	0.15624987	0.10647033	0.80635703	0.6864297
SC05499	aspartyl/glutamyl-tRNA ami	5985116	5986609	+	0.0030822856	0.16798111	153.23837	1.68271825634	1.2992588	0.4471253	0.9789747	0.86880666	1.7971475	1.5521357
SC05500	hypothetical protein	5986606	5986845	+	0.0065596425	0.24193396	230.22514	1.56317534059	-0.31126297	0.39406034	-0.60792077	-0.6590848	1.6780122	-0.4584745
SC05515	D-3-phosphoglycerate dehy	6008680	6008449	+	0.003593891	0.18246754	165.63843	1.65826795404	2.2822886	0.4244789	1.9811565	1.8537542	2.2487732	2.646303
SC05521	hypothetical protein	6015052	6015183	+	0.0020232766	0.18771934	122.78866	1.76677945786	0.80989766	0.50178665	0.5888321	0.20984142	1.6899113	1.5522266
SC05546	hypothetical protein	6045485	6046270	+	0.0036848043	0.18288462	166.77539	1.65160411967	1.2217474	0.42509642	0.9371222	0.78250474	1.6392822	1.5288086
SC05575	transmembrane protein	6073466	6072276	+	0.009017778	0.2831727	275.13904	1.49544787082	0.29212976	0.38492756	-0.06645766	0.00645766	0.525392	0.10686724
SC05583	ammium transporter	6080931	6089737	+	0.0	0.0	2.0	15.2558442232	1.8763506	2.272088	-0.29530274	-0.20586848	3.7684456	3.515148
SC05584	nitrogen regulatory protein P-II	6087777	6090284	+	1.2789359E-4	0.0030333334	32.237098	12.3152042033	2.0380776	2.0933398	0.30562302	0.48163178	3.9234468	3.7554247
SC05585	Pii uridylyl-transferase (EC:7	6097777	6090284	+	3.2523246E-4	0.057777777	47.93724	2.22917828910	0.30936724	0.6702277	-0.1836613	-0.24517605	0.956452	0.8165215
SC05588	lipoprotein	6094631	6094014	+	0.0066977874	0.2445514	232.97946	1.54523162155	1.3093476	0.36876416	0.707658	0.9132234	1.6357322	1.6118177
SC05608	hypothetical protein	6108755	6109456	+	0.0053602003	0.21942408	205.45436	1.5794706638	0.711354	0.38405505	0.35090438	0.41201872	0.9897456	1.0297786
SC05609	hypothetical protein	6109712	6109515	+	0.0017035427	0.12566037	112.45666	1.82402975707	1.1313022	0.5242549	0.7096685	0.6493886	1.3595202	1.7348137
SC05624	30S ribosomal protein S2	6120494	6124426	+	0.001808454	0.12798739	116.40092	1.77718475097	3.185207	0.48693722	2.8361018	2.7047179	2.8605038	3.5149531
SC05625	elongation factor Ts	6124521	6125357	+	0.0073001664	0.25482142	244.2896	1.5386926127	0.4721264	0.37138158	3.848346	3.6741598	4.607043	4.3052483
SC05650	hypothetical protein	6149768	6149604	+	0.0028942318	0.16639706	147.57169	1.6962040598	3.4140966	0.46229753	3.1855786	2.7982506	3.7827082	3.8656483
SC05655	hypothetical protein	6159446	6154073	+	0.006605993	0.23480398	220.44663	1.57784020625	-0.38558928	0.4033476	-0.46633006	-0.78279155	0.80481335	-0.2068239
SC05695	metalloprotease	6205187	6206479	+	0.0071812253	0.2540724	242.30614	1.53432217238	0.14504007	0.36109346	-0.17637165	-0.15149959	0.52245545	0.26032607
SC05769	recombinase A	6306654	6307778	+	3.7472823E-4	0.05740098	50.8912	2.17914051734	2.0778506	0.67860605	1.5963485	1.4251391	2.868035	2.4088012
SC05774	glutamate permease	6312860	6311361	+	7.126736E-4	0.001911765	72.95508	2.01257637098	0.7132182	0.6274613	2.2547001	2.352592	3.499477	2.9360628
SC05775	glutamate permease	6312857	6312857	+	7.9055956E-4	0.00547945	73.71737	2.01086971632	0.8908029	0.6514018	2.396121	2.3776734	3.7532527	3.0361724
SC05776	glutamate binding protein	6314444	6314630	+	5.077975E-4	0.07218182	61.184984	2.1439504881	2.864851	0.6984221	2.9912425	2.2466449	3.769895	3.664972
SC05794	secreted protein	6337308	6336091	+	0.002652513	0.15593985	141.21802	1.7065766683	1.0192275	0.44574547	0.6603192	0.6070305	1.4099464	1.0601400
SC05798	secreted protein	6338635	6337406	+	9.464126E-5	0.0296	26.987684	2.71054100121	2.0449388	0.850489	1.8457867	1.3055102	2.9874678	2.5400996
SC05839	hypothetical protein	6392322	6393074	+	3.587416E-4	0.07350877	62.93568	2.06273173995	1.6293919	0.61487997	1.2403845	0.738432	2.133663	2.0899732
SC05840	transcriptional regulator	6393195	6393890	+	2.0079294E-4	0.04617647	39.313267	2.35412078485	1.8797662	0.71393704	1.2984974	1.2258468	2.5172203	2.4757007
SC05881	response regulator	-	-	-	1.1766211E-4	0.032857142	29.51824	2.67016722029	1.1381125	0.8613346	0.4858493	0.37948557	2.171827	1.521328
SC05900	hypothetical protein	6465627	6467702	+	0.0024453255	0.149375	135.4572	1.71942379181	0.68975744	0.45136598	-0.2912089	-0.34959797	0.46153024	0.48666838
SC05987	hypothetical protein	6563093	6562884	+	2.302848E-5	0.012	13.982108	3.99565162126	0.045119679	1.1568012	-0.99520475	-0.8089867	1.13164	0.9976702
SC06005	lipoprotein	6584624	6586039	+	8.4409774E-5	0.02069562	24.366518	2.85000206710	0.83314995	0.9090134	0.7815935	0.77145975	1.9050672	1.721841
SC06066	transmembrane transport p	6586041	6587107	+	3.6193804E-4	0.00589333	50.17025	2.22747117401	0.18616652	0.6905095	-0.41169346	-0.345335	0.98439513	0.5630059
SC06109	transmembrane transport p	6587059												

Continuation supplementary Table S4

Down regulated *tdD8* + *t6_34* vs M145-*t36*

Description	Primary 5' Er	Primary 3' Er strand	p-Values (Down)	q-Values (Down)	RP-Values (Down)	Fold Change	Mean	std.dev	WT1_3	WT2_3	SS1_3	SS2_3
SC00004 hypothetical protein	6979	7175 +	0.003323965	0.19893129	159.62714	1.6430056	-0.0524931	0.48074033	0.3248318	0.286507	-0.55684936	-0.26488793
SC00038 sigma factor	31274	31146 -	0.0019043557	0.15193078	115.252525	1.7323677	2.2970152	0.46128172	2.740651	2.6389738	1.9368963	1.8626394
SC00060 hypothetical protein	46064	46201 +	0.009716077	0.2921933	287.00458	1.5016521	1.551683	0.35531935	1.7143227	1.9755939	1.2413403	1.2754751
SC00129 hypothetical protein	119841	120215 +	0.0066581406	0.25772277	232.08452	1.6872054	-1.9662375	0.6793399	-1.5124173	-1.6654222	-2.977325	-1.7097857
SC00131 secreted protein	122456	121617 -	0.008182632	0.27577585	260.20547	1.5086232	0.2640263	0.3472067	0.62234735	0.49999735	-0.056542244	-0.009593634
SC00179 zinc-containing dehydrogen	168514	167444 -	0.0061683077	0.24733333	223.0355	1.5593698	2.1469731	0.37806615	2.4638948	2.4710145	1.8212039	1.7317734
SC00201 integral membrane protein	191654	190983 -	0.0011510423	0.118421055	92.00707	1.8158542	2.1902256	0.49639564	2.6148887	2.626211	1.7651556	1.7546471
SC00209 hypothetical protein	200024	200428 +	2.672976E-4	0.056486487	43.865864	2.099109	2.8044856	0.6195581	3.289504	3.3892438	2.6234638	2.2367306
SC00212 hypothetical protein	202843	202370 -	0.0026998398	0.17591667	142.41774	1.6964265	1.0011289	0.4634959	1.2084546	1.5563021	0.6559677	0.584662
SC00214 hypothetical protein	204387	204800 +	0.007723494	0.2732579	252.13774	1.5426891	0.7769785	0.39940388	0.90710574	1.2720929	0.4070898	0.52122593
SC00251 hypothetical protein	221247	221092 -	0.0012507999	0.1259461	96.239982	1.825436	2.2089982	0.54887456	2.6574175	2.6286197	2.0483172	1.5014397
SC00268 hypothetical protein	256281	256442 +	0.0	0.0	1.4142135	5.218889	2.767961	1.3823572	4.0546646	3.8651001	1.4055068	1.7065729
SC00269 hypothetical protein	256526	259687 +	0.0010026857	0.11362319	86.18779	1.8263133	0.31734422	0.50259405	0.77990854	0.7237143	-0.14137858	-0.0598272
SC00270 hypothetical protein	259604	261084 +	0.00909895	0.26885403	276.61759	1.4940238	0.24090489	0.39646578	0.575084	0.4853962	-0.058119377	-0.03926393
SC00409 spore-associated protein pri	429556	429492 -	0.003272797	0.19684616	158.02948	1.6474183	1.5161763	0.41784924	1.8674355	1.8851242	1.1063758	1.12057001
SC00545 peptidase	578092	579228 +	0.005947052	0.2421875	218.02245	1.5568761	0.25422794	0.38012183	0.55096406	0.59614587	-0.17595494	0.04575664
SC00569 50S ribosomal protein L36	611206	611984 -	8.4921345E-4	0.10539682	79.846436	1.8669754	2.9260545	0.5250591	3.2881353	3.4646764	2.859958	2.46541
SC00570 50S ribosomal protein L33	611230	612156 -	0.005591508	0.2376087	120.62077	1.5898817	3.1143222	0.39097777	3.328751	3.5631754	2.8546832	2.710679
SC00620 hypothetical protein	661607	661329 -	0.0037498402	0.21246377	169.57089	1.6219672	1.9447361	0.43298832	2.3322623	2.2549539	1.853372	1.7863904
SC00637 hypothetical protein	678937	679392 +	0.004422561	0.23208053	185.46402	1.6192596	0.3805595	0.4270875	0.5648148	0.8952875	-0.050857224	0.13099766
SC00673 hypothetical protein	711736	712709 -	0.0052883998	0.24323529	203.94766	1.5721061	0.8456061	0.37788606	1.5709799	1.1988309	0.50927276	0.5208057
SC00718 hypothetical protein	721658	720965 -	2.765399E-4	0.049444444	40.387074	2.1263808	2.559333	0.6400136	2.9929512	3.2941762	2.118589	1.9379746
SC00679 hypothetical protein	721248	721463 +	0.001238943	0.1251498	95.81696	1.8021442	1.9253126	0.49158227	2.332367	2.1672799	1.5344489	1.4646427
SC00729 hypothetical protein	772544	772966 +	0.0056260994	0.23778379	211.18962	1.5677216	1.1619755	0.38956282	1.5351753	1.4374921	0.7118104	0.95942384
SC00733 hypothetical protein	776388	776203 -	0.0036692673	0.21251851	167.32587	1.62795	3.4322782	0.4573666	3.8101442	3.7574687	2.8567326	3.0407676
SC00762 protease inhibitor protein	806606	806172 -	4.412329E-4	0.06634615	56.29809	1.9739971	3.142793	0.5691011	3.6966503	3.5699358	2.9297693	2.6745772
SC00781 anti sigma factor antagonist	828289	828789 -	0.009556516	0.2960765	290.26385	1.4986647	0.40770977	0.3605793	0.7566678	0.7688424	0.39507974	0.01261314
SC00838 hypothetical protein	885442	885867 +	0.009024171	0.28682926	275.3156	1.5062087	1.7643762	0.36195454	2.0091608	2.1105134	1.1293756	1.6080952
SC00855 acetyltransferase	902680	902174 -	0.004957731	0.20886718	282.3465	1.4895523	0.49669754	0.3493742	0.75978094	0.7348597	0.119129665	0.25282979
SC00882 hypothetical protein	928670	929017 +	7.289935E-5	0.0	22.78081	2.4345946	-0.04419905	0.74732524	0.51427186	0.6810116	-0.7693109	-0.6027687
SC00883 peptidase deformylase (EC.3.5	929061	929717 +	3.7856505E-4	0.064947826	51.724297	2.0606532	1.8822464	0.62669605	2.361114	2.4465168	1.1527046	1.5687222
SC00885 thoredoxin	931393	931797 +	3.8240183E-4	0.06361702	52.221554	2.102599	3.4478114	0.6512348	3.9807854	3.9870112	2.6270154	3.1264834
SC00917 oxygenase	961534	962553 +	0.002903004	0.1933971	148.05569	1.6791888	1.1251632	0.44489376	1.9596710	1.6347456	1.7139225	0.78865275
SC00919 hypothetical protein	965943	964894 -	0.0024043994	0.19369377	134.21674	1.6942022	0.7806584	0.4818507	1.8881070	1.1340007	0.452146	0.34810196
SC00937 hypothetical protein	983389	983850 +	0.0061514818	0.24793814	222.68234	1.5583122	0.39565498	0.38915902	0.68739444	0.7444085	-0.0790566	0.2214608
SC00973 integral membrane protein	1024508	1025767 +	3.0694462E-4	0.06153846	46.13564	2.075683	2.1909704	0.6189902	2.5798461	2.8558807	1.6902655	1.688098
SC00923 hypothetical protein	1078574	1079182 +	0.0030502623	0.18632813	152.30943	1.667161	0.3045058	0.4820797	3.312986	3.4994192	2.70866	2.6607923
SC01026 transcriptional regulatory pr	1084395	1085219 +	0.006899589	0.25813390	236.81047	1.5309508	2.1016154	0.361129	2.403768	2.4138484	1.7072296	1.8816156
SC01029 hypothetical protein	1087360	1087587 +	0.0054201307	0.24075956	206.57996	1.573191	1.2088169	0.39536142	1.520833	1.5744946	1.2252684	1.0357031
SC01048 secreted protein	1104952	1104500 -	0.007745236	0.2727928	252.4983	1.5154066	-0.52588403	0.36828157	-0.08993379	-0.36212924	-0.7548127	-0.8971603
SC01071 two component system sen	1112338	1113091 -	0.0071735517	0.26457548	242.13564	1.5569564	1.1106974	0.40762308	1.218587	1.6415362	0.68739274	0.8147234
SC01073 hydrogenase	1134012	1132744 -	0.0056409559	0.23747312	211.79628	1.5663974	1.3805984	0.38123378	1.6482804	1.7603667	0.9835951	1.1301874
SC01084 thoredoxin	1144822	1144648 -	0.00647866	0.25867244	234.114	1.5505475	2.6021366	0.36961222	2.6498938	2.987157	2.2839652	2.2881303
SC01142 oxidoreductase	1200394	1201473 +	0.008978702	0.2979318	274.50872	1.4983244	0.34957995	0.38079443	1.1556506	1.2874718	0.5513763	0.7336466
SC01166 integral membrane protein	1225983	1225651 -	0.009176365	0.287	278.02054	1.5021156	0.6259729	0.3458349	0.8393917	1.0006061	0.33027777	0.3351625
SC01247 hypothetical protein	1319887	1320564 +	0.009524236	0.28976555	283.37094	1.4912004	0.5782229	0.3477035	0.83948445	0.9932615	0.2631013	0.32644418
SC01304 hypothetical protein	1380724	1381131 +	1.6498273E-4	0.03909991	86.463203	2.221604	2.4562723	0.6749592	3.1242528	3.3399840	1.9875254	2.1739313
SC01364 hypothetical protein	1442748	1442209 -	8.760711E-4	0.10703125	81.02429	1.8890617	2.3527863	0.56327856	2.582659	3.0405831	1.84387	1.943664
SC01403 hypothetical protein	1490427	1490969 +	0.0010338802	0.115428574	87.28043	1.8395577	3.6354225	0.5238285	4.026238	4.1428533	3.0448809	3.3518134
SC01420 GntR family transcriptional	1505123	1504428 -	0.008093107	0.27513042	258.8574	1.5119736	0.72400045	0.35461715	1.0189638	1.02547	0.32208067	0.18294177
SC01426 hypothetical protein	1522328	1522765 +	7.673615E-6	0.0075	8.144476	3.1855545	2.9578664	0.6666101	3.8355411	3.7333736	2.5121242	2.9255339
SC01427 hypothetical protein	1522938	1523255 +	0.005838844	0.23857923	210.35275	1.5622278	0.015396409	0.3791792	0.4133605	0.6103717	-0.7693109	-0.5685713
SC01470 hypothetical protein	1570514	1570895 +	0.0054809464	0.24131429	206.23705	1.569173	0.755501	0.4795677	1.1021801	1.0988263	0.4311403	0.42989326
SC01534 DNA polymerase III subunit	1641143	1641068 +	0.0024261414	0.163975	134.64116	1.6968935	1.1236737	0.44139602	1.4620862	1.5481042	0.75509959	0.7294045
SC01550 small membrane protein	1659371	1659380 -	1.880035E-4	0.042	38.39791	2.1517915	5.9887785	0.6885465	6.41592	6.5937933	5.1366565	5.4465744
SC01562 acetyltransferase	1674203	1673719 -	0.00262205	0.17440679	140.50664	1.6685008	1.3982528	0.4875205	1.757226	1.793489	0.9720214	1.0694515
SC01576 arginine repressor	1687155	1686616 -	0.0025067145	0.17345139	137.07539	1.7138829	0.9761266	0.5321556	1.6811376	1.0483847	0.48710306	0.3798816
SC01580 N-acetyl-gamma-glutamyl-p	1691461	1690433 -	0.0047039264	0.23729032	191.20125	1.5857583	0.2946212	0.41146722	0.7681481	0.4862675	-0.15139433	0.075463854
SC01642 hypothetical protein	1782041	1783042 +	0.008224837	0.27260858	261.11722	1.5183285	1.96598	0.3658645	2.212527	2.3217869	1.5869815	1.1229929
SC01673 hypothetical protein	1794077	1794265 +	0.005513489	0.24088799	208.60635	1.5684898	3.9528724	0.37507063	3.6875424	3.6675787	3.0195888	3.0397103
SC01734 secreted protein	179											

Continuation supplementary Table S4

SC02392	lipoprotein	2563944	2564861 +	0.0051758536	0.24527273	201.55662	1.5779297	1.5791688	0.38930134	1.8515038	1.9546493	1.2194668	1.1674304
SC02435	hypothetical protein	2613322	2613849 +	0.002157565	0.1576635	126.66405	1.7112678	2.3796663	0.4521635	2.7531728	2.7824843	1.0139927	2.0707272
SC02476	dehydrogenase/reductase (2669561	2667818 -	0.005817625	0.4183908	205.8191	1.577787	0.77546316	0.39982933	1.1852155	1.0263133	0.11670985	0.5761403
SC02477	short chain dehydrogenase	2669391	2668624 -	1.649827364	0.03909091	86.3101	2.266744	1.2262464	0.7146207	1.9060838	1.7270344	0.38880208	0.88807345
SC02481	hypothetical protein	2671941	2671552 -	1.291725264	0.042083334	31.384808	2.2720768	2.387867	0.6945889	2.8372958	3.12245	1.746746	1.8449582
SC02512	hypothetical protein	2709370	2709164 -	0.009331116	0.28037946	280.4449	1.5140992	-0.92941395	0.37052873	-0.7880404	-0.4723236	-1.1848855	-0.7216982
SC02537	DNA-binding protein	2735261	2736145 +	0.001536002	0.13494381	106.04545	1.7778466	0.8945547	0.49509135	1.2067001	1.4125402	0.3877666	0.9513909
SC02550	lipoprotein	2751450	2750935 -	6.573780564	0.08711864	70.26885	1.9143358	1.6046009	0.5426596	2.0732529	2.072636	1.9112265	1.0812821
SC02621	hypothetical protein	2846177	2847983 -	0.007302724	0.26682243	244.419	1.524272	1.7590379	0.39661992	2.133214	2.012982	1.373904	1.5360513
SC02629	hypothetical protein	2856104	2856250 +	0.005939784	0.44442105	217.81929	1.7473141	-0.005929917	0.8894505	0.40762404	0.89565513	-1.3371749	0.52017605
SC02634	hypothetical protein	2861496	2860946 -	0.0051809694	0.24403614	201.56406	1.579339	3.9870004	0.3790458	4.445914	4.2825155	3.6327853	3.688007
SC02655	hypothetical protein	2896641	2896105 -	0.009785	0.23480916	289.2415	1.4881331	1.3995168	0.34900495	1.7030932	1.6584541	0.3787076	1.2465204
SC02659	small membrane protein	2943092	2943364 +	8.9525514E-5	0.03181018	24.983744	2.4444232	1.4176209	0.7518297	2.1722498	1.9524059	0.7065451	0.39520264
SC02705	hypothetical protein	2947370	2947104 -	0.00998849	0.29583332	290.68073	1.4855227	0.9953753	0.3300284	1.0721831	1.0898262	0.4924038	0.52726406
SC02717	small membrane protein	2961331	2961104 -	3.4531273E-5	0.019285714	1.6794756	2.666299	1.4813768	0.8194799	2.259424	2.1816779	0.8958988	0.801201595
SC02722	integral membrane protein	2967589	2966690 -	0.004396982	0.23222973	184.79002	1.617476	0.93232894	0.42002454	1.1263701	1.432032	0.5602955	0.616818
SC02839	lipoprotein	3101196	3100609 -	1.355672E-4	0.024	31.921402	2.292444	0.39924064	0.7011997	1.0693685	0.9059777	-0.32176253	-0.1964411
SC02849	hypothetical protein	3107953	3108825 +	3.7089144E-4	0.06590909	50.669914	2.042271	1.7357050	0.959895	2.2162638	2.2854116	1.1921746	1.2491527
SC02861	hypothetical protein	3117159	3117881 +	0.008429467	0.27692378	264.8765	1.5040977	-0.77525455	0.3405335	-0.46773875	-0.49387208	-1.0890236	-1.0503838
SC02879	hypothetical protein	3131950	3130990 -	4.0414070E-4	0.0032	65.95128	2.0010626	0.69964206	0.60340035	1.267076	1.3327404	0.12621709	0.2710042
SC02900	GroE Family molecular chap	3154246	3153970 -	5.831948E-4	0.08142857	55.10410	1.9391897	0.79747925	0.56567675	1.2196796	1.3307222	0.17670797	0.46278915
SC02960	membrane protein	3154582	3154250 -	0.008366889	0.27521187	262.69522	1.5054876	2.200595	0.24157068	2.5286492	2.4677515	1.911633	1.9992561
SC02919	hypothetical protein	3163192	3162848 -	0.008162639	0.27577885	260.2658	1.5089272	2.581126	0.36778787	3.0257825	2.7291765	2.8531451	2.2157676
SC02934	sporeulation regulatory prote	3321016	3320753 -	0.0017815578	0.14662158	115.2281	1.7586392	3.3176136	0.48313105	3.7939382	3.692482	3.7939382	3.0999779
SC02967	anti anti sign factor	3360441	3360064 -	0.006270623	0.24762626	225.11914	1.5634565	3.3000906	0.4115115	3.557546	3.5473742	2.6929026	3.1225933
SC02989	ABC transporter ATP-binding	3381453	3382223 +	0.002541246	0.17429824	138.01454	1.7108676	1.5410384	0.48565143	1.7407081	2.1176968	1.2892109	1.0179376
SC03000	ABC transporter integral m	3382330	3384861 +	7.2899355E-5	0.03	22.661806	2.447183	1.8176739	0.5782967	2.297024	2.6294458	1.1904666	1.1581933
SC03011	ABC transport system ATP-b	3412299	3411511 -	0.005426195	0.24272219	202.83054	1.629637	1.3292329	0.54703945	1.2165263	1.9488589	1.1480609	0.6183936
SC03113	hypothetical protein			1.5630301E-4	0.042068966	34.96392	2.2577004	2.6877890	0.6950329	3.4548288	3.9095527	2.0521042	2.148623
SC03121	hypothetical protein	3422071	3422139 +	0.001656222	0.14230777	110.30192	1.7625606	-0.11347655	0.4827893	0.20038512	0.3903347	-0.44285503	-0.601771
SC03158	hypothetical protein	3461177	3460797 -	0.009042077	0.28623483	275.65622	1.5078244	1.1123482	0.34714267	1.3419437	1.4752111	0.8466134	0.78760445
SC03162	esterase	3463996	3465258 +	0.0018932588	0.117638896	88.76742	1.8379046	1.4990709	0.5279939	1.8099478	2.0662558	0.6097739	1.1780191
SC03169	hypothetical protein	3474185	3473958 -	0.0042189665	0.21310137	182.79913	1.5958856	0.4887717	0.39591126	0.84461285	0.7077987	0.1000637	0.10354062
SC03190	mechanosensitive channel	3486760	3487140 +	0.002845895	0.18295982	146.55923	1.653107	1.6171709	0.4003166	2.1174693	1.9510527	1.2180304	1.3993582
SC03218	hypothetical protein	3531465	3531250 -	7.545722E-5	0.020095320	23.534081	2.4005792	2.9740468	0.74263996	3.605732	3.6218959	2.253692	2.4113131
SC03249	acyl carrier protein	3602320	3602075 -	0.0015078655	0.13551724	105.28849	1.7665676	1.1278589	0.4763588	1.4861081	1.5905585	0.7431431	0.6162527
SC03389	two component system resp	3753213	3752539 -	0.0052423584	0.2439881	202.79279	1.5959893	0.5216316	0.42386976	0.6617212	1.0592436	0.2015902	0.1400258
SC03390	two component sensor kina	3754404	3753279 -	0.004904719	0.2396675	195.54684	1.6391421	1.5297316	0.48156014	1.5714687	2.195645	1.1840276	1.1677405
SC03403	GTP cyclohydrolase I (EC:3.5	3767961	3767356 -	3.593816E-4	0.065348834	50.00480	2.0418918	1.2317494	0.6044152	2.5144413	2.7789645	1.0292101	1.6281793
SC03412	hypothetical protein	3787548	3788869 +	0.0068627703	0.25927207	236.22387	1.5452963	0.9774651	0.3685323	1.2104017	1.372412	0.6569374	0.67101395
SC03421	hypothetical protein	3787801	3786977 -	0.007934518	0.27330396	256.0862	1.5080725	1.356991	0.3468936	1.7197845	1.8569032	1.0383848	1.0774416
SC03442	hypothetical protein	3804032	3804376 +	3.849597E-4	0.061428573	52.407663	2.0368323	0.2554533	0.61425126	0.5789379	0.9588959	-0.20223983	-0.31838083
SC03449	hypothetical protein	3810672	3810352 -	0.0041395206	0.27601399	177.82428	1.6314514	0.6441	0.42057797	0.8711229	1.1239189	0.59791593	0.20212802
SC03451	hypothetical protein	3811392	3811709 +	0.002594961	0.17644779	139.31245	1.6856898	0.93238044	0.44179193	1.2322555	1.3857449	0.4976867	0.1373514
SC03457	transmembrane protein	3817193	3817778 +	0.00925717	0.28968526	279.56089	1.4959372	-0.14951805	0.3461744	0.051582555	0.22463854	-0.49018719	-0.39321322
SC03509	hypothetical protein	3877697	3878659 +	6.650647E-5	0.0325	121.292114	2.4448917	1.2691584	0.7587099	1.754817	0.0521575	0.9517193	0.56681505
SC03556	hypothetical protein	4059809	4059252 -	0.0094851009	0.24048121	163.24693	1.6340739	0.636987294	0.4093602	0.931938	0.40144044	-0.3123487	-0.3223994
SC03657	hypothetical protein			1.4324802E-4	0.04148138	33.27467	2.2377093	0.76368487	0.6851583	1.1978927	1.4914997	0.096282795	0.269644
SC03730	hypothetical protein	4167894	4165916 -	0.0013991558	0.13941464	110.30388	1.7714846	1.7591947	0.48237684	2.1576061	2.1858757	1.254765	1.483819
SC03815	branched-chain alpha-keto i	4194941	4193532 -	0.0017815578	0.14663158	105.54684	1.745955	1.1987324	0.4639561	1.6181265	1.5833546	0.74467987	0.48876593
SC03816	branched-chain alpha keto i	4195941	4194961 -	0.004017138	0.22275595	175.52023	1.6119885	1.2698281	0.39846	1.619702	1.6087955	0.8953427	0.9549804
SC03862	hypothetical protein	4248081	4247880 -	0.0036078782	0.21052238	165.8306	1.6267064	0.349005	0.41185495	3.4591243	3.3403899	2.6304224	2.7656236
SC03867	ferredoxin	4251661	4251440 -	7.673815E-6	0.0075	8.144476	3.1076162	1.511866	0.95714444	2.1427157	2.5168242	0.72953254	0.5889994
SC03905	hypothetical protein	4302966	4302661 -	0.007966382	0.27475557	295.66745	1.5181788	0.083624095	0.39591263	0.40726328	0.6322266	-0.12755741	-0.3073813
SC03918	hypothetical protein	4317659	4317778 +	4.5146488E-4	0.06660377	57.05924	1.9971985	-0.0679852	0.5697086	0.7584952	0.4966522	-0.42016598	-0.7053399
SC03920	hypothetical protein	4317593	4317778 +	0.0074101547	0.26549836	246.51466	1.5205656	1.3302643	0.35479094	1.6912135	1.5833457	0.9546335	1.0789389
SC03926	regulator	4319501	4319911 +	0.007655942	0.27495414	251.03769	1.5531009	0.97745776	0.363804	1.1678188	1.4093512	0.889602	0.459308
SC03956	ABC transporter ATP-binding	4355990	4356592 +	0.007651874	0.27571428	250.85612	1.5649239	2.0086007	0.48563567	2.062105	2.6011891	1.9542124	1.414964
SC03957	ABC transporter ATP-binding	4357947	4358758 +	0.0054214094	0.23949152	206.61276	1.6053568	2.0665617	0.47393915	2.1998632	2.616154	1.9709417	

Continuation supplementary Table S4

SC05148	hypothetical protein	5597673	5588431 +	0.0069177644	0.25757143	237.20243	1.5384352	2.1603694	0.35928962	2.4491639	2.4923355	1.8427678	1.9565794
SC05168	integral membrane protein	5616599	5616330 +	0.008935926	0.28753087	278.82895	1.4979682	-0.2253374	0.34167486	0.056898613	0.06743359	0.5925085	-0.4451793
SC05174	transferase	5621463	5620244 +	3.8368077E-4	0.0625	52.295715	2.0271795	1.15483	0.60024434	1.7037355	1.6253806	0.506382	0.7893836
SC05198	hypothetical protein	5655548	5655493 -	0.0017214478	0.14630495	113.17242	1.7458217	0.40795107	0.46609468	4.408434	4.554494	3.691805	3.6638105
SC05199	hypothetical protein	5657408	5655945 -	0.008299015	0.27612767	262.5611	1.5134892	3.9056882	0.35167378	3.745076	3.864179	3.1496288	3.2636354
SC05248	hypothetical protein	5709316	5708738 -	3.7217035E-4	0.064666666	50.76373	2.029132	1.203815	0.5916084	1.734873	1.6927527	0.7519159	0.6399485
SC05249	nucleotide-binding protein	5709624	5711030 +	0.0	0.0	1.412435	4.8098516	1.260427	1.3131485	2.5031624	2.2836838	0.2130047	0.04296105
SC05250	polyphenyl synthetase	5711116	5712276 +	5.578718E-6	0.0050	5.839563	3.3670328	1.3032821	1.0123627	2.2265859	2.1314564	0.39264357	0.64224408
SC05268	hypothetical protein	5727255	5727275 +	0.0032318172	0.19589147	157.33292	1.6586244	0.41662857	0.4258464	0.708701	0.8545434	0.03524823	0.06774512
SC05272	hypothetical protein	5734620	5734814 +	0.008879652	0.28809127	272.77167	1.5120845	0.2258997	0.35103288	0.4456379	0.5986803	-0.03559377	-0.10516996
SC05276	hypothetical protein	5741653	5742078 +	0.0047179945	0.23494916	191.59044	1.5964828	0.4983811	0.39949556	0.7998507	0.8710085	0.2173077	0.10465753
SC05277	magnesium chelatase	5749317	5749317 +	0.005301498	0.2377551	275.05118	1.4920895	0.2515339	0.33956873	0.60995267	0.4714224	-0.004883365	-0.06959519
SC05306	protein phosphatase	5779296	5778817 -	0.0019899768	0.15475248	122.17992	1.724185	1.2336622	0.48732915	1.6551096	1.5901295	0.7768113	0.9045989
SC05389	hypothetical protein	5858397	5858789 +	0.003808667	0.2764979	264.1578	1.5073519	3.9032996	0.3589049	4.110651	4.2076444	3.4734812	3.7410195
SC05438	thioredoxin	5911820	5912134 +	0.007888476	0.27583716	255.29701	1.5160787	2.8409605	0.3542315	3.1327283	3.1495373	2.651765	2.629909
SC05465	hypothetical protein	5950745	5951407 +	4.6425377E-4	0.06722222	57.99441	1.9844891	2.1331186	0.57134014	2.6021652	2.6528997	1.6518379	1.6256233
SC05489	hypothetical protein	-	-	0.00612994	0.24894196	222.20479	1.5634886	1.0345705	0.38833585	1.241629	1.4722805	0.6411666	0.6299057
SC05490	hypothetical protein	5976259	5979318 +	0.0023417917	0.167998165	132.21396	1.7005961	2.1901161	0.44540215	2.5385375	2.6078246	1.861896	1.7526395
SC05746	hypothetical protein	6275223	6275900 +	2.1741911E-5	0.015454546	13.416408	2.8199954	2.5395654	0.88079447	3.4699214	3.133079	1.6762534	1.9636018
SC05754	hypothetical protein	6292411	6292952 +	0.0020620196	0.1535294	122.24744	1.7254732	0.671103	0.46700000	0.930902	4.1901665	0.2032850	0.3206604
SC05755	hypothetical protein	6293066	6293446 +	0.0047179945	0.23494916	191.61212	1.5829977	4.946032	0.3964546	5.409685	5.1450377	4.650887	4.578818
SC05771	hypothetical protein	6309319	6308921 -	0.0015296073	0.1359091	105.34079	1.765816	1.9415969	0.47595186	1.4664376	1.4379396	0.5914089	0.6886211
SC05786	secreted protein	6318766	6317771 -	0.0094484942	0.23963785	282.12137	1.496542	0.045040166	0.23623472	0.3174595	0.35349316	-0.2356225	-0.2553082
SC05826	hypothetical protein	6375779	6376357 +	7.162041E-5	0.032941177	21.920383	2.5338857	2.1427994	0.7841426	2.9214863	2.746664	1.5858722	1.58572
SC05864	hypothetical protein	6421618	6421914 +	0.0049737818	0.2415528	197.15712	1.5933238	4.246585	0.4047833	4.592034	4.5731745	3.7693147	4.051515
SC05869	hypothetical protein	6424551	6425303 +	0.0071236793	0.26396104	241.04726	1.542787	4.34209	0.38837028	4.646237	4.6634817	4.6014204	4.200315
SC05880	RedY protein	6437814	6438134 +	9.648177E-4	0.11424243	64.810796	1.8327023	3.292467	0.5050644	3.7532	3.7057703	2.8429465	2.8680155
SC05886	3-oxoacyl-(acyl-carrier-pro) synthetase	6443976	6442753 -	0.0037242614	0.21255474	168.9459	1.6378825	1.4938312	0.4202918	1.7519022	1.9475919	1.0521775	1.183103
SC05967	hypothetical protein	6539260	6539670 +	0.0021281494	0.15689113	126.15825	1.7238854	1.5236484	0.46681523	1.8513235	1.981628	1.0120889	1.249124
SC06045	hypothetical protein	6638659	6637343 +	0.0020258345	0.1537864	122.91367	1.7295246	0.9560141	0.4717457	1.219211	1.4847928	0.8999238	0.62366025
SC06073	cydase	6662519	6668399 +	0.0051387646	0.24650307	200.6783	1.5888088	0.11705515	0.39584416	0.4616775	0.4397364	-0.10577564	-0.7320492
SC06074	integral membrane protein	6668513	6669124 +	0.0068563754	0.2615122	296.07747	1.5333748	-0.20296346	0.36544457	0.08656669	0.12420479	-0.6103428	-0.4123065
SC06156	regulatory protein	6758794	6759201 +	0.004595597	0.24347305	202.06525	1.5801482	1.9785248	0.39514405	1.6594525	1.7475731	0.9267472	1.1701515
SC06215	hypothetical protein	6809017	6809142 +	0.0067348764	0.25940886	233.9175	1.5323291	-0.3261217	0.3583401	0.32036003	-0.06383247	-0.55088777	-0.67000173
SC06216	hypothetical protein	6805080	6801558 -	0.0043445453	0.21108843	183.56386	1.670672	0.948458	0.5655667	1.3086294	1.3457149	0.5459556	0.73809177
SC06218	phosphatase	6891945	6891346 -	0.0068614916	0.2604369	296.17528	1.5334238	1.2864146	0.3660306	1.5826211	1.6069464	0.8751018	1.080790
SC06272	secreted FAD-binding protein	6899170	6900822 +	8.197397E-4	0.103387095	78.45104	1.8621699	0.7316914	0.5189248	1.1981626	1.1621803	2.0921124	1.6142303
SC06393	transposase	7060375	7061838 +	0.004787057	0.23689874	193.04712	1.5811604	0.5161499	0.3898704	0.89241123	0.8006722	1.6391925	0.207967
SC06421	two-component system sensor kinase	7090613	7091761 +	3.144382E-4	0.11	82.46405	1.8785515	1.3050144	0.56816983	1.4963788	2.0232706	0.8637287	0.6178444
SC06422	two-component system response regulator	7091758	7092432 +	0.0046642795	0.23681818	190.37242	1.6115036	0.3635577	0.41423315	0.5648801	0.89055883	0.05563275	0.203887842
SC06423	lipase-protein ligase	7093617	7092451 -	6.164471E-4	0.0845614	67.66763	1.9123827	2.329986	0.5452435	2.7187734	2.8765702	1.8148652	1.9097449
SC06482	hypothetical protein	7118000	7117243 +	0.008012594	0.2735808	257.2639	1.5192688	2.5206301	0.36766106	2.9340641	2.7105727	1.2181507	2.0393722
SC06524	integral membrane protein	7215195	7214569 -	0.002449904	0.22917241	180.59212	1.6050553	0.55117404	0.39895975	0.92100794	0.8639638	1.4216519	0.72707314
SC06543	hypothetical protein	7236940	7236495 -	0.0065929145	0.25644767	236.32509	1.5457342	-0.01509421	0.38401936	0.72720398	0.31719977	-0.48905568	-0.1774749
SC06618	hypothetical protein	7339949	7339269 -	0.002000769	0.17525862	139.44775	1.703001	0.895642	0.46255385	0.9214429	1.3385647	0.3428023	0.20096673
SC06642	hypothetical protein	739070	7377777 -	9.592019E-5	0.032608695	27.25032	2.0453855	0.01628767	0.634099	0.6231585	0.6001116	-0.16891032	-1.085586
SC06678	iron-sulfur oxidoreductase	7418279	7417932 -	0.0045864955	0.23644736	189.25381	1.620646	-0.91019917	0.404939	-0.5846534	-0.5529487	-1.5999840	-0.93075645
SC06685	two-component system response regulator	7452737	7452737 +	0.007917892	0.27393806	255.87059	1.5342573	1.2149777	0.36584726	1.429232	1.6182630	0.9401921	0.87222284
SC06692	integral membrane protein	7443469	7442516 -	0.009778744	0.29295018	287.82993	1.4881525	0.66205746	0.3400031	0.9295672	0.9680702	0.28272904	0.46786287
SC06750	isopentenyl-diphosphate delta isomerase	7506901	7506308 -	0.005314207	0.2428655	204.39655	1.5775892	2.5346732	0.3984825	2.8960152	2.831053	2.651791	2.950134
SC06751	efflux protein	7508116	7507178 -	0.0027228547	0.17959041	142.95247	1.6743741	0.8342239	0.4851118	1.2400177	1.172052	0.38277707	0.542049
SC06761	hypothetical protein	7517875	7518033 +	2.9287633E-4	0.060263157	45.108128	2.1144936	1.7068355	0.645989	2.136424	2.3575994	0.9929265	1.3404324
SC07012	binding protein dependent transport protein	-	-	0.005544187	0.23950276	209.3231	1.5585058	-1.1195506	0.37292457	-0.73860604	-0.8603315	-1.440008	-1.4392565
SC07021	MarR Family transcriptional repressor	7839298	7834891 -	0.0023903314	0.16999099	139.81201	1.6865044	0.6792774	0.4571543	1.0397998	1.0659878	1.0427763	0.4692919
SC07182	hypothetical protein	7893258	7895201 +	0.0068793963	0.25860578	236.48412	1.5519763	1.6097144	0.4117071	1.9878402	1.9646059	1.0644895	1.5190263
SC07147	ketoreductase	7941649	7942416 +	0.006852002	0.2318175	268.97287	1.5099577	0.6557254	0.3611123	1.0529748	0.8731016	0.2620307	0.47442198
SC07148	hypothetical protein	7942508	7942861 +	0.0015631668	0.15500505	121.22206	1.7127141	0.03029624	0.4548354	0.5055025	0.4551036	-0.3389703	-0.20275092
SC07246	hypothetical protein	8056020	8056262 +	0.004031206	0.212197182	175.79395	1.6263384	2.0487676	0.4093825	2.343448	2.4551752	1.6521351	1.7437276
SC07251	hypothetical protein	8061733	8060696 -	4.379608E-4	0.0627058824	55.70008	1.9985317	3.3695505	0.5962078	4.0487084	3.6993337	2.	

Supplementary Table S5. Gene upstream consensus sequences from genes in redox stress response loci with DosR-like motif binding, obtained by MEME software.

Name	Strand	Start	p-value	Sites
SCO0215*	+	39	1.02e-08	GGGCCGAAGGTCCCT
SCO0168*	-	98	1.02e-08	GGGCCGAAGGTCCCT
SCO0200*	-	54	2.42e-08	GGGCCGACCGTCCCT
SCO0167*	-	21	3.83e-08	GGGCCGACGGTCCCT
SCO0208*	+	129	2.87e-07	GGGCCGACCGGCCCT
SCO0204*	+	14	2.87e-07	GGGCCGACCGGCCCT
SCO0201*	+	171	6.96e-07	CGGCCGAAGGTCCCC
SCO0209*	-	3	7.51e-07	GGGCCGACGGTCCCG
SCO0216*	-	83	1.35e-06	GGGCCGGACGGCCCT
SCO0174*	-	46	1.35e-06	CGGCCGACGGTCCCC
SCO0214	+	120	3.44e-06	GGGCCGAGGGTCCCC
SCO0213	-	152	3.44e-06	GGGCCGAGGGTCCCC
SCO0210	+	27	3.44e-06	CGGCCGACGGTGCCT
SCO0179	+	41	4.74e-06	GGGCCGACCGGCCCA
SCO0171	+	125	7.30e-06	CGGCCGGCCGGCCCT
SCO0170	-	71	7.30e-06	CGGCCGGCCGGCCCT
SCO0197	+	42	1.16e-05	GGGCCGGACGTGCCC
SCO0177	-	75	1.22e-05	GGGTCGACCGGCCCC
SCO0162	-	1	2.46e-05	GCGCCGGACGTCCAG
SCO0161	+	39	2.46e-05	GCGCCGGACGTCCAG
SCO0181*	+	65	3.52e-05	CCGCCGAAGGGACCC
SCO0172	-	19	4.74e-05	GGGCCGGCCGGACAG
Regular expression				[GC]GGCCG[AG][CA][CG]G[TG]CCC[TC]

From MAST, the best possible match is: GGGCCGAACGTCCCT and 11*/16 positive match on global upstream region of *S. coelicolor* when display sequence with E-value < 10.

CHAPITRE 3

3.0 Tdd8, une protéine contenant un domaine TerD qui participe à l'homéostasie du calcium et qui est impliquée dans le contrôle du régulon DosR chez *Streptomyces coelicolor*

Des travaux antérieurs, sur l'étude transcriptomique de la délétion du gène *tdd8* (SCO2368) chez *Streptomyces coelicolor* a permis l'identification d'un groupe de gènes impliqué dans la réponse au stress redox qui comprend plusieurs orthologues de gènes du régulon DosR chez *Mycobacterium tuberculosis*. Ici, chez *S. coelicolor*, il a été montré que ce groupe de gènes peut être induit par l'hypoxie et le stress NO tout comme il a été observé pour le régulon DosR chez *M. tuberculosis*. Cela suggère que le groupe de gènes est impliqué dans la réponse au stress redox. Bien que le mutant de délétion *tdd8* ($\Delta tdd8$) ne peut maintenir l'homéostasie du calcium dans un milieu pauvre en calcium, l'addition de Ca^{2+} dans le milieu de culture du mutant $\Delta tdd8$ réduit l'expression de plusieurs gènes du groupe comprenant entre autres les gènes de nitrates réductases de type respiratoire. Les enzymes correspondantes ont démontré une activité dans un contexte aérobie puisque l'accumulation de nitrites a été démontrée au cours de la croissance de *S. coelicolor*. En conditions d'hypoxie ou de stress NO, les gènes du régulon DosR-analogue testés ont été induits chez *S. coelicolor* M145 tout comme observé précédemment chez $\Delta tdd8$. Le lien entre le calcium et Tdd8 a été étudié et a démontré que la délétion de *tdd8* a diminué la concentration de calcium libre intracellulaire $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Cette diminution de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ semble induire l'expression des gènes testés du régulon DosR-analogue, puisque l'addition de calcium dans les conditions de culture restaure le niveau de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ au niveau observé dans M145 et réduit l'expression des gènes DosR-analogue testés. La détermination de la concentration des nitrites dans le temps a permis d'observer l'implication de *tdd8* et des ions calcium dans l'activité de réduction de nitrite. Ce travail apporte la preuve que Tdd8 joue un rôle important dans l'homéostasie/signalisation du calcium

et dans ce contexte, nous avons aussi démontré que Tdd8 a un rôle dans l'adaptation au stress et le métabolisme de l'azote.

Les travaux sont présentés à la section 3.2 « Daigle, F., Lerat, S., Malouin, F. et Beaulieu, C. Tdd8, a TerD domain-containing protein participates to calcium homeostasis and is involved in control of the DosR-like regulon in *Streptomyces coelicolor* ». Les expériences de RT-PCR quantitative et le dosage du calcium intracellulaire libre ont conjointement été réalisés par François Daigle et Sylvain Lerat. Le dosage des nitrates a été réalisé par Sylvain Lerat alors que le dosage des nitrites a été réalisé par François Daigle. François Malouin a agi comme conseiller lors de la révision du présent article. Carole Beaulieu a agi comme directrice de recherche, conseillère pour la planification des travaux et superviseure dans la rédaction de cet article.

3.1 Tdd8, a TerD domain-containing protein participates to calcium homeostasis and is involved in control of the DosR-like regulon in *Streptomyces coelicolor*

Francois Daigle, Sylvain Lerat, François Malouin, Carole Beaulieu*

Centre d'Étude et de Valorisation de la Diversité Microbienne, Département de biologie,
Université de Sherbrooke, Québec, Canada J1K 2R1

*Corresponding author: Mailing address: Département de biologie, Université de Sherbrooke,
Sherbrooke, Québec, Canada J1K 2R1. Tel: 819 821 8000, ext. 62997. Fax: 819 821 8049.
Email: Carole.Beaulieu@usherbrooke.ca

ABSTRACT

In a previous work, deletion of *tdd8* (SCO2368) in *Streptomyces coelicolor* allowed the identification of a putative redox stress response gene cluster that includes several *Mycobacterium tuberculosis* orthologs of the DosR regulon. Here, this *S. coelicolor* gene cluster was shown to be induced by hypoxia and NO stress as it has been observed for the DosR regulon of *M. tuberculosis*, suggesting that the cluster is effectively involved in redox stress response. While the *tdd8* deletion mutant ($\Delta tdd8$) was unable to maintain calcium homeostasis in a poor calcium medium, addition of Ca^{2+} in $\Delta tdd8$ culture medium reduced the expression of several genes of the cluster including the nitrate reductase genes. The corresponding enzymes have been shown to be active under aerobic conditions since accumulation of nitrites has been demonstrated during *S. coelicolor* growth. During hypoxia or nitric oxide stress conditions, the DosR-like regulon genes tested by qRT-PCR were induced in *S. coelicolor* M145, as previously observed in $\Delta tdd8$. The link between Ca^{2+} and Tdd8 has been studied using Fura 2-AM calcium-sensitive fluorescent indicator and has shown that the deletion of *tdd8* decreased the amount of intracellular free calcium ($[\text{Ca}^{2+}]_i$). This decrease of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ appears to induce the expression of the investigated genes of the DosR-like regulon since the addition of calcium in the culture allowed to restore the level of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ similar to that observed in M145, but also brought back the level of gene expression of the tested genes. A determination of nitrite concentration has also allowed us to observe the involvement of *tdd8* and calcium ions in the activity of nitrite reduction. This work brings evidence that Tdd8 plays a significant role in calcium homeostasis/signaling and in this context we also have demonstrated that Tdd8 have a role in stress adaptation and nitrogen metabolism.

Keywords: Nitrite reduction, calcium signaling, *tdd8*, *Streptomyces*, DosR, TerD motif

INTRODUCTION

The ability to sense and respond to environmental cues is critical to the survival of soil-dwelling bacteria such as *Streptomyces*. In their natural environments, bacteria have to adapt to a variety of adverse conditions, and consequently, they depend on genes involved in stress responses for survival. The 8.7 Mb linear chromosome of *Streptomyces coelicolor* M145 consists of an impressive number of genes, including several regulatory genes, encoding sigma factors and two-component regulatory systems responsible for the biosynthesis of a network of proteins involved in a wide variety of functions including the stress response (1, 2, 3, 4).

S. coelicolor genome contains about 20 TerD domain-encoding genes (*tdd* genes). The TerD domain was initially described in tellurite resistance genes of Gram-negative bacteria but was later found in genes of a large range of bacterial species that exhibit no resistance to tellurite (5). The *tdd* genes are now considered as general stress-response genes rather than genes dedicated to tellurite resistance (5). Although the function of *S. coelicolor* *tdd* genes is still unknown, some Tdd proteins have been shown to be up-regulated under various stress conditions (6, 7, 8, 9, 10). During its complex developmental cycle in liquid media, *S. coelicolor* produces young compartmentalized hyphae (first mycelium) that grow to form bacterial pellets. A highly ordered programmed cell death (PCD) occurs in the pellet centers and a second multinucleated mycelium develops from the remaining viable segments of the compartmentalized mycelium. During this PCD phenomenon, Tdd8 also appears to be up-regulated (11).

Previous works showed that deletion of *tdd8* as well as *tdd7* or *tdd13* in *S. coelicolor* had no lethal effect but strongly affected growth and morphological differentiation of the bacterium (12, 13). Furthermore, a recent transcriptomics study (14) established that *tdd8* gene deletion induced expression of two genes loci (SCO0197-SCO0220 and SCO0161-SCO0181) possibly involved in redox-stress responses suggesting a direct or indirect role of Tdd8 in redox homeostasis. Induction of these putative redox-stress response loci was observed in the *tdd8* deletion mutant at the visual onset of undecylprodigiosin (Red) production, a key period in *S.*

coelicolor morphological differentiation that coincides with the transition phase between the first and second mycelia (15).

These two putative redox-stress response loci include orthologs of *Mycobacterium* encoding DosRST two-component system and other genes of *Mycobacterium* DosR regulon, such as universal stress genes, cystathionine β -synthase genes and nitroreductase genes that are involved in dormancy survival (16, 17, 18). The putative redox-stress response loci of *S. coelicolor* also include the membrane-associated respiratory nitrate reductase genes (*narGHIIJ2*) that catalyze the reduction of nitrate to nitrite and the nitrate/nitrite transporter gene (*narK*) responsible for exportation of nitrite (19). Most genes included in the redox stress response loci possessed an upstream consensus sequence similar to the DosR binding motif of the *M. tuberculosis* DosR regulon. Furthermore, the putative redox-stress response loci of *S. coelicolor* appear to belong to a global redox-stress response gene cluster that also includes genes encoding a nitric oxide detoxification system (*nsrR/hmpA1*), an alternative cytochrome BD (*cydAB*), a succinate dehydrogenase (*sdhABC*) and a NADH dehydrogenase (*nuo*) that are located outside the loci (14).

A relation between the redox state and calcium homeostasis has been demonstrated in eukaryotes by several authors (Bogeshi et al. 2011). While the role of Ca^{2+} signalling has been extensively studied in eukaryotes, it still remains elusive in prokaryotes (20). However, several Ca^{2+} channels and transporters found in bacteria share similarities with the eukaryotic proteins ensuring intracellular calcium homeostasis (21). There is also some evidence that bacterial calcium-binding proteins, act as reservoirs or buffers and play a role in various physiological processes such as spore formation and adaptation to environmental stresses (22). It has been established that Tdd8 possesses two Ca^{2+} binding sites (Protein data bank: number 3IBZ, www.rcsb.org).

In this work, the role of Tdd8 in calcium homeostasis is determined and the calcium-dependent regulation of the *S. coelicolor* DosR-like regulon as well as of other genes of the redox-stress cluster is investigated.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains and culture conditions. *S. coelicolor* M145, a deletion mutant M145 Δ SCO2368 ($\Delta tdd8$) and a recombinant strain overexpressing *tdd8* (M145-pFDES2368 [*tdd8+*]) (12) were used in this study. These strains were cultivated at 30°C under shaking (250 rpm) in R5- or R5+. Both media consisted of modified versions of the R5 medium (23). The R5- medium (pH 7.2) was deprived of KH₂PO₄, CaCl₂, and L-proline and supplemented with 6% PEG 8000 to enhance cell dispersal (15, 23) while the R5+ medium is similar to R5- but contained 9 μ M CaCl₂. Kanamycin or apramycin (25 μ g/ml; Sigma) was respectively added to *tdd8+* or $\Delta tdd8$ culture media. *S. coelicolor* strains were cultivated by adding 20 μ l of a dense spore suspension (5×10^8 cfu) into 50 ml of R5- or R5+. When appropriate, one of the following stress-inducing substances was added to the culture medium: 50 μ M methyl viologen (MV), 5.5 μ M *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP), 7.6 μ M hydroxylamine, 2 mM sodium nitroprusside (SNP) or 2.5 μ M potassium tellurite. *S. coelicolor* cultures were also grown under a low oxygen concentration by using GasPak™ EZ Campy Container System Sachets following the manufacturer's instructions (BD, Sparks, MD).

Gene expression studies. RNA was extracted from M145, $\Delta tdd8$ and *tdd8+* cultures at the visual onset of Red production (t_{OR}). Prior to extraction, culture samples were treated with RNA Protect Bacterial Reagent (Qiagen) and the bacterial cells were pelleted by centrifugation (4000 \times *g* for 10 min) and suspended in 1 ml TE buffer (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8.0). Cells were centrifuged and pelleted again and stored at -80°C. For RNA extraction, a hybrid protocol between the procedures proposed by the manufacturers of the RNeasy™ PLUS mini kit (Qiagen) and mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion) was developed. Bacterial pellets were suspended in 0.2 ml lysozyme buffer (15 mg/ml in TE) and incubated for 15 min at room temperature. RLT buffer (0.6 ml) from Qiagen RNeasy™ PLUS mini kit was added followed by sonication on ice (2 cycles 10 s at 60% power). The mixture was centrifuged at 10 000 \times *g* for 5 min and the supernatant was recovered. Two phenol/chloroform extractions and a final chloroform extraction were performed. The upper aqueous layer was transferred to a “gDNA eliminator filter” (Qiagen RNeasy™ PLUS mini

kit) and centrifuged at $10\,000 \times g$ for 30 s. The extraction continued following the manufacturer's protocol of mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion). The RNA was eluted with 100 μ l of water and quantified using a Nanodrop-ND-1000 spectrophotometer. The RNA quality was checked using an Agilent Bioanalyzer RNA chip. RNA was then digested with the TURBO DNA-free kit (Ambion) to remove possible DNA contamination traces according to the manufacturer's instructions. For template of cDNA synthesis, 2 μ g of RNA were used with SuperScript® III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen) according to the manufacturer's specifications. Primers used for Real-time PCR are listed in supplement data S1. Real-time PCR were run on a Stratagene Mx3000P (Agilent technologies). Reactions contained 0.2 μ l of cDNA, 10 μ l of iTaq universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad) and 1 μ M of primers in a final volume of 20 μ l. The thermal profile was as follows: an initial stage at 95°C for 3 min, a second stage of 35 cycles at 95°C for 10 s and 60°C for 30 s and a final dissociation step from 60°C to 95°C. Two samples per treatment were analyzed and the experiment has been repeated three times. Fold changes in gene expression were calculated according to the $\Delta\Delta C_t$ method with the REST 2009 software (24). Relative gene expression was calculated according to the ΔC_t method (25) and the reference gene *gyrA* (SCO3873) was used as an internal control since its expression level remained constant in all tested conditions (data not shown). Statistical analysis between relative expressions was achieved with the Statistix 9 software (ANOVA followed by LSD test at P value < 0.05).

Intracellular free calcium concentration measurements. The concentration of free intracellular Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) was monitored using the calcium-sensitive fluorescent indicator Fura 2-acetoxymethyl (Fura 2-AM) (ATT Bioquest). Culture samples (3 ml) were taken at the visual onset of Red production, and washed twice by centrifugation in a 100 mM KCl/30 mM MOPS solution buffer, pH 7.2. Fura-2 AM (5 μ M final concentration) was added to the cell suspension and incubated at 30°C for 60 min. For fura 2-AM excitation, cells were illuminated at two alternating wavelengths, 340 and 380 nm and emitted light was monitored at 530 nm in a PTI spectrofluorometer equipped with the Felix32 software. The $[\text{Ca}^{2+}]_i$ was inferred from the ratio between emission at 340 and 380 nm, respectively (26, 27, 28). The experiment was repeated three times.

Determination of nitrite concentration in *S. coelicolor* supernatants. Concentration of nitrite in *S. coelicolor* culture supernatants was determined by the Griess reagent method, as proposed by Green et al. (29) with the following modifications. Sample (300 μ l) of a culture supernatant was mixed with 100 μ l of Griess reagent (0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride, 1% sulfanilamide and 5% phosphoric acid and 600 μ l of deionized water and incubated at room temperature for 10 min. The absorbance of the mixture was measured in a spectrophotometer at 540 nm. Nitrite concentration in culture samples was interpolated from a standard curve obtained with sodium nitrite as a standard. The experiment was repeated three times. Nitrate detection in the non-inoculated R5- and R5+ media was achieved by determining the amount of nitrite produced in the presence of nitrate reductase (Sigma) according to Gilliam et al. (30).

RESULTS

Effect of external stimuli on the expression of *tdd8* and genes of the redox-stress response cluster. A global gene expression study using microarray revealed that a putative redox-stress response gene cluster was overexpressed in $\Delta tdd8$ at the visual onset of Red production compared to the wild strain. The expression of *tdd8* and 13 selected genes of the redox-stress response cluster (11 genes of the redox-stress response loci and two genes located outside the loci and involved in NO detoxification) were analyzed in *S. coelicolor* M145 cultures exposed to different stresses. Differential gene expressions between cultures (stress condition/control condition) are shown in Table 1. Hypoxia and SNP, a NO donor, induced expression of all the redox-stress response genes tested. The other stressing agents (hydroxylamine, MV, *t*-BHP and potassium tellurite) only induced some of these genes. The gene SCO0168 coding for the Crp-Fnr like regulator was even significantly down-regulated when the bacterium was exposed to these stresses (Table 1). Hypoxia, nitrosative and oxidative stresses all had a negative effect on *tdd8* expression.

Table 1 Differential gene expression between *S. coelicolor* M145 cultures exposed or not to various stresses.

Gene	Putative function of the corresponding protein	Fold change of gene expression in stress condition					
		Hypoxia (O ₂ : 5-15%)	SNP (2 mM)	Hydroxylamine (76 μM)	MV (50 μM)	t-BHP (55 μM)	K ₂ TeO ₃ (2,5 μM)
SCO0162	Nitroreductase motif-containing protein	26.8	22.8	11.1	1.8*	6.9*	0.2
SCO0168	Crp/Fnr-like protein regulator	11.2	2.0	0.5	0.4	0.4	0.4
SCO0171	Nicotinate phosphoribosyltransferase	4.6	3.2	1.3*	0.9*	0.8*	1.2*
SCO0174	Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase	13.4	10.1	2.8	3.2	1.8*	1.0*
SCO0204	DosR-like regulator	7.2	3.9	1.5*	1.7	1.1*	2.5
SCO0212	Hemerythrin motif-containing protein	2.4	2.8	0.7*	0.5*	0.8*	0.2
SCO0215	Nitroreductase motif-containing protein	8.1	3.0	1.1*	1.0*	1.0*	0.8*
SCO0216	NarG2, Nitrate reductase	1.6	1.9	0.8*	0.6*	0.5*	0.7*
SCO2368	Tdd8, TerD motif	0.2	0.5	0.1	0.3	0.2	0.2
SCO7427	NsrR, transcriptional repressor regulator	14.9	8.6	2.1	0.9*	1.1*	1.1*
SCO7428	HmpA1, flavohemoprotein	41.4	15.0	1.9*	1.1*	2.4	3.4

* indicates that the target sample is not different from control as established by the REST 2009 software (P value >0.05)

The effect of an addition of exogenous calcium on the expression of the redox-stress response genes listed in Table 1 was determined in both $\Delta tdd8$ and M145 at the onset of Red biosynthesis. The levels of transcription was significantly higher in $\Delta tdd8$ than the wild strain for all genes tested (Fig. 1) in the R5- medium. In $\Delta tdd8$, addition of calcium significantly reduced the expression of all genes tested but the exception were genes *nsrR* and *hmpA1* (SCO7427 and SCO7428) that are predicted to be involved in NO sensing and detoxification, respectively. The levels of transcription of genes SCO0162, SCO0168, SCO0171, SCO0174, SCO0204, SCO0212, SCO0215 and SCO0216 in $\Delta tdd8$ grown in R5+ were similar to the ones of M145 grown in R5-. Growth of M145 in the presence of a higher calcium concentration did not affect the level of expression of most tested genes.

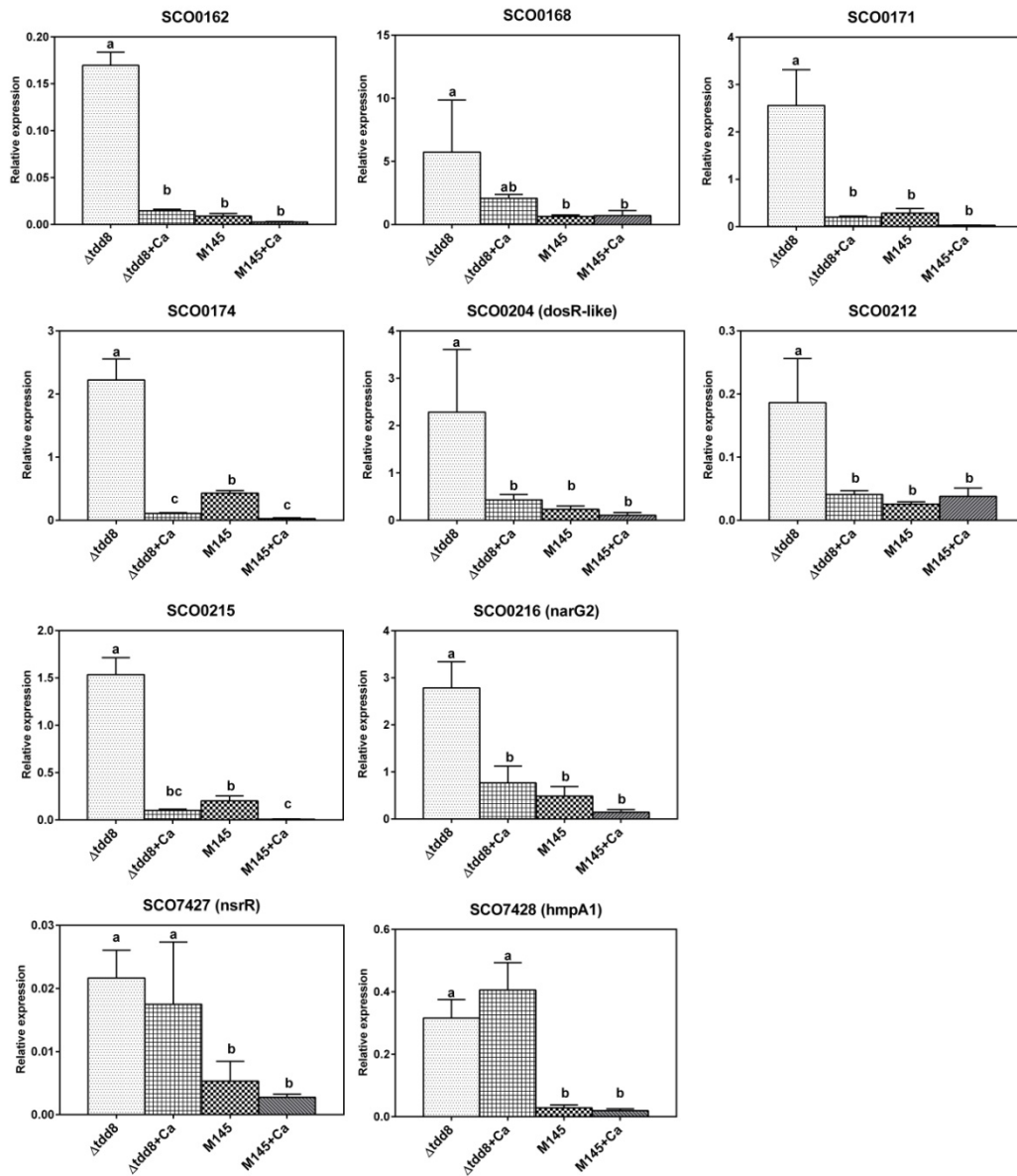


FIG. 1 Relative expression of genes belonging to the redox-stress response cluster in *S. coelicolor* strains M145 and $\Delta tdd8$ grown in R5- and R5+ culture media. The R5+ medium contained supplemental CaCl_2 ($9 \mu\text{M}$). Error bars represents the standard deviation. Bars with the same letter did not statistically differ (ANOVA followed by a LSD test, P value < 0.05).

Detection of nitrite in *S. coelicolor* cultures. Extracellular nitrite (NO_2^-) concentration was determined overtime for $\Delta tdd8$, *tdd8+* and M145 in the R5- and R5+ media. Fig. 2 represents the time-course of nitrite concentration. For all strains, the peak of nitrite concentration was detected around the visual onset of Red biosynthesis, indicated as time 0 on the graphs. The time period where nitrite could be detected varied within strains. This period was of 31, 20 and 11 h, for $\Delta tdd8$, M145 and *tdd8+*, respectively (Fig. 2). The nitrite detection period was shortened in the medium supplemented with calcium and was of 23, 11 and 8 h for $\Delta tdd8$, M145 and *tdd8+*, respectively (Fig. 2).

Determination of the intracellular free calcium concentration. Free intracellular calcium content was compared between strains $\Delta tdd8$, M145 and *tdd8+* using Fura 2-AM, a membrane-permeable fluorescent dye (26) at the visual onset of Red biosynthesis in R5-medium. The relative free calcium concentration was significantly lower in $\Delta tdd8$ (0.73 ± 0.04) than in the M145 strain and *tdd8+* strains (1.03 ± 0.03 and 1.06 ± 0.01 , respectively) (Fig. 3a). While an additional exogenous supply of calcium did not affect the intracellular free calcium concentration in *tdd8+*, but an increase of 41 and 18% was observed in $\Delta tdd8$ and in M145, respectively (Fig. 3a).

The effect of NO on calcium homeostasis was determined by growing the strains in the presence of SNP. In the presence of this NO donor, the intracellular free calcium significantly decreased in both M145 and *tdd8+*, while a slight, but significant, increase was observed in the $\Delta tdd8$ deletion mutant (Fig. 3b).

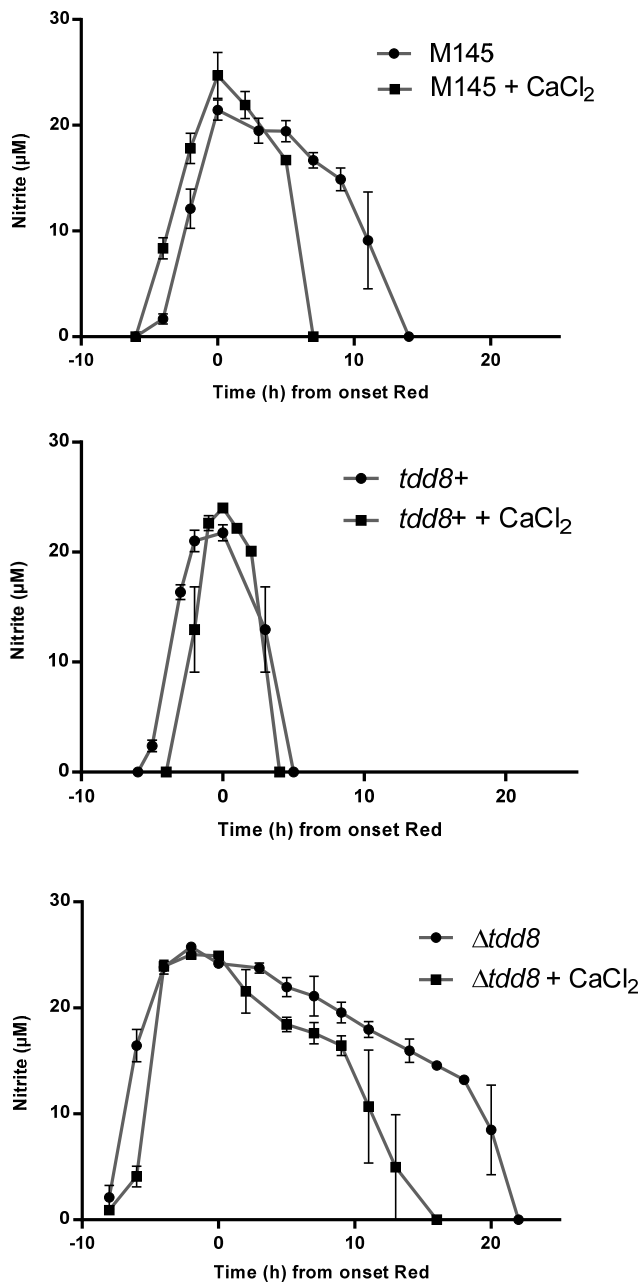


FIG. 2 Time-course of nitrite concentration for *S. coelicolor* strains M145 (top panel), *tdd8*⁺ (middle) and $\Delta tdd8$ (bottom) grown in R5- and R5+ culture media. The R5+ medium contained supplemental CaCl₂ (9 μM). Time 0 corresponds to the visual onset of Red production.

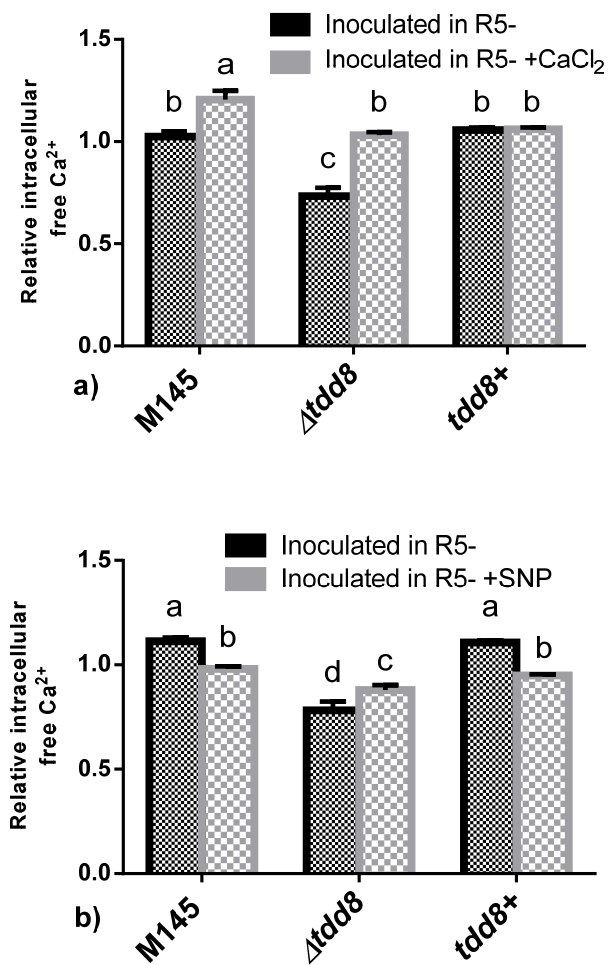


FIG. 3 Relative intracellular free Ca^{2+} in *S. coelicolor* strains determined by ratiometric detection at 530 nm of the 340/380 nm excitation of Fura2 AM fluorescent dye in various culture media. a) R5- and R5+ culture media; b) R5- supplemented or not with 2 mM of sodium nitroprusside (SNP), a NO donor. Error bars represents the standard deviation. Bars with the same letter indicate values that are not statistically different (P value <0.05, ANOVA analysis followed by pairwise comparison LSD test).

DISCUSSION

In a previous work, Daigle et al. (14, submitted for publication) identified a putative redox stress response gene cluster which included a DosR-like regulon that was up-regulated in the $\Delta tdd8$ deletion mutant. In *M. tuberculosis*, *dosR* and its regulon play a key role in dormancy survival (16). The *M. tuberculosis* DosR regulon is also induced during growth under hypoxic condition or in the presence of NO or CO (31). As in *M. tuberculosis*, we showed here that expression of *S. coelicolor* genes with a DosR-like binding motif in their promoter sequence respond to the same external stimuli (*i.e.*, hypoxia and NO) suggesting that the DosR-like regulon of *S. coelicolor* is actually involved in adaptation to redox stress. Furthermore, the DosR-like regulon of *S. coelicolor* appeared to belong to a larger redox-stress response gene cluster since other genes such as *nsrR/hmpA1* concomitantly respond to the same stimuli. While SNP and hypoxia induce the expression of all genes of the cluster that have been tested, other oxidative and nitrosative stresses only allow the induction of subset genes within the cluster. The deletion of *tdd8* in *S. coelicolor* M145 has allowed the identification of this redox-stress response gene cluster. Overexpression of the gene cluster in the mutant during standard growth conditions suggests that Tdd8 participates directly or indirectly to redox homeostasis.

Sensing changes in the redox state can be directly detected in bacteria via interaction of O₂, NO or CO with heme-containing proteins or Fe-S proteins (32). Tdd8 does not belong to these classes of proteins and it is thus unlikely that the protein acts as a direct sensor for O₂, NO or CO. However, *S. coelicolor* redox-stress response gene loci (14) include *Mycobacterium* orthologs encoding for the DosRST two-component regulatory system, in which DosS and DosT could act as heme-based sensor histidine kinases that detect the presence or absence of ligands such as O₂, CO and NO and relay the information to the response regulator DosR (33). Other genes of redox-stress response cluster may also be directly involved in the sensing of these gases: the Fe-S based regulator Crp/Fnr-like gene (SCO0168) a member of the DosR-like regulon, and outside of the loci, the *nsrR* gene that codes for a [2Fe-2S] transcriptional repressor acting as a NO sensor (34).

Changes in the redox state could also be indirectly sensed by pools of molecules within the cell. Metal ions, like Ca^{2+} , can play a role in redox signalling, especially as a redox-active cofactor in a wide range of metabolic processes (35). It has been proposed that Ca^{2+} acts as a second messenger by controlling membrane permeability to protons (36). Also the Ca^{2+} can be used in signalling system under oxygen stress, where it play a role in the mechanism of regulation of the cell redox potential (37). Tdd8 is known to possess two calcium ion binding sites (PDB number 3IBZ). In this work, we showed that the level of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ varied among M145, $\Delta tdd8$ and *tdd8*⁺. Furthermore, a NO stress has a differential effect on the intracellular calcium concentration depending on the expression level of *tdd8*. These data bring evidence of the involvement of Tdd8 in calcium homeostasis. An imbalance of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ caused by the absence of Tdd8 may act as a messenger that signals and induces a stress response. The TerD domain is associated with tellurite resistance genes in some other bacteria. One can thus postulate that Ca^{2+} signalling somehow involved or in link with the tellurite resistance and possibly, in other stress responses since *tdd8* expression is modulated under various stress conditions including tellurite exposure.

The addition of calcium in the R5- medium restored in $\Delta tdd8$ the $[\text{Ca}^{2+}]_i$ at a level similar to the one associated with M145 in the R5- medium. This addition of calcium in $\Delta tdd8$ culture also reduced expression of all eight genes of the DosR-like regulon that have been tested including the *crp/frn*-like and the *dosR*-like genes suggesting that calcium homeostasis indirectly participates in redox state sensing. Addition of calcium to the $\Delta tdd8$ culture had, however, no significant effect on the expression of the *nsrR* and *hmpA1* genes that belong to the redox-stress response cluster but not to the DosR-like regulon, indicating that not all genes of the cluster responded to calcium imbalance.

As members of the DosR-like regulon, the membrane-associated respiratory nitrate reductase genes (*narGHIJ2*) are all overexpressed in $\Delta tdd8$ (14) at the onset of Red production and under hypoxia and NO stress in M145. Genes involved in denitrification are usually ascribed

to anaerobic metabolism in facultative and strictly anaerobic bacteria. In the strictly aerobic *S. coelicolor*, evidence indicate that these enzymes allowed the reduction of nitrate to nitrite in the presence of O₂ (19). Denitrification and aerobic respiration with hybrid electron transport chains have been demonstrated in several bacterial species (38). The R5- medium contained a low amount of contaminating nitrate ($27.2 \pm 1.5 \mu\text{M}$, data not shown) and nitrite production was detected in all strains (M145, $\Delta tdd8$, $tdd8+$) indicating that nitrate reductases were effectively active in R5- medium. Nitrate reduction occurred few hours before the visual onset of Red production, a key moment in the cell differentiation process when the cells are conceivably in a quiescence-like state since a PCD occurs (15, 39). It has been suggested that entrance into this quiescence-like phase could be triggered by local oxygen depletion in cells located in center of mycelium pellet. Expression, near transition phase, of the redox stress response genes, including the nitrate reductase genes, suggests that the PCD phenomenon is preceded by a redox stress. A previous proteomic study revealed that Tdd8 was up-regulated during the PCD (11), which supports the hypothesis that Tdd8 might be involved in the control of the redox state during PCD.

In our growth conditions, nitrite accumulates in the culture supernatant until the visual onset of Red production and this onset of Red biosynthesis seems to correspond to a complete reduction of nitrate present in the culture medium. In this study, the presence of nitrite in the supernatant was only transient. In contrast, Fischer et al., (19) observed that *S. coelicolor* accumulates nitrite after full reduction of nitrate (50 mM) in a culture medium with high nitrogen content. The duration of the period of nitrite detection is influenced by both the expression level of *tdd8* and the calcium concentration in the growth environment but the mechanism by which *S. coelicolor* eliminates nitrite has still to be determined. However, *S. coelicolor* possesses nitrite reductase genes (*nirBD*) usually expressed in low nitrogen conditions (9, 40). A global transcriptomics study revealed that the nitrite reductase genes (*nirBD*) were more expressed in strain $tdd8+$ than in M145 a few hours after the visual onset of Red production (14). Expression of *nirBD* is controlled by GlnR, a global regulator of nitrogen assimilation (9). As interplay between *glnR* and *tdd8* has been evidenced (9, 14), a

link between calcium signalling and nitrogen metabolism is thus possible in *S. coelicolor* as it has been demonstrated for the cyanobacterium *Synechococcus elongates* (41). The nitrite reduction to ammonium by NirBD is probably the main pathway to the nitrite disappearance in *S. coelicolor*; however, alternative pathways cannot be excluded. Fisher et al. (40) have proposed that *S. coelicolor* could also transform nitrite to NO since *nirBD* mutations did not impede *S. coelicolor* ability to eliminate nitrite.

The exact role of Tdd8 and its mechanism of action in the cell remain elusive. However, this work brings evidence that Tdd8 plays a significant role in calcium homeostasis or calcium signaling. Despite the fact that very little is known on calcium signaling in prokaryotes, several reports suggested a calcium regulation for a variety of cellular activities such as stress adaptation (22, 35, 37, 42, 43), nitrogen metabolism (41, 44) and differentiation (20, 45, 46). The calcium-binding property of Tdd8 may thus explain the pleiotropic effect of its modulation of expression in *S. coelicolor*.

ACNOWLEDGMENTS

This work was supported by a grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC).

REFERENCE

1. Bentley S. D., Chater K. F., Cerdeno-Tarraga A. M., Challis G. L., Thomson N. R., James K. D., Harris D. E., Quail M. A., Kieser H., Harper D., Bateman A., Brown S., Chandra G., Chen C. W., Collins M., Cronin A., Fraser A., Goble A., Hidalgo J., Hornsby T., Howarth S., Huang C. H., Kieser T., Larke L., Murphy L., Oliver K., O'Neil S., Rabinowitsch E., Rajandream M. A., Rutherford K., Rutter S., Seeger K., Saunders D., Sharp S., Squares R., Squares S., Taylor K., Warren T., Wietzorrek A., Woodward J., Barrell B. G., Parkhill J., and Hopwood D. A. 2002. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*. **417**:141-147.
2. Hutchings M. I., Hong H. J., Leibovitz E., Sutcliffe I. C., and Buttner M. J. 2006. The σ^E cell envelope stress response of *Streptomyces coelicolor* is influenced by a novel lipoprotein, CseA. *J. Bacteriol.* **188**:7222-7229.
3. Kallifidas D., Thomas D., Doughty P., and Paget M. S. 2010. The σ^R regulon of *Streptomyces coelicolor* A32 reveals a key role in protein quality control during disulphide stress. *Microbiology*. **156**:1661-1672.
4. Gruber T. M. and Gross C. A. 2003. Multiple sigma subunits and the partitioning of bacterial transcription space. *Annu. Rev. Microbiol.* **57**:441-466.
5. Anantharaman V., Iyer L. M., and Aravind L. 2012. Ter-dependent stress response systems: novel pathways related to metal sensing, production of a nucleoside-like metabolite, and DNA-processing. *Mol. Biosyst.* **8**:3142-3165.
6. Novotna J., Vohradsky J., Berndt P., Gramajo H., Langen H., Li X. M., Minas W., Orsaria L., Roeder D., and Thompson C. J. 2003. Proteomic studies of diauxic lag in the differentiating prokaryote *Streptomyces coelicolor* reveal a regulatory network of stress-induced proteins and central metabolic enzymes. *Mol. Microbiol.* **48**:1289-1303.
7. Langlois P., Bourassa S., Poirier G. G., and Beaulieu C. 2003. Identification of *Streptomyces coelicolor* proteins that are differentially expressed in the presence of plant material. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**:1884-1889.
8. Yang Y. H., Song E., Kim E. J., Lee K., Kim W. S., Park S. S., Hahn J. S., and Kim B. G. 2009. NdgR, an IclR-like regulator involved in amino-acid-dependent growth, quorum sensing, and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **82**:501-511.
9. Tiffert Y., Franz-Wachtel M., Fladerer C., Nordheim A., Reuther J., Wohlleben W., and Mast Y. 2011. Proteomic analysis of the GlnR-mediated response to nitrogen limitation in *Streptomyces coelicolor* M145. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **89**:1149-1159.
10. Thomas L., Hodgson D. A., Wentzel A., Nieselt K., Ellingsen T. E., Moore J., Morrissey E. R., Legaie R., Wohlleben W., Rodriguez-Garcia A., Martin J. F., Burroughs N. J., Wellington E. M., and Smith M. C. 2012. Metabolic switches and adaptations deduced from the proteomes of *Streptomyces coelicolor* wild type and phoP mutant grown in batch culture. *Mol. Cell. Proteomics*. **11**:M111 013797.

11. **Manteca A., Mader U., Connolly B. A., and Sanchez J.** 2006. A proteomic analysis of *Streptomyces coelicolor* programmed cell death. *Proteomics*. **6**:6008-6022.
12. **Sanssouci E., Lerat S., Grondin G., Shareck F., and Beaulieu C.** 2011. tdd8: a TerD domain-encoding gene involved in *Streptomyces coelicolor* differentiation. *Antonie Van Leeuwenhoek*. **100**:385-398.
13. **Sanssouci E., Lerat S., Daigle F., Grondin G., Shareck F., and Beaulieu C.** 2012. Deletion of TerD-domain-encoding genes: effect on *Streptomyces coelicolor* development. *Can. J. Microbiol.* **58**:1221-1229.
14. **Daigle F., Lerat S., Bucca G., Smith C. P., Malouin F., and Beaulieu C.** submitted for publication. Identification of a DosR-like regulon in *Streptomyces coelicolor* via a comparative global genome transcriptomics in strains exhibiting differential expression of tdd8, a TerD domain-encoding gene
15. **Huang J., Lih C. J., Pan K. H., and Cohen S. N.** 2001. Global analysis of growth phase responsive gene expression and regulation of antibiotic biosynthetic pathways in *Streptomyces coelicolor* using DNA microarrays. *Genes Dev.* **15**:3183-3192.
16. **Boon C. and Dick T.** 2012. How *Mycobacterium tuberculosis* goes to sleep: the dormancy survival regulator DosR a decade later. *Future Microbiol.* **7**:513-518.
17. **Hu Y. and Coates A. R.** 2011. *Mycobacterium tuberculosis* acg gene is required for growth and virulence in vivo. *PLoS One*. **6**:e20958.
18. **Honaker R. W., Dhiman R. K., Narayanasamy P., Crick D. C., and Voskuil M. I.** 2010. DosS responds to a reduced electron transport system to induce the *Mycobacterium tuberculosis* DosR regulon. *J. Bacteriol.* **192**:6447-6455.
19. **Fischer M., Alderson J., van Keulen G., White J., and Sawers R. G.** 2010. The obligate aerobe *Streptomyces coelicolor* A3(2) synthesizes three active respiratory nitrate reductases. *Microbiology*. **156**:3166-3179.
20. **Dominguez D. C.** 2004. Calcium signalling in bacteria. *Mol. Microbiol.* **54**:291-297.
21. **Pan Y. R., Lou Y. C., Seven A. B., Rizo J., and Chen C.** 2011. NMR structure and calcium-binding properties of the tellurite resistance protein TerD from *Klebsiella pneumoniae*. *J. Mol. Biol.* **405**:1188-1201.
22. **Domínguez DC L. R., Holland IB., and Campbell AK.** 2011. Proteome Analysis of *B. subtilis* in Response to Calcium. *J. Anal. Bioanal. Techniques*. **S6**:001.
23. **Kieser T., Bibb M. J., Buttner M. J., Chater K. F., and Hopwood D. A.** (2000) *Practical streptomyces genetics* (Norwich: John Innes Foundation) 613 p.
24. **Pfaffl M. W., Horgan G. W., and Dempfle L.** 2002. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.* **30**:e36.
25. **Pfaffl M. W.** 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* **29**:e45.
26. **Grynkiewicz G., Poenie M., and Tsien R. Y.** 1985. A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem.* **260**:3440-3450.
27. **Futsaether C. M. and Johnsson A.** 1994. Using fura-2 to measure intracellular free calcium in *Propionibacterium acnes*. *Can. J. Microbiol.* **40**:439-445.

28. **Nakamura I., Nakai Y., and Izumi H.** 1996. Use of fura-2/AM to measure intracellular free calcium in *Selenomonas ruminantium*. *Tohoku J. Exp. Med.* **179**:291-294.
29. **Green L. C., Wagner D. A., Glogowski J., Skipper P. L., Wishnok J. S., and Tannenbaum S. R.** 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N]nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* **126**:131-138.
30. **Gilliam M. B., Sherman M. P., Griscavage J. M., and Ignarro L. J.** 1993. A spectrophotometric assay for nitrate using NADPH oxidation by *Aspergillus* nitrate reductase. *Anal. Biochem.* **212**:359-365.
31. **Kumar A., Toledo J. C., Patel R. P., Lancaster J. R., Jr., and Steyn A. J.** 2007. *Mycobacterium tuberculosis* DosS is a redox sensor and DosT is a hypoxia sensor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **104**:11568-11573.
32. **Bueno E., Mesa S., Bedmar E. J., Richardson D. J., and Delgado M. J.** 2012. Bacterial adaptation of respiration from oxic to microoxic and anoxic conditions: redox control. *Antioxid. Redox. Signal.* **16**:819-852.
33. **Bhat S. A., Singh N., Trivedi A., Kansal P., Gupta P., and Kumar A.** 2012. The mechanism of redox sensing in *Mycobacterium tuberculosis*. *Free Radic. Biol. Med.* **53**:1625-1641.
34. **Tucker N. P., Hicks M. G., Clarke T. A., Crack J. C., Chandra G., Le Brun N. E., Dixon R., and Hutchings M. I.** 2008. The transcriptional repressor protein NsrR senses nitric oxide directly via a [2Fe-2S] cluster. *PLoS One.* **3**:e3623.
35. **Agranoff D. and Krishna S.** 2004. Metal ion transport and regulation in *Mycobacterium tuberculosis*. *Front. Biosci.* **9**:2996-3006.
36. **Deves R. and Brodie A. F.** 1981. Active transport of Ca²⁺ in bacteria: bioenergetics and function. *Mol. Cell. Biochem.* **36**:65-84.
37. **Herbaud M. L., Guiseppi A., Denizot F., Haiech J., and Kilhoffer M. C.** 1998. Calcium signalling in *Bacillus subtilis*. *Biochim. Biophys. Acta.* **1448**:212-226.
38. **Chen J. and Strous M.** 2013. Denitrification and aerobic respiration, hybrid electron transport chains and co-evolution. *Biochim. Biophys. Acta.* **1827**:136-144.
39. **Manteca A., Alvarez R., Salazar N., Yague P., and Sanchez J.** 2008. Mycelium differentiation and antibiotic production in submerged cultures of *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**:3877-3886.
40. **Fischer M., Schmidt C., Falke D., and Sawers R. G.** 2012. Terminal reduction reactions of nitrate and sulfate assimilation in *Streptomyces coelicolor* A3(2): identification of genes encoding nitrite and sulfite reductases. *Res. Microbiol.* **163**:340-348.
41. **Leganés F., Forchhammer K., and Fernández-Pinas F.** 2009. Role of calcium in acclimation of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 to nitrogen starvation. *Microbiology.* **155**:25-34.
42. **Saini D. K., Malhotra V., and Tyagi J. S.** 2004. Cross talk between DevS sensor kinase homologue, Rv2027c, and DevR response regulator of *Mycobacterium tuberculosis*. *FEBS Lett.* **565**:75-80.
43. **Gangola P. and Rosen B. P.** 1987. Maintenance of intracellular calcium in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **262**:12570-12574.

44. **Sohaskey C. D.** 2008. Nitrate enhances the survival of *Mycobacterium tuberculosis* during inhibition of respiration. *J. Bacteriol.* **190**:2981-2986.
45. **Yu X. C. and Margolin W.** 1997. Ca²⁺-mediated GTP-dependent dynamic assembly of bacterial cell division protein FtsZ into asters and polymer networks in vitro. *EMBO J.* **16**:5455-5463.
46. **Manteca A., Fernandez M., and Sanchez J.** 2006. Cytological and biochemical evidence for an early cell dismantling event in surface cultures of *Streptomyces antibioticus*. *Res. Microbiol.* **157**:143-152.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Les streptomycètes sont parmi les genres bactériens qui disposent d'un bagage génétique des plus complexes. Leur étude est d'un intérêt majeur tant sur le plan industriel que celui de la recherche fondamentale, d'une part pour le rôle essentiel qu'ils jouent dans les écosystèmes terrestre et aquatique; d'autre part, les streptomycètes sont à l'origine de la production de très nombreuses molécules bioactives telles que les antibiotiques. Comprendre le rôle des gènes et des systèmes qui permettent leur adaptation en réponse à différents stress ou aux conditions particulières régissant leur croissance et développement constitue un enjeu crucial à l'avancement de nos connaissances. La détermination de la fonction des gènes *tdd* est complexe et était jusqu'à maintenant presque insaisissable. Pourtant, l'étude de ces gènes est particulièrement fascinante d'abord en raison de leur nombre important réparti sur le génome et de la quantité importante des protéines avec un motif TerD retrouvées à la fois tant dans le protéome extracellulaire que cytoplasmique. Ces protéines ont parfois subi des modifications post-traductionnelles de méthylation et de phosphorylation (Manteca et al., 2011; Sanssouci, 2010). Dans le règne procaryote et même chez quelques eucaryotes, l'ubiquité des gènes *tdd* qui codent pour des protéines ayant un motif TerD est impressionnante. Plus de 3000 séquences réparties chez plus de 600 espèces ont jusqu'à présent été identifiées (Pfam database, Sanger Institute). Chez certaines espèces bactériennes pathogènes, telles que l'*Escherichia coli* productrice de la toxine Shiga (STEC), le pouvoir pathogène est fortement associé à la présence de gène avec un motif TerD; les gènes de virulence et ceux du motif TerD étant généralement disposés sur un même plasmide chez ces espèces (Hirvonen et al., 2012). En ce qui concerne *S. coelicolor*, plusieurs études transcriptomiques et protéomiques ont observé des modulations dans l'expression de gènes *tdd* à la suite d'exposition à différentes conditions de stress ou lorsque certaines délétions sont faites dans le génome. Ces modulations demeureront énigmatiques tant et aussi longtemps que la fonction du motif TerD n'aura pas été établie.

4.1 Les puces à ADN

Pour parvenir à déterminer la fonction d'un gène pour lequel très peu d'éléments permettent de lui attribuer une fonction spécifique, l'identification de transcriptome sous une condition donnée à partir de souches mutantes est une avenue de recherche intéressante. Le séquençage génomique complet de plusieurs organismes au cours des dernières années et la disponibilité de données sur la structure des gènes dans le génome facilitent la tâche d'assigner une fonction biologique à chaque gène individuel. Il demeure toutefois encore difficile de comprendre le réseau de régulation complexe à l'intérieur de la cellule vivante où gènes, protéines, et métabolites sont tous en interrelation. L'utilisation des puces à ADN rend possible une mesure de l'impact d'une mutation sur l'ensemble du génome et d'en extraire un ou des groupes de gènes aux fonctions communes.

L'utilisation de puces à ADN pour l'étude de l'expression génétique implique qu'une grande quantité de données soit générée et leur analyse souvent complexe engendre des résultats qui peuvent mener à une confusion au niveau des hypothèses et conclusions (Dharmadi et Gonzalez, 2004). Déterminer avec certitude le gène qui est différemment exprimé, nécessite l'utilisation d'outils statistiques, d'abord pour normaliser les données et ensuite pour établir la probabilité qu'un changement au niveau de l'expression soit significatif. L'analyse statistique permet de s'assurer que les changements observés ne soient pas une suite d'événements aléatoires, une variabilité biologique ou simplement une erreur inhérente aux techniques expérimentales. Un modèle expérimental adéquat est donc essentiel pour réaliser avec succès l'analyse statistique des données et obtenir des résultats significatifs.

4.1.1 L'ADN génomique et normalisation

Plusieurs aspects doivent être considérés pour faire en sorte que les résultats puissent se prêter à une analyse statistique et représenter adéquatement la réponse cellulaire. La tendance

actuelle est de plus en plus dirigée vers l'utilisation de l'ADNg comme référence commune pour normalisation (Dharmadi et Gonzalez, 2004; Jayapal et al., 2008; Williams et al., 2006; Yang, 2009).

L'utilisation de l'ADN génomique dans le modèle expérimental permet de contourner les limitations et problématiques qui étaient généralement rencontrées par les autres modèles expérimentaux, notamment dans la comparaison d'échantillons qui utilisent des fluorophores différents ou dans la comparaison de données provenant d'expériences différentes (Williams et al., 2006; Yang, 2009). L'ADNg est facile et économique à préparer en grande quantité, en plus d'être stable. N'étant pas soumis aux différents changements expérimentaux, son utilisation comme référence permet dans un premier temps de valider l'efficacité d'hybridation et l'intensité du signal pour tous les gènes puisque ceux-ci sont normalement présents en une seule copie par génome chez les procaryotes. Le principal avantage est de générer une référence constante, d'une expérience à l'autre, facilitant ainsi considérablement les opérations de normalisation entre les différentes puces à ADN (Yang, 2009). Toutefois, l'adoption de l'ADNg comme référence comporte aussi des problèmes et défis. De nouvelles variations causant généralement des mesures d'écart-type élevées vont survenir pour les spots de faible intensité avec l'ADNg. À l'inverse, les spots de forte intensité vont interférer considérablement avec l'hybridation de l'ADNc, soit par une hybridation directement en solution ou sur la sonde, ce qui diminue la fiabilité du ratio ADNc/ADNg (Williams et al., 2004; Yang, 2009). Bien que les streptomycètes possèdent un génome complexe chez les procaryotes, ces problèmes sont généralement mineurs avec les génomes bactériens et n'affectent habituellement pas l'efficacité globale de ce modèle (Williams et al., 2004).

4.1.2 La normalisation globale

Dans cette thèse nous avons utilisé la normalisation globale. Ce type de normalisation suppose que la majorité des gènes soit exprimée de la même manière dans les deux

échantillons comparés et ainsi que la majorité des spots émettent un signal d'intensité égale selon les deux fluorophores, généralement représenté par le rouge (cy3) et en vert (cy5). Dans ces conditions, la moyenne arithmétique des ratios d'expression $T_{r/v}$ de tous les spots devrait être égale à 1 (0 en \log_2). Si ce n'est pas le cas, une correction doit être appliquée aux ratios d'expression par un facteur de normalisation N , tel que :

Pour chaque gène : $T_{r/v} \text{ normalisé} = N \times T_{r/v}$.

Donc par exemple, $V_i' = N_{total} V_i$ et $R_i' = R_i$ (N_{total} étant le facteur de correction moyen),

$$T_i = \frac{R_i}{V_i} \text{ devient donc } T_i' = \frac{1}{N_{total}} \frac{R_i}{V_i}$$

Chaque ratio d'éléments est donc ajusté en fonction de la moyenne de différence entre les ratios qui est égale à 1 (0 en \log_2). La normalisation sera généralement appliquée sur l'intensité des spots d'une même puce à ADN, mais aussi entre les différentes puces à ADN qui seront utilisées lors d'une même expérience.

4.1.3 L'analyse statistique

Il existe plusieurs méthodes d'analyses statistiques et de traitements de données pour travailler avec les données générées par les puces à ADN, le logiciel de la suite MeV (Saeed et al., 2003) permet d'avoir un bon aperçu de l'ensemble de ces tests. Pour l'analyse d'expression différentielle chez les bactéries, le test « Rank product » est couramment utilisé. Cette méthode permet de déterminer l'expression différentielle d'un gène entre deux conditions avec des répétitions multiples. L'analyse diffère de plusieurs autres techniques puisqu'elle n'applique pas de modèles statistiques sophistiqués, mais plutôt un calcul de classement du produit par une méthode rapide et simple. Comme son nom l'indique, le test vérifie si les gènes les plus ou les moins exprimés sont les mêmes entre les répétitions. Ensuite un seuil de probabilité est appliqué pour générer une liste de gènes significativement surexprimés et une

liste de gènes significativement sous-exprimés. « Rank product » est particulièrement utile lorsque les données ont une grande variance, comme c'est souvent le cas avec les puces à ADN. De plus, cette méthode permet de réduire significativement le nombre de répétitions, jusqu'à aussi peu que deux, afin d'obtenir des résultats fiables (Laing, 2008).

4.1.4 La confirmation des résultats par RT-qPCR

Une question clé à propos des données de transcriptomique obtenues par les puces à ADN est de savoir si elles doivent être validées par une autre méthode, telle que le RT-PCR quantitatif. Il est certain que ce ne sont pas tous les gènes qui doivent être vérifiés, mais plutôt les gènes clés d'une étude, ceux à partir desquels de grandes conclusions sont tirées. Une bonne corrélation entre les résultats des puces à ADN et un petit nombre de gènes clés est généralement nécessaire à la fois pour confirmer l'efficacité des techniques et la qualité des puces à ADN utilisées, mais aussi pour confirmer l'implication des données biologiques dans un système ou réseau de régulation (Butcher, 2004; Talaat et al., 2002). Toutefois, selon les recommandations d'un groupe d'experts qui ont établis des normes standards, MIAME (Minimum Information About a Microarray Experience), pour la présentation de résultats à partir d'expérience sur des puces à ADN, la confirmation des résultats par une autre méthode ne fait pas partie des standards minimaux recommandés (Brazma et al., 2001).

4.2 Implication et rôle de Tdd8 dans des systèmes de régulation

Dans cette thèse, notre étude du motif TerD s'est concentrée particulièrement sur le gène *tdd8* de *S. coelicolor* pour lequel nous disposons de mutant de délétion ($\Delta tdd8$) et de surexpression (*tdd8+*). Par la technologie des puces à ADN, il nous a été possible d'identifier et de comparer les transcriptomes de la souche M145 aux mutants *tdd8* à des moments clés du développement. Les résultats ont permis d'établir une implication de *tdd8* dans 3 grands

systèmes de régulation, soient 1) la différenciation morphologique, 2) le métabolisme de l'azote et 3) le contrôle de l'état de l'oxydoréduction par la respiration cellulaire. Nous émettons maintenant l'hypothèse que la protéine Tdd8 a un rôle dans ces divers processus cellulaires par son implication dans l'homéostasie du calcium intracellulaire. Il était connu que Tdd8 possède deux sites de liaison au calcium, mais dans ce travail, nous avons démontré que le taux de calcium intracellulaire variait entre les mutants et la souche M145. Au contraire des eucaryotes où le Ca^{2+} intracellulaire (Ca^{2+}_i) est un signal très polyvalent qui fonctionne pour réguler de nombreux processus cellulaires sur presque tous les aspects de la vie cellulaire (Berridge et al., 2003; Clapham, 2007), nous savons très peu au sujet de la régulation par le calcium chez les procaryotes. Comme 7 des 17 protéines Tdd de *S. coelicolor* examinées possèdent également des sites de liaison au calcium (Sanssouci et al., 2012), il est donc plausible de penser que les résultats présentés dans cette thèse puissent avoir une portée générale et ne pas concerner uniquement *tdd8*. D'ailleurs, il avait été observé que tout comme pour une délétion de *tdd8*, des délétions de *tdd7* et *tdd13* menaient également à des changements morphologiques (Sanssouci et al., 2012).

La comparaison des transcriptomes de M145 avec ceux des mutants $\Delta tdd8$ et *tdd8+* a permis de mettre en évidence plusieurs gènes impliqués dans le processus de différenciation. Parmi ces gènes, il y a ceux qui codent pour des protéines chaplines, d'importantes protéines qui sont nécessaires à la différenciation vers le second mycélium et essentielles à la formation des spores. Ce résultat fournit une explication génétique des différences concernant la morphologie et l'efficacité de la sporulation entre M145 et les mutants $\Delta tdd8$ et *tdd8+*. Le rôle de Tdd8 dans la différenciation pourrait être en rapport avec sa capacité à lier le calcium, puisqu'il a déjà été démontré qu'il existe un rapport entre une protéine qui lie le calcium, CabC, la concentration de calcium intracellulaire et la sporulation (Wang et al., 2008).

Le deuxième processus cellulaire influencé par Tdd8 concerne le métabolisme de l'azote. Les résultats présentés dans cette thèse ont permis de démontrer que l'expression de plusieurs gènes associés au métabolisme de l'azote est positivement régulée par le niveau d'expression

de *tdd8*. Par ailleurs, il a également été possible d'établir que la réduction des nitrites pouvait être synchronisée avec l'apparition du second mycélium et autant le niveau d'expression de *tdd8* que la concentration initiale de calcium dans le milieu de culture avaient un impact sur l'activité de la réduction des nitrites. Plusieurs éléments concernant le métabolisme de l'azote restent toutefois à être élucidés. La presque totalité des gènes impliqués dans l'assimilation de l'azote affichaient une expression différentielle entre les souches mutantes et M145. Dans ce contexte, il serait intéressant de poursuivre les études du transcriptome sous différentes conditions de stress associées à la disponibilité limitée d'azote afin d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans le métabolisme de l'azote. Déjà, il est connu que *glnII* code pour une glutamine synthétase mais son rôle exact demeure obscur (Tiffert et al., 2008), tout comme SCO2211 en aval de *glnII*, *glnA2* et SCO2195 qui semblent tous co-régulés avec d'autres gènes impliqués dans l'assimilation de l'azote, mais dont la fonction ou le rôle demeure à être identifié.

Le troisième processus influencé par Tdd8 a trait à l'oxydoréduction. D'abord, l'expression différentielle des transcriptomes de $\Delta tdd8$ par rapport à M145 a permis d'identifier un nouveau regroupement de gènes impliqués dans la réponse à un stress redox. La plupart de ces gènes sont disposés sur deux loci situés à proximité l'un de l'autre, une structure organisationnelle généralement favorisée par l'évolution qui permet une proximité aux gènes travaillant pour une même fonction dans un contexte régulateur-régulon (Zhang et al., 2012). Parmi ces gènes, plusieurs sont orthologues aux gènes du régulon DosR de *Mycobacterium tuberculosis*, bien connu pour son implication dans la dormance en condition d'hypoxie (Boon and Dick, 2012). Nos recherches ont caractérisé pour la première fois ces gènes chez les streptomycètes et ont permis d'identifier un motif de liaison très similaire à celui caractérisé chez *M. tuberculosis* pour DosR. Avec la souche M145, nous avons démontré que l'expression du régulon analogue à DosR était induite par des conditions d'hypoxie et de stress à l'oxyde nitrique, ce qui confirme à la fois que *S. coelicolor* dispose d'un système DosR similaire à celui de *M. tuberculosis* et que *tdd8* est impliqué dans le contrôle de l'équilibre redox et de la respiration cellulaire. L'ajout de calcium dans le milieu de croissance a permis de réprimer les

gènes du régulon analogues à DosR. Ces résultats suggèrent encore une fois que *tdd8* puisse jouer un rôle important et spécifique dans la réponse au stress redox via une signalisation par le calcium. De plus, comme l'expression de *tdd8* est affectée par différents stress, il est possible que la protéine correspondante soit impliquée dans la perception et la réponse à des stress variés, notamment via son rôle sur l'homéostasie du calcium intracellulaire.

La réduction des nitrates en nitrites observée quelques heures avant l'apparition de l'antibiotique Red suggère que NarGHIJ activée par DosR puisse permettre l'utilisation des nitrates comme accepteur d'électrons. Dans ce contexte, cela pourrait signifier que des conditions de stress d'oxydoréductions surviennent pendant cette période. Il est possible que ces conditions de stress puissent agir comme signal à l'activation d'un processus de mort cellulaire programmé et induire la différenciation morphologique vers le second mycélium. Pour expliquer la réduction des nitrites suite à l'apparition de l'antibiotique Red et dont la dynamique de réduction semble être modulée par Tdd8 ou par l'ajout de calcium, différentes hypothèses sont présentées à la figure 1. Il est proposé que NarGHIJ puisse jouer un rôle dans la réduction des nitrites en oxyde nitrique suite à l'épuisement du nitrate (Gilberthorpe et Poole, 2008), ce qui permettrait d'expliquer pourquoi *narGHIJ*, codant pour la nitrate réductase respiratoire et *nsrR*, codant pour un senseur d'oxyde nitrique, sont surexprimées à l'apparition de l'antibiotique Red. Les nitrites pourraient donc être réduits par la voie de la dénitrification dont certains enzymes impliqués sont toujours inconnus REF (Kumon et al., 2002) ou par la nitrite réductase NirBD dont l'expression des gènes qui codent pour cette enzyme est dépendante du régulateur GlnR et de la faible disponibilité d'azote assimilable. La figure 1 présentée dans cette section résume et suggère un réseau de régulation induit par la modulation de Tdd8.

La poursuite de la caractérisation de DosR et de son régulon chez *S. coelicolor* est intéressante à plusieurs points de vue. D'abord chez *M. tuberculosis*, l'agent causal de la tuberculose, il est établi que DosR joue un rôle essentiel dans l'infection persistante (Boon et Dick, 2012). Le régulateur DosR rend possible la survie du pathogène par l'activation de gènes qui induit un phénomène de dormance qui lui confère une tolérance à l'environnement anoxique et riche en oxyde nitrique que crée les macrophages, mais également une grande tolérance aux médicaments et chimiothérapie. La recherche pour le développement de médicament permettant de limiter l'expression de *dosR* et l'apparition de ce stade dormance est identifié comme une des voies les plus prometteuses pour le traitement de cette maladie. À la lumière des résultats présentés dans cette thèse, le contrôle de la concentration du calcium intracellulaire pourrait être une voie intéressante à explorer pour le traitement de la persistance de l'infection à *M. tuberculosis*. Chez *S. coelicolor*, il semble qu'un phénomène apparenté à la dormance soit associé à la capacité de l'organisme à survivre plusieurs semaines en absence d'oxygène (van Keulen et al., 2007). L'étude d'un système DosR parallèle chez une autre famille d'actinobactéries comme celui nouvellement décrit chez *S. coelicolor* permettra certainement une meilleure connaissance de ce type de système de régulation et pourrait fournir une meilleure compréhension de la capacité de *S. coelicolor* à survivre en absence d'oxygène.

CONCLUSION

De nombreuses voies restent à être explorées afin d'élucider le rôle exact des gènes *tdd* chez *S. coelicolor*, notamment celle d'identifier les régulateurs et la fonction commune de l'ensemble des gènes *tdd*. Les travaux présentés dans cette thèse ouvrent maintenant la voie à des recherches plus ciblées qui s'orientent notamment vers la différenciation morphologique, le métabolisme de l'azote ainsi que l'équilibre de l'état d'oxydoreduction et permettront de mieux comprendre le système de régulation complexe auquel *tdd8* participe. L'étude d'un système comportant une signalisation par le calcium est complexe en raison de l'ubiquité du calcium dans une multitude de systèmes. Chez les procaryotes, cette complexité s'accroît puisque que très peu d'études ont été faites sur ce sujet. Les recherches présentées dans cette thèse apportent un nouvel éclairage à la fonction de *tdd8* et s'inscrivent dans une première assise de la littérature sur une nouvelle classe de protéines impliquées dans la signalisation par les ions de calcium.

BIBLIOGRAPHIE

Agranoff, D., and Krishna, S. (2004). Metal ion transport and regulation in *Mycobacterium tuberculosis*. *Front. Biosci.* *9*, 2996-3006.

Alam, M.T., Merlo, M.E., Takano, E., and Breitling, R. (2010). Genome-based phylogenetic analysis of *Streptomyces* and its relatives. *Mol. Phylogenet. Evol.* *54*, 763-772.

Anantharaman, V., Iyer, L.M., and Aravind, L. (2012). Ter-dependent stress response systems: novel pathways related to metal sensing, production of a nucleoside-like metabolite, and DNA-processing. *Mol. Biosyst.* *8*, 3142-3165.

Angert, E.R. (2005). Alternatives to binary fission in bacteria. *Nat. Rev. Microbiol* *3*, 214-224.

Bailey, T.L., Boden, M., Buske, F.A., Frith, M., Grant, C.E., Clementi, L., Ren, J., Li, W.W., and Noble, W.S. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Res.* *37*, W202-208.

Bentley, S.D., Chater, K.F., Cerdeno-Tarraga, A.M., Challis, G.L., Thomson, N.R., James, K.D., Harris, D.E., Quail, M.A., Kieser, H., Harper, D., *et al.* (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature* *417*, 141-147.

Berridge, M.J., Bootman, M.D., and Roderick, H.L. (2003). Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* *4*, 517-529.

Bhat, S.A., Singh, N., Trivedi, A., Kansal, P., Gupta, P., and Kumar, A. (2012). The mechanism of redox sensing in *Mycobacterium tuberculosis*. *Free Radic. Biol. Med.* *53*, 1625-1641.

Bibb, M.J., Domonkos, A., Chandra, G., and Buttner, M.J. (2012). Expression of the chaplin and rodlin hydrophobic sheath proteins in *Streptomyces venezuelae* is controlled by sigma(BldN) and a cognate anti-sigma factor, RsbN. *Mol. Microbiol.* *84*, 1033-1049.

Bilban, M., Buehler, L.K., Head, S., Desoye, G., and Quaranta, V. (2002). Normalizing DNA microarray data. *Curr. Issues. Mol. Biol.* *4*, 57-64.

Bogard, N.A., J. Lamoril (2008). Microarray d'ADN et profils d'expression des gènes. Première partie: concept, fabrication et mise en oeuvre. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 23, 71-88.

Boon, C., and Dick, T. (2012). How *Mycobacterium tuberculosis* goes to sleep: the dormancy survival regulator DosR a decade later. *Future Microbiol.* 7, 513-518.

Borisov, V.B., Gennis, R.B., Hemp, J., and Verkhovsky, M.I. (2011). The cytochrome bd respiratory oxygen reductases. *Biochim. Biophys. Acta.* 1807, 1398-1413.

Borodina, I., Krabben, P., and Nielsen, J. (2005). Genome-scale analysis of *Streptomyces coelicolor* A3(2) metabolism. *Genome Res.* 15, 820-829.

Brazma, A., Hingamp, P., Quackenbush, J., Sherlock, G., Spellman, P., Stoeckert, C., Aach, J., Ansorge, W., Ball, C.A., Causton, H.C., *et al.* (2001). Minimum information about a microarray experiment (MIAME)-toward standards for microarray data. *Nat. Genet.* 29, 365-371.

Bucca, G., Laing, E., Mersinias, V., Allenby, N., Hurd, D., Holdstock, J., Brenner, V., Harrison, M., and Smith, C.P. (2009). Development and application of versatile high density microarrays for genome-wide analysis of *Streptomyces coelicolor*: characterization of the HspR regulon. *Genome Biol.* 10, R5.

Bueno, E., Mesa, S., Bedmar, E.J., Richardson, D.J., and Delgado, M.J. (2012). Bacterial adaptation of respiration from oxic to microoxic and anoxic conditions: redox control. *Antioxid Redox Signal.* 16, 819-852.

Butcher, P.D. (2004). Microarrays for *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb).* 84, 131-137.

Capstick, D.S., Willey, J.M., Buttner, M.J., and Elliot, M.A. (2007). SapB and the chaplins: connections between morphogenetic proteins in *Streptomyces coelicolor*. *Mol. Microbiol.* 64, 602-613.

Chater, K. (2011). Differentiation in *Streptomyces*: the properties and programming of diverse cell-types. In: Dyson, P., editor. *Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology*. Caister Academic Press; Norfolk, UK, p. 43-86.

Chauhan, S., Sharma, D., Singh, A., Surolia, A., and Tyagi, J.S. (2011). Comprehensive insights into *Mycobacterium tuberculosis* DevR (DosR) regulon activation switch. *Nucleic Acids Res.* 39, 7400-7414.

Chen, J., and Strous, M. (2013). Denitrification and aerobic respiration, hybrid electron transport chains and co-evolution. *Biochim. Biophys. Acta.* *1827*, 136-144.

Clapham, D.E. (2007). Calcium signaling. *Cell* *131*, 1047-1058.

Daigle, F., Lerat, S., Bucca, G., Smith, C.P., Malouin, F., and Beaulieu, C. (submitted for publication). Identification of a DosR-like regulon in *Streptomyces coelicolor* via a comparative global genome transcriptomics in strains exhibiting differential expression of *tdd8*, a TerD domain-encoding gene

Daza, A., Martin, J.F., Dominguez, A., and Gil, J.A. (1989). Sporulation of several species of *Streptomyces* in submerged cultures after nutritional downshift. *J. Gen. Microbiol.* *135*, 2483-2491.

De Mot, R., Schoofs, G., and Nagy, I. (2007). Proteome analysis of *Streptomyces coelicolor* mutants affected in the proteasome system reveals changes in stress-responsive proteins. *Arch. Microbiol.* *188*, 257-271.

Del Sol, R., Mullins, J.G., Grantcharova, N., Flardh, K., and Dyson, P. (2006). Influence of CrgA on assembly of the cell division protein FtsZ during development of *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* *188*, 1540-1550.

Deves, R., and Brodie, A.F. (1981). Active transport of Ca²⁺ in bacteria: bioenergetics and function. *Mol. Cell. Biochem.* *36*, 65-84.

Dharmadi, Y., and Gonzalez, R. (2004). DNA microarrays: experimental issues, data analysis, and application to bacterial systems. *Biotechnol. Prog.* *20*, 1309-1324.

Dominguez, D.C. (2004). Calcium signalling in bacteria. *Mol. Microbiol.* *54*, 291-297.

Domínguez DC, L.R., Holland IB, Campbell AK (2011). Proteome Analysis of *B. subtilis* in Response to Calcium. *J. Anal. Bioanal. Techniques* *S6:001*.

Elliot, M.A., Buttner, M. J., Nodwell, J. R. (2008). Multicellular development in *Streptomyces*. In: *Myxobacteria: Multicellularity and Differentiation* (Whitworth, D. E., ed). American Society for Microbiology Press, pp 419-438.

Elliot, M.A., Karoonuthaisiri, N., Huang, J., Bibb, M.J., Cohen, S.N., Kao, C.M., and Buttner, M.J. (2003). The chaplins: a family of hydrophobic cell-surface proteins involved in aerial mycelium formation in *Streptomyces coelicolor*. *Genes Dev.* *17*, 1727-1740.

Eng, C., Asthana, C., Aigle, B., Hergalant, S., Mari, J.F., and Leblond, P. (2009). A new data mining approach for the detection of bacterial promoters combining stochastic and combinatorial methods. *J. Comput. Biol.* *16*, 1211-1225.

Eschbach, M., Schreiber, K., Trunk, K., Buer, J., Jahn, D., and Schobert, M. (2004). Long-term anaerobic survival of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* via pyruvate fermentation. *J. Bacteriol.* *186*, 4596-4604.

Fink, D., Weissschuh, N., Reuther, J., Wohlleben, W., and Engels, A. (2002). Two transcriptional regulators GlnR and GlnRII are involved in regulation of nitrogen metabolism in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.* *46*, 331-347.

Fischer, M., Alderson, J., van Keulen, G., White, J., and Sawers, R.G. (2010). The obligate aerobe *Streptomyces coelicolor* A3(2) synthesizes three active respiratory nitrate reductases. *Microbiology* *156*, 3166-3179.

Fischer, M., Schmidt, C., Falke, D., and Sawers, R.G. (2012). Terminal reduction reactions of nitrate and sulfate assimilation in *Streptomyces coelicolor* A3(2): identification of genes encoding nitrite and sulfite reductases. *Res. Microbiol.* *163*, 340-348.

Flårdh, K., and Buttner, M.J. (2009). *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nat. Rev. Microbiol.* *7*, 36-49.

Florczyk, M.A., McCue, L.A., Purkayastha, A., Currenti, E., Wolin, M.J., and McDonough, K.A. (2003). A family of *acr*-coregulated *Mycobacterium tuberculosis* genes shares a common DNA motif and requires Rv3133c (*dosR* or *devR*) for expression. *Infect. Immun.* *71*, 5332-5343.

Futsaether, C.M., and Johnsson, A. (1994). Using fura-2 to measure intracellular free calcium in *Propionibacterium acnes*. *Can. J. Microbiol.* *40*, 439-445.

Gangola, P., and Rosen, B.P. (1987). Maintenance of intracellular calcium in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* *262*, 12570-12574.

Gerasimova, A., Kazakov, A.E., Arkin, A.P., Dubchak, I., and Gelfand, M.S. (2011). Comparative genomics of the dormancy regulons in mycobacteria. *J. Bacteriol.* *193*, 3446-3452.

Gilberthorpe, N.J., and Poole, R.K. (2008). Nitric oxide homeostasis in *Salmonella typhimurium*: roles of respiratory nitrate reductase and flavohemoglobin. *J. Biol. Chem.* *283*, 11146-11154.

Gilliam, M.B., Sherman, M.P., Griscavage, J.M., and Ignarro, L.J. (1993). A spectrophotometric assay for nitrate using NADPH oxidation by *Aspergillus* nitrate reductase. *Anal. Biochem.* *212*, 359-365.

Gordon, N.D., Ottaviano, G.L., Connell, S.E., Tobkin, G.V., Son, C.H., Shterental, S., and Gehring, A.M. (2008). Secreted-protein response to σ^U activity in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* *190*, 894-904.

Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S., and Tannenbaum, S.R. (1982). Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N]nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* *126*, 131-138.

Gruber, T.M., and Gross, C.A. (2003). Multiple sigma subunits and the partitioning of bacterial transcription space. *Annu. Rev. Microbiol.* *57*, 441-466.

Gryniewicz, G., Poenie, M., and Tsien, R.Y. (1985). A new generation of Ca²⁺ indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.* *260*, 3440-3450.

Herbaud, M.L., Guiseppi, A., Denizot, F., Haiech, J., and Kilhoffer, M.C. (1998). Calcium signalling in *Bacillus subtilis*. *Biochim. Biophys. Acta.* *1448*, 212-226.

Hirvonen, J.J., Siitonen, A., and Kaukoranta, S.S. (2012). Usability and performance of CHROMagar STEC medium in detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *J. Clin. Microbiol.* *50*, 3586-3590.

Hodgson, D.A. (2000). Primary metabolism and its control in streptomycetes: a most unusual group of bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* *42*, 47-238.

Honaker, R.W., Dhiman, R.K., Narayanasamy, P., Crick, D.C., and Voskuil, M.I. (2010). DosS responds to a reduced electron transport system to induce the *Mycobacterium tuberculosis* DosR regulon. *J. Bacteriol.* *192*, 6447-6455.

Hopwood, D.A. (2007). *Streptomyces* in nature and medicine : the antibiotic makers (Oxford, Oxford University Press).

Hopwood, D.A., Wildermuth, H., and Palmer, H.M. (1970). Mutants of *Streptomyces coelicolor* defective in sporulation. *J. Gen. Microbiol.* *61*, 397-408.

Hu, Y., and Coates, A.R. (2011). *Mycobacterium tuberculosis acg* gene is required for growth and virulence in vivo. *PLoS One* *6*, e20958.

Huang, J., Lih, C.J., Pan, K.H., and Cohen, S.N. (2001). Global analysis of growth phase responsive gene expression and regulation of antibiotic biosynthetic pathways in *Streptomyces coelicolor* using DNA microarrays. *Genes Dev.* *15*, 3183-3192.

Hutchings, M.I., Hong, H.J., Leibovitz, E., Sutcliffe, I.C., and Buttner, M.J. (2006). The sigma(E) cell envelope stress response of *Streptomyces coelicolor* is influenced by a novel lipoprotein, CseA. *J. Bacteriol.* *188*, 7222-7229.

Hutchings, M.I., Hoskisson, P.A., Chandra, G., and Buttner, M.J. (2004). Sensing and responding to diverse extracellular signals? Analysis of the sensor kinases and response regulators of *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Microbiology* *150*, 2795-2806.

Im, H. (1995). The *sapA* promoter from *Streptomyces coelicolor* requires activation sites and initiator-like sequences but No -10 or -35 sequences. *J. Bacteriol.* *177*, 4601-4608.

Jayapal, K.P., Philp, R.J., Kok, Y.J., Yap, M.G., Sherman, D.H., Griffin, T.J., and Hu, W.S. (2008). Uncovering genes with divergent mRNA-protein dynamics in *Streptomyces coelicolor*. *PLoS One* *3*, e2097.

Kallifidas, D., Thomas, D., Doughty, P., and Paget, M.S. (2010). The sigmaR regulon of *Streptomyces coelicolor* A32 reveals a key role in protein quality control during disulphide stress. *Microbiology* *156*, 1661-1672.

Kang, J.G., Hahn, M.Y., Ishihama, A., and Roe, J.H. (1997). Identification of sigma factors for growth phase-related promoter selectivity of RNA polymerases from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nucleic Acids Res* *25*, 2566-2573.

Kieser, T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K.F., and Hopwood, D.A. (2000). *Practical streptomyces genetics* eds. (John Innes Foundation, Norwich).

Kommineni, S., Lama, A., Popescu, B., and Nakano, M.M. (2012). Global transcriptional control by NsrR in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* *194*, 1679-1688.

Kormutakova, R., Klucar, L., and Turna, J. (2000). DNA sequence analysis of the tellurite-resistance determinant from clinical strain of *Escherichia coli* and identification of essential genes. *Biometals* *13*, 135-139.

Korner, H., Sofia, H.J., and Zumft, W.G. (2003). Phylogeny of the bacterial superfamily of Crp-Fnr transcription regulators: exploiting the metabolic spectrum by controlling alternative gene programs. *FEMS Microbiol. Rev.* *27*, 559-592.

Kumar, A., Toledo, J.C., Patel, R.P., Lancaster, J.R., Jr., and Steyn, A.J. (2007). *Mycobacterium tuberculosis* DosS is a redox sensor and DosT is a hypoxia sensor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *104*, 11568-11573.

Kumon, Y., Sasaki, Y., Kato, I., Takaya, N., Shoun, H., and Beppu, T. (2002). Codenitrification and denitrification are dual metabolic pathways through which dinitrogen evolves from nitrate in *Streptomyces antibioticus*. *J. Bacteriol.* *184*, 2963-2968.

Laing, E., Bucca, G., Smith, C. P. (2008). University of Surrey Microarray Experiment Guidelines. <http://www2surrey.ac.uk/fhms/microarrays/Recommendations/Normalisation/>.

Laing, E., Mersinias, V., Smith, C.P., and Hubbard, S.J. (2006). Analysis of gene expression in operons of *Streptomyces coelicolor*. *Genome Biol.* *7*, R46.

Langlois, P., Bourassa, S., Poirier, G.G., and Beaulieu, C. (2003). Identification of *Streptomyces coelicolor* proteins that are differentially expressed in the presence of plant material. *Appl. Environ. Microbiol.* *69*, 1884-1889.

Leganés, F., Forchhammer, K., and Fernández-Pinas, F. (2009). Role of calcium in acclimation of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 to nitrogen starvation. *Microbiology* *155*, 25-34.

Lewinska, A., Macierzynska, E., Grzelak, A., and Bartosz, G. (2011). A genetic analysis of nitric oxide-mediated signaling during chronological aging in the yeast. *Biogerontology* *12*, 309-320.

Liang, L., Liu, R., Wang, G., Gou, D., Ma, J., Chen, K., Jiang, M., Wei, P., and Ouyang, P. (2012). Regulation of NAD(H) pool and NADH/NAD(+) ratio by overexpression of nicotinic acid

phosphoribosyltransferase for succinic acid production in *Escherichia coli* NZN111. *Enzyme Microb. Technol.* *51*, 286-293.

Lin, W. (2004). Les Puces à ADN sur lames de verre: principes et méthodes de confection, d'application expérimentale et d'analyse des données. Thèse de doctorat, CNRS-Institut Curie, Paris.

Manteca, A., Alvarez, R., Salazar, N., Yague, P., and Sanchez, J. (2008). Mycelium differentiation and antibiotic production in submerged cultures of *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Environ. Microbiol.* *74*, 3877-3886.

Manteca, A., Claessen, D., Lopez-Iglesias, C., and Sanchez, J. (2007). Aerial hyphae in surface cultures of *Streptomyces lividans* and *Streptomyces coelicolor* originate from viable segments surviving an early programmed cell death event. *FEMS Microbiol. Lett.* *274*, 118-125.

Manteca, A., Fernandez, M., and Sanchez, J. (2006a). Cytological and biochemical evidence for an early cell dismantling event in surface cultures of *Streptomyces antibioticus*. *Res. Microbiol.* *157*, 143-152.

Manteca, A., Jung, H.R., Schwammle, V., Jensen, O.N., and Sanchez, J. (2010). Quantitative proteome analysis of *Streptomyces coelicolor* Nonsporulating liquid cultures demonstrates a complex differentiation process comparable to that occurring in sporulating solid cultures. *J. Proteome Res.* *9*, 4801-4811.

Manteca, A., Mader, U., Connolly, B.A., and Sanchez, J. (2006b). A proteomic analysis of *Streptomyces coelicolor* programmed cell death. *Proteomics* *6*, 6008-6022.

Manteca, A., Ye, J., Sanchez, J., and Jensen, O.N. (2011). Phosphoproteome analysis of *Streptomyces* development reveals extensive protein phosphorylation accompanying bacterial differentiation. *J. Proteome Res.* *10*, 5481-5492.

McCormick, J.R., and Flärdh, K. (2012). Signals and regulators that govern *Streptomyces* development. *FEMS Microbiol. Rev.* *36*, 206-231.

Meiklejohn, C.D., and Townsend, J.P. (2005). A Bayesian method for analysing spotted microarray data. *Brief Bioinform.* *6*, 318-330.

Migueluez, E.M., Hardisson, C., and Manzanal, M.B. (1999). Hyphal death during colony development in *Streptomyces antibioticus*: morphological evidence for the existence of a process of cell deletion in a multicellular prokaryote. *J. Cell Biol.* *145*, 515-525.

Mistry, B.V., Del Sol, R., Wright, C., Findlay, K., and Dyson, P. (2008). FtsW is a dispensable cell division protein required for Z-ring stabilization during sporulation septation in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* *190*, 5555-5566.

Nakamura, I., Nakai, Y., and Izumi, H. (1996). Use of fura-2/AM to measure intracellular free calcium in *Selenomonas ruminantium*. *Tohoku J Exp Med* *179*, 291-294.

Nakano, M.M., Dailly, Y.P., Zuber, P., and Clark, D.P. (1997). Characterization of anaerobic fermentative growth of *Bacillus subtilis*: identification of fermentation end products and genes required for growth. *J. Bacteriol.* *179*, 6749-6755.

Nodwell, J.R., and Losick, R. (1998). Purification of an extracellular signaling molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* *180*, 1334-1337.

Noens, E.E., Mersinias, V., Traag, B.A., Smith, C.P., Koerten, H.K., and van Wezel, G.P. (2005). SsgA-like proteins determine the fate of peptidoglycan during sporulation of *Streptomyces coelicolor*. *Mol. Microbiol.* *58*, 929-944.

Novotna, J., Vohradsky, J., Berndt, P., Gramajo, H., Langen, H., Li, X.M., Minas, W., Orsaria, L., Roeder, D., and Thompson, C.J. (2003). Proteomic studies of diauxic lag in the differentiating prokaryote *Streptomyces coelicolor* reveal a regulatory network of stress-induced proteins and central metabolic enzymes. *Mol. Microbiol.* *48*, 1289-1303.

Paget, M.S., Bae, J.B., Hahn, M.Y., Li, W., Kleanthous, C., Roe, J.H., and Buttner, M.J. (2001). Mutational analysis of RsrA, a zinc-binding anti-sigma factor with a thiol-disulphide redox switch. *Mol. Microbiol.* *39*, 1036-1047.

Pan, Y.R., Lou, Y.C., Seven, A.B., Rizo, J., and Chen, C. (2011). NMR structure and calcium-binding properties of the tellurite resistance protein TerD from *Klebsiella pneumoniae*. *J Mol Biol* *405*, 1188-1201.

Park, T., Yi, S.G., Kang, S.H., Lee, S., Lee, Y.S., and Simon, R. (2003). Evaluation of normalization methods for microarray data. *BMC Bioinformatics* *4*, 33.

Perez-Redondo, R., Rodriguez-Garcia, A., Botas, A., Santamarta, I., Martin, J.F., and Liras, P. (2012). ArgR of *Streptomyces coelicolor* is a versatile regulator. PLoS One 7, e32697.

Pfaffl, M.W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Res. 29, e45.

Pfaffl, M.W., Horgan, G.W., and Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Res. 30, e36.

Prescott, L.M., Harley, J.P., and Klein, D.A. (2005). Microbiology, 6th edn (Boston ; London, McGraw-Hill Higher Education).

Prigent-Combaret, C., Sanguin, H., Champier, L., Bertrand, C., Monnez, C., Colinon, C., Blaha, D., Ghigo, J.M., and Cournoyer, B. (2012). The bacterial thiopurine methyltransferase tellurite resistance process is highly dependent upon aggregation properties and oxidative stress response. Environ Microbiol. 14, 2645-2660.

Pruss, B.M., Nelms, J.M., Park, C., and Wolfe, A.J. (1994). Mutations in NADH:ubiquinone oxidoreductase of *Escherichia coli* affect growth on mixed amino acids. J. Bacteriol. 176, 2143-2150.

Quackenbush, J. (2002). Microarray data normalization and transformation. Nat. Genet. 32 Suppl., 496-501.

Reuther, J., and Wohlleben, W. (2007). Nitrogen metabolism in *Streptomyces coelicolor*: transcriptional and post-translational regulation. J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 12, 139-146.

Saeed, A.I., Sharov, V., White, J., Li, J., Liang, W., Bhagabati, N., Braisted, J., Klapa, M., Currier, T., Thiagarajan, M., et al. (2003). TM4: a free, open-source system for microarray data management and analysis. Biotechniques 34, 374-378.

Saini, D.K., Malhotra, V., and Tyagi, J.S. (2004). Cross talk between DevS sensor kinase homologue, Rv2027c, and DevR response regulator of *Mycobacterium tuberculosis*. FEBS Lett. 565, 75-80.

Sanssouci, É. (2010). Rôle des gènes homologues à terD dans le cycle vital de *Streptomyces coelicolor*. Thèses de doctorat, Université de Sherbrooke, Sherbrooke.

Sanssouci, E., Lerat, S., Daigle, F., Grondin, G., Shareck, F., and Beaulieu, C. (2012). Deletion of TerD-domain-encoding genes: effect on *Streptomyces coelicolor* development. *Can. J. Microbiol.* *58*, 1221-1229.

Sanssouci, E., Lerat, S., Grondin, G., Shareck, F., and Beaulieu, C. (2011). *tdd8*: a TerD domain-encoding gene involved in *Streptomyces coelicolor* differentiation. *Antonie Van Leeuwenhoek* *100*, 385-398.

Sasaki, Y., Takaya, N., Nakamura, A., and Shoun, H. (2004). Isolation of flavohemoglobin from the actinomycete *Streptomyces antibioticus* grown without external nitric oxide stress. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* *68*, 1106-1112.

Sass, A.M., Schmerk, C., Agnoli, K., Norville, P.J., Eberl, L., Valvano, M.A., and Mahenthiralingam, E. (2013). The unexpected discovery of a novel low-oxygen-activated locus for the anoxic persistence of *Burkholderia cenocepacia*. *ISME J*, 1-14.

Smyth, G.K., and Speed, T. (2003). Normalization of cDNA microarray data. *Methods* *31*, 265-273.

Sohaskey, C.D. (2008). Nitrate enhances the survival of *Mycobacterium tuberculosis* during inhibition of respiration. *J. Bacteriol.* *190*, 2981-2986.

Sohaskey, C.D., and Wayne, L.G. (2003). Role of *narK2X* and *narGHJ1* in Hypoxic Upregulation of Nitrate Reduction by *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Bacteriology* *185*, 7247-7256.

Stackebrandt, E., Rainey, F.A., and Ward-Rainey, N.L. (1997). Proposal for a New Hierarchic Classification System, Actinobacteria classis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* *47*, 479-491.

Staron, A., Sofia, H.J., Dietrich, S., Ulrich, L.E., Liesegang, H., and Mascher, T. (2009). The third pillar of bacterial signal transduction: classification of the extracytoplasmic function (ECF) sigma factor protein family. *Mol. Microbiol.* *74*, 557-581.

Strap, J.L.C., D. L. (2006). Ecology of *Streptomyces* in soil and rhizosphere: In *Molecular Techniques for Soil and Rhizosphere Microorganisms*. JE Cooper, JR Rao eds. (Oxfordshire, UK: CABI Publishing Co), pp.166-182

Talaat, A.M., Howard, S.T., Hale, W.t., Lyons, R., Garner, H., and Johnston, S.A. (2002). Genomic DNA standards for gene expression profiling in *Mycobacterium tuberculosis*. *Nucleic Acids Res* *30*, e104.

Thomas, L., Hodgson, D.A., Wentzel, A., Nieselt, K., Ellingsen, T.E., Moore, J., Morrissey, E.R., Legaie, R., Wohlleben, W., Rodriguez-Garcia, A., *et al.* (2012). Metabolic switches and adaptations deduced from the proteomes of *Streptomyces coelicolor* wild type and *phoP* mutant grown in batch culture. *Mol Cell Proteomics* 11, M111 013797.

Tiffert, Y., Franz-Wachtel, M., Fladerer, C., Nordheim, A., Reuther, J., Wohlleben, W., and Mast, Y. (2011). Proteomic analysis of the GlnR-mediated response to nitrogen limitation in *Streptomyces coelicolor* M145. *Appl Microbiol Biotechnol* 89, 1149-1159.

Tiffert, Y., Supra, P., Wurm, R., Wohlleben, W., Wagner, R., and Reuther, J. (2008). The *Streptomyces coelicolor* GlnR regulon: identification of new GlnR targets and evidence for a central role of GlnR in nitrogen metabolism in actinomycetes. *Mol Microbiol* 67, 861-880.

Touzain, F., Schbath, S., Debled-Rennesson, I., Aigle, B., Kucherov, G., and Leblond, P. (2008). SIGffRid: a tool to search for sigma factor binding sites in bacterial genomes using comparative approach and biologically driven statistics. *BMC Bioinformatics* 9, 73.

Tucker, N.P., Hicks, M.G., Clarke, T.A., Crack, J.C., Chandra, G., Le Brun, N.E., Dixon, R., and Hutchings, M.I. (2008). The transcriptional repressor protein NsrR senses nitric oxide directly via a [2Fe-2S] cluster. *PLoS One* 3, e3623.

van Bakel, H., and Holstege, F.C. (2004). In control: systematic assessment of microarray performance. *EMBO Rep* 5, 964-969.

van Keulen, G., Alderson, J., White, J., and Sawers, R.G. (2005). Nitrate respiration in the actinomycete *Streptomyces coelicolor*. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 210-212.

van Keulen, G., Alderson, J., White, J., and Sawers, R.G. (2007). The obligate aerobic actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2) survives extended periods of anaerobic stress. *Environ. Microbiol.* 9, 3143-3149.

Wang, S.L., Fan, K.Q., Yang, X., Lin, Z.X., Xu, X.P., and Yang, K.Q. (2008). CabC, an EF-hand calcium-binding protein, is involved in Ca²⁺-mediated regulation of spore germination and aerial hypha formation in *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol* 190, 4061-4068.

Wayne, L.G., and Hayes, L.G. (1996). An in vitro model for sequential study of shutdown of *Mycobacterium tuberculosis* through two stages of nonreplicating persistence. *Infect. Immun.* 64, 2062-2069.

Willey, J.M., Willems, A., Kodani, S., and Nodwell, J.R. (2006). Morphogenetic surfactants and their role in the formation of aerial hyphae in *Streptomyces coelicolor*. *Mol. Microbiol.* *59*, 731-742.

Williams, B.A., Gwartz, R.M., and Wold, B.J. (2004). Genomic DNA as a cohybridization standard for mammalian microarray measurements. *Nucleic Acids Res.* *32*, e81.

Williams, B.A., Gwartz, R.M., and Wold, B.J. (2006). Genomic DNA as a general cohybridization standard for ratiometric microarrays. *Methods Enzymol.* *410*, 237-279.

Volkenhauer, O., Moller-Levet, C., and Sanchez-Cabo, F. (2002). The curse of normalization. *Comp. Funct. Genomics* *3*, 375-379.

Yan, D. (2007). Protection of the glutamate pool concentration in enteric bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* *104*, 9475-9480.

Yang, Y. (2009). Use of genomic DNA as reference in DNA microarrays. *Methods Mol. Biol.* *544*, 439-450.

Yang, Y.H., Kim, J.N., Song, E., Kim, E., Oh, M.K., and Kim, B.G. (2008). Finding new pathway-specific regulators by clustering method using threshold standard deviation based on DNA chip data of *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *80*, 709-717.

Yang, Y.H., Song, E., Kim, E.J., Lee, K., Kim, W.S., Park, S.S., Hahn, J.S., and Kim, B.G. (2009). NdgR, an lclR-like regulator involved in amino-acid-dependent growth, quorum sensing, and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *82*, 501-511.

Yu, X.C., and Margolin, W. (1997). Ca²⁺-mediated GTP-dependent dynamic assembly of bacterial cell division protein FtsZ into asters and polymer networks in vitro. *EMBO J* *16*, 5455-5463.

Zhang, H., Yin, Y., Olman, V., and Xu, Y. (2012). Genomic arrangement of regulons in bacterial genomes. *PLoS One* *7*, e29496.

Zimmermann, A., Reimmann, C., Galimand, M., and Haas, D. (1991). Anaerobic growth and cyanide synthesis of *Pseudomonas aeruginosa* depend on *anr*, a regulatory gene homologous with *fnr* of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* *5*, 1483-1490.