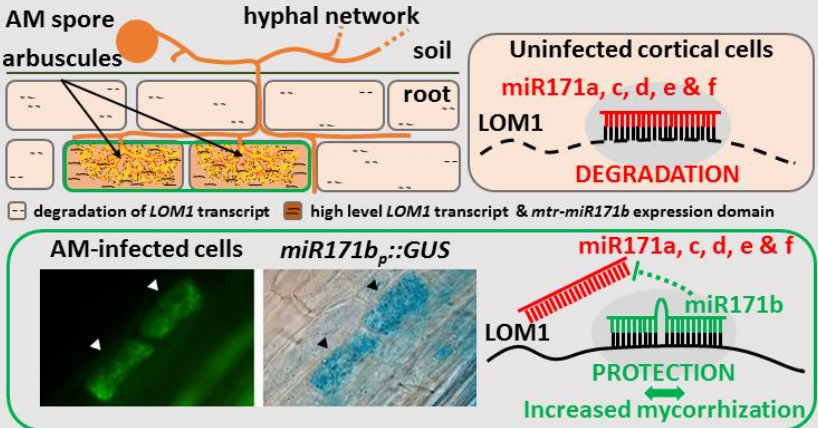


Titre	<b>Caractérisation du module de régulation <i>LOST MERSTEMS</i> – <i>microARN171</i> au cours de la symbiose fixatrice d'azote chez <i>Medicago truncatula</i></b>
Encadrant	<a href="#">Jean-Malo Couzigou</a> , chargé de recherche CNRS, 0534323860, <a href="mailto:jean-malo.couzigou@lrsv.ups-tlse.fr">jean-malo.couzigou@lrsv.ups-tlse.fr</a>
Equipe	<i>Symbiose mycorhizienne &amp; signalisation cellulaire</i>
Résumé	<p>Les légumineuses sont capables d'établir deux types d'<b>endosymbioses racinaires</b> avec les microorganismes du sol : la <b>symbiose mycorhizienne</b> avec les Gloméromycètes et la <b>symbiose fixatrice d'azote</b> avec les rhizobia (nodulation). Ces symbioses confèrent un avantage de croissance aux plantes lorsque les nutriments sont limitants dans le sol. Outre les aspects fondamentaux, identifier les réseaux de gènes impliqués dans ces symbioses peut ouvrir un champ applicatif considérable au niveau agronomique.</p> <p>Nous avons montré que la <b>régulation de <i>LOST MERSTEMS 1</i> (<i>LOM1</i>, Zhou et al. Nature 2015)</b> par la <b>famille de microARN 171</b> (<i>miR171</i>) est cruciale pour la symbiose mycorhizienne. Précisément, nous avons mis en évidence un mécanisme jusqu'à lors inédit chez les plantes, où <i>LOM1</i> est protégé par le <i>miR171b</i>, empêchant ainsi le clivage de <i>LOM1</i> par les autres <i>miR171</i> (a, c, d, e &amp; f, voir figure). Ce projet de M2 a pour but de déterminer si le <b>mode d'action original</b> du <i>miR171b</i> <b>(a) opère également lors de la symbiose fixatrice d'azote et (b) pourrait aussi protéger les autres gènes <i>LOMs</i> de <i>Medicago truncatula</i></b>. En effet, chez cette légumineuse modèle, il existe au total <b>8 <i>miR171</i></b> (+ <i>miR171h</i>, i &amp; j), <b>5 <i>LOMs</i></b> et le <i>miR171b</i> est exprimé pendant la symbiose fixatrice d'azote (voir figure). Par ailleurs, plusieurs longs transcrits non-codants de type « <b>endogenous Target Mimic</b> » (<i>eTM</i>, Franco-Zorilla et al. Nature Genet 2007) ont été prédits pour <b>séquestrer les <i>miR171</i></b> (<i>eTM171</i>) chez <i>M. truncatula</i>, <b>(c) prédiction qu'il conviendra de vérifier <i>in vivo</i> et qui nécessitera d'être intégrée au module <i>LOMs/miR171</i></b>.</p> <p><b>(i) Analyse du patron d'expression des <i>miR171</i>, <i>LOMs</i> et <i>eTM171</i> chez <i>M. truncatula</i></b>  <b>(a)</b> les <i>miR171</i>, <i>LOMs</i> et <i>eTM171</i> co-exprimés seront recherchés dans des banques de RNA-seq.  <b>(b)</b> Les <b>niveaux d'expression</b> des <i>miR171</i>, <i>LOMs</i> et <i>eTM171</i> seront analysés au cours de la nodulation.  <b>(c)</b> Les <b>fusions promoteur-GUS</b> (<i>miR171</i>, <i>LOMs</i> et <i>eTM171</i>) seront analysées au cours de la nodulation et des plantes transgéniques stables seront initiées chez <i>M. truncatula</i> (promoteur::GUS de <i>mir171a</i>, c, d, e, i, j, <i>LOM1</i>, <i>2a</i> et <i>2b</i>).</p> <p><b>(ii) Etude des régulations des transcrits <i>LOMs</i> par les <i>miR171</i> et <i>eTM171</i></b>  En se basant sur les hypothèses issues de (i), les différents ARN régulateurs (<i>miR</i> et <i>eTM</i>) seront <b>co-exprimés</b> avec chacune des cibles <i>LOMs</i> et leur <b>capacité à cliver les différents <i>LOMs</i></b> sera analysée quantitativement. Par ailleurs, cet axe constituera le point de départ à la mise au point d'un système senseur ratiométrique fluorescent des <i>miR171</i>.</p> <p><b>(iii) Caractérisation fonctionnelle de <i>LOM1</i>, <i>2a</i> et <i>2b</i> et <i>miR171b</i> au cours de la nodulation</b>  En utilisant les mutants nuls <i>lom1</i> et <i>lom2a</i>, les lignées transgéniques <i>LOM2a-b<sub>i</sub></i> (ARN interférence de <i>LOM2a</i> et <i>b</i>) et surexprimant le <i>miR171b</i>, l'<b>analyse fonctionnelle</b> des gènes <i>LOMs</i> et du <i>miR171b</i> au cours de la symbiose fixatrice d'azote sera entreprise chez <i>M. truncatula</i>.</p> <p><b>Un sujet dans la continuité sera proposé au concours de l'école doctorale SEVAB.</b>  <b>Formation aux techniques suivantes :</b> bio-informatique (RNA seq data-mining : expertise locale + service commun bioinfo, analyse de séquençage et construction génétique), <b>biologie moléculaire</b> (extraction ARN, ADN génomique et plasmidique, qRT-PCR, clonage golden-gate, génotypage par PCR), <b>microbiologie</b> (<i>Escherichia coli</i>, <i>Sinorhizobium meliloti</i>, <i>Agrobacterium rhizogenes</i> &amp; <i>tumefaciens</i>), <b>culture végétale et transgénèse</b> (transformation génétique racinaire, transitoire et stable par embryogénèse somatique, <i>M. truncatula</i> et tabac) &amp; <b>microscopie/biologie cellulaire</b> (colorations GUS et LacZ, imagerie en fluorescence et fond clair, inclusion Technovit, microtomie).</p> <p><b>Publications de l'encadrant relatives au projet:</b>  <b>(1) The Plant Cell 2012</b> IF=8.228, <b>(2) Nature 2015</b> IF=41.577, <b>(3) New Phytol 2016</b> IF=7.433, <b>(4) Cell Host Microbe 2017</b> IF=17.872</p>
Photo	 <p><b>Master 2 project</b>  <i>miR171b<sub>p</sub>::GUS</i></p> <p><i>miR171b</i> is also expressed in:  - <i>Medicago</i> nodule (picture)  - root hairs infected by rhizobia</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• similar mechanisms for <i>LOST MERSTEMS</i> regulation ?</li> <li>• Functional relevance ?</li> <li>• Roles of <i>eTM171</i> lncRNAs ?</li> </ul> <p>Adapted from Couzigou et al. Cell Host Microbe (2017)</p>