



## Proposition d'un sujet de stage au M2 ADAM (2018-2019)

Acceptez-vous que ce sujet soit proposé aux étudiants de l'itinéraire « Pro » ? OUI

Titre	<b>Régulation redox de l'acétylation des histones chez <i>Arabidopsis thaliana</i></b>
Encadrant 1 (tel + mail)	Jean-Philippe Reichheld (DR2, CNRS) Tel : 0468662225 e-mail : jpr@univ-perp.fr
Encadrant 2 (tel + mail)	
Equipe(s)	Fonctions des Rédoxines dans le Développement des Plantes et la Réponse au Stress (responsable : JPh Reichheld)
Résumé	<p>L'acétylation des histones joue un rôle prépondérant dans la régulation de l'activité transcriptionnelle en modifiant la structure chromatinienne. De manière générale, l'acétylation des histones correspond à un état chromatinien actif pour la transcription des gènes alors que la déacétylation réprime l'expression des gènes. L'état d'acétylation des histones est maintenu par des enzymes à activités antagonistes, les histones acétyltransférases (HATs) et les histones déacétylases (HDACs). Ces enzymes sont codées par des familles multigéniques chez les plantes et certains de ces membres ont été décrits comme ayant des fonctions de régulateur épigénétique, dans des processus développementaux ainsi que de réponse au stress. Des données établies dans le domaine animal montrent que l'activité de certains de ces membres (HDAC2, Sir1) sont sous contrôle de régulation post-traductionnelle par oxydoréduction (nitrosylation ou glutathionylation) de deux résidus cystéine particuliers (1,2). De manière intéressante, ces deux cystéines sont conservées dans tous les membres d'une petite sous-famille de HDAC de plantes comprenant 4 membres (HDAC6, 7, 9 et 19) dont certaines des fonctions ont été déjà caractérisées (régulation chromatinienne, réponse au stress biotique, développement racinaire). Notre équipe étudie les voies de signalisation induites par le stress oxydant et en particulier les modifications post-traductionnelles des cystéines dans cette signalisation (3,4). Dans ce cadre, notre équipe a récemment mis en évidence une interaction entre HDAC19 et GRXS17, une oxydoreductase nucléaire impliquée dans les mécanismes de glutathionylation (5). Cette interaction constitue une indication forte que HDAC19 est sous contrôle redox (schéma ci-dessous).</p> <p>L'équipe a récemment mis au point un test d'activité HDAC dans des extraits nucléaires d'<i>Arabidopsis</i>. Les résultats obtenus jusqu'à présent valide une régulation redox de ces activités. Dans le but d'identifier quelles isoformes de HDACs sont régulées par l'oxydoréduction, une approche d'expression des protéines recombinantes HDAC6 et 19 a également été initiée (6).</p> <p>Le stage de M2 aura pour but de caractériser plus avant la régulation redox des HDACs en utilisant des approches biochimiques et génétiques. Dans un premier temps, les 4 gènes HDAC6, 7, 9 et 19 seront sous forme de protéines recombinantes dans <i>E. coli</i>. L'activité histone déacétylase de ces enzymes sera mesurée grâce à un kit commercial. La régulation redox de leurs activités sera ensuite étudiée <i>in vitro</i> en utilisant des agents inducteurs de stress oxydant (ROS) et des molécules modifiant l'état d'oxydation des cystéines. De tels tests seront également effectués après mutagenèse dirigées des 2 cystéines présumées impliquées dans la régulation redox.</p> <p>En parallèle de cette approche <i>in vitro</i>, des mutants nuls <i>hdac 6, 7, 9 et 19</i> seront caractérisés (mutants déjà disponibles au laboratoire) et leur phénotype physiologique et moléculaire (dérégulation d'expression de gènes marqueurs déjà caractérisés par qPCR) seront précisés. En fonction des résultats de phénotypage et d'activités <i>in vitro</i>, ces mutants seront complétés avec des constructions exprimant des formes mutées des cystéines d'intérêt.</p>

Ainsi, ce projet vise à comprendre comment la signalisation oxydative influence l'expression des gènes par une modulation fine de l'activité de régulateurs chromatinien, les HDACs.

**Références :** (1) Nott et al, Nature 2008 ; (2) Di Shao et al, JBC 2014 ; (3) Meyer et al, Annu Rev Genet 2009 ; (4) Kneeshaw et al, PNAS 2017 ; (5) Knesting et al, Plant Physiol 2015 ; (6) A. Dard (rapport M1, ADAM, Université Toulouse III).

Photo

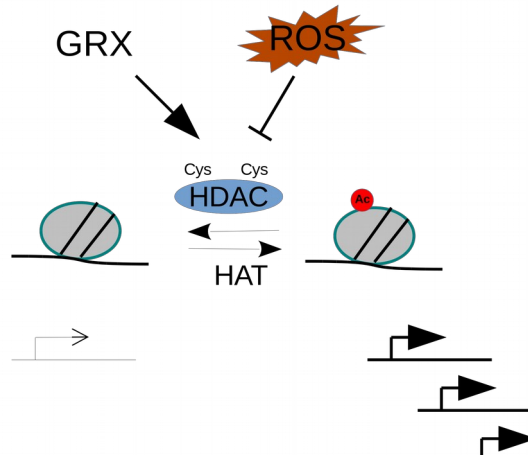


Schéma hypothétique de la régulation redox des HDAC par l'état d'oxydation des cystéines conservées des HDAC. Les formes d'oxygène active (ROS) et les réducteurs de thiols (GRX) seraient des acteurs de cette régulation et influenceraient l'état d'acétylation des histones et sur l'activité transcriptionnelle.