



Proposition d'un sujet de stage au M2 ADAM (2017-2018)

Titre	Caractérisation fonctionnelle des ARNr non-codant impliqués dans rétention nucléolaire de protéines en réponse aux stress chez <i>Arabidopsis thaliana</i>
Encadrant 1 (tel + mail)	Julio Sáez-Vásquez Tél: 04 30 19 81 18; mail: saez@univ-perp.fr
Encadrant 2 (tel + mail)	
Equipe(s)	Nucléole et ARN ribosomiques (http://lgdp.univ-perp.fr)
Résumé	<p>Le nucléole et les gènes d'ARNr 45S (ADNr 45S), identifiés depuis de nombreuses années, sont essentiellement connus pour leur rôle dans la biogenèse des ribosomes et par conséquent, dans la croissance et le développement des plantes¹⁻³. Cependant, au cours de ces dernières années, divers travaux ont mis en évidence l'importance du nucléole et des ADNr 45S dans l'expression du génome et la dynamique moléculaire de ces composants. D'une part, le nucléole et l'organisation chromatinienne des ADNr 45S peuvent avoir un impact majeur sur l'expression globale des gènes nucléaires et d'autre part, des protéines se retrouvent séquestrées au sein du nucléole en réponse au stress ce qui pourrait affecter certaines activités cellulaires.</p> <p>Les gènes d'ADNr sont séparés par des séquences appelées « Spaceurs Intergeniques » ou « IGS » (Figure). De manière intéressante, il a été montré que des longs ARNr non-codants (<i>lncRNA</i>), dérivés des IGS (<i>IGS-lncRNA</i>), sont produits en réponse à des conditions de chaleur ou d'acidose dans les cellules humaines. Ces <i>IGS-lncRNA</i> servent de base dans la rétention de protéines nucléaires et nucléolaires en réponse à des conditions stressantes^{4,5}. D'une manière similaire, nous prédisons que des <i>IGS-lncRNA</i> sont produits également chez les plantes et ainsi peuvent avoir un impact majeur dans l'adaptation et/ou la tolérance des plantes aux stress environnementaux.</p> <p>Dans ce contexte, au cours de ce stage, nous proposons d'étudier dans la plante modèle <i>Arabidopsis thaliana</i> 1- l'expression et la localisation des <i>IGS-lncRNA</i> en réponse aux températures (23-40°C) et à différentes intensités lumineuses (25-1000 $\mu\text{mol}^{-1} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-2}$) et 2- d'identifier des protéines interagissant directement avec <i>IGS-lncRNA</i>. La localisation subcellulaire des <i>IGS-lncRNA</i> sera déterminé par DNA FISH et les protéines interagissant avec les <i>IGS-lncRNA</i> seront récupérées en utilisant des techniques d'affinité MS2-TRAP⁶ et identifiées par MS/MS. Pour cela nous allons produire des plantes d'<i>Arabidopsis</i> qui expriment les <i>IGS-lncRNA</i> taguées avec la séquence MS2. La séquence d'ARN MS2 est reconnue par la protéine CP-MS2 permettant la précipitation des complexes « <i>IGS-lncRNA</i> –protéin ». L'obtention de ces plantes est actuellement en cours au laboratoire.</p> <p>L'équipe « Nucléole et ARN ribosomiques » à Perpignan a, d'ores et déjà, identifié et caractérisé plusieurs facteurs et mécanismes impliqués dans la dynamique des ADNr chez <i>A. thaliana</i>⁷⁻¹¹ Plus récemment l'équipe a également réalisé la protéomique du nucléole (Montacié et al., en révision <i>Frontiers in Plant Science</i>) et démontré que la structure du nucléole est fortement affectée en réponse à un stress thermique (résultats non publiés). Ainsi, ce travail de master s'intègre parfaitement dans la thématique de l'équipe. Une suite de ce travail est envisagée dans le cadre d'une thèse de doctorat à l'UPVD soutenue par un financement de l'école doctorale. Il est à noter que ces analyses s'intègrent dans le cadre du projet ANR RiboStress (2018-2021).</p> <p>References</p> <ol style="list-style-type: none"> Layat, E. et al. <i>Plant Cell Physiol</i> 53, 267-76 (2012). Saez-Vasquez, J. et al. <i>Mol Plant</i> 3, 678-90 (2010). Saez-Vasquez, J. et al. <i>Incorporating Advances in Plant Pathology</i>, Vol. 47, Vol. 47 1-46 (2008). Audas, T.E. et al. <i>Mol Cell</i> 45, 147-57 (2012). Audas, T.E. et al. <i>Cell Cycle</i> 11, 2059-62 (2012). Li, Z. et al. <i>PLoS Genet</i> 12, e1006422 (2016). Pontvianne, F. et al. <i>Cell Rep</i> 16, 1574-87 (2016). Durut, N. et al. <i>Gene</i> 556, 7-12 (2015). Durut, N. et al. <i>Plant Cell</i> 26, 1330-44 (2014). Samaha, H. et al. <i>Plant J</i> 61, 383-98 (2010). Pontvianne, F. et al. <i>PLoS Genet</i> 6, e1001225 (2010).
Photo	<p>The diagram illustrates the structure of the ADNr 45S gene, which consists of multiple tandem repeats of the 45S unit. Each unit contains the 18S, 5.8S, and 25S rRNA genes. The intergenic region (IGS) is located between the units. Transcription of the IGS region is shown to produce IGS-lncRNA, which is hypothesized to be involved in protein retention. Transcription of the 45S unit is shown to produce the 18S, 5.8S, and 25S rRNAs, which are used for ribosome synthesis.</p>