



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

Titre	Etude des protéines DEP d'Arabidopsis : un lien moléculaire entre les hormones brassinostéroïdes et les microtubules ?
Encadrant 1	Grégory Vert - DR2 CNRS (0534323810, Gregory.Vert@lrsv.ups-tlse.fr)
Encadrant 2	Alvaro Montiel-Jorda
Equipe(s)	Signalisation Cellulaire et Ubiquitination- https://sites.google.com/yahoo.fr/vertlab/home Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, LRSV – Campus INRA Castanet-Tolosan Acceptez-vous que ce sujet soit également proposé à l'itinéraire PRO ? OUI <input type="checkbox"/> NON <input checked="" type="checkbox"/>
Résumé	<p>L'équipe d'accueil s'intéresse aux mécanismes contrôlant le devenir des protéines membranaires. Pour cela, nous utilisons le récepteur LRR-RLK BRI1 aux hormones stéroïdes végétales (appelées brassinostéroïdes, BRs) comme modèle pour comprendre les événements moléculaires mis en jeu lors de l'endocytose et la dégradation des protéines de la surface cellulaire. Les BRs jouent un rôle fondamental dans la croissance et le développement des plantes, et toute altération dans l'activité ou la localisation subcellulaire de BRI1 se traduit par des phénotypes très marqués. Par des approches de double hybride, nous avons identifié une famille de protéines appelées DEP qui sont spécifiques aux plantes et dépourvues de domaine particulier. Des études préliminaires ont permis de confirmer l'interaction entre BRI1 et les DEP par co-immunoprécipitation et BiFC. Par ailleurs, les protéines DEP ont été localisées à la membrane plasmique et au niveau de microtubules corticaux présents sous la membrane. Des approches de génétique inverse sont en cours pour évaluer l'importance fonctionnelle des protéines DEP dans les réponses aux BRs.</p> <p>L'objectif du stage M2R sera de comprendre les bases de la régulation impliquant le couple BRI1-DEP. Deux scénarios seront considérés : i) BRI1 régule les protéines DEP, vraisemblablement par phosphorylation afin de contrôler l'architecture du réseau de microtubules, 2) DEP régule la dynamique intracellulaire de BRI1 et donc l'activation de la voie de signalisation des BRs.</p> <p>Le premier objectif sera donc de tester la capacité de BRI1 à phosphoryler les protéines DEP par des approches de phosphorylation <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i>. Ceci sera couplé à la recherche de site de phosphorylation par des approches de spectrométrie de masse. Des variants de BRI1 possédant des mutations phospho-dead ou phospho-mimic seront créés mais ne pourront être étudiés dans le cadre du stage M2 pour des raisons de temps.</p> <p>Le second objectif sera d'étudier le rôle potentiel des protéines DEP dans l'endocytose de BRI1. Pour cela, une lignée rapportrice exprimant BRI1-mCitrine a été croisée aux mutants <i>dep</i>. L'impact des mutations <i>dep</i> sur la localisation subcellulaire, la vitesse d'internalisation depuis la membrane plasmique, le recyclage et la dégradation de BRI1 sera évalué par des approches de microscopie confocale.</p> <p>Le projet permettra d'acquérir des bases solides en biologie cellulaire, en biochimie et en biologie/génétique moléculaire. L'ensemble du matériel est déjà disponible et les compétences à mettre en œuvre lors du stage maîtrisées dans l'équipe. Le sujet de stage proposé sera suivi par un sujet de thèse.</p>
Photo	