



## 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>Mécanismes moléculaires des régulations croisées entre une protéine kinase calcium-dépendante (CPK3) et les protéines 14-3-3 chez Arabidopsis</b>
Encadrant 1 (tel + mail)	Valérie COTELLE Tél : 05 34 32 38 17      Mail : <a href="mailto:cotelle@lrsv.ups-tlse.fr">cotelle@lrsv.ups-tlse.fr</a>
Equipe(s)	Signalisation calcique cytosolique et nucléaire chez les végétaux – LRSV <a href="https://www.lrsv.ups-tlse.fr/equipes-de-recherche/signalisation-calcique-cytosolique-et-nucleaire-chez-les-vegetaux/">https://www.lrsv.ups-tlse.fr/equipes-de-recherche/signalisation-calcique-cytosolique-et-nucleaire-chez-les-vegetaux/</a>
Résumé	<p>Les protéines kinases calcium-dépendantes (CDPKs ou CPKs) sont des protéines senseurs de calcium (<math>\text{Ca}^{2+}</math>) qui jouent un rôle essentiel dans le développement et les réponses aux stress chez les plantes. Elles ont la capacité de traduire des signaux <math>\text{Ca}^{2+}</math> en des événements de phosphorylation de différents substrats. Des études récentes ont mis en lumière les rôles d'actions coordonnées entre des CDPKs et les protéines 14-3-3 dans la régulation de divers aspects de la physiologie végétale (Ormancey et al., 2017). En particulier, nous avons montré que CPK3, une CDPK d'Arabidopsis, est un régulateur positif de la mort cellulaire programmée (PCD) et qu'elle est associée <i>in vivo</i> aux 14-3-3s, qui sont des protéines de signalisation régulant leurs protéines cibles phosphorylées par interaction protéine-protéine (Lachaud et al., 2013).</p> <p><b>Dans ce contexte, l'objectif de ce stage est de mieux comprendre les mécanismes intervenant dans l'association de CPK3 avec les 14-3-3s et les événements de signalisation régulant cette interaction.</b></p> <p>Dans un premier temps, la spécificité de l'interaction entre CPK3 et les différentes 14-3-3s d'Arabidopsis (13 isoformes) sera étudiée ainsi que la dépendance de ces interactions vis-à-vis du <math>\text{Ca}^{2+}</math>. De plus, le rôle de l'autophosphorylation de CPK3 dans sa capacité à lier les 14-3-3s sera évalué. Le(s) site(s) de CPK3 permettant l'interaction avec les 14-3-3s seront recherché(s) en réalisant une analyse de phosphoprotéomique et en utilisant des formes tronquées de la protéine kinase. L'étude de l'interaction CPK3/14-3-3s permettra de sélectionner les isoformes de 14-3-3s potentiellement impliquées dans la régulation de la mort cellulaire induite par la mycotoxine fumonisine B1 (FB1) chez Arabidopsis. Leur implication dans ce processus pourra être étudiée au cours du M2R puis de la thèse en analysant, en réponse à la FB1, le phénotype de mutants d'Arabidopsis affectés au niveau de l'expression de différentes isoformes de 14-3-3s.</p> <p>Les techniques et approches qui seront mises en oeuvre sont : la biologie moléculaire (clonage), la production de protéines recombinantes, des expériences d'interaction <i>in vitro</i> de protéines par overlay et thermophorèse à micro-échelle, des études <i>in vivo</i> d'interaction protéine-protéine par microscopie confocale couplée à une analyse FRET-FLIM, ainsi que des analyses en protéomique.</p> <p>Lachaud, C., Prigent, E., Thuleau, P., Grat, S., Da Silva, D., Brière, C., Mazars, C., and Cotelle, V. (2013). 14-3-3-Regulated <math>\text{Ca}^{2+}</math>-dependent protein kinase CPK3 is required for sphingolipid-induced cell death in <i>Arabidopsis</i>. <i>Cell Death Differ.</i> <b>20</b>: 209–217.</p> <p>Ormancey, M., Thuleau, P., Mazars, C., and Cotelle, V. (2017). CDPKs and 14-3-3 proteins: emerging duo in signaling. <i>Trends Plant Sci.</i> <b>22</b>: 263–272.</p>
Photo	