

Titre	Activités chromatinienne de l'effecteur PopP2 de <i>Ralstonia solanacearum</i> : vers l'élucidation d'un nouveau mécanisme de virulence
Encadrant 1	Laurent Deslandes (Laurent.Deslandes@inra.fr Tel : 0561285509)
Encadrant 2	Dominique Tremousaygue (Dominique.Tremousaygue@inra.fr Tel : 0561285509)
Equipe	Dynamique de la réponse immunitaire et adaptation au changement climatique
Résumé	<p><u>Contexte biologique et données préliminaires</u> <i>Ralstonia solanacearum</i> est l'agent du flétrissement bactérien qui affecte de nombreuses plantes d'intérêt agronomique (Tomate, pomme de terre, banane, arachide...). Véritable fléau pour l'agriculture, cette bactérie a une incidence économique importante à travers le monde. <i>R. solanacearum</i>, dispose d'un large répertoire d'effecteurs qui constituent les déterminants majeurs de sa virulence. Parmi eux figurent l'acétyltransférase PopP2. Adressé au sein du noyau, PopP2 inhibe la résistance basale en acétylant des facteurs de transcription (TFs) impliqués dans les réponses de défense. PopP2 constitue ainsi un déterminant important de la virulence de la bactérie¹. PopP2 est capable d'acétyler d'autres composantes végétales et notamment certains lecteurs épigénétiques reconnaissant spécifiquement des histones acétylées (Thèse A. Delga, 2015). Le ciblage des facteurs de transcription et de l'information épigénétique par un effecteur bactérien soulève des questions fascinantes sur la façon dont les agents pathogènes des plantes sont capables de moduler la structure de la chromatine et d'engendrer une reprogrammation du transcriptome de la plante hôte. Afin de comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents, une première étape consiste à identifier les sites chromatinien qui hébergent les protéines ciblées par PopP2 (TFs, lecteurs épigénétiques). Pour cela, une approche Dam-seq a été initiée. Celle-ci consiste à fusionner PopP2 à une méthylase (PopP2-Dam) permettant de « marquer » spécifiquement des adénines (dans un motif GATC) situées alentour du site d'action de PopP2 sur le génome de la plante². Les adénines méthylées peuvent alors être facilement identifiées et positionnées, révélant ainsi les sites chromatinien ayant été « visités » par PopP2. Ce projet ouvre la voie à l'élucidation de nouveaux mécanismes de virulence bactériens en lien avec l'épigénome de l'hôte.</p> <p><u>Objectifs du stage et approches expérimentales :</u></p> <ol style="list-style-type: none"> Déterminer la position des sites génomiques méthylés par PopP2 en utilisant différentes techniques qui sont bien maîtrisées dans l'équipe (induction de protéines, extraction/digestion d'ADN génomique, clonages, séquençage haut-débit, analyse bio-informatique des résultats). Etudier l'impact de PopP2 sur les lecteurs épigénétiques ciblés (approches de type FRET-FLIM, purification de protéines, étude du niveau d'acétylation...). <p>¹Le Roux, C., Huet, G., Jauneau, A., Camborde, L., Tremousaygue, D., Kraut, A., Zhou, B., Levallant, M., Adachi, H., Yoshioka, H., Raffaele, S., Berthome, R., Coute, Y., Parker, J.E., and Deslandes, L. (2015). A Receptor Pair with an Integrated Decoy Converts Pathogen Disabling of Transcription Factors to Immunity. <i>Cell</i> 161, 1074-1088.</p> <p>²Germann S, Gaudin V (2011). Mapping in vivo protein-DNA interactions in plants by DamID, a DNA adenine methylation-based method. <i>Methods Mol Biol.</i> 754:307-21.</p>
Photo	 