



Proposition d'un sujet de stage au M2 ADAM (2020) -

(1 page max photo comprise)

Titre	Identification de nouveaux régulateurs du transporteur de métaux IRT1 d'<i>Arabidopsis thaliana</i>
Encadrant 1 (tel + mail)	Grégory Vert (0534323810 ; Gregory.vert@lrsv.ups-tlse.fr)
Encadrant 2	Julie Neveu (Julie.Neveu@lrsv.ups-tlse.fr)
Equipe(s)	Signalisation Cellulaire et Ubiquitination – LRSV UMR5546 https://www.lrsv.ups-tlse.fr/home Acceptez-vous que ce sujet soit également proposé à l'itinéraire PRO ? OUI <input type="checkbox"/> NON <input checked="" type="checkbox"/>
Résumé	<p>L'ubiquitination des protéines est une modification post-traductionnelle jouant un rôle majeur dans le monde vivant. Alors que le rôle et les mécanismes de l'ubiquitination sont relativement bien décrits dans le cas des protéines solubles présentes dans le cytoplasme ou le noyau chez les végétaux, la situation est beaucoup moins claire en ce qui concerne les protéines membranaires comme les récepteurs et les transporteurs. Nous avons découvert récemment qu'un transporteur appelé IRT1, présent à la surface cellulaire des cellules de l'épiderme racinaire d'<i>Arabidopsis</i>, est ubiquitiné et dégradé par endocytose (Barberon et al, 2011 PNAS ; Barberon et al, 2014 PNAS ; Dubeaux et al, 2018 Mol Cell). Une telle régulation permet d'optimiser l'absorption de nutriments du sol en limitant le risque d'une suraccumulation au sein des tissus de la plante.</p> <p>L'objectif global de ce stage est de mieux comprendre les mécanismes conduisant à l'ubiquitination et à l'endocytose du transporteur IRT1.</p> <p>La recherche d'interactants d'IRT1 sera donc mise en place par proximity labelling afin d'identifier les interactions transitoires ou faibles. En particulier, la technique du Bio-ID basée le couplage entre IRT1 et un biotine ligase TurboID sera développée. Les plantes transgéniques exprimant une fusion entre IRT1 et la TurboID sont en cours de création. Au cours du stage, il conviendra de caractériser les plantes transgéniques ainsi générées et de mettre en place les étapes de validation de la méthodes par la recherche ciblée de protéines connues pour interagir avec IRT1. Une fois les conditions établies, des approches de spectrométrie de masse seront développées afin d'identifier les protéines capables d'interagir avec IRT1 dans des conditions de cultures entrainant son endocytose et sa dégradation. Selon l'avancée des travaux, la confirmation de l'interaction entre IRT1 et les candidats ainsi identifiés par d'autres méthodes biochimiques, biophysiques et d'imagerie sera également entreprise.</p> <p>Le projet permettra d'acquérir des bases solides en génétique moléculaire (transgénèse, sélection et analyse de mutants), biochimie (western blot, BioID, coimmunoprécipitation/pulldown) et imagerie (FRET-FLIM), et de se familiariser avec les approches protéomiques. L'ensemble du matériel et des compétences à mettre en œuvre lors du stage sont déjà disponibles et maîtrisées dans l'équipe.</p>
Photo	