



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

(1 page max photo comprise)

Titre	Identification des protéines d'<i>Arabidopsis thaliana</i> cibles de l'effecteur PopP2 de la bactérie phytopathogène <i>Ralstonia solanacearum</i>, par l'approche de marquage de proximité <i>in planta</i> BioID
Encadrant 1	Laurent Deslandes, DR2-HDR CNRS (05 61 28 53 21) / laurent.deslandes@inrae.fr
Encadrant 2	Valérie Pacquit, Maître de conférences-HDR / pacquit@lrsv.ups-tlse.fr
Equipe(s)	Plant <u>R</u> esistance Pathways Dynamics and Adaptation to Climate <u>C</u> hange (REACH), Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes (LIPM) Acceptez-vous que ce sujet soit également proposé à l'itinéraire PRO ? OUI X NON
Résumé	<p>L'équipe REACH développe des projets de recherche visant à identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans l'activation de l'immunité des plantes vis-à-vis d'agents pathogènes bactériens tels que la bactérie phytopathogène <i>Ralstonia solanacearum</i>. Cette bactérie délivre chez <i>Arabidopsis thaliana</i> plusieurs effecteurs dont PopP2 qui agit comme facteur de virulence chez l'écotype sensible <i>Col-0</i>, en acétylant des facteurs de transcription de type WRKY, ce qui perturbe la signalisation conduisant à la défense basale des plantes. Cependant, une résistance à large spectre vis-à-vis de <i>R. solanacearum</i> chez l'écotype <i>Ws-2</i> fait intervenir la paire d'immuno-récepteurs de type NLR (Nod-Like Receptor), RPS4/RRS1-R, qui participent à la reconnaissance de PopP2 qui agit alors comme facteur d'avirulence. Récemment, l'équipe a montré que le domaine WRKY intégré dans la partie C-terminale de RRS1-R, fait office de « leurre moléculaire » en mimant les véritables cibles de PopP2. Ainsi, lorsque le domaine WRKY de RRS1-R est acétylé par PopP2, sa liaison à l'ADN est inhibée, provoquant l'activation du complexe RPS4/RRS1-R et la mise en place de la défense de la plante. Au-delà du mécanisme d'activation du complexe, de nombreuses interrogations demeurent en ce qui concerne les étapes situées en aval et qui aboutissent à la mise en place d'une réponse immunitaire forte résultant d'une reprogrammation transcriptionnelle massive. L'identification et la caractérisation des différentes protéines constituant des cibles de virulence ou d'avirulence de cet effecteur s'avèrent indispensables pour décortiquer les mécanismes moléculaires impliqués dans ces voies de signalisation. Le but du stage est de générer les outils moléculaires et génétiques visant à investiguer le protéome proximal de PopP2 et/ou de la paire de NLRs RPS4/RRS1-R activée par PopP2 grâce à l'approche novatrice et originale BioID et sa variante split-BioID. Cette approche de marquage de proximité (proximity-based labeling, PL) permet de biotinyler des protéines se situant à proximité de la protéine d'intérêt PopP2 <i>in planta</i>, puis de les extraire, les purifier et les identifier par spectrométrie de masse. Durant le stage, il s'agira donc de générer/vérifier la fonctionnalité de variants de PopP2 fusionnés à des formes tronquées ou entières d'une biotine ligase optimisée (TurboID). Ces variants seront délivrés par <i>Pseudomonas fluorescens</i> (Pfo-1) dans différents fonds génétiques d'<i>Arabidopsis</i> (<i>Col-0</i> sensible et <i>Ws-2</i> résistant à <i>R. solanacearum</i>). De plus, l'étudiant(e) participera au génotypage et à la caractérisation fonctionnelle de lignées transgéniques d'<i>A. thaliana</i> exprimant l'immuno-récepteur RRS1-R fusionné à une extrémité de la biotine ligase. En cas d'interaction physique entre PopP2 et RRS1-R liés respectivement à une extrémité de la biotine ligase (C ou N-terminale), l'activité de la biotine ligase sera reconstituée et permettra la biotinylation des protéines situées à proximité du complexe. La caractérisation fonctionnelle des protéines ainsi identifiées sera mise en œuvre lors d'un projet de thèse proposé à la suite du stage de M2. Approches expérimentales : Biologie Moléculaire / Bioanalyses / Microbiologie / Transformation de bactéries et plantes / Biochimie des protéines.</p> <p>Le Roux, C. et al. (2015). A Receptor Pair with an Integrated Decoy Converts Pathogen Disabling of Transcription Factors to Immunity. <i>Cell</i> 161: 1074–1088.</p>
Photo	