



## Proposition d'un sujet de stage au M2 ADAM (2018-2019)

Acceptez-vous que ce sujet soit proposé aux étudiants de l'itinéraire « Pro » ? NON

Titre	<b>Etude des mécanismes permettant l'activation de la transcription par les miPEPs chez <i>Arabidopsis</i></b>
Encadrant 1 (tel + mail)	<b>Patrice Thuleau</b> (Tel : 05 34 32 38 44 ; Mail : thuleau@lrsv.ups-tlse.fr)
Equipe(s)	<b>Peptides et petits ARNs</b>
Résumé	<p>Les <b>microARNs</b> (miARNs) sont de petits ARNs régulateurs que l'on pensait initialement non codants et incapables de produire des polypeptides. L'équipe a récemment montré que chez les plantes les transcrits primaires des miARNs codent pour des petits peptides régulateurs, appelés <b>miPEPs</b> pour peptides codés par des miARNs (Lauressergues et al., Nature, 2015). Les miPEPs sont produits naturellement par les plantes où ils activent l'expression de leurs miRNAs correspondants. De plus, l'application de miPEPs synthétiques directement sur des plantes augmente l'expression de leurs transcrits primaires. Dans ce contexte, l'un des objectifs de l'équipe est d'<b>analyser et de décrypter les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les effets des miPEPs</b>. C'est dans ce cadre que s'inscrit le projet de recherche.</p> <p>Les résultats préliminaires de FRET/FLIM (collaboration avec Alain Jauneau de la plateforme d'imagerie cellulaire de la FR « Agrobiosciences, Interactions et Biodiversité », Toulouse) mettent en évidence que les miPEPs sont étroitement associés aux acides nucléiques. Deux hypothèses sont donc actuellement mises à l'épreuve. La première, la plus simple, serait que les miPEPs interagissent directement avec les acides nucléiques. Cette hypothèse est actuellement investiguée en collaboration avec Virginie Gervais (équipe d'Alain Milon IPBS, Toulouse). La deuxième, basée sur le postulat que <b>les peptides n'ont pas d'activité intrinsèque, ferait intervenir des partenaires protéiques avec lesquels ils interagiraient</b>. Dans ce cadre, un crible double-hybride d'une banque d'A. <i>thaliana</i> en utilisant comme appât le miPEP165a a déjà permis d'identifier 2 protéines interagissant spécifiquement avec ce miPeP.</p> <p>Il s'agira donc dans un premier temps de vérifier la réalité biologique de ces interactions. Pour cela nous étudierons le phénotype racinaire de plantes d'<i>Arabidopsis</i> mutées sur ces deux protéines en réponse à l'application externe de miPEP165a, qui conduit chez des plantes sauvages à une augmentation de la longueur de la racine primaire.</p> <p>En parallèle, étant donné que les différentes étapes de la synthèse des miRNAs et les protéines intervenant dans cette biosynthèse sont maintenant bien caractérisées (Rogers et Chen, Plant Cell, 2013), nous pouvons envisager des approches ciblées afin d'<b>identifier les partenaires potentiels des miPEPs</b>. Ainsi nous synthétiserons les constructions géniques correspondant aux différentes protéines impliquées dans la synthèse des miRNAs (DCL1, HYL1, CBP20, CBP80, DDL, NOT2a et NOT2b,...) et étiquetées avec différents tags. Ces protéines seront exprimées dans des feuilles de tabac <i>N. benthamiana</i> conjointement avec des miPEPs également étiquetés et des expériences de co-immuno-précipitations nous permettront de déterminer l'interaction éventuelle des miPEPs avec des protéines candidates.</p> <p>Enfin, une dernière approche, cette fois non ciblée, consistera à utiliser des anticorps disponibles au laboratoire spécifiquement dirigés contre le miPEP165a afin d'immuno-précipiter, à partir d'extraits de plantules d'<i>Arabidopsis</i>, les protéines partenaires. Ces protéines seront ensuite identifiées par spectrométrie de masse.</p> <p>A terme, ayant identifié des protéines interagissant avec les miPEPs, des analyses génétiques, moléculaires et biochimiques seront effectuées afin de caractériser plus en détail les mécanismes par lesquels ces protéines partenaires peuvent contribuer à l'activation de la transcription par les miPEPs.</p>

## Proposition d'un sujet de stage au M2 ADAM (2018-2019)

