

Proposition de stage de Master 2 EA2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales, Université François Rabelais de Tours.

Encadrante : Pr. Nathalie Guivarc'h

Co-encadrants : Eric Ducos (MCU), Christelle Dutilleul (MCU)

Intitulé : Détection *in planta* de protéines prénylées impliquées dans le développement des graines

Sujet: La prénylation est une étape clé dans la maturation des protéines eucaryotes équipées d'une séquence peptidique "CaaX". Chez la plante, la prénylation de protéine est connue pour son implication dans la résistance à la sécheresse, le développement et l'accumulation de réserves dans les graines. Ainsi, dans un contexte agronomique en plein remodelage, une meilleure connaissance des protéines-CaaX représente une voie originale vers l'amélioration des plantes et leur utilisation dans une nouvelle agriculture.

Le projet repose d'une part sur la caractérisation physiologique détaillée de mutants de la plante modèle *Arabidopsis* altérés dans des protéines-CaaX. Une sélection des candidats les plus prometteurs a été réalisée et, dans le cadre du stage, leurs mutants associés seront minutieusement phénotypés pour déterminer leur degré d'implication notamment sur la mise en place des réserves dans la graine.

D'autre part, en parallèle d'une procédure de détection *in vitro* des protéines-CaaX déjà utilisée au laboratoire, le projet vise à développer une nouvelle approche permettant la détection *in vivo* des protéines-CaaX prénylées. Cette méthode repose sur la visualisation d'interactions protéiques par BiFC (*Bimolecular Fluorescent Complementation*) entre les protéines-CaaX candidates et la protéine chaperonne AIPL1, une protéine de mammifère récemment identifiée en interaction spécifique avec le groupement prényl des protéines-CaaX. La réalisation de constructions moléculaires portant la séquence *aipl1* ou les gènes des protéines-CaaX couplés à des demi-YFP permettra la coproduction des protéines *in planta* par agroinfiltration. L'interaction d'AIPL1^{1/2YFP} avec les candidats-CaaX^{1/2YFP} sera détectée par fluorescence de la YFP reconstituée. Cette approche permettra de valider *in vivo* la prénylation des protéines-CaaX et, dans un même temps, de déterminer leur localisation subcellulaire.

Techniques: Pour ce projet de recherche, l'étudiant sera amené à utiliser des techniques très variées de biologie moléculaire (extraction d'ARN, RT-PCR, clonage...); biochimie (production de protéines recombinantes, marquage *in vitro* des protéines prénylées...); biotechnologies (cultures bactériennes, agroinfiltration de feuilles de tabac); microscopie (imagerie GFP/YFP, analyse d'image par ImageJ); cultures végétales en conditions contrôlées.

Coordonnées:

EA 2106 Biomolécules et Biotechnologies Végétales
UFR des Sciences Pharmaceutiques
31 avenue Monge
37200 TOURS

Contacts : eric.ducos@univ-tours.fr ; christelle.dutilleul@univ-tours.fr. tel : 02 47 36 72 76.