

Sujet de stage Semestre 4 - Master 2^{ème} année

IBMP | 2021-2022

Titre/Title

Français :

Etude de l'interaction fonctionnelle entre deux nucléases mitochondriales par la technologie prime editing.

English :

Study of the functional interaction between mitochondrial nucleases using prime editing technology.

Contacts

Responsable du projet :

NOM Prénom Gobert Anthony

Tél: 03 67 15 52 67

Courrier-E : anthony.gobert@ibmp-cnrs.unistra.fr

Responsable de l'équipe :

NOM Prénom Giegé Philippe

Tél : 03 67 15 53 63

Courrier-E : philippe.giege@unistra.fr

Lien page web de l'équipe

<http://www.ibmp-cnrs.fr/equipes/fonctions-des-proteines-ppr/>

Description du projet (20 lignes max) | **Project Description** (20 lines max.)

Français : Comme tout eucaryote, les plantes disposent d'usines énergétiques dans leurs cellules : les mitochondries. Ces organites contiennent un génome qui est transcrit de façon permissive et le transcriptome est donc mûri de façon extensive avant son utilisation par le mitoribosome. La maturation des ARNs est effectuée par différentes ribonucléases (RNases). Une partie de l'équipe travaille à comprendre comment s'organise cette maturation de l'ARN. L'équipe a déjà étudié la RNase P mitochondriale responsable de la maturation en 5' des ARNs et s'oriente maintenant vers l'étude d'un complexe de RNases qu'elle a mis en évidence. Deux doctorants sont impliqués dans l'étude structurale et fonctionnelle d'une des RNases du complexe (par génétique inverse en utilisant CRISPR/Cas, illumina NGS) ainsi qu'en analysant la structure du complexe (par CryoEM). La seconde RNase du complexe est essentielle à la vie de la plante. Des outils spécifiques à son étude sont à développer. L'objectif du stage est de produire des mutations précises directement sur le génome nucléaire d'*Arabidopsis* au niveau du gène codant pour cette RNase. Les mutations créées visent 1/ à réduire l'activité catalytique de l'enzyme sans en altérer l'expression, 2/ à abolir son interaction avec la protéine partenaire. Une technique variante de CRISPR/Cas appelée « Prime Editing » sera utilisée. Elle permet d'introduire les mutations voulues par l'expérimentateur contrairement à une sélection par mutation aléatoire qui a lieu avec CRISPR/Cas. Les plantes mutantes ainsi produites pourront servir à l'étude fonctionnelle du complexe de RNases.

English : Similar to all eukaryote, plants have energy factories in their cells: the mitochondria. These organelles contain a genome which is permissively transcribed and the transcriptome is therefore extensively processed prior to its use by the mitoribosome. The maturation of the RNAs is carried out by different ribonucleases (RNases). Part of the team is working to understand how this RNA maturation is organized. The team has already studied the mitochondrial RNase P responsible for the 5' maturation of tRNAs and is now moving towards the study of a complex of RNases that it has identified. Two doctoral students are



involved in the structural / functional aspects of one of the RNases of the complex (by reverse genetics using CRISPR / Cas, illumina NGS) as well as the structure of the complex itself (by CryoEM). The second RNase is essential for the life of the plant. Tools specific to its study need to be developed. The objective of the internship is to produce precise mutations directly on the nuclear genome of Arabidopsis at the level of the gene encoding the said RNase. The mutations created aim at 1 / reducing the catalytic activity of the enzyme without altering its expression, 2 / abolishing its interaction with the protein partner. A variant technique of CRISPR / Cas called "Prime Editing" will be used. It makes it possible to introduce the mutations desired by the experimenter, unlike a selection from the random mutations which takes place with CRISPR / Cas. The mutant plants produced can be used for the functional study of the RNase complex.

Méthodologies (mots clés) : édition du génome, prime editing, clonage, transformation bactérienne, transformation plante, HRM

Références (maximum 3) : Anzalone et al. 2019 Nature
Bouchoucha et al. 2019 Plant J
Waltz et al. 2020 Nature Plants

Illustration (1 photo ou 1 schéma, petit format)

Parcours de Master (cochez le ou les parcours souhaités) :

Master « Sciences du Vivant », Faculté des Sciences de la Vie, Université de Strasbourg

- 1- Biologie et génétique moléculaire : oui**
- 2- Microbiologie : non
- 3- Plantes, biologie moléculaire et biotechnologies : oui**
- 4- Plantes, environnement et génie écologique : non
- 5- Plantes, molécules bioactives et valorisation : non
- 6- Virologie : non
- 7- Autres masters équivalents en France ou à l'étranger : oui**