

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

IBMP | 2021-2022

Titre/Title

Français : Etude de l'export nucléaire de l'ARN 19S du *cauliflower mosaic virus* chez *A. thaliana*.

English : Nuclear export of the 19S mRNA of cauliflower mosaic virus in *A. thaliana*.

Contacts

Responsable du projet :

Maria DIMITROVA
03 67 15 53 72
m.dimitrova@unistra.fr

Responsable de l'équipe :

NOM Prénom : Ziegler/Gilmer



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

Français :

Les ARNm, généralement associés avec des protéines et formant des complexes ribonucléoprotéiques, sont trop grands pour diffuser passivement à travers les pores de l'enveloppe nucléaire et doivent être activement transportés par la machinerie d'export cellulaire. Chez les métazoaires et la levure, l'export des ARNm se fait principalement par l'hétérodimère d'exportines TAP et p15, et avec la participation du complexe TREX-1 (Gales *et al.*, 2020). L'export par cette voie requiert que les ARNm soient maturés (coiffés, épissés et polyadénylés). Nous avons récemment caractérisé pour la première fois l'export nucléaire d'un ARNm d'un phytovirus, le *cauliflower mosaic virus* (CaMV). Nous avons démontré que le long ARN 35S, polycistronique et alternativement épissé, est exporté grâce au complexe TREX-1, en association avec les protéines virales P4 et P5, et la région 5' non traduite (5' NTR) fortement structurée (Kubina *et al.*, 2021).

Le projet de stage de M2 que nous proposons consiste à étudier l'export du 2^e type d'ARNm du CaMV, l'ARN 19S qui est très différent car monocistronique, non épissé et dépourvu de structures secondaires dans la partie 5'NTR. Il est donc tout à fait probable que son export soit assuré par des facteurs cellulaires et viraux différents. L'ARN 19S sera exprimé en système de protoplastes sauvages ou mutants de différents facteurs d'export, sous le contrôle de son propre promoteur ou du promoteur 35S, et il sera quantifié dans les fractions nucléaires et cytoplasmiques par RT-qPCR ou ddPCR. Cette étude permettra de compléter la carte de l'export nucléaire des ARNm viraux chez les plantes et de la comparer à celles, déjà établies, de plusieurs rétrovirus et pararétrovirus humains.

English :

mRNAs, usually associated with proteins and forming ribonucleoprotein complexes, are too large to passively diffuse through the pores of the nuclear envelope and must be actively transported by the cellular export machinery. In metazoans and yeast, mRNA export occurs primarily through the exportin heterodimer TAP and p15, and with the participation of the TREX-1 complex (Gales *et al.*, 2020). Export through this pathway requires mRNAs to be matured (capped, spliced, and polyadenylated). We recently characterized for the first time the mRNAs nuclear export for a phytovirus, the cauliflower mosaic virus (CaMV). We demonstrated that the long, polycistronic and alternatively spliced 35S RNA is exported through the TREX-



1 complex, in association with the viral proteins P4 and P5, and the highly structured 5' untranslated region (5' NTR) (Kubina et al., 2021).

The M2 internship project we propose aims to study the export of the 2nd CaMV mRNA, the 19S RNA, which is very different as it is monocistronic, unspliced and lacks secondary structures in the 5'NTR part. It is therefore quite likely that its export is ensured by different cellular and viral factors. The 19S RNA will be expressed in wild-type or export factors mutant protoplasts, under the control of its own promoter or the 35S promoter, and will be quantified in nuclear and cytoplasmic fractions by RT-qPCR or ddPCR. This study will complete the nuclear export map of viral mRNAs in plants and will allow comparing it to those already established for several human retroviruses and pararetroviruses.

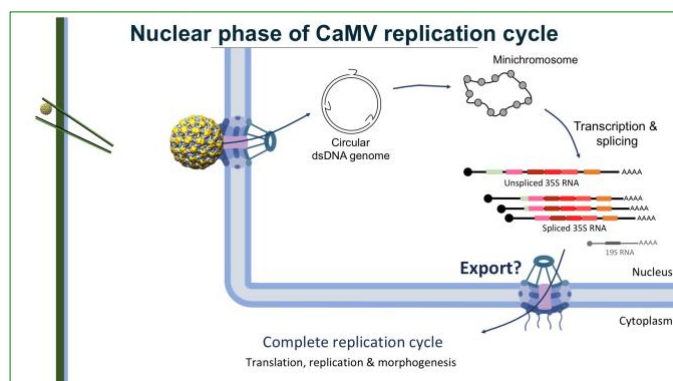
Méthodologies (mots clés) : culture de plantules sauvages et mutants d'Arabidopsis ; préparation et transfection de protoplastes ; fractionnement subcellulaire ; extraction des ARN ; quantification des ARN par RT-qPCR et ddPCR...

Références (maximum 3) :

Gales, J.P., Kubina, J., Geldreich, A., and Dimitrova M. (2020). Strength in diversity: nuclear export of viral RNAs. *Viruses* 12.

Kubina, J., Geldreich, A., Gales, J.P., Baumberger, N., Bouton, C., Ryabova, L., Grasser, K.D., Keller, M., and Dimitrova M. (2021) Nuclear export of plant pararetrovirus mRNAs involves the TREX complex, two viral proteins and the 5' highly structured leader region. *Nucleic Acids Research*.

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~~ :

2- ~~Microbiologie~~ :

3- ~~Plantes, biologie moléculaire et biotechnologies~~ :

4- ~~Plantes, environnement et génie écologique~~ :

5- ~~Plantes, molécules bioactives et valorisation~~ :

6- **Virologie : X**

7- ~~Autres masters équivalents en France ou à l'étranger~~ :