

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

IBMP | 2021-2022

Titre/Title

Français :

Étude fonctionnelle d'une exonucléase / FLAP-endonucléase chloroplastique

English :

Functional analysis of a chloroplastic exonuclease / FLAP-endonuclease

Contacts

Responsable du projet :

NOM Prénom : LOTFI, Frédérique

Tél: [03 67 15 53 45](tel:0367155345)

Courrier-E : frederique.lotfi@ibmp-cnrs.unistra.fr

Responsable de l'équipe :

NOM Prénom GUALBERTO, José

Tél : [03 67 15 53 61](tel:0367155361)

Courrier-E : jose.gualberto@ibmp-cnrs.unistra.fr

Lien page web de l'équipe

<http://www.ibmp.cnrs.fr/equipes/maintenance-et-segregation-du-genome-mitochondrial/>

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

Français :

Les mitochondries et les chloroplastes ont leurs propres génomes, le mtDNA et le cpDNA, qui codent pour un petit nombre de facteurs essentiels à l'assemblage des complexes respiratoires et photosynthétiques, respectivement. Chez les plantes, la réplication et la réparation des génomes des organelles impliquent des activités de recombinaison contrôlées par des facteurs codés par le noyau.

Nous avons identifié de nouveaux membres de cet ensemble de facteurs, OEX1 et OEX2. Notre caractérisation d'OEX1 a montré que la protéine est adressée vers la mitochondrie et qu'elle a des activités 5'-3' exonucléase et FLAP-endonucléase importantes pour la maturation des produits de réplication et de réparation du mtDNA. Les mutants *oex1* sont très affectés dans la stabilité du mtDNA et dans la croissance et fertilité de la plante. Concernant OEX2, nous avons montré qu'elle est adressée vers les chloroplastes, mais aucun mutant n'était disponible pour son étude fonctionnelle. Récemment nous avons obtenu des mutants *oex2* par CRISPR/Cas9. L'objectif du master est la caractérisation fonctionnelle d'OEX2 en utilisant les nouvelles lignées mutantes et l'analyse de ses activités utilisant des approches biochimiques et génétiques. L'effet de la perte des activités OEX dans le chloroplaste sera étudié par analyse Illumina du cpDNA, dans les mutants *oex2* et dans des doubles mutants de *oex2* et de la RNase H chloroplastique RNAH1C, qui est potentiellement redondante avec OEX2 dans la maintenance du cpDNA.

English :

Mitochondria and chloroplasts have their own genomes, the mtDNA and the cpDNA, that code for a small number of essential factors required for the assembly of the respiratory and photosynthetic complexes, respectively. In plants the replication and repair of the organellar genomes involve active recombination activities controlled by nuclear-encoded factors.



We identified new members of this set of factors, OEX1 and OEX2. Our characterization of OEX1 showed that it is targeted to mitochondria and that it has 5'-3' exonuclease and FLAP-endonuclease activities, important for the processing of mtDNA replication and repair products. Mutants of OEX1 are greatly affected in the stability of mtDNA and in the growth and fertility of the plant. Regarding OEX2, we have shown that it is addressed to chloroplasts, but no mutant was available for its functional study. Recently we have obtained *oex2* mutants by CRISPR / Cas9. The objective of the master is the functional characterization of OEX2 using the new mutant lines and the analysis of its activity using biochemical and genetic approaches. The effect of the loss of OEX2 activities on the cpDNA will be investigated by Illumina sequence, in *oex2* and in double mutants of *oex2* and of the chloroplastic RNase H RNAH1C, which is potentially redundant with OEX2 in the maintenance of cpDNA.

Méthodologies (mots clés) :

CRISPR/Cas9 mutants, Illumina MiSeq, plant growth and genotyping, qPCR, RT-qPCR, confocal microscopy, protein expression.

Références (maximum 3) :

Chevigny, N.; Nadiras, C.; Raynaud, C.; Le Ret, M.; Bichara, M.; Erhardt, M.; Dietrich, A.; Gualberto, J.M. (2020). RADA is the main branch migration factor in plant mitochondrial recombination and its defect leads to mtDNA instability and cell cycle arrest. *bioRxiv*, doi:10.1101/856716

Gualberto J.M. and Newton K.J. (2017). Plant mitochondrial genomes: dynamics and mechanisms of mutation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 68: 225-252

Wallet C., Le Ret M., Bergdoll M., Bichara M., Dietrich A. and Gualberto J.M. (2015) The RECG1 DNA translocase is a key factor in recombination surveillance, repair, and segregation of the mitochondrial DNA in Arabidopsis. *Plant Cell*, 27, 2907-2925

Illustration (1 photo ou 1 schéma, petit format)

Development phenotype of *oex1* mutants



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