

Sujet de stage Semestre 4 - Master 2^{ème} année IBMP | 2024-2025

Titre/Title

Français : **Etude des mécanismes de dégradation d'AGO1 médiée par FBW2**

English : **Study of AGO1 degradation mechanisms mediated by FBW2**

Contacts

Responsable du projet :

NOM Prénom Lechner Esther

Tél: 0367155348

Courrier-E : esther.lechner@ibmp-cnrs.unistra.fr

Responsable de l'équipe :

NOM Prénom Genschik Pascal

Tél : 0367155396

Courrier-E : pascal.genschik@ibmp-cnrs.unistra.fr

Lien page web de l'équipe

<http://www.ibmp.cnrs.fr/equipes/fonctions-cellulaires-de-la-proteolise-ubiquitine-dependante/>

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

Français :

Chez les eucaryotes, la voie du « RNA silencing » est cruciale pour le développement et joue un rôle majeur dans la réponse aux pathogènes. Elle assure la régulation de l'expression des gènes médiée par les microARN et les petits ARN interférents. Chez *Arabidopsis thaliana*, ARGONAUTE1 (AGO1) est l'effecteur principal du RNA silencing. A l'heure actuelle, on en sait très peu sur le contrôle post-traductionnel de cette protéine chez les plantes. Au laboratoire, nous avons identifié la protéine F-box d'*Arabidopsis* FBW2 appartenant à un complexe ubiquitine ligase E3 qui cible les formes non-chargées en petits ARN et aberrantes d'AGO1 pour la dégradation. Nous avons montré que la perte de fonction de FBW2 n'affecte pas le développement des plantes dans des conditions de croissance standard. Cependant, dans les plantes mutantes *fbw2*, où le niveau de la protéine AGO1 est légèrement augmenté, l'activité RNA-silencing est significativement augmenté alors que la surexpression de FBW2 abolit le RNA-silencing. Ainsi FBW2 joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie de la protéine AGO1.

L'objectif de ce projet de recherche est de décrypter le mécanisme moléculaire de la voie de dégradation d'AGO1 médiée par FBW2. Les résultats préliminaires de notre équipe suggèrent que AGO1 est transférée à la vacuole. D'autre part une approche protéomique pour révéler l'interactome de FBW2 en interaction avec AGO1 nous a permis d'identifier des protéines candidates intéressantes impliquées dans plusieurs processus de dégradation (autophagie et protéasome 26S). En utilisant à la fois des outils pharmacologiques et génétiques disponibles au laboratoire nous étudierons le rôle de ces protéines dans le mécanisme de protéolyse d'AGO1. Une protéine de fusion fonctionnelle GFP-AGO1, permettra également de visualiser la localisation subcellulaire de l'interaction de FBW2 avec AGO1 et de suivre la voie de sa dégradation au niveau cellulaire.

Globalement, ce projet propose une approche multidisciplinaire combinant des techniques de pointe dans le but d'identifier de nouvelles régulations post-traductionnelles d'un acteur clé du RNA silencing dans les plantes.



Anglais :

In higher eukaryotes, the RNA silencing pathway is crucial for development and plays a major role in the response to pathogens. It ensures the regulation of gene expression mediated by microRNAs and small interfering RNAs. In *Arabidopsis thaliana*, ARGONAUTE1 (AGO1) is the main effector of RNA silencing. At present, very little is known about the post-translational control of this protein in plants. In the laboratory, we have identified the Arabidopsis FBW2 F-box protein belonging to an E3 ubiquitin ligase complex that targets uncharged AGO1 and aberrant forms of AGO1 for degradation. We showed that loss of function of FBW2 does not affect plant development under standard growth conditions. However, in *fbw2* mutant plants, where the level of AGO1 protein is slightly increased, RNA-silencing activity is significantly higher while FBW2 overexpression abolishes RNA-silencing. Thus, FBW2 plays an important role in maintaining AGO1 protein homeostasis.

The objective of this research project is to decipher the molecular mechanism of AGO1 degradation pathway mediated by FBW2. Our team's preliminary results suggest that AGO1 is transferred to the vacuole. On the other hand, a proteomic approach to identify FBW2 interactome in regards to AGO1 interaction allowed us to identify interesting candidate proteins involved in several degradation processes (autophagy and 26S proteasome). Using both pharmacological and genetic tools available in the laboratory, we will study the role of these proteins in AGO1 degradation pathway. A functional GFP-AGO1 Arabidopsis expressing line will also be used in order to visualize the subcellular localization of the interaction between FBW2 and AGO1 and to follow AGO1 degradation at the cellular level. Overall, this project proposes a multidisciplinary approach with the aim of identifying new post-translational regulations of a key player in RNA silencing in plants.

Méthodologies (mots clés) : Protéomique, Western blot, Microscopie confocale, QPCR, Arabidopsis (transformation, croisement, sélection, génotypage)

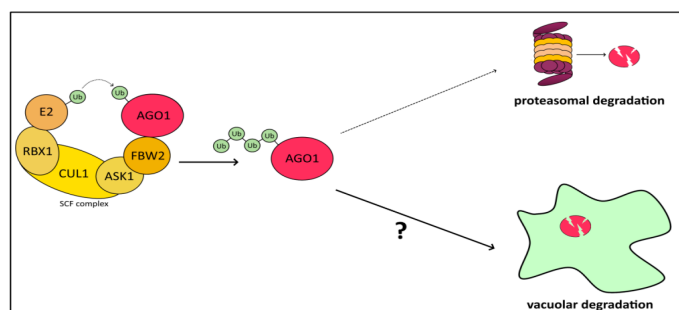
Références (maximum 3) :

Hacquard T. (Cell report, 2022) The Arabidopsis F-box protein FBW2 targets AGO1 for degradation to prevent spurious loading of illegitimate small RNA .

Michaeli S. (Proc Natl Acad Sci U S A, 2019) The viral F-box protein P0 induces an ER-derived autophagy degradation pathway for the clearance of membrane-bound AGO1

Meister, G. (2013). Argonaute proteins: functional insights and emerging roles. Nat. Rev. Genet. 14, 447–459.

Illustration (1 photo ou 1 schéma, petit format)



AGO1 est un acteur principal du silencing. Cette protéine est finement régulée notamment au niveau post traductionnel. AGO1 est reconnue par l'ubiquitine ligase SCF-FBW2, elle entraîne l'ubiquitination de AGO1 qui constitue le signal pour sa dégradation. Le mécanisme de dégradation n'a pas été élucidé. La voie de dégradation par l'autophagie ou celle du protéasome sont à l'étude.

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 :
- 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