

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

IBMP | 2024-2025

Titre/Title

Français : Identifier la dynamique de l'interactome protéique d'un facteur d'assemblage du ribosome chloroplastique chez la plante Arabidopsis

English : Identifying the dynamic composition of the *in vivo* protein interactome of a chloroplastic ribosomal assembly factor in Arabidopsis plants

Contacts

Responsable du projet :

NOM Prénom HAMMANI Kamel
Tél: 03 67 15 52 81
Courrier-E : khammani@unistra.fr

Responsable de l'équipe :

NOM Prénom HAMMANI Kamel
Tél :
Courrier-E : **khammani@unistra.fr**
Lien page web de l'équipe
<https://www.ibmp.cnrs.fr/equipes/adaptation-genetique-du-chloroplaste/>

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

Français : Le chloroplaste est l'organite hébergeant la photosynthèse et de nombreuses voies métaboliques essentielles à la productivité des plantes et leur adaptation aux stress biotiques ou abiotiques. Le chloroplaste a une origine endosymbiotique bactérienne et possède un génome d'environ 120 gènes. La traduction des gènes est une étape clé de la biogénèse du chloroplaste qui est réalisée par un ribosome chloroplastique de type 70S. Ce complexe ribonucléoprotéique est constitué de deux sous-unités multimériques dont l'assemblage se fait par étape grâce à des facteurs protéiques. Nous avons identifié au laboratoire un gène nucléaire chez Arabidopsis codant une protéine de liaison à l'ARN, mTERF9 qui est importée dans les chloroplastes et qui stimule l'assemblage du ribosome et la traduction chloroplastique (Métais et al, NAR 2021). Des expériences de co-immunoprécipitation couplées à la protéomique ont permis d'établir que la protéine se lie à l'ARN ribosomique 16S et interagit majoritairement avec des protéines de la petite sous-unité 30S du ribosome chloroplastique. Toutefois, comment mTERF9 orchestre précisément l'assemblage du ribosome mature 70S reste incompris et le but du projet de master sera d'identifier les étapes de l'assemblage ribosomal dans lesquelles la protéine est impliquée. Pour cela, une lignée d'Arabidopsis exprimant dans un fond mutant *mterf9* une version de la protéine étiquetée sera utilisée pour isoler les complexes protéiques associés à mTERF9 durant les différentes étapes de l'assemblage du ribosome chloroplastique par gradient de sucrose et immunoprécipitation. Les interactomes protéiques de mTERF9 pour chaque étape seront identifiés par protéomique. L'étudiant aura également la possibilité de générer une nouvelle lignée transgénique d'Arabidopsis exprimant mTERF9 fusionnée à la TurboID dans le but d'identifier le réseau d'interaction *in vivo* de la protéine par « proximity labelling ».

English : The chloroplast is the organelle that hosts photosynthesis and numerous essential metabolic pathways for plant productivity and adaptation to biotic or abiotic stresses. The chloroplast has a bacterial endosymbiotic origin and possesses a genome of around 120 genes. Gene translation is a key step in chloroplast biogenesis carried out by a 70S-type chloroplastic ribosome. This ribonucleoprotein complex is



composed of two multimeric subunits whose assembly occurs sequentially with the help of protein factors. In our laboratory, we identified a nuclear gene in *Arabidopsis* encoding an RNA-binding protein, mTERF9, which is imported into chloroplasts and promotes ribosome assembly and chloroplastic translation (Météignier et al, NAR 2021). Co-immunoprecipitation experiments coupled with proteomics have shown that mTERF9 binds to ribosomal RNA 16S and predominantly interacts with proteins from the small 30S subunit of the chloroplastic ribosome. However, how mTERF9 precisely orchestrates the assembly of the mature 70S ribosome remains unclear, and the goal of the master's project will be to identify the steps in ribosomal assembly in which the protein is involved. To achieve this, an *Arabidopsis* line expressing a tagged version of the protein in a *mterf9* mutant background will be used to isolate protein complexes associated with mTERF9 during the different steps of chloroplastic ribosome assembly using sucrose gradient and immunoprecipitation. The protein interactomes of mTERF9 for each step will be identified through proteomics. The student will also have the opportunity to generate a new transgenic *Arabidopsis* lineage expressing mTERF9 fused with TurboID to identify the *in vivo* protein interaction networks through proximity labeling.

Méthodologies (mots clés) : immunoprécipitation, protéomique, génétique

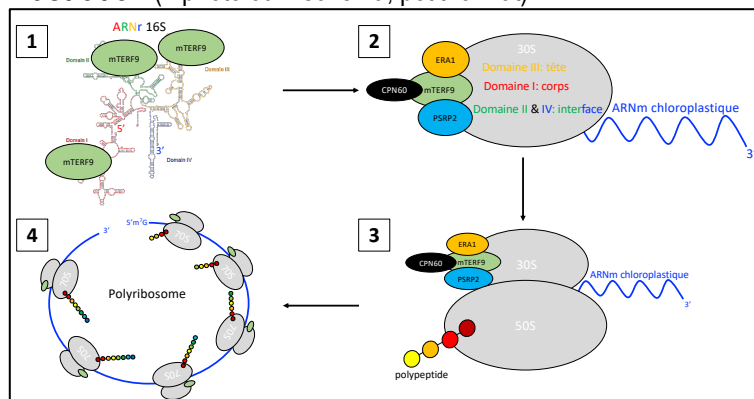
Références (maximum 3) :

Météignier LV, Ghandour R, Zimmerman A, Kuhn L, Meurer J, Zoschke R, Hammani K (2021) *Arabidopsis* mTERF9 protein promotes chloroplast ribosomal assembly and translation by establishing ribonucleoprotein interactions *in vivo*. ***Nucleic Acids Res*** 49(2): 1114-1132.

Météignier L-V, Ghandour R, Meierhoff K, Zimmerman A, Chicher J, Baumberger N, Alioua A, Meurer J, Zoschke R and Hammani K (2020) The *Arabidopsis* mTERF-repeat MDA1 protein plays a dual function in transcription and stabilization of specific chloroplast transcripts within the *psbE* and *ndhH* operons. ***New Phytol*** 227, 1376-13912

Manavski N, Mathieu S, Rojas M, Météignier L-V, Brachmann A, Barkan A and Hammani K (2021) *In vivo* stabilization of endogenous chloroplast RNAs by customized artificial pentatricopeptide repeat proteins. ***Nucleic Acid Res*** 49, 5985–5997.

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 : 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