

# Sujet de stage Semestre 4 - Master 2<sup>ème</sup> année

## IBMP | 2024-2025

### Titre/Title

**Français :** Analyse de l'importance des domaines de l'endoribonucléase DNE1 pour sa fonction, son réseau d'interaction et sa localisation subcellulaire.

**English :** Investigation of domains required for the function, protein interaction network and subcellular localization of the endoribonuclease DNE1

### Contacts

#### Responsable du projet :

Garcia Damien  
03 67 15 53 65  
damien.garcia@ibmp-cnrs.unistra.fr

#### Responsables de l'équipe :

Gagliardi Dominique  
dominique.gagliardi@ibmp-cnrs.unistra.fr  
Zuber Hélène  
helene.zuber@ibmp-cnrs.unistra.fr  
Lien page web de l'équipe :  
<https://www.ibmp-cnrs.fr/equipes/degradation-des-arn/>

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

Français :

Nous étudions l'importance de la dégradation des ARN messagers (ARNm) pour la régulation de l'expression des gènes, le développement et la réponse au stress chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*. DNE1 est une endoribonucléase récemment découverte au laboratoire qui cible les ARNm et participe à la régulation de l'expression génique et à la phyllotaxie, la régularité de l'émergence des organes (Schiaffini et al. 2021). Pour comprendre le rôle et le mode d'action de DNE1, nous avons utilisé plusieurs approches dont le séquençage à haut débit, la spectrométrie de masse et la génétique (Pouclet et al 2024). De plus, en combinant des prédictions d'interactions protéiques utilisant alphafold2 avec des validations en double hybride de levure, nous avons récemment identifié des domaines et des résidus spécifiques requis pour l'interaction de DNE1 avec son principal partenaire protéique, l'activateur du decapping DCP1.

Le projet de l'étudiant de M2 consistera à étudier l'importance de ces domaines et de certains résidus pour l'activité de DNE1, son réseau d'interactions protéiques et sa localisation subcellulaire. Le projet consistera à mobiliser une série de mutants DNE1 qui seront utilisés dans des tests de complémentation, des localisations subcellulaires et des stratégies d'expression transitoire afin de déterminer les résidus importants pour la fonction de DNE1. En outre, pour étudier la spécificité de l'action de DNE1, nous modifierons les cibles de DNE1 afin de déterminer les caractéristiques de l'ARN qui stimulent son action. Cette partie se concentrera sur les uORF et les G-quadruplexes d'ARN, enrichis dans les cibles de DNE1.

Ce travail fournira de nouvelles informations sur le mode d'action et la spécificité de l'endoribonucléase DNE1. Il représentera une étape importante pour mieux comprendre l'importance de DNE1 dans le contrôle de l'expression des gènes et dans l'établissement de programmes de développement spécifiques.

English :

We study the importance of messenger RNAs (mRNAs) degradation for the regulation of gene expression, development and stress response in the model plant *Arabidopsis thaliana*. A specific focus of our work is the study of DCP1 associated NYN endonuclease 1 (DNE1), a recently discovered endoribonuclease targeting mRNAs and involved in the regulation of gene expression and phyllotaxis, the regular emergence of the organs from the stem cell niche (Schiaffini et al 2021). To understand the role and mode of action of



DNE1, we used multiple approaches including high-throughput sequencing, mass spectrometry and genetics (Pouclet et al 2024). In addition, by combining protein interaction predictions using alphafold2 with validations by yeast two hybrid (Y2H), we recently identified domains and specific residues required for DNE1 interaction with its main protein partner the decapping enhancer DCP1.

The project for the M2 student will be to investigate the importance of these domains and selected residues for DNE1 activity, protein interaction network and subcellular localization. The project will be to mobilize a series of DNE1 mutants that will be used in complementation tests, subcellular localization assays and transient expression strategies to determine the residues important for DNE1 localization, interaction network and function. In addition, to understand the specificity of action of DNE1, we will modify DNE1 targets in order to determine which RNA features are stimulating its action. This part will focus on upstream open reading frames (uORFs) and RNA-G quadruplex recently found enriched in DNE1 targets.

This work will provide novel insights on the mode of action and specificity of the endoribonuclease DNE1. It will represent an important step to better understand the importance of DNE1 in the control of gene expression and in the establishment of specific developmental programs.

**Méthodologies (mots clés) :** Stable and transient plant transformation ; Molecular cloning ; Western blot ; Northern Blot; degradome sequencing.

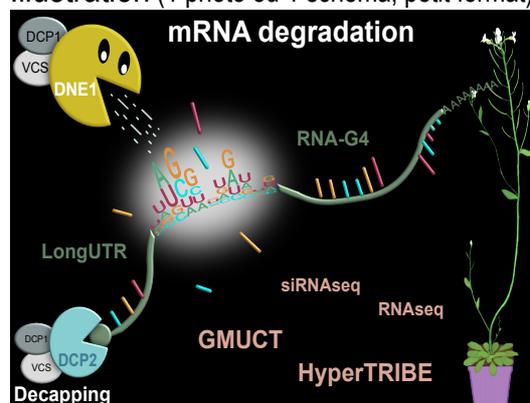
**Références (maximum 3) :**

Pouclet et al 2024, Plant Cell, doi.org/10.1093/plcell/koae175.

Schiaffini et al 2021, Plant Phys, doi: 10.1093/plphys/kiab529.

Chicois et al 2018, Plant Journal, doi: 10.1111/tj.14022

**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 :
- 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**