

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

IBMP | 2025-2026

Titre/Title

Français : Caractérisation fonctionnelle d'une protéine PPR, activatrice de traduction, associée aux ribosomes mitochondriaux de plantes

English : Functional characterization of a translation activator PPR protein associated with plant mitochondrial ribosomes

Contacts

Responsable du projet :

NOM Prénom : GIEGE Philippe
Tél: 03 67 15 53 63
Courrier-E : giege@unistra.fr

Responsable de l'équipe :

NOM Prénom : GIEGE Philippe
Tél : 03 67 15 53 63
Courrier-E : giege@unistra.fr
Lien page web de l'équipe
www.ibmp.cnrs.fr/equipes/biogenese-arnt-traduction

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

Français :

La traduction mitochondriale fait l'objet d'un intérêt considérable car elle combine des caractéristiques bactériennes avec des traits spécifiques ayant évolué chez les eucaryotes. Chez les plantes, son mécanisme demeure particulièrement méconnu. Le ribosome mitochondrial (mitoribosome) des plantes a été caractérisé de manière biochimique et structurale i.e. par cryo-microscopie électronique, dans notre laboratoire. Cela a permis d'identifier sa composition et son architecture très particulière avec des domaines spécifiques. Toutefois, les processus gouvernant la traduction, notamment son initiation ou sa régulation sont très peu connus dans les mitochondries de plante.

Afin de commencer à caractériser ces processus, des approches d'immuno-précipitation et de « proximity labelling », utilisant notamment des facteurs d'initiation de la traduction comme appâts, ont été réalisés au laboratoire. Ces analyses ont identifié des protéines de liaison à l'ARN, de la famille des protéines à pentatricopeptide repeat (PPR). Ces facteurs pourraient être des activateurs ou des régulateurs de la traduction. Ils pourraient par exemple lier un ARNm particulier et favoriser son association au mitoribosome. Le projet de recherche porte sur la caractérisation fonctionnelle d'une de ces protéines qui pourraient réguler la traduction. Le projet comportera des approches *in vivo* et *in vitro*. Pour cela, des mutants d'insertion ADN-T déjà disponibles au laboratoire seront analysés par des expériences de profilage des ribosomes (RiboSeq), c'est-à-dire par la purification des empreintes de ribosomes obtenues à partir de plantes témoins et de mutants PPR suivies par séquençage de l'ARN à haut-débit. La cible ARNm du facteur étudié sera aussi recherchée par des approches de type RNA pull down en utilisant des protéines PPR recombinantes.

De manière générale, ce projet devrait révéler de nouvelles fonctions pour les protéines PPR et devrait aider à comprendre la diversité et la spécialisation des systèmes de traduction chez les eucaryotes.

English :

Mitochondrial translation is of considerable interest because it combines bacterial characteristics with specific traits that have evolved in eukaryotes. In plants, its mechanism remains particularly poorly understood. The plant mitochondrial ribosome (mitoribosome) has been characterized biochemically and structurally, i.e., by cryo-electron microscopy, in our laboratory. This has allowed us to identify its composition and its very



specific architecture with additional domains. However, the processes governing translation, particularly its initiation and regulation, are very poorly understood in plant mitochondria.

To begin characterizing these processes, immunoprecipitation and proximity labeling approaches, notably using translation initiation factors as baits, were performed in the laboratory. These analyses identified RNA-binding proteins, from the pentatricopeptide repeat (PPR) protein family. These factors could be activators or regulators of translation. For example, they could bind a specific mRNA and promote its association with the mitoribosome.

The research project focuses on the functional characterization of one of these proteins, which could regulate translation. The project will involve both in vivo and in vitro approaches. To this end, T-DNA insertion mutants already available in the laboratory will be analyzed using ribosome profiling (RiboSeq) experiments, i.e., the purification of ribosome footprints obtained from control plants and PPR mutants followed by high-throughput RNA sequencing. The mRNA target of the studied factor will also be searched using RNA pull-down approaches using recombinant PPR proteins.

Overall, this project is expected to reveal new functions for PPR proteins and help understand the diversity and specialization of translation systems in eukaryotes.

Méthodologies (mots clés) : Biochimie ; profilage des ribosomes ; génétique inverse

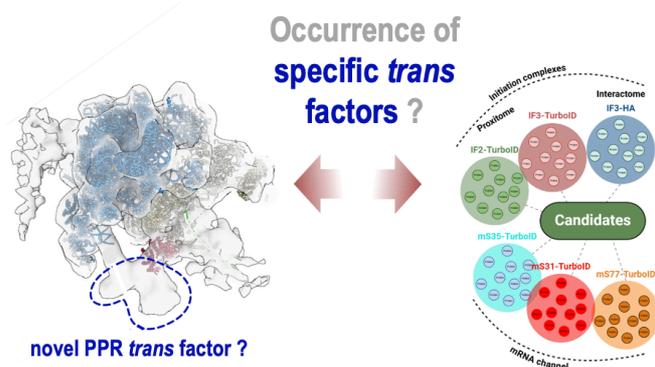
Références (maximum 3) :

Skaltsogiannis, V., Wolff, P., Nguyen, T.T., Corre, N., Pflieger, D., Blevins, T., Hashem, Y., Giegé*, P. and Waltz, F.* (2025) Structural insights into maturation and translation of a plant mitoribosome. (in revision *Nature comm*) bioRxiv 2024.10.28.620559. (*co-corresponding authors).

Waltz, F. and Giegé, P. (2019) Striking diversity of mitochondrial specific translation processes across eukaryotes. *Trends Bioch Sci.* 45, 149-162. 10.1016/j.tibs.2019.10.004

Waltz, F., Nguyen, T., Arrivé, M., Bochler, A., Chicher, J., Hammann, P., Kuhn, L., Quadrado, M., Mireau, H., Hashem, Y. and Giegé, P. (2019) Small is big in Arabidopsis mitochondrial ribosome. *Nature Plants* 5, 106-117. doi: 10.1038/s41477-018-0339-y.

Illustration : Combination of structural and interactomic data suggest the occurrence of novel PPR translation factors



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