

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

IBMP | 2025-2026

Titre/Title

Caractérisation de nouvelles protéines impliquées dans l'expression du génome mitochondrial chez *Chlamydomonas reinhardtii* par approche CRISPR-Cas9

Characterization of new proteins involved in mitochondrial genome expression in *Chlamydomonas reinhardtii* using a CRISPR-Cas9 approach

Contacts

Responsable du projet :

Salinas Thalia
salinas@unistra.fr

Responsable de l'équipe :

Giegé Philippe
giege@unistra.fr
<https://www.ibmp.cnrs.fr/equipes/biogenese-amt-translation/>

Description du projet

Chlamydomonas reinhardtii est une algue verte unicellulaire largement utilisée comme organisme modèle en biologie moléculaire et cellulaire. Son génome mitochondrial présente un caractère hybride unique, combinant des éléments typiques des plantes terrestres et une organisation proche de celle des mammifères. Cette singularité en fait un système privilégié pour étudier la régulation et l'expression du génome mitochondrial.

Des analyses bioinformatiques et protéomiques préliminaires ont identifié dix-huit protéines candidates, codées par le génome nucléaire, localisées dans la mitochondrie et potentiellement impliquées dans l'expression mitochondriale. L'objectif principal du stage est de caractériser la fonction de certaines de ces protéines par génétique inverse, en développant et optimisant la technologie CRISPR-Cas9 chez *Chlamydomonas*. Cette méthode, encore peu utilisée dans ce modèle, permet de générer des mutants knock-out stables, un avantage majeur par rapport aux knock-down classiques.

Le travail débutera par la conception et la validation d'ARN guides ciblant les gènes d'intérêt, suivies de leur introduction, avec Cas9, dans des souches sauvages par électroporation. Les transformants seront ensuite soumis à un criblage par qPCR pour identifier les lignées mutantes. Les mutants validés feront l'objet d'analyses moléculaires (qRT-PCR) et protéomiques (immunodétection et spectrométrie de masse). Dans certains cas, des lignées seront complémentées avec des protéines taguées pour identifier leurs partenaires d'interaction par co-immunoprécipitation.

Ce stage permettra de mieux comprendre le rôle de nouvelles protéines mitochondriales et de renforcer l'outil CRISPR-Cas9 dans notre équipe pour *Chlamydomonas*. Il offrira au stagiaire une formation complète en biologie moléculaire, au carrefour entre recherche fondamentale et innovation méthodologique.

Project Description

Chlamydomonas reinhardtii is a unicellular green alga widely used as a model organism in molecular and cellular biology. Its mitochondrial genome has a unique hybrid character, combining features typical of land plants with an organization similar to that of mammals. This uniqueness makes it an ideal system to study the regulation and expression of the mitochondrial genome.



Preliminary bioinformatics and proteomic analyses have identified eighteen candidate proteins, encoded by the nuclear genome, localized in the mitochondria, and potentially involved in mitochondrial gene expression. The main objective of this internship is to characterize the function of some of these proteins using reverse genetics by developing and optimizing CRISPR-Cas9 technology in *Chlamydomonas*. This method, still rarely used in this model, allows the generation of stable knock-out mutants, a major advantage over classical knock-down approaches.

The work will begin with the design and validation of guide RNAs targeting genes of interest, followed by their introduction, together with Cas9, into wild-type strains by electroporation. The transformants will then be screened by qPCR to identify mutant lines. Validated mutants will undergo molecular (qRT-PCR) and proteomic analyses (immunodetection and mass spectrometry). In some cases, lines will be complemented with tagged versions of the proteins to identify their interaction partners by co-immunoprecipitation.

This internship will improve our understanding of the role of novel mitochondrial proteins and strengthen the CRISPR-Cas9 tool in our team for *Chlamydomonas*. It will provide the intern with comprehensive training in molecular biology, at the intersection of fundamental research and methodological innovation.

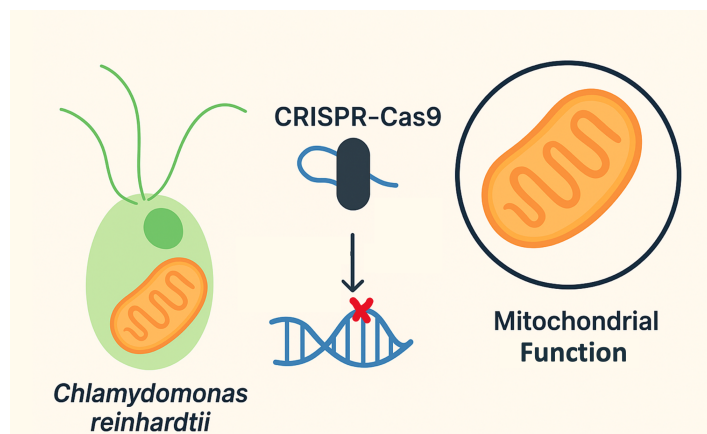
Méthodologies:

Algue verte, CRISPR-Cas9 gene editing, Electroporation, qPCR, qRT-PCR, spectrometry, Immunodetection, Co-immunoprecipitation (Co-IP)

Références:

1. Salinas-Giegé T, Cavauiolo M, Cognat V, Ubrig E, Remacle C, Duchêne AM, Vallon O, Maréchal-Drouard L. (2017) Polycytidylation of mitochondrial mRNAs in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Nucleic Acids Res.* 45(22):12963-12973.
2. Waltz, F., Salinas-Giegé, T., Englmeier, R., Meichel, H., Soufari, H., Kuhn, L., Pfeffer, S., Förster, F., Engel, B.D., Giegé, P., et al. (2021) How to build a ribosome from RNA fragments in *Chlamydomonas* mitochondria. *Nat. Commun.*, 12, 7176.

Illustration



Parcours de Master:

Master « Sciences du Vivant », Faculté des Sciences de la Vie, Université de Strasbourg

1- Biologie et génétique moléculaire :

3- Plantes, biologie moléculaire et biotechnologies :

7- Autres masters équivalents en France ou à l'étranger :