

Proposition de sujet de stage Master M2

Identification des facteurs de transcription et des éléments cis-régulateurs contrôlant les enzymes clés de la glycolyse et du cycle de Krebs

Contexte : Il est bien établi chez le rosier que la ramification, qui résulte principalement de la croissance des bourgeons axillaires, est sous le contrôle d'un réseau complexe de régulation impliquant des nutriments (sucre, azote) en interaction avec les hormones (SL, IAA, GA, CK, ABA). Une des questions scientifiques actuellement étudiée au sein de l'équipe StraGene (Institut de Recherche en Horticulture et Semences INRAE/Université d'Angers /Institut Agro) vise à élucider les mécanismes physiologiques et moléculaires intervenant dans la réorientation du métabolisme carboné dans une réponse adaptative face aux contraintes de l'environnement. Nous avons récemment mis en évidence le rôle du métabolisme primaire dans le contrôle de la ramification et notamment de 3 gènes clés des voies de la glycolyse et 2 du cycle de Krebs. Dans ce contexte, nous nous intéressons à décrypter les mécanismes régulateurs agissant en amont de ces gènes.

Objectifs : L'objectif de ce stage est d'élucider les mécanismes régulateurs de la réorientation du métabolisme du carbone. L'étude sera menée sur des bourgeons de rosiers cultivés *in vitro* dans des milieux appropriés. Les premiers résultats de l'analyse métabolomique ont permis de mettre en évidence le rôle clé de trois enzymes de la glycolyse et deux du cycle de Krebs. Ces données seront complétées dans le cadre de ce stage, par une approche transcriptomique (RNA-seq), visant à confirmer une régulation transcriptionnelle des gènes codant ces cinq enzymes du métabolisme de sucre. Les éléments *cis*-régulateurs communs aux séquences promotrices de ces gènes seront ensuite recherchés par une analyse bio-informatique. Parallèlement, seront identifiés l'ensemble des facteurs de transcription (FT) différentiellement exprimés dans ces conditions et capables de reconnaître les éléments *cis*-régulateurs préalablement sélectionnés. Afin de valider ces résultats, l'expression des FT sélectionnés sera vérifiée expérimentalement par RT-qPCR sur de nouveaux matériels biologiques. Une étude de mutants d'*Arabidopsis thaliana* affectés dans l'expression d'un ou deux facteurs de transcription majeurs dans la régulation des enzymes clés de la glycolyse et du cycle de Krebs préalablement identifiés sera initiée.

-Compétences recherchées :

- Physiologie de la plante, connaissance en bio-informatique (analyse transcriptomique de RNA-seq)

, Approches méthodologiques

- Cultures de rosiers décapités en environnement contrôlé et culture *in vitro* de nœud de rosier. Echantillonnage de nœuds et de bourgeons pour extraction d'ARN.
- Analyse RNA-seq
- Analyse de mutants
- Etude de l'expression des gènes par RTQPCR

Période : 6 mois

Rémunération : Gratification stage master 2

Encadrement : José Le Gourrierc-Gentilhomme, MCF-UA ; Soulaïman Sakr, PR-Institut Agro

Laboratoire d'accueil : IRHS-UMR 1345 Université d'Angers, INRAE, Institut Agro

Contact : jose.gentilhomme@univ-angers.fr (0241225642)