

Proposition de stage Master 2

Sujet : Production, purification et cristallographie de 2 domaines récepteurs exprimés en levure

Contexte : Dans le cadre des relations plantes/environnement, notre équipe s'intéresse aux événements précoces de la réponse moléculaire du peuplier à un stress hydrique de type sécheresse. Notre étude se focalise sur les mécanismes moléculaires impliqués dans la perception de la contrainte hydrique, correspondant à une contrainte osmotique au niveau cellulaire, et la transduction de ce signal jusqu'à l'activation de gènes cibles permettant à la plante de répondre à cette contrainte. L'intégration du signal est réalisée par une voie de signalisation de type phosphorelais multiple (MSP), apparentée au système à 2 composantes des bactéries. Nous avons mis en évidence l'existence d'un tel système chez le peuplier, organisme modèle des plantes ligneuses, comprenant 2 récepteurs membranaires (HK1a et HK1b), 10 protéines relais (HPt1 à 10) et une vingtaine de régulateurs de réponse (RR). La perception est réalisée par les récepteurs HK1a et HK1b grâce à un domaine extracellulaire (ECD) exposé entre la membrane et la paroi de la cellule. Au sein de cet ECD se trouve un domaine fonctionnel appelé Cache, connu chez les procaryotes pour fixer de petits ligands. Dans le but de mieux caractériser ce domaine et d'essayer d'identifier le ligand potentiel, une étude biochimique et structurale a été initiée afin de produire, purifier et résoudre la structure 3D de ce domaine par cristallographie. La détermination de la structure tridimensionnelle d'un tel domaine constituerait une première chez les plantes et permettrait de guider l'identification du ligand potentiel.

Objectif : La production de protéine soluble en levure ainsi que la purification ont déjà été réalisées à l'échelle expérimentale pour un récepteur. Il s'agira donc de tester le second récepteur et de continuer le travail avec le premier pour la production en masse, la purification sur colonne d'affinité, puis la réalisation d'essais de cristallisation et, si possible, la cristallographie.

Techniques : Production de protéines recombinantes en levure, purification sur colonne de Ni²⁺, SDS-PAGE, Western blot, test cristallisation (kit), cristallographie par rayons X (Synchrotron Soleil, Saclay).

Expérience et formation souhaitées du candidat :

La ou le candidat(e) devra posséder de bonnes connaissances en biochimie et structure des protéines avec un plus si intérêt pour le monde végétal. L'autonomie, la rigueur et la capacité d'investissement personnel seront les qualités essentielles recherchées.

Envoyer CV, lettre de candidature et un email contact de référence (responsable stage M1).

Laboratoire d'accueil : Université d'Orléans – P2E (ex-LBLGC) – Equipe Signalisation Cellulaire
Encadrant : François Héricourt, maître de conférences HDR
(coordonnées complètes en bas de page)

Référence :

Makhokh *et al.* (2023). *Int J Mol Sci*, 24: 6318

Héricourt *et al.*, (2016). *Int J Mol Sci*, 17: 2061

Héricourt *et al.*, (2013). *Physiol Plant*, 149: 188