

Etude de la sensibilité des plantes aux toxines nécrosantes

Contexte: Les NLPs (Necrosis and ethylene-inducing peptide 1-Like Protein) sont des toxines produites par des pathogènes bactériens, fongiques et oomycètes de plantes (produisant des pertes majeures en agriculture) conduisant à la lyse des membranes végétales et la mort de la plante. Les plantes dicotylédones (tomates, tabac...) sont sensibles au caractère nécrosant des NLPs, alors que les monocotylédones (maïs, blé, riz...) se montrent résistantes. Récemment, une étude (Lenarcic, ... Mongrand et co. *Science* **2017**) a démontré que la nature des glycosphingolipides de la membrane des plantes (Glycosyl Inositol Phospho Ceramides, GIPC à 2 sucres pour les dicotylédones, à 3 pour les monocotylédones influence la capacité des NLP à interagir avec la membrane plasmique végétale. Les bases mécanistiques de ce phénomène de nécrose constituent un véritable défi méthodologique car elles nécessitent la reconstitution de systèmes membranes - protéines complexes. La RMN du Solide est un outil de pointe permettant d'étudier les interactions protéines-lipides dans un contexte de membranes reconstituées et en cellules (Medeiros-Silva *Nat. Comm.* **2018**; Kaplan *Cell* **2016**).

Projet de M2: Nous proposons de mettre au point une approche top-down basée sur la RMN du Solide, afin d'établir les mécanismes conduisant à la lyse des membranes végétales par les toxines NLPs. L'approche permettra de sonder deux stades de complexité de l'interaction NLP-plantes: **(1) au niveau des membranes plasmiques de plantes:** ces membranes purifiées par partage de phase ont la particularité de garder un caractère compositionnel quasi-natif (Raffaëlle Mongrand *Plant Cell* **2009**). L'empreinte ¹³C de la toxine dans des membranes natives extraites de cellules de tabac (GIPC à 2 sucres) et de riz (GIPC à 3 sucres) sera comparée à celle en cellules, ainsi qu'aux déplacements chimiques de RMN prédits de la structure cristallographique (Lenarcic *Science* **2017**) ; **(2) au niveau de la reconstitution de liposomes enrichis en GIPC:** ces lipides sont commercialement non disponibles, cependant S. Mongrand est un expert reconnu dans la purification de GIPC à partir de matériel végétal. La composition lipidique (GIPC à 2 sucres ou 3 sucres, absence de GIPC) de ces liposomes sera variée afin d'évaluer sur l'organisation de la membrane (courbure de la membrane, paramètre d'ordre, rigidité) et sur la conformation de la toxine (empreinte ¹³C) l'effet de la nature des glycolipides.

Nous travaillerons avec la toxine NLP_{pya} de *Pythium aphanidermatum* (oomycète pathogène), qui est aisément produite en système hétérologue dans *E. coli* par exemple (Lenarcic *Science* **2017**), idéal pour le marquage ¹³C.

Le projet sera réalisé en collaboration entre 2 équipes: équipe LOQUET (IECB, Bordeaux) expert en biophysique des protéines membranaires et RMN et équipe MONGRAND (LBM, Villenave d'Ornon) expert en biogénèse membranaire et lipides de plantes.

Contact: Antoine LOQUET (a.loquet@iecb.u-bordeaux.fr), Corinne Sanchez (c.sanchez@iecb.u-bordeaux.fr)
<http://www.loquetlab.org/>

Publications récentes des 2 groupes:

Daskalov et al., PNAS 2021

Shenoy et al., FEBS 2020

El Mammeri et al., FASEB J 2019

Guo et al., Plos Biol 2019

Legrand et al., Front. Mol. Biosci. 2019

Lenarcic et al., Science 2017

Gronnier et al., Elife 2017