

L'ingénierie du génome mitochondrial, une nouvelle source de biodiversité pour l'amélioration des plantes

Contexte

Les lignées hybrides ont un rôle majeur dans les programmes d'amélioration des plantes par les semenciers en raison de leurs meilleurs rendements et/ou de leur résistance accrue dus à l'effet d'hétérosis. Pour la production de plantes hybrides, les variétés possédant une stérilité mâle cytoplasmique (CMS) sont très prisées, car il est possible de multiplier la lignée "femelle" mâle stérile sans ségrégation des caractères codés par le noyau, par croisement avec la lignée fertile. Des réarrangements du génome mitochondrial (mtDNA) par recombinaison sont souvent la cause du caractère CMS.

Chez *Arabidopsis*, nous avons identifié et caractérisé plusieurs gènes impliqués dans la surveillance de la recombinaison et dans la réparation du mtDNA par recombinaison. Leur mutation active des voies alternatives peu fidèles qui génèrent des produits de recombinaison ectopique, impliquant des séquences répétées qui sont très abondantes dans le mtDNA des plantes. L'accumulation de ces formes recombinées du mtDNA (mitotypes) est corrélée avec l'apparition de phénotypes visibles, entre autres la stérilité mâle. Par rétrocroisement les changements dans le mtDNA peuvent devenir irréversibles et être transmis aux générations suivantes.

Nous voulons développer une nouvelle approche pour générer de la variabilité génétique et phénotypique en nous basant sur la mutation de ces facteurs qui contrôlent l'organisation du mtDNA. La stratégie devrait permettre de créer des variétés de plantes non-OGM avec de nouvelles propriétés. Les travaux de thèse se feront en collaboration avec une entreprise semencière intéressée par l'approche. L'approche serait d'abord implémentée dans le modèle laitue (*Lactuca sativa*), car il n'y a pas actuellement de variétés CMS disponibles pour cette espèce.

Programme de recherche

1- L'implémentation du modèle laitue demandera des connaissances fondamentales sur la structure et l'expression du mtDNA de cette espèce. Le(la) doctorant(e) optimisera un protocole de purification de mitochondries de laitue et, par NGS (plateforme Illumina MiSeq de l'IBMP), déterminera la séquence du mtDNA des 2-3 variétés utilisées par l'industriel dans ses protocoles de sélection. En collaboration avec les Bio-informaticiens de l'institut, il(elle) assemblera ces génomes (200-400 kb) et déterminera leur structure, qui est normalement complexe chez les plantes à cause de phénomènes de recombinaison. Une analyse RNAseq permettra de déterminer les régions qui sont activement transcrites, ainsi que les extrémités et les sites d'édition des ARN.

2- Les séquences de plusieurs gènes de laitue orthologues des gènes d'*Arabidopsis* ont déjà été identifiées et la mutation de ces gènes pourrait être utilisée pour induire de la variété génétique mitochondriale. Les cDNA correspondants seront clonés et l'adressage intracellulaire des protéines sera déterminé par fusion à la GFP. L'objectif est de vérifier qu'elles sont effectivement adressées à la mitochondrie dans la laitue, ou doublement adressées aux mitochondries et aux chloroplastes comme c'est souvent le cas chez *Arabidopsis*.

3- Les mutations et traitements génotoxiques qui pourraient être combinés pour induire des effets maximaux sur l'organisation du mtDNA seront déterminés par des études pilotes. Une approche de type VIGS ("virus-induced gene silencing") sera utilisée pour l'inactivation des différents gènes ou combinaisons de gènes, et l'effet sur la recombinaison du mtDNA sera étudié de façon transitoire sur des feuilles, par agro-infiltration.

4- Des lignées mutantes de plusieurs des gènes-cibles ont déjà été sélectionnées par le département recherche du semencier, par une approche de TILLING. Le(la) doctorant(e) participera aussi aux premiers cribles phénotypiques de ces lignées (à Allones dans le centre de production de l'entreprise en France), et à d'autres cribles de mutants qui se feront respectivement dans le centre de production et le laboratoire de recherche de l'industriel.

COMPETENCES SOUHAITEES :

L'étudiant(e) aura un Master ou équivalent en sciences biologiques et une connaissance théorique approfondie en biologie moléculaire. Une première expérience dans un ou plusieurs des domaines suivants sera appréciée : culture de tissus, transformation des plantes, techniques de microscopie, biologie cellulaire, génétique classique et inverse chez les plantes.

- EXPERTISES QUI SERONT ACQUISES AU COURS DE LA FORMATION :

Un des avantages de ce projet est la diversité des techniques que l'étudiant(e) pourra acquérir au cours de sa thèse. Une expertise sera acquise en génie génétique des plantes, biochimie des protéines, séquençage NGS et analyse bio-formatique, microscopie, imagerie, génétique végétale, biologie mitochondriale. L'étudiant(e) sera impliqué(e) dans la rédaction de publications scientifiques et dans la présentation de ses résultats en congrès. **Il/elle profitera aussi de la double expérience laboratoire de recherche publique / entreprise.**

Contact :

José Gualberto
Institut de Biologie Moléculaire des Plantes,
IBMP-CNRS-UPR2357
12 rue du General ZIMMER
67084 STRASBOURG Cedex, France
Tel. +33 (0)3 67 15 53 61
Fax +33 (0)3 67 15 53 00