

Ecole doctorale 305 « Energie Environnement »

**AVIS DE PRESENTATION DE TRAVAUX
EN VUE DE L'OBTENTION DU DOCTORAT**

Monsieur Clément BARRE-VILLENEUVE soutiendra sa thèse le **20 octobre 2023 à 14 h à 52 avenue Paul Alduy, Bâtiment U, 66860 Perpignan cedex 9, salle Amphi 5**, un doctorat de l'Université de Perpignan Via Domitia, spécialité **Biologie**.

TITRE DE LA THESE : Étude de l'impact de la méthylation sur arginine sur l'activité du principal effecteur du RNA silencing chez *A. thaliana* : la protéine AGO1

RESUME : La protéine ARGONAUTE1 (AGO1) chez *Arabidopsis thaliana* appartient à la famille très conservée des protéines AGO/PIWI. Cette protéine est capable de charger un petit ARN (de 21 à 24 nucléotides de long), qui peut être typiquement : un microARN (miARN), un tasiARN, un phasiARN, ou un petit ARN interférant d'autres origines (par exemple, viral). Le complexe effecteur AGO1-petit ARN ainsi formé peut réprimer l'expression des ARN messagers (ARNm) en les clivant ou en inhibant leur traduction. AGO1 intervient dans la régulation post-transcriptionnelle des gènes (PTGS), la défense face aux pathogènes, et sa mutation est létale. L'importance des rôles assurés par AGO1 implique sa régulation fine au niveau post-transcriptionnel ou post-traductionnel. Dans ce contexte, le rôle des modifications post-traductionnelles (PTM) d'AGO1 reste peu connu chez *A. thaliana*, et constitue l'objet d'étude de cette thèse. En effet, des travaux récents indiquent que la protéine AGO2 d'*A. thaliana* peut subir une méthylation sur arginine (R-met), un type de PTM connu pour réguler les protéines AGO/PIWI chez les animaux. Cette régulation d'AGO2 par R-met implique l'enzyme PRMT5, qui fait partie des protéines PRMT qui peuvent déposer trois types de marques de R-met : des monométhylations (MMA) (PRMT de type III), des diméthylations symétriques (sDMA) (PRMT de type II, tel que PRMT5), ou des diméthylations asymétriques (aDMA) (PRMT de type I). Les motifs R-méthylés sont reconnus par les protéines lectrices à domaine Tudor (TSN) ce qui entraîne la réponse biologique. De manière intéressante, la protéine AGO1 possède au niveau de son extension N-terminale (NTE) des sites prédits de R-met (GRG/RGG). Ma thèse s'est donc concentrée sur l'étude de la méthylation sur arginine d'AGO1, les effets sur l'activité de cette protéine et sur le développement de la plante. Nous avons ainsi montré que la région NTE d'AGO1 peut être R-diméthylée symétriquement par PRMT5, et asymétriquement par une/des PRMT de type I inconnu(es). En absence de PRMT5, AGO1 perd les marques sDMA, qui pourraient être en partie remplacées par des marques aDMA sur les mêmes résidus. Ces résultats suggèrent une double régulation d'AGO1 par des modifications sDMA et aDMA. L'absence de sDMA réduit l'association d'AGO1 avec les protéines TSN, mais elle ne l'abolit pas, suggérant une association d'AGO1 avec les TSN indépendantes des sDMA. J'ai aussi étudié l'impact de l'absence des marques sDMA, sur l'activité d'AGO1, en analysant le mutant *prmt5*. Nos observations ne montrent pas d'effet sur la localisation subcellulaire d'AGO1, son accumulation, son chargement en miARN, et sur son activité de PTGS médiée par un miARN artificiel. Par contre, le chargement de certains tasiARN et phasiARN dans AGO1 est diminué en l'absence de PRMT5. Afin de cibler spécifiquement l'impact de l'absence des R-diméthylations (R-dimet) sur AGO1, j'ai produit des lignées de plantes transgéniques produisant une version d'AGO1 non-méthylable. Ces plantes montrent des phénotypes foliaires, qui corrélerent avec une augmentation du niveau de certains ARNm qui régulent ces aspects et sont contrôlés par des miARN. De plus, le niveau d'ARNm d'AGO2 est aussi augmenté en absence de R-dimet sur AGO1, laissant supposer une double régulation d'AGO2 soit par R-diméthylation directe, soit indirectement par R-diméthylation de la protéine AGO1, qui, à travers le chargement de miR403, régule AGO2. Pour finir, l'expression d'une version d'AGO1 non-méthylable dans un fond senseur pour l'activité du PTGS (*amiRSUL*) suggère que la R-diméthylation d'AGO1 pourrait réguler son activité d'inhibition traductionnelle. Pour compléter cette étude sur le développement, il serait intéressant d'étudier l'impact de cette R-dimet d'AGO1 sur le développement de la racine, et d'évaluer la réponse de plantes exprimant une version non méthylable d'AGO1 face à divers stress.

Direction de la Recherche et de la Valorisation
52, avenue Paul Alduy - 66860 PERPIGNAN CEDEX 09
Téléphone : 04.68.66.17.36 - Email : emilie.vegara@univ-perp.fr

Directeur de thèse :

Thierry LAGRANGE, Laboratoire Génome et Développement des Plantes - Université de Perpignan Via Domitia

Laboratoire où la thèse a été préparée : Laboratoire Génome et Développement des Plantes

Le jury sera composé de :

M. Hervé Vaucheret, Directeur de recherche, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB) (**Rapporteur**)

Mme Delphine Pflieger, Chargée de recherche, U1292 INSERM/CEA/UGA, Institut de Recherche Interdisciplinaire de Grenoble (IRIG) (**Rapporteur**)

M. Thierry LAGRANGE, Directeur de recherche, Université de Perpignan Via Domitia (**Directeur de thèse**)

Mme Jacinthe Azevedo-Favory, Chargée de recherche, Université de Perpignan Via Domitia (**CoDirecteur de these**)

M. Jean-Luc Gallois, Directeur de recherche, INRAE, GAFL (**Examineur**)

M. Jean-Philippe Reichheld, Directrice de recherche, Université de Perpignan Via Domitia (**Examineur**)

M. Nicolas Bologna, Junior leader, Agrigenomics Research Center (CRAG) (**Examineur**)

M. Patrick Laufs, Directrice de recherche, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB) (**Examineur**)