

# MASTER – PLANT SCIENCE

## PROPOSITION DE STAGE DE M2

Stage débutant en :  janvier ou  mars / **Confidentiel** :  oui ou  non

**Nom de l'organisme d'accueil : UMR INRAE/UCA 1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales**  
**Adresse : Site de Crouël, 5 chemin de Beaulieu, 63100 CLERMONT-FERRAND, FRANCE**  
**Site internet : <https://umr1095.clermont.hub.inrae.fr>**  
**Directeur : Jérôme Salse**

**Nom et fonction de l'encadrant : Aurélia Stevens – Maitresse de Conférences**  
**Equipe de recherche (si concerné) : Qualigrain**  
**Page internet de l'équipe (si concerné) :**  
**<https://umr1095.clermont.hub.inrae.fr/organisation/equipes-de-recherche/qualite-des-grains>**

### **Titre :**

**L'effet des protéines de stockage du grain de blé sur l'activation de la voie UPR et analyse de l'expression des gènes de biosynthèse de ces protéines de stockage chez le mutant de blé : ire1.**

### **Présentation du sujet** (contexte, problématique, méthodologie envisagée) :

La composition et la quantité des protéines de stockage jouent un rôle significatif dans la qualité des grains de blé (*Triticum aestivum*), tant du point de vue nutritionnel qu'économique. Plusieurs facteurs liés au changement climatique, tels que le stress thermique, affectent l'accumulation et la qualité de ces protéines.

La biosynthèse et les modifications post-traductionnelles des protéines de stockage, qui se produisent dans le réticulum endoplasmique (RE), sont des processus pouvant être influencés par divers facteurs environnementaux. En réponse à ces stress, les cellules végétales activent des voies de signalisation et de régulation qui ajustent leurs réponses physiologiques et moléculaires. En particulier, l'accumulation de protéines mal repliées dans le RE induit un stress cellulaire connu sous le nom de stress du RE, lequel active l'une des principales voies de signalisation responsable du maintien de l'homéostasie des protéines dans cet organite, appelée la voie UPR (pour "Unfolded Protein Response") (revue par Vitale et Pedrazzini, 2022 ; Dupont et al., 2023). Chez les plantes, la voie de signalisation UPR opère via deux branches distinctes. La première est médiée par bZIP17 et bZIP28, deux facteurs de transcription ancrés dans la membrane du RE. La seconde branche implique IRE1, une protéine kinase et ribonucléase qui, une fois activée, catalyse l'épissage non conventionnel de l'ARNm de bZIP60, un facteur de transcription. La forme épissée de bZIP60 (bZIP60s) est alors capable de migrer du cytosol vers le noyau pour activer les gènes de réponse à l'UPR.

Dans les céréales, la forme épissée de bZIP60 a été utilisée dans notre laboratoire comme biomarqueur moléculaire de la voie UPR. Nous avons démontré que la branche IRE1/bZIP60 est impliquée dans différents tissus chez le blé, et particulièrement dans le grain au cours de son développement. En effet, lorsque la synthèse des protéines de stockage est active, l'expression de bZIP60s augmente dans l'endosperme du maïs (Gayral et al., 2017 ; Bocca et al., 2021), de *Brachypodium distachyon* (Kim et al., 2017) et dans les grains de blé (Dupont et al., en préparation). Cependant, l'intensité de l'induction de l'UPR dépend de la structure des protéines de stockage du grain (SSP pour 'Seed Storage Protein'). Dans notre laboratoire, nous avons récemment identifié six gènes candidats de SSP chez le blé et deux d'entre eux ont été caractérisés, montrant une augmentation des niveaux de transcription de bZIP60.

Durant le stage, le candidat étudiera principalement l'induction de la voie UPR en réponse à la surexpression de chacun des quatre SSP restants de blé. L'objectif est d'évaluer une éventuelle corrélation entre la taille et la structure des SSP et l'intensité de la réponse UPR. Alternativement, selon les résultats, nous prévoyons de tester si la transformation avec plusieurs SSP sélectionnés pourrait intensifier la réponse UPR. Dans ce projet, le candidat utilisera des approches de génétiques moléculaires dans un modèle végétal hétérologue, *Nicotiana tabacum*. L'induction de l'UPR sera suivie en utilisant de techniques de microscopie et de qPCR. De plus, nous avons généré des données RNASeq obtenues à partir de grains de mutants de blé knockout pour IRE1, cultivés sous stress thermique au début de l'accumulation des SSP. Le candidat vérifiera si la perte de la branche IRE1/bZIP60 impacte l'expression des gènes de biosynthèse des SSP.

**Mots clés : grain de blé, protéines de stockage, voie UPR, ire1.**

#### **Références bibliographiques récentes de l'équipe**

Dupond, Maxime, Amadou Bamba Niane, Aldo Daniel Borjas Esqueda, Céline Dupuits, Jacques Le Gouis, S. Mouzeyar, and Jane J. Roche. « Unfolded Protein Response in Cereals, a Dynamic Signaling Pathway Involved in Response to Environmental Stresses ». *Journal of Plant Sciences and Crop Protection* 6, no 1 (5 July 2023). <https://hal.inrae.fr/hal-04586949>.

**Contact :** Aurélia Stevens      Tél : 04 73 40 79 36      Email : aurelia.boulaflous@uca.fr

# MASTER - PLANT SCIENCE

## M2 INTERNSHIP PROPOSAL

Internship starting in:  January or  March / Confidential :  yes or  no

**Name of the host organization :** UMR INRAE/UCA 1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales  
**Address:** Site de Crouël, 5 chemin de Beaulieu, 63100 CLERMONT-FERRAND, FRANCE  
**Web site:** <https://umr1095.clermont.hub.inrae.fr>  
**Director's name:** Jérôme Salse

**Name and function of the supervisor:** Aurélie Stevens – associate professor  
**Team research (if applicable):** Qualigrain  
**Web page of the research team (if applicable):**  
<https://umr1095.clermont.hub.inrae.fr/organisation/equipes-de-recherche/qualite-des-grains>

### **Title:**

**Wheat Seed Storage Proteins effect on Unfolded Protein Response activation and analyse of the expression of those Seed Storage Proteins biosynthesis genes in wheat ire1 mutant.**

### **Presentation of the subject** (context, problematic, envisaged methodology):

The composition and quantity of storage proteins play a significant role in the grain quality of wheat (*Triticum aestivum*) from both nutritional and economic aspects. Several factors associated with climate change, such as heat stress, affect the accumulation and quality of these proteins.

The biosynthesis and post-translational modifications of storage proteins occurring in the endoplasmic reticulum (ER) is a process that can be influenced by various environmental factors. In response to these stresses, plant cells activate signaling and regulatory pathways that adjust their physiological and molecular responses. Particularly, the accumulation of misfolded proteins in the ER induces a cellular stress known as ER stress, which activates one of the major signaling mechanisms responsible for maintaining protein homeostasis in that organelle called the Unfolded Protein Response (UPR) (as reviewed by Vitale and Pedrazzini, 2022; Dupont et al., 2023). In plants, the UPR signaling pathway operates through two distinct arms. The first one is mediated by bZIP17 and bZIP28, two transcription factors anchored in the ER membrane. The second arm involves IRE1, a dual protein kinase and ribonuclease, which, upon activation, catalyzes the unconventional splicing of bZIP60 mRNA, a transcription factor. Then, the spliced form of bZIP60 (bZIP60s) is able to migrate from the cytosol to the nucleus to activate UPR-responsive genes.

In cereals, the spliced form of bZIP60 has been used in our laboratory as a molecular biomarker of the UPR pathway. We demonstrated that the IRE1/bZIP60 arm is involved in different tissues in wheat, and particularly in the seed during its development. Indeed, when the synthesis of storage proteins is active, the expression of bZIP60s increases in the endosperm of maize (Gayral et al., 2017; Bocca et al., 2021), *Brachypodium distachyon* (Kim et al., 2017) and in wheat seeds (Dupont et al. under publication). However, the intensity of the UPR induction depends on the structure of the seed storage proteins (SSPs). In our lab, we recently identified six SSP candidate genes in wheat and two have been characterized showing an increase in bZIP60 transcript levels.

Mainly, during the internship, the candidate will investigate the induction of the UPR pathway in response to the overexpression of each of the four remaining wheat SSPs. The goal is to evaluate a potential correlation between the size and structure of the SSPs and the intensity of UPR response. Alternatively, upon the findings, we plan to test whether transforming with multiple selected SSPs could further enhance the UPR response. In that project, the candidate will use recombinant genetic approaches in a heterologous plant model, *Nicotiana tabacum*. The UPR

induction will be monitored using microscopy and qPCR techniques. Additionally, we generated RNASeq data obtained from seeds of IRE1 knockout wheat mutants cultivated under heat stress during the beginning of SSP accumulation. The candidate will verify whether the loss of the IRE1/bZIP60 arm impacts the expression of SSP biosynthesis genes.

**Key words wheat grain, storage proteins, UPR, ire1.**

**Recent bibliographic references of the team :**

Dupond, Maxime, Amadou Bamba Niane, Aldo Daniel Borjas Esqueda, Céline Dupuits, Jacques Le Gouis, S. Mouzeyar, and Jane J. Roche. « Unfolded Protein Response in Cereals, a Dynamic Signaling Pathway Involved in Response to Environmental Stresses ». *Journal of Plant Sciences and Crop Protection* 6, no 1 (5 July 2023). <https://hal.inrae.fr/hal-04586949>.

**Contact :** Aurélia Stevens

**Phone:**04 73 40 79 36

**Email :** aurelia.boulaflous@uca.fr