PROPOSITION DE STAGE M2 – 2019-2020

Utilisation d'un nanosenseur et de puces microfluidiques pour imager l'influx du nitrate chez les racines d'*Arabidopsis thaliana*

Responsable du stage : Sébastien THOMINE
Adresse : Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC), bâtiment 21, 1 Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette
Tél : 01 69 82 46 32
E-mail : sebastien.thomine@i2bc.paris-saclay.fr

CONTEXTE SCIENTIFIQUE :

Le nitrate est un nutriment essentiel pour la croissance des plantes et un constituant majeur des engrais. Un approvisionnement suffisant en nitrate garantit une meilleure production végétale. De ce fait de nombreux travaux ont porté sur les mécanismes d'acquisition du nitrate par les plantes et sur la régulation de ces mécanismes en fonction de la disponibilité de cet ion (Barbier-Brygoo *et al.*, *Annu. Rev. Plant Biol.,* 2011, 62:25–51). Le nitrate est absorbé par la plante grâce à deux types de transporteurs, les NRT1 intervenant quand le nitrate est abondant dans le milieu et les NRT2 intervenant quand le nitrate est peu disponible. Par ailleurs, la disponibilité du nitrate régule le développement du système racinaire en contrôlant l'élongation et la formation des racines secondaires. Jusqu'à présent l'influx de nitrate n'a été étudié qu'à l'échelle de la racine entière en utilisant des traceurs, et les zones de la racine qui participent à l'influx du nitrate n'ont jamais été définies précisément. Il serait pourtant très intéressant de mettre en relation cette information avec les effets du nitrate sur le développement racinaire. Ce projet de M2 propose d'aborder cette question en utilisant des outils de biologie cellulaire récemment développés dans l'équipe et la technique de Lab-on-Chip également appelée microfluidique, dans le cadre d'un projet du Labex Saclay Plant Sciences.

PROJET DE RECHERCHE :

Le projet consistera à étudier l'évolution spatiale et temporelle de l'influx de nitrate dans la racine aux échelles du tissu et de la cellule.

Pour cela, des plantes d'*Arabidopsis thaliana* exprimant une protéine fluorescente (nanosenseur) qui permet de mesurer localement le pH et la concentration en nitrate seront cultivées sur dans des circuits microfluidiques (Arosio *et al.*, *Nat Methods,* 2010, 7(7):516–518). Ces dispositifs permettent d'observer en temps réel le développement de la racine au microscope ainsi que de moduler la composition et le débit de la solution nutritive à laquelle elle est exposée (Grossmann *et al.*, Plant Cell, 2011, 23: 4234-4240). Cet outil permettra de visualiser dans quels tissus et quelles cellules l'influx de nitrate se produit lorsque l'on expose les plantes au nitrate après une carence. Ces expériences seront d'abord menées sur des plantes de type sauvage puis sur des mutants des transporteurs de nitrate exprimant le nanosenseur fluorescent.

APPROCHES METHODOLOGIQUES :

Microscopie de fluorescence, analyse d'image, culture in vitro, biologie moléculaire, microfluidique, initiation à la microfabrication