

Proposition de stage de Master 2 – 2027

Mécanismes de production par la machinerie ESCRT des vésicules extracellulaires produites par un champignon phytopathogène

Mots clés : Vésicules extracellulaires (VE), champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, machinerie ESCRT (Endosomal Sorting Complexes Required for Transport), systèmes biomimétiques, microscopie d'imagerie de durée de vie de fluorescence (FLIM)

Profil du candidat : Nous recherchons pour ce projet un(e) candidat(e) très motivé(e) ayant des connaissances et des compétences en microbiologie, biochimie et microscopie. Les candidats doivent être capables de travailler en équipe et posséder de bonnes aptitudes à la communication et à la rédaction. Le stage débutera en janvier 2027 et durera 6 mois.

Description du projet : Les **vésicules extracellulaires (VE)** fongiques sont des particules nanométriques entourées d'une bicouche lipidique et transportant des biomolécules. Elles jouent un rôle clé dans la communication intercellulaire et sont impliquées dans de nombreuses pathologies chez les animaux, les plantes et les champignons. Malgré leur importance, les mécanismes régissant **leur formation, leur libération et leur passage à travers l'épaisse paroi cellulaire fongique** demeurent largement méconnus. Ce projet vise à révéler les **mécanismes moléculaires contrôlant la formation et la libération des VE fongiques**, en se concentrant sur **la tension membranaire** et sur le rôle de **la machinerie ESCRT**, un ensemble de protéines essentiel chez les mammifères pour le bourgeonnement membranaire et la biogenèse des corps multivésiculaires. Notre hypothèse est que **la régulation de la tension membranaire du champignon conditionne la formation des VE**, et que **la tension des VE elles-mêmes influence leur capacité à franchir la paroi cellulaire**. Pour tester cette hypothèse, nous combinerons la génération de mutants de délétion de la protéine ESCRT *snf7* dans le champignon, l'analyse quantitative des VE purifiées par NTA (Nanoparticle Tracking Analysis), permettant de mesurer leur taille et leur concentration, avec la mesure de la tension membranaire par microscopie FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy) dans des cellules vivantes, afin de suivre les dynamiques membranaires associées à la production et à la libération des VE. **Le stage s'inscrit dans une approche interdisciplinaire et multi-échelle, combinant dynamique membranaire dans des cellules vivantes, isolement et caractérisation de VE, et systèmes biomimétiques in vitro.** L'objectif final est de déterminer **le rôle de la protéine ESCRT *snf7*** dans la formation, la libération et la mécanique membranaire des VE, en reliant les mesures de tension membranaire obtenues par FLIM aux variations de quantité et de distribution de taille des VE révélées par NTA.

Présentation de l'équipe de recherche et du partenaire : L'équipe de recherche ECCP (Effectors of Cellular Communication at the fungal-Plant interface) étudie les maladies fongiques des plantes. Les principaux objectifs de ce groupe sont de comprendre (1) le mode d'action et les cibles végétales des effecteurs fongiques et (2) les mécanismes de communication entre les champignons et les plantes. Guillaume Dupuis, partenaire du projet, est maître de conférences à l'Université Paris-Saclay. Son équipe de l'ISMO à Orsay a une expertise en biologie cellulaire et en imagerie des structures intracellulaires à l'aide de la microscopie à super-résolution.

Méthodes utilisées pendant le stage :

- Microbiologie: croissance de souches mutées de champignons phytopathogènes
- Biochimie: purification et caractérisation des VE par analyse de suivi des nanoparticules (NTA)
- Microscopie : microscopie d'imagerie de durée de vie (FLIM)

Références :

- 2022 - **Rutter, B. D. et al.** The development of extracellular vesicle markers for the fungal phytopathogen *Colletotrichum higginsianum*. *J. Extracell. Vesicles*
- 2026 - **Kumakura, N. et al.** Dihydroxyhexanoic acid biosynthesis controls turgor in pathogenic fungi. *Science*

Lieu : INRAE UR BIOGER, Campus Agro Paris-Saclay, Université Paris-Saclay, 22 Place de l'Agronomie, Palaiseau

Contacts : Julien Pernier, julien.pernier@inrae.fr et Margot Magnier, margot.magnier@inrae.fr