

**APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026
CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant**

Formulaire à compléter et déposer par les porteurs du projet de thèse HDR via l'adresse mail suivante :
ed658@univ-amu.fr OU/ET romane.haddadi@univ-amu.fr

MERCI DE METTRE EN SUJET DU MAIL : Concours ED 658 2026 porteur de projet

Ces dossiers seront publiés pour que les candidats postulent.

au plus tard le 3 mars 2026.

INTITULÉ DU PROJET

Rôle de la séparation de phase liquide-liquide du facteur de transcription STOP1 dans la tolérance d'Arabidopsis au pH acide et à l'aluminium.

Role of liquid-liquid phase separation of the STOP1 transcription factor in Arabidopsis tolerance to acidic pH and aluminium.

1- Directrice ou directeur de thèse HDR

NOM	LONGHI	Prénom	Sonia
Téléphone portable	0611498642	Courriel	sonia.longhi@univ-amu.fr

Unité de recherche (UR) de rattachement

Code (acronyme et n°) de l'UR à AMU :	AFMB, UMR 7257
---------------------------------------	----------------

Nom de l'UR :	Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques
---------------	---

Directrice ou directeur de l'UR

Nom	REGUERA	Prénom	Juan
-----	---------	--------	------

2- Codirectrice ou codirecteur de thèse, le cas échéant

NOM	DESNOS	Prénom	Thierry
Téléphone portable		Courriel	thierry.desnos@cea.fr

Unité de recherche (UR) de rattachement

Code (acronyme et n°) de l'UR à AMU :	BIAM, UMR 7265
---------------------------------------	----------------

Nom de l'UR :	Institut de Biosciences et Biotechnologies d'Aix-Marseille
---------------	--

Directrice ou directeur de l'UR

Nom	PIGNOL	Prénom	David
-----	--------	--------	-------

SPECIALITE : (Rayer les mentions inutiles)

~~Bio-informatique et Génomique~~ / ~~Biochimie Structurale~~ / ~~Biologie du Cancer~~ / ~~Biologie du Développement~~ / ~~Biologie Végétale~~ / ~~Biotechnologie~~ / ~~Immunologie~~ / ~~Microbiologie et interactions hôte pathogènes~~ / ~~Neurosciences~~

SOUS JURY POUR LE CONCOURS : (Rayer les mentions inutiles)

JURY 1 : BIOLOGIE-CELLULAIRE

JURY 2 : MICROBIOLOGIE – GENOMIQUE

JURY 3 : NEUROSCIENCES

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

MERCI DE REMPLIR TOUTES LES INFORMATIONS EN FRANÇAIS ET EN ANGLAIS

Description de la problématique de recherche : STOP1 (Sensitive To Proton rhizotoxicity1) est un facteur de transcription (TF) spécifique du phylum vert, des algues aux plantes à fleurs d'intérêt agronomique comme le maïs et le blé. Le gène STOP1 de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* orchestre la tolérance aux faibles pH et à l'Al. STOP1 est un TF responsable de la tolérance non seulement aux faibles pH et à l'Al, mais aussi à plusieurs autres stress abiotiques. Les mutants d'*A. thaliana* dépourvus d'activité STOP1 sont extrêmement sensibles au H⁺ et à l'Al³⁺, ce qui est principalement dû à un déficit dans l'expression dépendante de STOP1 des transporteurs d'efflux de petits acides organiques chélateurs de métaux au niveau des racines. Le pH et les métaux régulent post-transcriptionnellement l'abondance de la protéine STOP1. Le mécanisme par lequel le pH acide et l'Al stimulent la voie de signalisation STOP1 n'est pas connu. Des expériences récentes menées par le groupe de T. Desnos ont montré que STOP1 est sensible au pH intracellulaire et non au pH extracellulaire (manuscrit en cours de révision). Ainsi, l'hypothèse la plus simple sur le mécanisme par lequel la signalisation STOP1 détecte le pH serait que la protéine STOP1 elle-même est le détecteur. STOP1 contient trois régions prédites intrinsèquement désordonnées (IDR) représentant 55 % de la séquence de STOP1. Comme attendu pour les IDRs, très peu de mutations faux-sens dans les IDRs de STOP1 ont été isolées à partir de cribles génétiques. Ces rares mutations réduisent fortement l'activité transcriptionnelle de STOP1 (non publié), démontrant que les IDRs de STOP1 sont fonctionnellement cruciales et que même une seule mutation ponctuelle peut réduire drastiquement l'activité de STOP1.

Les modifications post-traductionnelles (PTM) peuvent réguler l'état conformationnel des IDRs. Plusieurs PTM (phosphorylation, ubiquitination et sumoylation) des IDRs de STOP1 ont été rapportées. Certaines d'entre elles modifient l'abondance de STOP1, mais leur impact sur la conformation et la fonction des IDRs est inconnu. La grande flexibilité conformationnelle et la multivalence des IDR les rendent très susceptibles de subir une séparation de phase liquide-liquide (LLPS). Chez les eucaryotes, y compris chez *A. thaliana*, les TF sont enrichis en IDR. On sait que les régulateurs transcriptionnels se compartimentent par le biais de la séparation de phase liquide-liquide. Leur condensation peut soit stimuler leur activité en les concentrant avec des composants de la machinerie de transcription, soit au contraire les inactiver par séquestration. Il est important de noter que la séparation de phase de certaines protéines contenant des IDR dépend du pH cellulaire. L'analyse *in silico* de la séquence de STOP1 indique que ses trois IDR contiennent de multiples régions promotrices de la formation gouttelettes qui pourraient conduire à la LLPS. Notre hypothèse de travail est que STOP1 subit une LLPS en réponse à une diminution du pH et que les condensats résultants déclenchent l'expression du/des gène(s) cible(s). L'objectif de ce projet est de caractériser la séparation de phase liquide-liquide des IDRs de STOP1 pour comprendre leur rôle dans la réponse racinaire au pH et à l'Al.

Les trois IDR seront exprimées dans *E. coli* et les protéines purifiées qui en résulteront seront caractérisées *in vitro* en termes de propriétés conformationnelles et de capacités à subir des séparations de phase. La capacité *in planta* de STOP1 à subir une LLPS induite par le pH et l'Al sera évaluée par microscopie confocale en utilisant des fusions STOP1-GFP. Des mutants de STOP1 seront également conçus, exprimés transitoirement dans *N.benthamiana* et leur capacité à subir une LLPS sera évaluée. Ce projet, en montrant de manière expérimentale les capacités de STOP1 à subir une LLPS, constituera une avancée dans notre compréhension des mécanismes moléculaires qui sous-tendent l'activité de cette classe de TFs végétaux, avec le potentiel de dévoiler un nouveau mécanisme de régulation.

Project description : STOP1 (Sensitive To Proton rhizotoxicity1) is a transcription factor (TF) specific of the green phylum from algae to flowering plants of agronomic interest like maize and wheat. STOP1 from the model plant

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Arabidopsis thaliana is a master gene for tolerance to low-pH and Al. STOP1 (Sensitive To Proton rhizotoxicity1) is a transcription factor (TF) responsible for tolerance not only to low-pH and Al but also to several other abiotic stresses. *A. thaliana* mutants lacking STOP1 activity are extremely sensitive to H⁺ and Al³⁺, with this being mainly due to a deficit in the STOP1-dependent expression of root efflux transporters of small metal-chelating organic acids. pH and metals post-transcriptionally regulate the abundance of the STOP1 protein. The mechanism by which acidic pH and Al stimulate the STOP1 signaling pathway remain elusive. Recent experiments in T.Desnos's group have shown that STOP1 is sensitive to intracellular pH and not to extracellular pH (under revision). Thus, the simplest hypothesis on the mechanism by which the STOP1 signaling senses the pH would be that the STOP1 protein itself is the sensor. STOP1 contains three predicted intrinsically disordered regions (IDRs) accounting for 55 % of the STOP1 sequence. As expected for IDRs, very few missense mutations in STOP1 IDRs have been isolated from genetics screens. These mutations strongly reduce the transcriptional activity of STOP1 (unpublished), demonstrating that STOP1 IDRs are functionally crucial and that even a single point mutation can drastically reduce STOP1 activity.

Posttranslational modifications (PTMs) can regulate conformational state of IDRs. Several PTMs (phosphorylation, ubiquitination and sumoylation) of STOP1 IDRs have been reported. Some of these alter STOP1 abundance, but their impact on the conformation and function of the IDRs are unknown.

The high conformational flexibility and multivalency of IDRs render them highly prone to undergo liquid-liquid phase separation (LLPS). In eukaryotes, including *A. thaliana*, TFs are enriched in IDRs. Transcriptional regulators are known to sub-compartmentalize via LLPS. Their condensation can either stimulate their activity by concentrating them with components of the transcription machinery or, on the contrary, inactivates them by sequestration. Importantly, phase-separation of certain IDR-containing proteins depends on the cellular pH. *In silico* analysis of the STOP1 sequence indicates that its three IDRs contain multiple droplet-promoting regions that could drive LLPS. Our working hypothesis is that STOP1 undergoes LLPS in response to a decrease in pH and that the resulting condensates trigger expression of the target gene(s). The aim of this project is to characterize the liquid-liquid phase separation of STOP1 IDRs in order to understand their role in the root response to pH and Al.

The three IDRs will be expressed in *E. coli* and the resulting purified proteins will be characterized *in vitro* in terms of their conformational properties and phase-separating abilities. The ability of STOP1 to undergo pH- and Al-induced LLPS *in planta* will be assessed by confocal microscopy using GFP-STOP1 fusions. STOP1 mutants will also be designed, transiently expressed in *N.benthamiana* and then assessed for their ability to undergo LLPS. Finally, mutations of interest in IDRs will be transferred to *Arabidopsis* to assess their impact on STOP1 behavior in root cells and response to pH and Al.

This project, by shedding light on the potential phase-separating abilities of STOP1, will constitute a breakthrough in our understanding of the molecular mechanisms underlying the activity of this class of plant TFs with the potential to unveil a new regulatory mechanism.

Mots clés : Protéines intrinsèquement désordonnées ; Séparations de phase liquide-liquide (LLPS) ; Facteurs de transcription ; *Arabidopsis thaliana* ; stress abiotiques, pH acide et aluminium.

Keywords: Intrinsically Disordered Proteins, Liquid-liquid phase separation (LLPS) ; Transcription factors ; *Arabidopsis thaliana* ; abiotic stresses ; acidic pH and aluminium.

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

Thématique : Relations entre désordre intrinsèque, séparations de phase liquide-liquide et mécanismes de régulation de la transcription

Domaine : Biochimie structurale, biophysique, biologie végétale

Contexte : Le groupe de Sonia Longhi étudie les protéines et régions protéiques intrinsèquement désordonnées (IDPs et IDRs) [1]. En particulier, il a une expertise dans leur identification par des méthodes *in silico* [2] et dans leur caractérisation expérimentale par un ensemble d'approches biochimiques et biophysiques [3]. Depuis quelques années le groupe s'intéresse également aux phénomènes de séparation de phase liquide-liquide (LLPS) qui impliquent très souvent des IDPs ou IDRs du fait de leur faible complexité de séquence, multivalence et flexibilité conformationnelle extrême [4,5]. Les facteurs de transcription sont connus pour être enrichis en IDRs [6] et capables de subir des LLPS [7,8]. Ces condensats issus de LLPS seraient responsables de la capacité des facteurs de transcription à former des compartiments nucléaires, et ces derniers seraient responsables de leur spécificité [9].

Le groupe de Thierry Desnos a identifié par génétique classique l'implication de STOP1 d'*Arabidopsis* dans l'inhibition de la croissance racinaire en condition de carence en phosphate [10], un nutriment essentiel à la croissance des plantes. Il a aussi montré l'importance du fer et de l'aluminium (en condition de pH < 6,5) dans cette inhibition [10, 11, 12]. En particulier, au moyen de la microscopie confocale, il a démontré que leur effet passe par une modulation de l'abondance de la protéine STOP1 dans le noyau des cellules [13]. En collaboration avec L. Blanchard (BIAM), il a montré le rôle d'une SUMO-ligase dans la régulation de STOP1 [14]. Dans un travail en cours de révision, il a montré que l'origine du pH qui régule STOP1 est intracellulaire, et non pas extracellulaire. Ceci suggère de nouvelles hypothèses quant à l'effet régulateur du pH sur la protéine STOP1, en particulier la LLPS.

Dans le cadre d'un projet collaboratif en cours L. Blanchard (BIAM), l'équipe de N. Sibille (CBS, Montpellier) et T. Desnos caractérisent les deux domaines structurés de STOP1 (domaine coil-coiled et domaine de fixation à l'ADN ; non publié). Ce projet de thèse s'inscrit donc dans une approche plus large d'étude de la fonction de STOP1 par dissection de domaines.

Theme : Relationships between intrinsic disorder, liquid–liquid phase separation, and mechanisms of transcriptional regulation

Field : Structural biochemistry, biophysics, plant biology

Context : The group led by Sonia Longhi studies intrinsically disordered proteins and protein regions (IDPs and IDRs) [1]. In particular, the group has expertise in their identification using *in silico* methods [2] and in their experimental characterization through a wide range of biochemical and biophysical approaches [3]. Over the past few years, the group has also started studying liquid–liquid phase separation (LLPS) phenomena, which very often involve IDPs or IDRs due to their low sequence complexity, multivalency, and extreme conformational flexibility [4,5]. Transcription factors are known to be enriched in IDRs [6] and to be able to undergo LLPS [7,8]. Condensates resulting from LLPS are thought to underlie the ability of transcription factors to form nuclear compartments, and this compartmentalization would in turn be responsible for their specificity [9].

Through classical genetics, the group led by Thierry Desnos showed the involvement of *Arabidopsis thaliana* STOP1 in the inhibition of root growth under conditions of deficiency in phosphate [10], an essential nutrient for plant growth. The group also demonstrated the importance of iron and aluminum (at pH < 6.5) in this inhibition [10,11,12]. In particular, using confocal microscopy, they showed that this effect is mediated by modulation of STOP1 protein abundance in the nuclei of cells [13]. In collaboration with L. Blanchard (BIAM), they demonstrated the role of a SUMO ligase in the regulation of STOP1 [14]. In a manuscript currently under revision, they showed that the pH regulating STOP1 is of intracellular rather than extracellular origin. This finding suggests new hypotheses regarding the regulatory effect of pH on the STOP1 protein, in particular through LLPS.

Within the framework of an ongoing collaborative project, L. Blanchard (BIAM), the team of N. Sibille (CBS, Montpellier), and T. Desnos are jointly characterizing the two structured domains of STOP1 (the coiled-coil domain

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

and the DNA-binding domain; unpublished). This PhD project therefore is part of a broader approach aimed at studying STOP1 function through domain dissection.

Objectifs : Vérifier de manière expérimentale l'état désordonné et la capacité à subir des LLPS des IDR du STOP1 dans le but ultime d'élucider le rôle du désordre et des processus de LLPS dans la fonction de ce facteur de transcription.

Résultats attendus : Informations sur les propriétés conformationnelles et sur la capacité à subir des séparations de phase liquide-liquide (LLPS) des régions désordonnées de STOP1 *in vitro*. Élaboration des déterminants moléculaires de la LLPS et en particulier effet du pH, de la concentration en Al, de modifications post-traductionnelles (notamment phosphorylation), et de la modulation de la stabilité d'éléments de structure secondaires fluctuants au sein des IDR. Analyse de la capacité de STOP1 à subir des LLPS *in planta* et impact fonctionnel sur la capacité des racines à tolérer les stress de pH acide et d'Al.

Objectives: To experimentally verify the disordered state and the ability to undergo LLPS of the STOP1 IDRs, with the ultimate goal of elucidating the role of intrinsic disorder and LLPS processes in the function of this transcription factor.

Expected results: Information on the conformational properties and the ability of intrinsically disordered regions of STOP1 to undergo liquid-liquid phase separation (LLPS) *in vitro*. Elucidation of the molecular determinants of LLPS, in particular the effects of pH, aluminum concentration, post-translational modifications (notably phosphorylation), and modulation of the stability of fluctuating secondary structure elements within the IDRs. Analysis of STOP1 ability to undergo LLPS *in planta* and the functional impact on root tolerance to acidic pH and aluminum stress.

Méthode : Approches déployées au laboratoire AFMB sous la supervision de S. Longhi: Des constructions plasmidiques codant pour ces régions protéiques (aussi bien *wt* que mutées) seront exprimées chez *E. coli*, les protéines recombinantes purifiées à l'aide d'une étiquette hexahistidine, et leur état conformationnel sera caractérisé par protéolyse limitée, gel filtration (GF) analytique, dichroïsme circulaire (CD), et diffusions des rayons X aux petits angles (SAXS). Leur capacité à former des condensats par LLPS sera analysée par des mesures de turbidité et par microscopie optique. La nature liquide des condensats sera déterminée par FRAP.

Approches déployées au laboratoire BIAM sous la supervision de T. Desnos: les mutations intéressantes des IDRs (cf. ci-dessus) seront introduites dans STOP1 fusionnée à la GFP (et sous contrôle du promoteur de STOP1) puis exprimées transitoirement dans les feuilles de *N. benthamiana* ou transférées de façon stable chez un mutant nul *stop1* pour tester la complément fonctionnelle. L'abondance de la GFP-STOP1 dans les plantes obtenues sera évaluée par Western blot [16] et la fluorescence GFP sera observée au microscope confocal et comparée à celle de la construction WT [13]. Pour détecter d'éventuels condensats dans les noyaux cellulaires, nous utiliserons les objectifs 40x et 63x et des plantules ayant poussé en présence/absence d'Al à pH acide/neutre. Des expériences de FRAP seront réalisées sur ces condensats.

Method: Approaches implemented in the AFMB laboratory under the supervision of S. Longhi: Plasmid constructs encoding these protein regions (both wild-type and mutated forms) will be expressed in *E. coli*. Recombinant proteins will be purified using a hexahistidine tag, and their conformational state will be characterized by limited proteolysis, analytical gel filtration (GF), circular dichroism (CD), and small-angle X-ray scattering (SAXS). Their ability to form condensates through LLPS will be analyzed by turbidity measurements and optical microscopy. The liquid nature of the condensates will be assessed by FRAP.

Approaches implemented in the BIAM laboratory under the supervision of T. Desnos: Relevant mutations within the IDRs (see above) will be introduced into GFP-tagged STOP1 (under the control of the STOP1 promoter) and transiently

APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026 CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant

expressed in *Nicotiana benthamiana* leaves or stably introduced into a stop1 null mutant to test functional complementation. The abundance of GFP–STOP1 in the resulting plants will be evaluated by Western blotting [16], and GFP fluorescence will be observed by confocal microscopy and compared with that of the WT construct [13]. To detect potential condensates in cell nuclei, 40× and 63× objectives will be used, and seedlings grown in the presence or absence of AI under acidic or neutral pH conditions will be analyzed. FRAP experiments will be performed on these condensates.

Références bibliographiques

1. Habchi J et al. (2014) Chem Rev. PMID:24739139
2. Tamburrini K et al. (2022) Methods Mol Biol. PMID: 35507260
3. Schramm A et al. (2019) Arch Biochem Biophys. PMID: 31356778
4. Uversky VN. (2017) Adv Colloid Interface Sci. PMID:27291647
5. Uversky VN. (2017) Curr Opin Struct Biol. PMID:27838525
6. Brodsky S et al. (2021) Curr Opin Struct Biol. PMID:34303077
7. Cai D et al. (2019) Nat Cell Biol. PMID:31792379
8. Ahn JH et al. (2021) Nature. PMID:34163069
9. Tsai A et al. (2020) Development. PMID:33020073
10. Balergue C. et al. (2017) Nat Commun. PMID: 28504266
11. Svistoonoff S et al. (2007) Nat Genet. PMID: 17496893
12. Wang X et al. (2019) Plant Physiol. PMID: 30420567
13. Godon C et al. (2019) Plant J. PMID: 31034704
14. Mercier C et al. (2021) Plant J. PMID: 34612534

Conditions scientifiques matérielles et financières du projet de recherche : Le laboratoire AFMB est habilité pour travailler avec des OGM. Toute l'infrastructure et l'équipement nécessaire pour la réalisation de ce projet sont déjà disponibles au laboratoire. Ce dernier bénéficie d'une plateforme de biologie structurale intégrative (<https://www.afmb.univ-mrs.fr/facility/biologie-structurale/>) ainsi que d'un accès privilégié aux sources synchrotron (pour les études par SAXS) grâce à une Beam Allocation Group (BAG).

Le BIAM est aménagé pour la culture de plantes OGM en sol et *in vitro*. La plateforme de microscopie (<https://www.cite-des-energies.fr/biam/plateformes-technologiques/zoom/equipements/>) comprend un microscope confocal (Zeiss LSM980) et un microscope inversé équipé d'un Spinning disk (Zeiss Axio-observer Z1).

Les équipes d'accueil disposent d'un financement récurrent (CNRS & CEA) et d'un financement spécifique (projet ANR Plant-IDR ANR-25-CE11-3123-01 coordonné par T. Desnos) permettant d'assurer les dépenses de fonctionnement de ce projet.

L'étudiant.e effectuera une partie de ses travaux à l'AFMB (études *in vitro*) et une partie au BIAM (études *in planta*).

Scientific, material, and financial conditions of the research project: The AFMB laboratory is authorized to work with genetically modified organisms (GMOs). All the infrastructure and equipment required for the implementation of this project are already available within the laboratory. The laboratory also benefits from an integrative structural biology platform (<https://www.afmb.univ-mrs.fr/facility/biologie-structurale/>) and from a privileged access to synchrotron sources (for SAXS studies) via a Beam Allocation Group.

The BIAM is equipped for the cultivation of GMO plants in soil and *in vitro*. Its microscopy platform (<https://www.cite-des-energies.fr/biam/plateformes-technologiques/zoom/equipements/>) includes a confocal microscope (Zeiss LSM980) and an inverted microscope equipped with a spinning disk (Zeiss Axio-Observer Z1).

**APPEL A PROJETS DE THÈSE 2026
CONCOURS DE L'ED 658 – Sciences du vivant**

The host teams receive recurrent funding (CNRS and CEA) as well as specific funding (ANR project Plant-IDR ANR-25-CE11-3123-01 coordinated by T. Desnos), ensuring coverage of the operating costs of this project.
The student will carry out part of his/her work at the AFMB (*in vitro* studies) and part at the BIAM (*in planta* studies).

Profil et compétences recherchées

Connaissances théoriques et pratiques en biochimie (expression chez *E. coli* et purification de protéines recombinantes). Connaissances théoriques sur les protéines intrinsèquement désordonnées et les séparations de phase liquide-liquide. Connaissances théoriques en dichroïsme circulaire et/ou diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS).

Profile and skills required

Theoretical and practical knowledge in biochemistry (expression in *E. coli* and purification of recombinant proteins). Theoretical (and ideally also practical) knowledge on intrinsically disordered proteins and liquid-liquid phase separations. Theoretical knowledge in circular dichroism and/or small-angle X-ray scattering and confocal microscopy.