(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

COURBEVOIE

(11) **N° de publication :** ***3 141 176***

(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **22 10832**

(51) Int Cl[8] : ***C 07 K 14/00*** *(2023.01), C 07 K 5/04, 7/04, 14/415, C 12 N 15/11, 15/82, 15/29, A 01 H 5/00, A 01 N 37/18, 37/44, C 12 N 15/113*

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 19.10.22.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 26.04.24 Bulletin 24/17.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire :** *Se reporter à la fin du présent fascicule*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

◯ **Demande(s) d'extension :**

(71) **Demandeur(s) :** *Université Toulouse III - Paul Sabatier Etablissement Public à caractère Scientifique, Culturel et Professionnel (EPSCP)* — FR et *Centre National de la Recherche Scientifique Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique (EPST)* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** COMBIER Jean-Philippe, GUILLOTIN Bruno et LAURESSERGUES Dominique.

(73) **Titulaire(s) :** Université Toulouse III - Paul Sabatier Etablissement Public à caractère Scientifique, Culturel et Professionnel (EPSCP), Centre National de la Recherche Scientifique Etablissement Public à caractère Scientifique et Technologique (EPST).

(74) **Mandataire(s) :** GROSSET-FOURNIER & DEMACHY.

(54) NOUVEAUX PEPTIDES ET LEUR UTILISATION POUR MODULER L'ACCUMULATION D'UNE PROTEINE.

(57) TITRE : NOUVEAUX PEPTIDES ET LEUR UTILISATION POUR MODULER L'ACCUMULATION D'UNE PROTEINE

La présente invention concerne de nouveaux peptides (cPEPs), leur procédé de préparation et leur utilisation pour moduler l'accumulation de protéines spécifiques.

(pas de figure)

FR 3 141 176 - A1

Description

Titre de l'invention : NOUVEAUX PEPTIDES ET LEUR UTILISATION POUR MODULER L'ACCUMULATION D'UNE PROTEINE

DOMAINE DE L'INVENTION

[0001] La présente invention concerne de nouveaux peptides (cPEPs), leur procédé de préparation et leur utilisation pour moduler l'accumulation de protéines spécifiques.

ART ANTERIEUR

[0002] De manière générale, les peptides sont de courtes séquences de 2 à environ 100 acides aminés. Il s'agit souvent de molécules très actives, comme par exemple des hormones ou des composés de venins.

[0003] Chez les plantes, les peptides remplissent de nombreuses fonctions biologiques, telles que le développement ou les mécanismes de défense. Dans la mesure où la détection des peptides est relativement difficile, seul un nombre limité de peptides a été identifié, sous-estimant probablement la quantité et le rôle des peptides chez ces organismes.

[0004] La plupart des peptides caractérisés chez les plantes résulte vraisemblablement de la dégradation de protéines fonctionnelles. Toutefois, il a été montré que les transcrits primaires de microARNs (miRs) des plantes contiennent en réalité de petits cadres ouverts de lecture (miORFs) codant des peptides régulateurs, appelés miPEPs (Lauressergues D *et al. Primary transcripts of microRNAs encode regulatory peptides*. Nature. 2015 Apr 2 ;520(7545):90-3.). Les miPEPs sont produits au même endroit que les miRs d'où ils proviennent et permettent d'améliorer la transcription des pri-miRs correspondants. L'activité d'un miPEP est très spécifique du miR correspondant, permettant de sur-réguler le miR choisi sans affecter l'expression des autres miRs. L'utilisation de miPEPs peut permettre de moduler l'expression d'un gène, si celui-ci est régulé par un miR, lui-même régulé par un miPEP (WO 2015/063431).

BREF APERÇU

[0005] Dans ce contexte, la présente invention offre un moyen universel, et facilement exploitable, pour moduler spécifiquement l'accumulation d'une protéine choisie chez une plante à l'aide d'un peptide non naturel, c'est-à-dire un peptide qui n'est pas naturellement produit par la plante.

[0006] L'un des aspects de l'invention est de proposer un procédé de préparation et de détermination d'un peptide « cPEP » capable de moduler l'accumulation (l'expression) d'une protéine spécifique dans une cellule végétale. Un second aspect de l'invention est de proposer un procédé de modulation de l'accumulation d'une protéine chez une plante à l'aide d'un cPEP. Un troisième aspect de l'invention est de proposer

l'utilisation d'un cPEP pour moduler l'accumulation d'une protéine chez une plante. Un quatrième aspect de l'invention est de proposer un procédé pour favoriser, ralentir ou empêcher le développement d'une plante. Un cinquième aspect de l'invention est de proposer des peptides cPEP permettant de moduler l'accumulation d'une protéine chez une plante. D'autres aspects complémentaires de l'invention concernent un acide nucléique codant un cPEP, des compositions comprenant un cPEP et des plantes modifiées ou transgéniques comprenant un cPEP.

DESCRIPTION DETAILLEE

[0007] Dans un premier aspect, l'invention concerne un procédé de préparation et de détermination d'un cPEP, ledit cPEP :

- ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés ;
- étant capable de moduler l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale ; et
- n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine,

[0008] ledit procédé comprenant :

[0009] a. une étape de détermination de la séquence d'acides nucléiques de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine ;

[0010] b. une étape de détermination au sein de ce pré-ARNm d'une des séquences d'acides nucléiques réputées non codantes ;

[0011] c. une étape de détermination au sein de cette séquence d'acides nucléiques réputée non codante d'un fragment de celle-ci,

[0012] ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides, n étant compris de 4 à 70, en particulier n étant compris de 4 à 41 ;

[0013] d. une étape de production du peptide codé par ledit fragment ; et

[0014] e. une étape de comparaison :

- entre l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale en présence dudit peptide et l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale de même type en absence dudit peptide ; et/ou
- entre le phénotype d'une plante en présence dudit peptide et le phénotype d'une plante de même type en absence dudit peptide,

[0015] dans laquelle :

- une différence de la quantité de ladite protéine en présence dudit peptide par rapport à la quantité de ladite protéine en absence dudit peptide ; et/ou
- une différence du phénotype en présence dudit peptide par rapport au phénotype en absence dudit peptide,

[0016] indique que ledit peptide est un cPEP capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale.

[0017] La présente invention repose sur la constatation inattendue faite par les Inventeurs qu'il est possible de moduler spécifiquement l'accumulation d'une protéine à l'aide d'un peptide particulier non produit naturellement, dont la séquence correspond à la traduction (artificielle) d'un fragment de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine, ledit fragment étant choisi sur une des séquences d'acides nucléiques réputées non codantes dudit pré-ARNm.

[0018] Dans l'invention, le terme « cPEP » (*complementary peptide*) désigne un peptide capable de moduler spécifiquement l'accumulation d'une protéine une fois introduit dans une cellule végétale.

[0019] Selon l'invention, un cPEP n'est pas présent naturellement dans une cellule végétale. Cela signifie que la cellule végétale contient l'information du cPEP mais ne contient pas la séquence nucléique capable de permettre son expression. Seule la séquence peptidique du cPEP peut être déduite à partir de la séquence de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine dont on veut moduler l'accumulation.

[0020] Un cPEP n'est présent dans une cellule végétale qu'une fois que celui-ci y a été introduit sous la forme d'un peptide ou sous la forme d'un acide nucléique codant ledit peptide.

[0021] La spécificité du cPEP vis-à-vis d'une protéine cible (d'un gène cible) est déterminée par sa séquence d'acides aminés. En effet, la séquence d'un cPEP correspond à la traduction *in silico* (artificielle) en acides aminés d'un fragment de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine, ledit fragment étant choisi sur une des séquences d'acides nucléiques réputées non codantes dudit pré-ARNm. En particulier, ledit fragment a une taille inférieure à celle de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite.

[0022] La séquence peptidique d'un cPEP peut donc être déterminée à partir d'un fragment de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine en appliquant, dès le premier nucléotide dudit fragment, le code génétique attribuant à chaque triplet de nucléotides un acide aminé spécifique (AUC = Isoleucine, ACA = Thréonine, *etc.*).

[0023] Dans l'invention, le fragment du pré-ARNm utilisé pour déterminer la séquence du cPEP peut être choisi dans les trois cadres de lecture existants sur la séquence du pré-ARNm. En d'autres termes, un fragment peut être sélectionné dans les cadres de lecture +1, +2 ou +3. Sur ce point, il est possible que les trois des cadres de lecture contiennent l'information d'un cPEP comme il est possible que seulement un des trois des cadres de lecture (le +1, le +2 ou le +3) ou deux des trois des cadres de lecture (le +1 et le +2, le +1 et le +3, ou le +2 et le +3) contiennent l'information d'un cPEP.

[0024] Dans l'invention, le terme « cadre de lecture » désigne le regroupement des nu-

cléotides constituant une séquence d'acides nucléiques en triplets (ou codons) consécutifs, qui se succèdent sans interruption ni recouvrement.

[0025] D'une manière générale, les cPEPs ont une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, notamment une taille comprise de 5 à 40 acides aminés, de 7 à 20 acides aminés ou plus particulièrement une taille comprise de 8 à 15 acides aminés. Par conséquent, la séquence d'un cPEP correspond à la traduction d'un fragment compris de 4 à 70 triplets de nucléotides, en particulier compris de 4 à 41 triplets de nucléotides, notamment d'un fragment compris de 5 à 40 triplets de nucléotides, de 7 à 20 triplets de nucléotides ou plus particulièrement d'un fragment compris de 8 à 15 triplets de nucléotides.

[0026] En d'autres termes, la séquence d'un cPEP correspond à la traduction en acides aminés d'un fragment de « 3*n* » nucléotides du pré-ARNm de la protéine cible, *n* étant compris de 4 à 70, en particulier *n* étant compris de 4 à 70, en particulier compris de 4 à 41, notamment compris de 5 à 40, de 7 à 20 ou plus particulièrement compris de 8 à 15.

[0027] Par exemple, si *n* est égal à 5, le cPEP a une taille de 5 acides aminés et correspond à la traduction d'un fragment de 15 (= 3 x 5) nucléotides. Par exemple, si *n* est égal à 40, le cPEP a une taille de 40 acides aminés et correspond à la traduction d'un fragment de 120 (= 3 x 40) nucléotides. Par exemple, si *n* est égal à 70, le cPEP a une taille de 70 acides aminés et correspond à la traduction d'un fragment de 210 (= 3 x 70) nucléotides. *Etc.*

[0028] Les cPEPs ont une taille de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 ou 70 acides aminés, et correspondent respectivement à la traduction de fragments de 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54, 57, 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87, 90, 93, 96, 99, 102, 105, 108, 111, 114, 117, 120, 123, 126, 129, 132, 135, 138, 141, 144, 147, 150, 153, 156, 159, 162, 165, 168, 171, 174, 177, 180, 183, 186, 189, 192, 195, 198, 201, 204, 207 ou 210 nucléotides.

[0029] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment a une taille de 3*n* nucléotides, *n* étant compris :

- de 4 à 41 ;
- de 5 à 40 ;
- de 7 à 20 ; ou
- de 8 à 15.

[0030] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit peptide a une

taille choisie parmi : 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 et 70 acides aminés.

[0031] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP a une taille inférieure à celle de ladite protéine (*i.e.* celle dont le cPEP module l'accumulation).

[0032] Comme indiqué plus haut, les cPEPs ont la capacité de moduler spécifiquement l'accumulation d'une protéine sans que l'accumulation de l'ARNm lui correspondant soit impacté. Autrement dit, l'ajout d'un cPEP dans une cellule végétale ne modifie pas la quantité d'ARNm permettant d'exprimer la protéine qu'il a la capacité de réguler, mais seulement la quantité de ladite protéine.

[0033] Selon l'invention, le terme « protéine » désigne une séquence d'acides aminés dont l'information est codée par un gène présent sur le génome d'une cellule végétale. Par « gène », on désigne donc, notamment, la séquence d'acide nucléique nécessaire à la synthèse de ladite protéine. Aussi, un gène comprend davantage que les nucléotides codant la séquence d'acides aminés de la protéine. Par exemple, un gène inclut les séquences d'ADN nécessaires à la synthèse d'un pré-messager (pré-ARNm), lequel est ensuite maturé par la machinerie cellulaire en un ARN messager (ARNm). Ce dernier peut alors être traduit, *via* les ribosomes, en une protéine.

[0034] Au vu de ce qui précède, on comprend que l'ARN pré-messager (pré-ARNm) n'a pas subi d'épissage et est susceptible de contenir des introns, tandis que l'ARN messager (ARNm) mature peut avoir subi un épissage et ne contient que des exons.

[0035] Pour préparer un cPEP capable de moduler l'accumulation d'une protéine, il convient de traduire un fragment de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine afin obtenir la séquence dudit cPEP, lequel fragment est choisi dans une séquence d'acides nucléiques du pré-ARNm réputée non codante (*e.g.* introns, partie 5'-UTR ou partie 3'-UTR).

[0036] Dans l'invention, la « modulation » de l'accumulation d'une protéine désigne soit une augmentation de l'accumulation de ladite protéine (*i.e.* une augmentation de la quantité de protéine dans la cellule végétale), soit une diminution de l'accumulation de ladite protéine (*i.e.* une diminution de la quantité de protéine dans la cellule végétale). Autrement dit, un mode de réalisation de l'invention a pour objet le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite modulation de l'accumulation de ladite protéine induite par ledit cPEP est :

- une diminution de l'accumulation de ladite protéine ; ou
- une augmentation de l'accumulation de ladite protéine.

[0037] L'augmentation et la diminution de l'accumulation de ladite protéine peuvent être

mesurées et suivies à l'aide de méthodes bien connues de l'homme du métier, telles que le couplage de la protéine à un marqueur *via* l'utilisation de cassettes d'expression particulières, ou un Western blot.

[0038] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel à l'étape e., la quantité de protéine en présence dudit peptide est supérieure à la quantité de protéine en absence dudit peptide. En d'autres termes, en présence d'un cPEP favorisant l'augmentation de l'accumulation de la protéine, la traduction de l'ARNm correspondant est augmentée, ce qui conduit à une production plus importante de la protéine sans que soit modifiée la quantité dudit ARNm.

[0039] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel à l'étape e., la quantité de protéine en présence dudit peptide est inférieure à la quantité de protéine en absence dudit peptide. En d'autres termes, en présence d'un cPEP favorisant la diminution de l'accumulation de la protéine, la traduction de l'ARNm correspondant est diminuée (inhibée), ce qui conduit à une production moins importante de la protéine sans que soit modifiée la quantité dudit ARNm.

[0040] Dans l'invention, comme le fragment du pré-ARNm codant ledit cPEP est situé au sein d'une des séquences d'acides nucléiques du pré-ARNm réputées non codantes, cela signifie d'une part que ces séquences d'acides nucléiques réputées non codantes ne sont pas traduites naturellement dans ladite cellule végétale. D'autre part, cela signifie également que le fragment du pré-ARNm codant ledit cPEP n'est pas traduit naturellement dans ladite cellule végétale. L'existence d'un cPEP au sein de ladite cellule végétale est donc artificielle et a pour origine une action de l'Homme. Pour cela, il est possible soit d'introduire artificiellement ledit cPEP en tant que tel, soit d'introduire une cassette d'expression comprenant la séquence d'acides nucléiques codant ledit cPEP et les moyens de l'exprimer dans ladite cellule végétale.

[0041] Dans l'invention, une région du pré-ARNm qui n'est pas traduite naturellement, également qualifiée de « non codante », correspond à une région du pré-ARNm qui ne code aucune partie de la protéine fonctionnelle du gène, c'est-à-dire la protéine codée par le cadre ouvert de lecture principal dont on souhaite moduler l'accumulation.

[0042] Dans l'invention, les termes « cadre ouvert de lecture » et « ORF » (*open reading frame*) sont équivalents et peuvent être utilisés l'un pour l'autre. Ils correspondent à une séquence de nucléotides (acides nucléiques) dans une molécule d'ADN ou d'ARN pouvant potentiellement coder un peptide ou une protéine : ledit cadre ouvert de lecture débute par un codon START (le codon START codant généralement une méthionine), suivi d'une série de codons (chaque codon codant un acide aminé), et se termine par un codon STOP (le codon STOP n'étant pas traduit).

[0043] De manière non limitative, une région non codante d'un pré-ARNm, *i.e.* une des séquences d'acides nucléiques réputées non codantes, correspond à :

- la région 5'UTR, *i.e.* la région non traduite située en amont de l'ORF principal ;
- la région 3'UTR, *i.e.* la région non traduite située en aval de l'ORF principal ; ou
- un intron, *i.e.* une région du pré-ARNm supprimée par épissage et absente de l'ARNm mature.

[0044] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant :

- la région 5'UTR ;
- la région 3'UTR ; ou
- un intron.

[0045] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant la région 5'UTR ou la région 3'UTR. Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant la région 5'UTR. Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant la région 3'UTR. Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant un intron.

[0046] Dans l'invention, la séquence d'un cPEP est déterminée en effectuant une traduction (artificielle) d'un fragment du pré-ARNm de la protéine dont on veut moduler l'accumulation, ledit fragment étant choisi sur la séquence non codante d'acides nucléiques. Aussi, une même séquence non codante d'acides nucléiques dans ladite cellule végétale peut donner des cPEPs différents selon le fragment du pré-ARNm choisi. Par ailleurs, ce même fragment du pré-ARNm peut lui aussi donner des cPEPs différents selon le cadre de lecture utilisé pour le traduire (artificiellement), *i.e.* selon le regroupement des nucléotides de la séquence en triplets consécutifs. En effet et comme précédemment mentionné, une traduction peut être réalisée dans les trois cadres de lecture différents conduisant ainsi à potentiellement trois cPEPs différents.

[0047] Selon l'invention, le cadre de lecture ''+1'' correspond au cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation de la protéine, *i.e.* le codon START du cadre ouvert de lecture

utilisé naturellement pour la traduction de l'ARNm, lequel sert de référence pour identifier le cadre de lecture +1 du pré-ARNm. En d'autres termes, dans le cas d'un fragment du pré-ARNm correspondant à une région non codante et traduit artificiellement selon le cadre de lecture +1, ce dernier correspond à celui permettant la traduction de l'ARNm.

[0048] Les cadres de lecture ''+2'' et ''+3'' correspondent à des cadres de lecture décalés. Selon l'invention, le cadre de lecture ''+2'' correspond au cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture +1. Selon l'invention, le cadre de lecture ''+3'' correspond au cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture +1.

[0049] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0050] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0051] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0052] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0053] On comprend donc qu'un cPEP, selon les modes de réalisation ci-dessus, comprend soit un codon AUG (et pas de codon STOP), soit un codon STOP (et pas de codon AUG), soit aucun de ces deux éléments. En l'espèce, c'est l'homme du métier qui ajoute si besoin l'élément manquant ou ces éléments manquants pour permettre, de manière non limitative, soit de produire *in vitro* un cPEP par le biais, par exemple, d'un microorganisme puis de l'utiliser (dans une composition par exemple), soit d'en introduire la séquence et les moyens de l'exprimer *via* un vecteur dans une cellule de

plante ou une plante.

[0054] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0055] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0056] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0057] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0058] Bien qu'un cPEP, selon les modes de réalisation ci-dessus, comprenne un codon AUG et/ou un codon STOP, il convient de rappeler que le peptide issu de la traduction *in silico* du fragment du pré-ARNm de la protéine dont on souhaite moduler l'accumulation n'existe pas naturellement dans une cellule de plante ou une plante.

[0059] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0060] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de déter-

mination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0061] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide hydrophobe ou un peptide hydrophile. En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide hydrophobe. Par « peptide hydrophobe », on entend un peptide dont la séquence en acides aminés comprend plus de 50 % d'acides aminés hydrophobes. Par « plus de 50 % », on entend que la séquence en acides aminés comprend plus de 55 %, plus de 60 %, plus de 65 %, plus de 70 %, plus de 75 % ou plus de 80 % d'acides aminés hydrophobes. Par « plus de 50 % », on entend également que la séquence en acides aminés comprend au moins 51 %, au moins 56 %, au moins 61 %, au moins 66 %, au moins 71 %, au moins 76 % ou au moins 81 % d'acides aminés hydrophobes. Par « acides aminés hydrophobes », on entend les acides aminés choisis parmi : alanine (Ala / A), isoleucine (Ile / I), leucine (Leu / L), méthionine (Met / M), phénylalanine (Phe / F), tryptophane (Trp / W), tyrosine (Tyr / Y) et valine (Val / V).

[0062] En particulier, l'invention concerne également le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide hydrophile. Par « peptide hydrophile », on entend un peptide dont la séquence en acides aminés comprend plus de 50 % d'acides aminés hydrophiles. Par « plus de 50 % », on entend que la séquence en acides aminés comprend plus de 55 %, plus de 60 %, plus de 65 %, plus de 70 %, plus de 75 % ou plus de 80 % d'acides aminés hydrophiles. Par « plus de 50 % », on entend également que la séquence en acides aminés comprend au moins 51 %, au moins 56 %, au moins 61 %, au moins 66 %, au moins 71 %, au moins 76 % ou au moins 81 % d'acides aminés hydrophiles. Par « acides

aminés hydrophiles », on entend les acides aminés choisis parmi : acide aspartique (Asp / D), acide glutamique (Glu / E), arginine (Arg / R), asparagine (Asn / N), glutamine (Gln / Q), histidine (His / H), lysine (Lys / K), sérine (Ser / S) et thréonine (Thr / T).

[0063] Un cPEP dont la séquence correspond à la traduction d'un fragment situé dans une région non codante du pré-ARNm a une séquence différente de celle d'un fragment de la protéine naturellement codée par ledit pré-ARNm.

[0064] Selon l'invention, la séquence d'un cPEP est déterminée en effectuant une traduction d'un fragment du pré-ARNm. Un même fragment de ce pré-ARNm peut donc donner des cPEPs différents selon le cadre de lecture utilisé pour la traduction (+1, +2 ou +3), *i.e.* selon le regroupement des nucléotides de la séquence en triplets consécutifs.

[0065] Dans un mode de réalisation particulier, l'invention a pour objet un procédé de préparation et de détermination d'un cPEP, ledit cPEP :

- ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 71 acides aminés ;
- étant capable de moduler l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale ; et
- n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine,

[0066] ledit procédé comprenant :

[0067] a. une étape de détermination de la séquence d'acides nucléiques de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine ;

[0068] b. une étape de détermination au sein de ce pré-ARNm d'une des séquences d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron), et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon) ;

[0069] c. une étape de détermination au sein de cette séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës d'un fragment de celle-ci,

[0070] ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides susceptible d'être traduite *via* le code génétique en un peptide, n étant compris de 4 à 70, en particulier n étant compris de 4 à 41 ;

[0071] d. une étape de production dudit peptide ; et

[0072] e. une étape de comparaison :

- entre l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale en présence dudit peptide et l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale de même type en absence dudit peptide ; et/ou

- entre le phénotype d'une plante en présence dudit peptide et le phénotype d'une plante de même type en absence dudit peptide,

[0073] dans laquelle :

- une différence de la quantité de ladite protéine en présence dudit peptide par rapport à la quantité de ladite protéine en absence dudit peptide ; et/ou
- une différence du phénotype en présence dudit peptide par rapport au phénotype en absence dudit peptide,

[0074] indique que ledit peptide est un cPEP capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale.

[0075] Selon l'invention, un cPEP peut être produit par tout type de moyens accessibles à l'homme du métier.

[0076] De manière non limitative, un cPEP peut être produit aussi bien par synthèse, que par expression recombinante dans des systèmes homologues ou hétérologues. Le cPEP ainsi produit peut ensuite être introduit dans une cellule pour moduler l'accumulation d'une protéine cible.

[0077] De manière non limitative, il est également possible de produire un cPEP directement dans la cellule végétale contenant la protéine cible, en introduisant artificiellement dans celle-ci un acide nucléique (tel qu'un vecteur d'expression) codant ledit cPEP.

[0078] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel, à l'étape d., la production dudit peptide est réalisée par synthèse peptidique ou par expression recombinante.

[0079] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel, à l'étape d., la production dudit peptide est réalisée à l'aide d'un acide nucléique codant ledit peptide introduit dans une cellule.

[0080] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel, à l'étape e., la production dudit peptide est réalisée à l'aide d'un acide nucléique codant ledit peptide introduit dans ladite cellule végétale ou dans ladite plante.

[0081] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne un procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel, à l'étape e., ledit peptide est mis en contact avec ladite cellule végétale ou dans ladite plante.

[0082] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel, à l'étape e., ledit peptide est présent dans ladite cellule végétale ou dans ladite plante suite à l'expression d'un acide nucléique codant ledit peptide dans ladite cellule végétale ou dans ladite plante.

[0083] Au vu de ce qui précède, on comprend qu'un autre mode de réalisation de l'invention a pour objet le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel, à l'étape e., la présence dudit peptide dans ladite cellule végétale ou dans ladite plante résulte :

- de l'introduction d'une séquence d'acides nucléiques codant ledit peptide et comprenant les moyens de l'exprimer ; ou
- de l'introduction d'une séquence d'acides aminés correspondant audit peptide.

[0084] Un cPEP peut être utilisé pour moduler l'accumulation d'une protéine présente naturellement (*i.e.* endogène) ou non (*i.e.* exogène) dans ladite cellule végétale ou dans ladite plante.

[0085] Une « protéine naturellement présente dans une cellule végétale ou dans une plante » correspond à une protéine endogène codée par un gène présent sur le génome de la cellule végétale ou de la plante sans qu'il y ait eu nécessité d'intervention directe ou indirecte d'un être humain.

[0086] Une « protéine qui n'est pas naturellement présente dans une cellule végétale ou dans une plante » correspond à une protéine exogène codée par une séquence d'acides nucléiques présente sur le génome de la cellule végétale ou de la plante qui a nécessité l'intervention d'un être humain et l'emploi de moyens connus de l'homme du métier. Une telle séquence d'acides nucléiques peut provenir de la même espèce de plante ou d'une autre espèce de plante.

[0087] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est d'origine endogène dans lesdites cellules végétales ou lesdites plantes utilisées à l'étape e.

[0088] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est d'origine exogène dans lesdites cellules végétales ou lesdites plantes utilisées à l'étape e., lesdites cellules végétales ou lesdites plantes utilisées à l'étape e. comprenant alors une séquence d'acides nucléiques permettant l'expression de ladite protéine.

[0089] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel l'accumulation de ladite protéine est déterminée *via* la mise en œuvre d'une technique choisie parmi : le Western blot, la mesure de l'activité enzymatique, la spectrométrie de masse et la fusion traductionnelle. En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel l'accumulation de ladite protéine est déterminée *via* la mise en œuvre d'un Western blot.

[0090] Les Inventeurs ont constaté de manière surprenante que l'utilisation des cPEPs permet de modifier les phénotypes d'une plante visibles à l'échelle macroscopique. Il

est donc tout à fait possible d'utiliser ces derniers pour affirmer (ou infirmer) que le peptide déterminé aux étapes a., b. et c., et éventuellement produit à l'étape d. est un cPEP (ou non). C'est d'ailleurs ce que permet l'alternative dite de comparaison phénotypique mise en œuvre à l'étape e. Par exemple, si le peptide déterminé sur le pré-ARNm d'une protéine impliquée dans la taille de la tige d'une plante provoque une augmentation, ou une diminution, de la taille de la tige d'une plante traitée avec ce dernier par rapport à une plante non traitée, cela signifie que ledit peptide est un cPEP capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la taille de la tige.

[0091] Dans l'invention, le terme « plante » fait référence de manière générale :

- à un ensemble de cellules végétales organisé en tout ou partie d'une plante quel que soit son stade de développement (y compris la plante sous forme de graine ou de jeune pousse) ;
- à un ou plusieurs organes de la plante (comme par exemple les feuilles, les racines, la tige, les fleurs) ;
- à une ou plusieurs cellules de la plante ; ou encore
- à un amas de cellules de la plante (*e.g.* un cal).

[0092] Dans l'invention, le terme « phénotype » désigne de manière non limitative les caractères visibles à l'échelle macroscopique tel que le nombre de racines latérales, le nombre de feuilles, la taille de la tige, la durée de floraison et la résistance au stress. Dans un mode de réalisation, l'invention concerne par conséquent le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est impliquée dans au moins un phénotype de plante choisi parmi :

- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de feuilles ;
- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de fleurs ;
- la taille de la tige (ou de la hampe florale) ;
- la biomasse racinaire ;
- le nombre, la longueur et le niveau de ramification des racines ;
- la précocité de la germination ;
- la précocité du bourgeonnement ;
- la précocité de l'induction florale (ou transition florale) ;
- la vigueur germinative et la durée de phase juvénile ;
- la durée de la floraison ;
- la résistance à un stress biotique ;
- la résistance à un stress abiotique ; et
- le nombre de cellules.

[0093] Selon l'invention, une protéine est « impliquée dans un phénotype » si une modification de l'accumulation de celle-ci est associée à une modification dudit phénotype. En d'autres termes, une protéine est impliquée dans un phénotype si elle intervient

dans le(s) caractère(s) correspondant audit phénotype.

[0094] Au vu de ce qui précède, on comprend qu'un objet de l'invention est le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel le phénotype observé à l'étape e. est choisi parmi :

- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de feuilles ;
- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de fleurs ;
- la taille de la tige (ou de la hampe florale) ;
- la biomasse racinaire ;
- le nombre, la longueur et le niveau de ramification des racines ;
- la précocité de la germination ;
- la précocité du bourgeonnement ;
- la précocité de l'induction florale (ou transition florale) ;
- la vigueur germinative et la durée de phase juvénile ;
- la durée de la floraison ;
- la résistance à un stress biotique ;
- la résistance à un stress abiotique ; et
- le nombre de cellules.

[0095] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP :

- ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés ;
- étant capable de moduler l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale ; et
- n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine,

[0096] et dans lequel ladite cellule végétale (*i.e.* celle dans laquelle on souhaite moduler l'accumulation d'une protéine) appartient à : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne), *Nicotiana benthamiana* (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0097] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel lesdites cellules végétales ou lesdites plantes utilisées à l'étape e. appartiennent à : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne), *Nicotiana benthamiana* (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0098] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite cellule végétale (*i.e.* celle dans laquelle on souhaite moduler l'accumulation d'une protéine) est une cellule d'une algue.

[0099] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel lesdites cellules végétales ou lesdites plantes utilisées à l'étape e appartiennent à une algue.

[0100] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène choisi parmi : *Aae15 (Acyl-activating enzyme 15), Aae16 (AMP-dependent synthetase and ligase family protein), Abcg11 (White-brown complex-like protein), Abdcg34 (ABC transporter G family member 34), Acc1 (Acetyl-CoA Carboxylase), Agb1 (GTP binding protein beta 1), Als (Acetolactate synthase (chloroplastic)), Anac076 (NAC domain-containing protein 76), Apg9 (Autophagy 9), Arlb1 (GTP-binding protein 1), Arr1 (Two-component response regulator ARR1), Arr5 (Two-component response regulator ARR5), Arr6 (Two-component response regulator ARR6), At59 (Pectate lyase family protein), Bak1 (Brassinosteroid insensitive 1-associated receptor kinase 1), Bccp1 (Acetyl-CoA Carboxylase (chloroplastic) subunit 1), Bccp2 (Acetyl-CoA Carboxylase (chloroplastic) subunit 2), Bri1 (Brassinosteroid insensitive 1), Bzo2h3 (bZIP transcription factor family protein), Cesa6 (Cellulose synthase A catalytic subunit 6), Cipk3 (CBL-interacting protein kinase 3), Cks1 (Cyclin-dependent kinases regulatory subunit 1), Cobl8 (COBRA-like protein 8 precursor), Coi1 (Coronatine-insensitive protein 1), Cpk3 (Calcium-dependent protein kinase 3), Crk34 (Cysteine-rich receptor-like*

protein kinase 34), Cyp705a18 (Cytochrome P450, family 705, subfamily A, polypeptide 18), Cyp71b26 (Cytochrome P450, family 71, subfamily B, polypeptide 26), Cyp78a8 (Cytochrome P450, family 78, subfamily A, polypeptide 8), Cyp97b3 (Cytochrome P450, family 97, subfamily B, polypeptide 3), Dcl1 (Endoribonuclease Dicer homolog 1), Dur3 (Urea-proton symporter DUR3), Ein2 (Ethylene-insensitive protein 2), Emb175 (Pentatricopeptide repeat-containing protein), Emb2726 (Elongation factor Ts family protein), Emb9 (Dihydrofolate synthetase), Epsps (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (chloroplastic)), Fnr1 (Ferredoxin-NADP[+]-oxidoreductase 1), Fve (Transducin family protein / WD-40 repeat family protein), Ga2ox7 (Gibberellin 2-beta-dioxygenase 7), Gapc (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), Gcn2 (ABC transporter family protein), Gdi2 (Guanosine nucleotide diphosphate dissociation inhibitor 2), Gln2 (Glutamine synthetase (chloroplastic)), Gsl3 (Callose synthase 2), Hag5 (Histone acetyltransferase of the MYST family 2), Hda18 (Histone deacetylase 18), Hexo1 (Beta-hexosaminidase 1), Hppd (4-hydroxyphenyl-pyruvate-dioxygenase), Hsl1 (B3 domain-containing transcription repressor VAL2), Iaa31 (Indole-3-acetic acid inducible 31), Iqd28 (IQ-domain 28), Jac1 (J-domain protein required for chloroplast accumulation response 1), Jar1 (Jasmonoyl--L-amino acid synthetase), Kp1 (Kinesin-like protein 1), Lrx2 (Leucine-rich repeat/extensin 2), Mapkkk3 (Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3), Mapkkk5 (Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5), Mfp2 (Multifunctional protein 2), Mrb1 (Transmembrane protein, putative (DUF3537)), Nsp1 (Nodulation signaling pathway 1), Pds (Phytoene desaturase (chloroplastic)), Pen3 (Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase and protein-tyrosine-phosphatase), Phyb (Phytochrome B), Pif3 (Phytochrome interacting factor 3), Pizza (Brassinosteroid-related acyltransferase 1), Ppox1 (Protoporphyrinogen oxidase (chloroplastic) 1), Ppox2 (Protoporphyrinogen oxidase (chloroplastic) 2), Prp39 (Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein), PsbA (Photosystem II D1 protein), Pskr1 (Phytosulfokin receptor 1), Rd21 (Granulin repeat cysteine protease family protein), Ring1 (RING/U-box superfamily protein), Ros1 (DNA glycosylase/AP lyase ROS1), Rpt4a (26S proteasome regulatory subunit 10B homolog A), Sfr6 (Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 16), Shr (Protein SHORT-ROOT), Shy2 (Auxin-responsive protein IAA3), Skl (EIN2-like protein, nramp transporter), Sps1 (Sucrose phosphate synthase 2F), Spt (Transcription factor SPATULA), Stn8 (Serine/threonine-protein kinase), Tap46 (PP2A regulatory subunit TAP46), Topp6 (Serine/threonine-protein phosphatase PP1 isozyme 7), TubB6 (Tubulin), TubB8 (Tubulin), Uba1a (RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family protein), Vim3 (E3 ubiquitin-protein ligase), Sgr1 (Magnesium dechelatase), Abi5

(Abscisic acid (ABA)-insensitive 5), Hsp101 (Heat shock protein 101), Rh10 (ATP-dependent RNA helicase) et *Wus (WUSCHEL).*

[0101] En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène choisi parmi : *Cpk3*, *Dcl1* et *Nsp1*. En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par le gène *Cpk3*. En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par le gène *Dcl1*. En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par le gène *Nsp1*.

[0102] Les gènes *Aae15, Aae16, abcg11, Abdcg34, Acc1, Agb1, Als, Anac076, Apg9, Arlb1, Arr1, Arr5, Arr6, At59, Bak1, Bccp1, Bccp2, Bri1, Bzo2h3, Cesa6, Cipk3, Cks1, Cobl8, Coi1, Cpk3, Crk34, Cyp705a18, Cyp71b26, Cyp78a8, Cyp97b3, Dcl1, Dur3, Ein2, Emb175, Emb2726, Emb9, Epsps, Fnr1, Fve, Ga2ox7, Gapc, Gcn2, Gdi2, Gln2, Gsl3, Hag5, Hda18, Hexo1, Hppd, Hsl1, Iaa31, Iqd28, Jac1, Jar1, Kp1, Lrx2, Mapkkk3, Mapkkk5, Mfp2, Mrb1, Nsp1, Pds, Pen3, Phyb, Pif3, Pizza, Ppox1, Ppox2, Prp39, PsbA, Pskr1, Rd21, Ring1, Ros1, Rpt4a, Sfr6, Shr, Shy2, Skl, Sps1, Spt, Stn8, Tap46, Topp6, TubB6, TubB8, Uba1a, Vim3, Sgr1, Abi5, Hsp101, Rh10* et *Wus* font références aux protéines indiquées entre parenthèses. Bien entendu, l'invention concerne également des gènes homologues et/ou similaires susceptibles de porter des dénominations différentes. Par exemple, chez *A. thaliana* le gène *Gsl3* codant pour la *callose synthase 2* s'appelle également *Cals2*.

[0103] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un ORF comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NO : 1 (ORF de la protéine Aae15, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 2 (ORF de la protéine Aae16, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 3 (ORF de la protéine abcg11, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 4 (ORF de la protéine Abdcg34, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 5 (ORF de la protéine Acc1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 6 (ORF de la protéine Agb1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 7 (ORF de la protéine Als, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 8 (ORF de la protéine Anac076, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 9 (ORF de la protéine Apg9, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 10 (ORF de la protéine Arlb1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 11 (ORF de la protéine Arr1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 12 (ORF de la protéine Arr5, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 13 (ORF de la protéine Arr6, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 14 (ORF de la protéine At59, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 15 (ORF de la protéine Bak1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 16 (ORF de la protéine Bccp1, *A. thaliana*), SEQ ID

NO : 17 (ORF de la protéine Bccp2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 18 (ORF de la protéine Bri1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 19 (ORF de la protéine Bzo2h3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 20 (ORF de la protéine Cesa6, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 21 (ORF de la protéine Cipk3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 22 (ORF de la protéine Cks1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 23 (ORF de la protéine Cobl8, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 24 (ORF de la protéine Coi1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 25 (ORF de la protéine Coi1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 26 (ORF de la protéine Cpk3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 27 (ORF de la protéine Cpk3, *A. hypochondriacus*), SEQ ID NO : 28 (ORF de la protéine Cpk3, *B. distachyon*), SEQ ID NO : 29 (ORF de la protéine Cpk3, *B. distachyon*), SEQ ID NO : 30 (ORF de la protéine Cpk3, *G. max*), SEQ ID NO : 31 (ORF de la protéine Cpk3, *G. max*), SEQ ID NO : 32 (ORF de la protéine Cpk3, *G. max*), SEQ ID NO : 33 (ORF de la protéine Cpk3, *G. max*), SEQ ID NO : 34 (ORF de la protéine Cpk3, *O. sativa*), SEQ ID NO : 35 (ORF de la protéine Cpk3, *O. sativa*), SEQ ID NO : 36 (ORF de la protéine Cpk3, *S. lycopersicum*), SEQ ID NO : 37 (ORF de la protéine Cpk3, *Z. mays*), SEQ ID NO : 38 (ORF de la protéine Cpk3, *Z. mays*), SEQ ID NO : 39 (ORF de la protéine Cpk3, *Z. mays*), SEQ ID NO : 40 (ORF de la protéine Cpk3, *B. rapa*), SEQ ID NO : 41 (ORF de la protéine Cpk3, *B. rapa*), SEQ ID NO : 42 (ORF de la protéine Cpk3, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 43 (ORF de la protéine Cpk3, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 44 (ORF de la protéine Cpk3, *S. tuberosum*), SEQ ID NO : 45 (ORF de la protéine Cpk3, *A. palmeri*), SEQ ID NO : 46 (ORF de la protéine Cpk3, *M. truncatula*), SEQ ID NO : 47 (ORF de la protéine Cpk3, *M. truncatula*), SEQ ID NO : 48 (ORF de la protéine Cpk3, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 49 (ORF de la protéine Cpk3, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 50 (ORF de la protéine Cpk3, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 51 (ORF de la protéine Cpk3, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 52 (ORF de la protéine Cpk3, *L. perenne*), SEQ ID NO : 53 (ORF de la protéine Cpk3, *L. perenne*), SEQ ID NO : 54 (ORF de la protéine Cpk3, *L. perenne*), SEQ ID NO : 55 (ORF de la protéine Cpk3, *L. perenne*), SEQ ID NO : 56 (ORF de la protéine Crk34, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 57 (ORF de la protéine Cyp705a18, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 58 (ORF de la protéine Cyp71b26, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 59 (ORF de la protéine Cyp78a8, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 60 (ORF de la protéine Cyp97b3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 61 (ORF de la protéine Dcl1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 62 (ORF de la protéine Dcl1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 63 (ORF de la protéine Dcl1, *A. hypochondriacus*), SEQ ID NO : 64 (ORF de la protéine Dcl1, *B. distachyon*), SEQ ID NO : 65 (ORF de la protéine Dcl1, *G. max*), SEQ ID NO : 66 (ORF de la protéine Dcl1, *G. max*), SEQ ID NO : 67 (ORF de la protéine Dcl1, *O. sativa*), SEQ ID NO : 68 (ORF de la protéine Dcl1, *S. lycopersicum*), SEQ ID NO : 69 (ORF de la protéine Dcl1, *Z. mays*), SEQ ID NO : 70 (ORF de la protéine Dcl1, *B. rapa*), SEQ ID NO : 71 (ORF de la protéine Dcl1, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 72 (ORF de la protéine Dcl1, *S. tuberosum*), SEQ ID NO : 73 (ORF de la protéine

Dcl1, *M. truncatula*), SEQ ID NO : 74 (ORF de la protéine Dcl1, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 75 (ORF de la protéine Dcl1, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 76 (ORF de la protéine Dcl1, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 77 (ORF de la protéine Dcl1, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 78 (ORF de la protéine Dcl1, *L. perenne*), SEQ ID NO : 79 (ORF de la protéine Dcl1, *L. perenne*), SEQ ID NO : 80 (ORF de la protéine Dur3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 81 (ORF de la protéine Ein2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 82 (ORF de la protéine Emb175, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 83 (ORF de la protéine Emb2726, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 84 (ORF de la protéine Emb9, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 85 (ORF de la protéine Epsps, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 86 (ORF de la protéine Fnr1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 87 (ORF de la protéine Fve, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 88 (ORF de la protéine Ga2ox7, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 89 (ORF de la protéine Gapc, *N. benthamiana*), SEQ ID NO : 90 (ORF de la protéine Gcn2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 91 (ORF de la protéine Gdi2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 92 (ORF de la protéine Gln2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 93 (ORF de la protéine Gsl3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 94 (ORF de la protéine Hag5, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 95 (ORF de la protéine Hda18, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 96 (ORF de la protéine Hexo1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 97 (ORF de la protéine Hppd, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 98 (ORF de la protéine Hsl1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 99 (ORF de la protéine Iaa31, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 100 (ORF de la protéine Iqd28, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 101 (ORF de la protéine Jac1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 102 (ORF de la protéine Jar1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 103 (ORF de la protéine Kp1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 104 (ORF de la protéine Lrx2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 105 (ORF de la protéine Mapkkk3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 106 (ORF de la protéine Mapkkk5, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 107 (ORF de la protéine Mfp2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 108 (ORF de la protéine Mrb1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 109 (ORF de la protéine Nsp1, *M. truncatula*), SEQ ID NO : 110 (ORF de la protéine Nsp1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 111 (ORF de la protéine Nsp1, *B. distachyon*), SEQ ID NO : 112 (ORF de la protéine Nsp1, *G. max*), SEQ ID NO : 113 (ORF de la protéine Nsp1, *G. max*), SEQ ID NO : 114 (ORF de la protéine Nsp1, *O. sativa*), SEQ ID NO : 115 (ORF de la protéine Nsp1, *S. lycopersicum*), SEQ ID NO : 116 (ORF de la protéine Nsp1, *S. lycopersicum*), SEQ ID NO : 117 (ORF de la protéine Nsp1, *Z. mays*), SEQ ID NO : 118 (ORF de la protéine Nsp1, *Z. mays*), SEQ ID NO : 119 (ORF de la protéine Nsp1, *Z. mays*), SEQ ID NO : 120 (ORF de la protéine Nsp1, *Z. mays*), SEQ ID NO : 121 (ORF de la protéine Nsp1, *B. rapa*), SEQ ID NO : 122 (ORF de la protéine Nsp1, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 123 (ORF de la protéine Nsp1, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 124 (ORF de la protéine Nsp1, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 125 (ORF de la protéine Nsp1, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 126 (ORF de la protéine Nsp1, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 127 (ORF de la protéine Nsp1, *H. vulgare*), SEQ ID NO : 128 (ORF de la protéine Nsp1, *H. vulgare*), SEQ ID

NO : 129 (ORF de la protéine Nsp1, *S. tuberosum*), SEQ ID NO : 130 (ORF de la protéine Nsp1, *S. tuberosum*), SEQ ID NO : 131 (ORF de la protéine Nsp1, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 132 (ORF de la protéine Nsp1, *T. aestivum*), SEQ ID NO : 133 (ORF de la protéine Nsp1, *L. perenne*), SEQ ID NO : 134 (ORF de la protéine Nsp1, *L. perenne*), SEQ ID NO : 135 (ORF de la protéine Pds, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 136 (ORF de la protéine Pen3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 137 (ORF de la protéine Phyb, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 138 (ORF de la protéine Pif3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 139 (ORF de la protéine Pizza, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 140 (ORF de la protéine Ppox1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 141 (ORF de la protéine Ppox2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 142 (ORF de la protéine Prp39, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 143 (ORF de la protéine PsbA, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 144 (ORF de la protéine Pskr1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 145 (ORF de la protéine Rd21, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 146 (ORF de la protéine Ring1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 147 (ORF de la protéine Ros1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 148 (ORF de la protéine Rpt4a, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 149 (ORF de la protéine Sfr6, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 150 (ORF de la protéine Shr, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 151 (ORF de la protéine Shy2, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 152 (ORF de la protéine Skl, *M. truncatula*), SEQ ID NO : 153 (ORF de la protéine Sps1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 154 (ORF de la protéine Spt, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 155 (ORF de la protéine Stn8, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 156 (ORF de la protéine Tap46, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 157 (ORF de la protéine Topp6, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 158 (ORF de la protéine TubB6, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 159 (ORF de la protéine TubB8, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 160 (ORF de la protéine Uba1a, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 161 (ORF de la protéine Vim3, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 171 (ORF de la protéine Sgr1, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 172 (ORF de la protéine Abi5, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 173 (ORF de la protéine Hsp101, *A. thaliana*), SEQ ID NO : 174 (ORF de la protéine Rh10, *M. truncatula*) et SEQ ID NO : 175 (ORF de la protéine Wus, *A. thaliana*).

[0104] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un ORF comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0105] En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne le

procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0106] Par « pourcentage d'identité » entre deux séquences d'acides nucléiques (ou d'acides aminés), on entend un pourcentage de nucléotides (ou de résidus d'acides aminés) identiques entre les deux séquences à comparer, obtenu après le meilleur alignement. Ce pourcentage est purement statistique et les différences entre les deux séquences sont réparties au hasard sur toute la longueur des séquences. Le meilleur alignement (ou alignement optimal) est l'alignement pour lequel le pourcentage d'identité entre les deux séquences à comparer, comme calculé ci- après, est le plus élevé. Les comparaisons de séquences entre deux séquences d'acides nucléiques (ou d'acides aminés) sont traditionnellement réalisées en comparant ces séquences après les avoir alignées de manière optimale, ladite comparaison étant réalisée par segment ou par fenêtre de comparaison pour identifier et comparer les régions locales de similarité de séquence. L'alignement optimal des séquences pour la comparaison peut être réalisé manuellement ou au moyen d'algorithmes et de logiciels à la disposition de l'homme de l'art, par exemple, la plateforme BLAST ou le programme MatGat (Campanella, Bitincka and Smalley, 2003).

[0107] Le pourcentage d'identité entre deux séquences est déterminé en comparant ces deux séquences alignées de manière optimale par fenêtre de comparaison dans laquelle la région de la séquence à comparer peut comprendre des additions ou des délétions par rapport à la séquence de référence pour un alignement optimal entre ces deux séquences. Le pourcentage d'identité est calculé en déterminant le nombre de positions identiques pour lesquelles le nucléotide (ou l'acide aminé) est identique entre les deux séquences, en divisant ce nombre de positions identiques par le nombre total de positions dans la fenêtre de comparaison et en multipliant le résultat obtenu par 100.

[0108] Au sens de l'invention, il est entendu dans l'invention que des séquences présentant « au moins 80% d'identité » avec une séquence de référence peuvent notamment présenter au moins 80%, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % ou 100 % avec ladite séquence de référence.

[0109] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de dé-

termination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 1 à 161 et 171 à 175. Dans un mode de réalisation, l'invention concerne également le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0110] En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0111] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé de préparation et de détermination d'un cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la séquence dudit peptide est choisie parmi les séquences : SEQ ID NO : 162 (NSP1-5'UTR-11), SEQ ID NO : 163 (NSP1-5'UTR-5) et SEQ ID NO : 164 (NSP1-3'UTR).

[0112] Dans un deuxième aspect, l'invention a pour objet un cPEP tel qu'obtenu par la mise en œuvre du procédé tel que décrit précédemment. Selon ce même aspect, l'invention a également pour objet un cPEP, de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,

[0113] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0114] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que précédemment décrit, ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides, n étant compris :

- de 4 à 41 ;
- de 5 à 40 ;
- de 7 à 20 ; ou
- de 8 à 15.

[0115] Autrement dit, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP comprenant 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25,

26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 ou 70 acides aminés.

[0116] En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP comprenant de 5 à 40 acides aminés En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP comprenant de 7 à 20 acides aminés. En particulier, l'invention concerne également le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP comprenant de 8 à 15 acides aminés

[0117] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la taille dudit cPEP est inférieure à celle de ladite protéine.

[0118] Dans l'invention, la séquence d'acides nucléiques portant l'information peptidique du cPEP est choisie dans une région qui n'est pas traduite naturellement dans ladite cellule végétale. De manière non limitative, elle correspond à :

- la région 5'UTR, *i.e.* la région non traduite située en amont de l'ORF principal ;
- la région 3'UTR, *i.e.* la région non traduite située en aval de l'ORF principal ; ou
- un intron, *i.e.* une région du pré-ARNm supprimée par épissage et absente de l'ARNm mature.

[0119] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ladite séquence d'acides nucléiques réputées non codantes étant :

- la région 5'UTR ;
- la région 3'UTR ; ou
- un intron.

[0120] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant la région 5'UTR ou la région 3'UTR. Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant la région 5'UTR. Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant la région 3'UTR. Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, l'une desdites séquences d'acides nucléiques réputées non codantes étant un intron.

[0121] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment étant dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0122] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0123] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment étant dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0124] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0125] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment comprenant :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0126] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0127] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment comprenant :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0128] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0129] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0130] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0131] Dans un mode de réalisation, l'invention a pour objet un cPEP, de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques d'un pré-ARNm d'une protéine, ladite séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron) ; et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon),

[0132] ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides, n étant compris de 4 à 70, en particulier n étant compris de 4 à 41, et ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0133] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est capable d'augmenter l'accumulation de ladite protéine dans ladite cellule végétale.

[0134] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est capable diminuer l'accumulation de ladite protéine dans ladite cellule végétale.

[0135] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide synthétique.

[0136] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide isolé.

[0137] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide recombinant.

[0138] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant un peptide hydrophobe ou un peptide hydrophile.

[0139] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est naturellement présente dans ladite cellule végétale.

[0140] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine n'est pas présente naturellement dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un transgène introduit artificiellement dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un vecteur introduit artificiellement dans ladite cellule végétale.

[0141] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite cellule végétale appartient à : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne), *Nicotiana benthamiana* (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0142] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite cellule végétale est une cellule d'une algue.

[0143] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène choisi parmi les gènes : *Aae15, Aae16, abcg11, Abdcg34, Acc1, Agb1, Als, Anac076, Apg9, Arlb1, Arr1, Arr5, Arr6, At59, Bak1, Bccp1, Bccp2, Bri1, Bzo2h3, Cesa6, Cipk3, Cks1, Cobl8, Coi1, Cpk3, Crk34, Cyp705a18, Cyp71b26, Cyp78a8, Cyp97b3, Dcl1, Dur3, Ein2, Emb175, Emb2726, Emb9, Epsps, Fnr1, Fve, Ga2ox7, Gapc, Gcn2, Gdi2, Gln2, Gsl3, Hag5, Hda18, Hexo1, Hppd, Hsl1, Iaa31, Iqd28, Jac1, Jar1, Kp1, Lrx2, Mapkkk3, Mapkkk5,*

Mfp2, Mrb1, Nsp1, Pds, Pen3, Phyb, Pif3, Pizza, Ppox1, Ppox2, Prp39, PsbA, Pskr1, Rd21, Ring1, Ros1, Rpt4a, Sfr6, Shr, Shy2, Skl, Sps1, Spt, Stn8, Tap46, Topp6, TubB6, TubB8, Uba1a, Vim3, Sgr1, Abi5, Hsp101, Rh10 et *Wus*.

[0144] En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène choisi parmi les gènes : *Cpk3*, *Dcl1* et *Nsp1*. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par le gène *Cpk3*. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par le gène *Dcl1*. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par le gène *Nsp1*.

[0145] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 1 à 161 et 171 à 175.

[0146] En particulier, l'invention concerne l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1). En particulier, l'invention concerne également le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne également le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne également le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0147] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 1 à 161 et 171 à 175. L'invention concerne notamment le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs :

61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0148] En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0149] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la séquence dudit peptide est choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 162 à 164.

[0150] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est impliquée dans au moins un phénotype de plante choisi parmi :

- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de feuilles ;
- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de fleurs ;
- la taille de la tige (ou de la hampe florale) ;
- la biomasse racinaire ;
- le nombre, la longueur et le niveau de ramification des racines ;
- la précocité de la germination ;
- la précocité du bourgeonnement ;
- la précocité de l'induction florale (ou transition florale) ;
- la vigueur germinative et la durée de phase juvénile ;
- la durée de la floraison ;
- la résistance à un stress biotique ;
- la résistance à un stress abiotique ; et
- le nombre de cellules.

[0151] Dans l'invention, un cPEP peut être fusionné ou lié à une ou plusieurs molécules facilitant l'entrée du cPEP dans la cellule. Parmi ces molécules, on peut notamment citer des peptides pénétrants (Numata, K., *et al. Library screening of cell-penetrating peptide for BY-2 cells, leaves of Arabidopsis, tobacco, tomato, poplar, and rice callus.* Sci Rep 8, 10966 (2018).) et l'acide palmitique. Par « peptide pénétrant » (ci-après CPP), on entend des peptides de petite taille pénétrant les bicouches lipidiques cellulaires ou déstabilisent les membranes cellulaires. Les CPP peuvent être classés en trois groupes : cationiques, amphipathiques et hydrophobes. En particulier :

- les CPP cationiques contiennent de nombreux acides aminés chargés positivement, tels que la lysine (Lys) et l'arginine (Arg) ;

- les CPP amphipathiques sont généralement composés d'une séquence alternée d'acides aminés polaires et non polaires ; et
- les CPP hydrophobes se composent d'acides aminés non polaires avec des charges nettes relativement faibles.

[0152] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant fusionné à un peptide facilitant son entrée dans la cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant fusionné à un peptide pénétrant.

[0153] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant fusionné à l'extrémité N-terminale ou à l'extrémité C-terminale avec ledit peptide facilitant son entrée dans la cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant fusionné à l'extrémité N-terminale ou à l'extrémité C-terminale avec ledit peptide pénétrant.

[0154] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant fusionné avec :

– le peptide TAT (SEQ ID NO : 170) ;
– la pénétratine ;
– un peptide polyhistidine (notamment un peptide d'au moins 4 résidus histidine) ; ou
– un peptide polyarginine (notamment un peptide de 4 résidus arginine).

[0155] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant lié à une ou plusieurs molécules d'acide palmitique.

[0156] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le cPEP tel que décrit précédemment, ledit cPEP étant lié à l'extrémité N-terminale ou à l'extrémité C-terminale à une ou plusieurs molécules d'acide palmitique.

[0157] Sur ce point, il convient de noter que la quantité de cPEP nécessaire pour moduler l'accumulation d'une protéine peut varier selon que le cPEP soit ou non modifié avec l'une des molécules facilitant sa pénétration cellulaire.

[0158] Dans un troisième aspect, l'invention a pour objet un acide nucléique codant un cPEP tel que décrit précédemment. Selon ce même aspect, l'invention a également pour objet un acide nucléique de $3n$ nucléotides, lequel acide nucléique correspond à un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine.

[0159] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment étant dépourvu :

– du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
– d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0160] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0161] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment étant dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0162] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0163] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment comprenant :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0164] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0165] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, ledit fragment comprenant :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0166] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0167] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0168] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne l'acide nucléique cPEP tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0169] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne un acide nucléique de $3n$ nucléotides, lequel acide nucléique correspond à un fragment d'une séquence d'acides nucléiques d'un pré-ARNm d'une protéine, ladite séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron) ; et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon).

[0170] En particulier, l'invention concerne l'acide nucléique tel que décrit précédemment, où n est compris :

- de 4 à 70 ;
- de 4 à 41 ;
- de 5 à 40 ;
- de 7 à 20 ; ou
- de 8 à 15.

[0171] Dans un autre aspect, l'invention concerne une composition comprenant un cPEP tel que décrit ci-dessus en tant que substance active.

[0172] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne une composition comprenant un cPEP en tant que substance active, ledit cPEP :

- ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41

acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine, ledit fragment ayant une taille de 3*n* nucléotides, *n* étant compris de 4 à 70, en particulier *n* étant compris de 4 à 41 ; et

– étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0173] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

– du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
– d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0174] et dans lequel ledit fragment est choisi :

– soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
– soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0175] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

– du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
– d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0176] et dans lequel ledit fragment est choisi :

– soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
– soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0177] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

– un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
– un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0178] et dans lequel ledit fragment est choisi :

– soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
– soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0179] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

– un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et

– un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0180] et dans lequel ledit fragment est choisi :

– soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;

– soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0181] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0182] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0183] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne une composition comprenant un cPEP en tant que substance active, ledit cPEP :

– ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques d'un pré-ARNm d'une protéine, ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides, n étant compris de 4 à 70, en particulier n étant compris de 4 à 41, et ladite séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron) ; et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon) ; et

– étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0184] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est à une concentration comprise de 10^{-9} M à 10^{-3} M. Sur ce point, il convient de noter d'une part que la composition de l'invention n'existe pas à l'état naturel et ceci est d'autant plus vrai qu'une telle concentration en cPEP ne peut exister au sein d'une cellule végétale. De plus et par « concentration comprise de 10^{-9} M à 10^{-3} M », on entend que la concentration en cPEP peut être comprise de 10^{-9} à 10^{-4} M, de 10^{-8} à 10^{-4} M, de 10^{-9} à 10^{-5} M, de 10^{-8} à 10^{-5} M, comme elle peut être comprise de 5 µM à 500 µM, de 30 µM à 70 µM, ou encore être de 50 µM.

[0185] En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est à une concentration comprise de 10^{-9} à 10^{-4} M, de 10^{-8} à 10^{-4} M, de 10^{-9} à 10^{-5} M ou de 10^{-8} à 10^{-5} M. En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est à une concentration comprise de 5 µM à 500 µM ou de 30 µM à 70 µM. En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est à une concentration de 50 µM. De manière non limitative, cette concentration peut également être de 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M ou 10^{-4} M.

[0186] Au vu de ce qui précède, on comprend que l'invention concerne également la composition telle que décrite précédemment comprenant un cPEP en tant que substance active, ledit cPEP :

– ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine ;
– étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine ; et
– étant notamment à une concentration comprise de 5 µM à 500 µM ou de 30 µM à 70 µM, ou étant notamment à une concentration de 50 µM.

[0187] A noter que par « composition comprenant un cPEP », on entend que la composition de l'invention comprend au moins un cPEP. C'est-à-dire qu'un mélange de cPEPs est

envisageable, lesdits cPEPs pouvant cibler une même protéine ou plusieurs protéines selon le fragment d'acides nucléiques dont ils sont issus. A cet égard, les concentrations susmentionnées concernent soit le mélange de cPEPs en tant que tel, soit chacun des cPEPs dudit mélange, lesdits cPEPs pouvant être à la même concentration ou pouvant être à des concentrations différentes parmi celles citées ci-dessus.

[0188] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition étant une composition phytopharmaceutique, une composition herbicide ou une composition d'enrobage,

[0189] en particulier ladite composition d'enrobage comprenant en outre au moins un agent de fixation.

[0190] En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition étant une composition phytopharmaceutique. En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition étant une composition herbicide. En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition étant une composition d'enrobage. De préférence, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition étant une composition d'enrobage comprenant en outre au moins un agent de fixation.

[0191] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition comprenant en outre au moins un solvant. De préférence, ledit solvant est choisi parmi : l'acétone, l'acétonitrile, l'acide acétique, l'acide formique, l'adipate de diméthyle, le benzyl acétate, le bi-butyl carbonate, le dimethyl sulfoxide (DMSO), l'eau, le glutarate de diméthyle, l'hydroxyde d'ammonium, l'iso-butanol, l'iso-propanol, le lactate de diéthyle héxyle, le solvant naphta aromatique léger, le solvant naphta aromatique lourd, le succinate de diéthyle et leurs mélanges (*e.g.* mélange [eau ; acide acétique] ; [acétonitrile ; acide acétique], [eau, acétonitrile ; acide acétique], [eau ; DMSO], [eau ; acétonitrile] ou [eau ; hydroxyde d'ammonium]).

[0192] Les propriétés de solubilité des cPEPs sont déterminées notamment par leur composition en acides aminés. Les cPEPs hydrophiles peuvent être solubilisés et conditionnés dans des solutions aqueuses, telles que l'eau. Les cPEPs hydrophobes peuvent être solubilisés et conditionnés dans des solvants, tels que les solvants organiques.

[0193] Pour un traitement des plantes par les cPEPs, les solvants organiques sont des solvants non toxiques pour les plantes en faibles quantités, c'est-à-dire qu'ils n'ont pas d'effet délétère sur le développement de la plante. De manière non limitative, les solvants organiques peuvent être ceux cités ci-dessus et en particulier choisis parmi l'acétonitrile et l'acide acétique.

[0194] Comme indiqué ci-dessus, les cPEPs peuvent également être solubilisés et conditionnés dans des mélanges de solvants, comme par exemple, un mélange de solvant organique [acétonitrile ; acide acétique], un mélange [eau ; DMSO] dans un ratio volume:volume compris de 99:1 à 1:99, un mélange [eau ; acétonitrile] dans un ratio volume:volume compris de 99:1 à 1:99 ou un mélange [eau ; hydroxyde d'ammonium] dans un ratio volume:volume compris de 99:1 à 99,9:0,1. Les cPEPs peuvent également être solubilisés dans une solution comprenant 50 % d'acétonitrile, 10 % d'acide acétique et 40 % d'eau (volume/volume/volume).

[0195] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition comprenant en outre au moins un diluant.

[0196] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition comprenant en outre au moins un adjuvant.

[0197] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition comprenant en outre au moins un agent de fixation.

[0198] Par « agent de fixation », on entend un agent chimique ou naturel lequel permet de coller la composition de l'invention à une graine de végétal de manière à enrober ladite graine de végétal. On entend également une substance rendant possible l'application et la tenue de la ou des substances actives sur le grain. Parmi les agents de fixation disponibles, on retrouve notamment la carboxymethyl cellulose (CMC) et la gomme arabique. De plus et de manière non limitative, un agent de fixation peut comprendre des solvants organiques, de l'eau, des dispersants, des émulgateurs, des tensioactifs, des mouillants et des colorants.

[0199] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition comprenant en outre au moins un nutriment végétal. En particulier, l'invention concerne la composition telle que décrite précédemment, ladite composition comprenant en outre au moins un agent de fixation et au moins un nutriment végétal.

[0200] Par « nutriment végétal », on entend un élément assimilé par la plante pour permettre son développement. De manière non limitative, un nutriment végétal peut être choisi parmi : l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le soufre, le manganèse, le fer, le cuivre, le bore, le zinc, le molybdène et leurs mélanges.

[0201] Au vu de ce qui précède, on comprend qu'un autre aspect de l'invention a pour objet une semence enrobée comprenant une graine de plante, ladite graine de plante étant enrobée par une composition d'enrobage telle que décrite précédemment.

[0202] L'enrobage peut être réalisé selon les procédés classiquement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et peut être obtenu en utilisant un matériau apte à se désagréger dans un solvant ou dans la terre, tel qu'un liant ou de l'argile.

[0203] Selon l'invention, l'enrobage peut être utilisé pour conférer des propriétés parti-

culières à une semence en combinaison avec un cPEP, telles qu'une croissance améliorée ou une résistance à certains stress biotiques ou abiotiques.

[0204] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la semence enrobée telle que décrite précédemment, dans lequel ladite graine de plante appartient à : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne), *Nicotiana benthamiana* (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0205] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la semence enrobée telle que décrite précédemment, ladite semence étant traitée par trempage dans une composition contenant un cPEP. Lors d'un trempage, la semence est alors plongée totalement ou partiellement dans une composition contenant un cPEP.

[0206] Dans un autre aspect, l'invention concerne une utilisation d'un cPEP en tant qu'agent phytosanitaire pour moduler l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale,

[0207] ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,

[0208] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0209] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0210] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0211] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que

décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0212] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0213] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0214] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0215] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0216] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0217] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0218] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans

laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0219] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne une utilisation d'un cPEP en tant qu'agent phytosanitaire pour moduler l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale,

[0220] ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques d'un pré-ARNm d'une protéine, ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides, n étant compris de 4 à 70, en particulier n étant compris de 4 à 41, et ladite séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron) ; et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon) ;

[0221] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0222] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment pour augmenter l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale. La présence du cPEP fait que la quantité de ladite protéine dans la cellule végétale traitée est supérieure à celle dans une cellule végétale non traitée.

[0223] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment pour diminuer (inhiber) l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale. La présence du cPEP fait que la quantité de ladite protéine dans la cellule végétale traitée est inférieure à celle dans une cellule végétale non traitée.

[0224] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que

décrite précédemment, ladite séquence d'acides nucléiques réputées non codantes (*i.e.* non traduite naturellement) étant :

- la région 5'UTR ;
- la région 3'UTR ; ou
- un intron.

[0225] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est produit hors de ladite cellule végétale avant d'être introduit dans ladite cellule végétale.

[0226] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est un peptide synthétique.

[0227] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est un peptide isolé.

[0228] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est un peptide recombinant.

[0229] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP étant un peptide hydrophobe ou un peptide hydrophile.

[0230] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est introduit dans ladite cellule végétale sous la forme d'un acide nucléique codant ledit cPEP. En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est introduit dans ladite cellule végétale sous la forme d'un acide nucléique codant ledit cPEP et comprenant les moyens de l'exprimer.

[0231] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est naturellement présente dans ladite cellule végétale.

[0232] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine n'est pas présente naturellement dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un transgène introduit artificiellement dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un vecteur introduit artificiellement dans ladite cellule végétale.

[0233] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle l'accumulation de ladite protéine est déterminée *via* la mise en œuvre d'une technique choisie parmi : le Western blot, la mesure de l'activité enzymatique, la spectrométrie de masse et la fusion traductionnelle. En par-

ticulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle l'accumulation de ladite protéine est déterminée *via* la mise en œuvre d'un Western blot.

[0234] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP a une taille comprise de 4 à 41 acides aminés, de 5 à 40 acides aminés, de 7 à 20 acides aminés ou plus particulièrement une taille comprise de 8 à 15 acides aminés. En particulier, ledit cPEP a une taille de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 ou 70 acides aminés.

[0235] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite cellule végétale appartient à : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne), *Nicotiana benthamiana* (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0236] En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite cellule végétale est une cellule d'une algue.

[0237] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène choisi parmi : *Aae15, Aae16, abcg11, Abdcg34, Acc1, Agb1, Als, Anac076, Apg9, Arlb1, Arr1, Arr5, Arr6, At59, Bak1, Bccp1, Bccp2, Bri1, Bzo2h3, Cesa6, Cipk3, Cks1, Cobl8, Coi1, Cpk3, Crk34, Cyp705a18, Cyp71b26, Cyp78a8, Cyp97b3, Dcl1, Dur3, Ein2, Emb175, Emb2726, Emb9, Epsps, Fnr1, Fve, Ga2ox7, Gapc, Gcn2, Gdi2, Gln2, Gsl3, Hag5, Hda18, Hexo1, Hppd, Hsl1, Iaa31, Iqd28, Jac1, Jar1, Kp1, Lrx2, Mapkkk3, Mapkkk5, Mfp2, Mrb1, Nsp1, Pds, Pen3, Phyb, Pif3, Pizza, Ppox1, Ppox2, Prp39, PsbA, Pskr1, Rd21, Ring1, Ros1, Rpt4a, Sfr6, Shr, Shy2, Skl, Sps1, Spt, Stn8, Tap46, Topp6, TubB6, TubB8, Uba1a, Vim3, Sgr1, Abi5, Hsp101, Rh10* et *Wus.*

[0238] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un ORF comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence

au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 1 à 161 et 171 à 175.

[0239] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un ORF comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0240] En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0241] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 1 à 161 et 171 à 175. Dans un mode de réalisation, l'invention concerne également l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0242] En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0243] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle

que décrite précédemment, dans laquelle ledit cPEP est choisi parmi les séquences : SEQ ID NOs : 162 à 164.

[0244] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, dans laquelle ladite protéine est impliquée dans au moins un phénotype de plante choisi parmi :

- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de feuilles ;
- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de fleurs ;
- la taille de la tige (ou de la hampe florale) ;
- la biomasse racinaire ;
- le nombre, la longueur et le niveau de ramification des racines ;
- la précocité de la germination ;
- la précocité du bourgeonnement ;
- la précocité de l'induction florale (ou transition florale) ;
- la vigueur germinative et la durée de phase juvénile ;
- la durée de la floraison ;
- la résistance à un stress biotique ;
- la résistance à un stress abiotique ; et
- le nombre de cellules.

[0245] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, pour moduler l'accumulation d'une protéine recombinante dont la séquence d'acides nucléiques qui la code correspond à la fusion des séquences d'acides nucléiques de deux gènes distincts.

[0246] En particulier, la séquence codante d'au moins un des deux gènes est celle d'un gène rapporteur, par exemple un gène codant une protéine fluorescente (telle que la GFP) ou une protéine permettant la résistance de la plante à un composé.

[0247] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne l'utilisation d'un cPEP telle que décrite précédemment, pour moduler l'accumulation d'une protéine recombinante dont la séquence d'acides nucléiques qui la code correspond à la fusion :

- d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante d'un premier gène ; et
- d'une séquence d'acides nucléiques codante d'un second gène,

[0248] la séquence dudit cPEP correspondant à la traduction *via* le code génétique d'un fragment de la séquence d'acides nucléiques réputée non codante du premier gène.

[0249] Dans un autre aspect, l'invention concerne un procédé de modulation de l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale comprenant une étape d'introduction :

- d'un cPEP ; ou
- d'un acide nucléique codant ledit cPEP et les moyens de l'exprimer,

[0250] dans ladite cellule végétale, l'introduction dudit cPEP entraînant une modulation de la quantité de ladite protéine dans ladite cellule végétale,

[0251] ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,

[0252] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0253] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0254] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0255] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0256] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0257] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0258] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0259] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0260] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0261] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0262] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0263] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne un procédé de modulation de l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale comprenant une étape d'introduction :

- d'un cPEP ; ou
- d'un acide nucléique codant ledit cPEP et les moyens de l'exprimer,

[0264] dans ladite cellule végétale, l'introduction dudit cPEP entraînant une modulation de la quantité de ladite protéine dans ladite cellule végétale,

[0265] ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques d'un pré-ARNm d'une protéine, ledit fragment ayant une taille de 3*n* nucléotides, *n* étant compris de 4 à 70, en particulier *n* étant compris de 4 à 41, et ladite séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron) ; et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon) ;

[0266] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0267] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, ledit procédé permettant :

- de favoriser le développement d'une plante ; ou
- de ralentir ou d'empêcher le développement d'une plante.

[0268] En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, ledit procédé permettant de favoriser le développement d'une plante. En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, ledit procédé permettant de ralentir ou d'empêcher le développement d'une plante.

[0269] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment pour augmenter l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale. La présence du cPEP fait que la quantité de ladite protéine dans la cellule végétale traitée est supérieure à celle dans une cellule végétale non traitée.

[0270] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment pour diminuer (inhiber) l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale. La présence du cPEP fait que la quantité de ladite protéine dans la cellule végétale traitée est inférieure à celle dans une cellule végétale non traitée.

[0271] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, ladite séquence d'acides nucléiques réputées non codantes (*i.e.* non traduite naturellement) étant :

- la région 5'UTR ;
- la région 3'UTR ; ou
- un intron.

[0272] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est produit hors de ladite cellule végétale avant d'être introduit dans ladite cellule végétale.

[0273] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide synthétique.

[0274] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide isolé.

[0275] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est un peptide recombinant.

[0276] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP étant un peptide hydrophobe ou un peptide hydrophile.

[0277] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est introduit dans ladite cellule végétale sous la forme d'un acide nucléique codant ledit cPEP. En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est introduit dans ladite cellule végétale sous la forme d'un acide nucléique codant ledit cPEP et comprenant les moyens de l'exprimer.

[0278] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est naturellement présente dans ladite cellule végétale.

[0279] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine n'est pas présente naturellement dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un transgène introduit artificiellement dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un vecteur introduit artificiellement dans ladite cellule végétale.

[0280] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel l'accumulation de ladite protéine est déterminée *via* la mise en œuvre d'une technique choisie parmi : le Western blot, la mesure de l'activité enzymatique, la spectrométrie de masse et la fusion traductionnelle. En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel l'accumulation de ladite protéine est déterminée *via* la mise en œuvre d'un Western blot.

[0281] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP a une taille comprise de 4 à 41 acides aminés, de 5 à 40 acides aminés, de 7 à 20 acides aminés ou plus particulièrement une taille comprise de 8 à 15 acides aminés. En particulier, ledit cPEP a une taille de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54,

55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 ou 70 acides aminés.

[0282] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite cellule végétale ou ladite plante appartient à : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne), *Nicotiana benthamiana* (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0283] En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite cellule végétale est une cellule d'une algue.

[0284] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène choisi parmi : *Aae15, Aae16, abcg11, Abdcg34, Acc1, Agb1, Als, Anac076, Apg9, Arlb1, Arr1, Arr5, Arr6, At59, Bak1, Bccp1, Bccp2, Bri1, Bzo2h3, Cesa6, Cipk3, Cks1, Cobl8, Coi1, Cpk3, Crk34, Cyp705a18, Cyp71b26, Cyp78a8, Cyp97b3, Dcl1, Dur3, Ein2, Emb175, Emb2726, Emb9, Epsps, Fnr1, Fve, Ga2ox7, Gapc, Gcn2, Gdi2, Gln2, Gsl3, Hag5, Hda18, Hexo1, Hppd, Hsl1, Iaa31, Iqd28, Jac1, Jar1, Kp1, Lrx2, Mapkkk3, Mapkkk5, Mfp2, Mrb1, Nsp1, Pds, Pen3, Phyb, Pif3, Pizza, Ppox1, Ppox2, Prp39, PsbA, Pskr1, Rd21, Ring1, Ros1, Rpt4a, Sfr6, Shr, Shy2, Skl, Sps1, Spt, Stn8, Tap46, Topp6, TubB6, TubB8, Uba1a, Vim3, Sgr1, Abi5, Hsp101, Rh10* et *Wus.*

[0285] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un ORF comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 1 à 161 et 171 à 175.

[0286] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un ORF comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0287] En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nu-

cléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques présentant au moins 80 % d'identité, de préférence au moins 90 % d'identité, avec une séquence choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0288] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 1 à 161 et 171 à 175. Dans un mode de réalisation, l'invention concerne également le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une séquence d'acides nucléiques choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3), SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1) et SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0289] En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 26 à 55 (Cpk3). En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 61 à 79 (Dcl1). En particulier, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est codée par un gène comprenant une choisie parmi les séquences : SEQ ID NOs : 109 à 134 (Nsp1).

[0290] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est choisi parmi les séquences : SEQ ID NOs : 162 à 164.

[0291] Dans un autre mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ladite protéine est impliquée dans au moins un phénotype de plante choisi parmi :

- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de feuilles ;
- la taille, la forme, la surface, le volume, la masse et le nombre de fleurs ;
- la taille de la tige (ou de la hampe florale) ;
- la biomasse racinaire ;
- le nombre, la longueur et le niveau de ramification des racines ;
- la précocité de la germination ;
- la précocité du bourgeonnement ;

- la précocité de l'induction florale (ou transition florale) ;
- la vigueur germinative et la durée de phase juvénile ;
- la durée de la floraison ;
- la résistance à un stress biotique ;
- la résistance à un stress abiotique ; et
- le nombre de cellules.

[0292] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel l'introduction dudit cPEP entraîne une précocité de la montaison chez ladite plante.

[0293] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel l'introduction dudit cPEP entraîne une précocité de la floraison chez ladite plante.

[0294] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel l'introduction dudit cPEP entraîne une augmentation de la taille de la tige chez ladite plante.

[0295] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel l'introduction dudit cPEP entraîne une précocité de croissance de la tige chez ladite plante.

[0296] Les Inventeurs ont en effet constaté de manière inattendue qu'il est possible d'appliquer directement un cPEP sur la plante, *e.g. via* l'emploi de la composition de l'invention (*cf. supra*) comprenant un cPEP, pour moduler l'accumulation d'une protéine cible dans la plante, ce qui indique que le cPEP est capté par la plante.

[0297] Par conséquent, dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que décrit précédemment, dans lequel ledit cPEP est introduit dans ladite plante :

- par arrosage, par pulvérisation ou par l'ajout d'un engrais, d'un terreau, d'un substrat de culture ou d'un support en contact avec la plante, ledit cPEP étant notamment administré à la plante sous la forme d'une composition comprenant de 10^{-9} M à 10^{-4} M dudit cPEP ;
- par arrosage, par trempage, par pulvérisation ou par l'ajout d'un engrais, d'un terreau, d'un substrat de culture ou d'un support en contact avec la plante, ledit cPEP étant notamment administré à une graine ou une semence sous la forme d'une composition comprenant de 10^{-9} M à 10^{-4} M dudit cPEP ; ou
- par le biais d'un acide nucléique codant ledit cPEP et comprenant les moyen d'exprimer ledit cPEP, ledit acide nucléique étant introduit artificiellement dans la plante.

[0298] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que défini précédemment, dans lequel ledit cPEP est introduit artificiellement par voie externe dans la plante, de préférence par arrosage, par pulvérisation ou par l'ajout d'un engrais, d'un

terreau, d'un substrat de culture ou d'un support inerte.

[0299] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que défini précédemment, dans lequel ledit cPEP est introduit par arrosage.

[0300] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que défini précédemment, dans lequel ledit cPEP est introduit par pulvérisation.

[0301] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que défini précédemment, dans lequel ledit cPEP est introduit par l'ajout d'un engrais.

[0302] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne le procédé tel que défini précédemment, dans lequel la plante est traitée avec une composition comprenant de 10^{-9} M à 10^{-4} M dudit cPEP, ou comprenant notamment 10^{-9} M, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M ou 10^{-4} M dudit cPEP. De préférence, les compositions ont une concentration de 10^{-8} M à 10^{-5} M pour une application par arrosage ou par pulvérisation sur la plante.

[0303] De manière complémentaire, des compositions plus ou moins concentrées peuvent être envisagées pour traiter la plante avec le cPEP. Par exemple, et de manière non limitative, des compositions plus concentrées comprenant de 10^{-1} M à 10^{-3} M, ou comprenant notamment 10^{-2} M de cPEP, peuvent être utilisées dans le cas où le cPEP introduit artificiellement par voie externe est administré à la plante par épandage.

[0304] Dans un autre aspect, l'invention concerne une plante modifiée contenant un cPEP, laquelle « plante modifiée » correspond à une plante dans laquelle a été introduit artificiellement un cPEP, notamment par arrosage, par pulvérisation ou *via* un engrais.

[0305] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée comprenant un cPEP introduit artificiellement par voie exogène telle que décrite précédemment, ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,

[0306] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0307] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0308] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0309] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0310] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0311] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0312] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0313] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0314] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0315] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0316] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention

concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0317] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne une plante modifiée comprenant un cPEP introduit artificiellement par voie exogène, ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques d'un pré-ARNm d'une protéine, ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides, n étant compris de 4 à 70, en particulier n étant compris de 4 à 41, et ladite séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron) ; et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon) ;

[0318] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0319] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante modifiée telle que décrite précédemment, ladite plante étant : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne),

Nicotiana benthamiana (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0320] Dans un autre aspect, l'invention concerne une plante transgénique comprenant un acide nucléique codant un cPEP et les moyens de l'exprimer,

[0321] ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,

[0322] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0323] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0324] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0325] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment est dépourvu :

- du codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- d'un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0326] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0327] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; ou
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0328] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;

- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0329] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle ledit fragment comprend :

- un codon initiateur AUG codant une méthionine initiatrice ; et
- un codon STOP choisi parmi les codons : UAG, UGA et UAA,

[0330] et dans lequel ledit fragment est choisi :

- soit dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture codant ladite protéine ;
- soit dans un cadre de lecture décalé d'un ou deux nucléotides par rapport au cadre ouvert de lecture codant ladite protéine.

[0331] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le même cadre de lecture que le cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans le cadre de lecture déterminé par le codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de ladite protéine.

[0332] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture différent du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un nucléotide en 3' (ou de deux nucléotides en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. En particulier, l'invention concerne également la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé de deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale. Autrement dit, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle la traduction du fragment du pré-ARNm est opérée dans un cadre de lecture décalé d'un (ou deux nucléotides en 5') ou deux nucléotides en 3' (ou d'un nucléotide en 5') par rapport au codon d'initiation du cadre ouvert de lecture de la séquence d'acides nucléiques naturellement traduite dans ladite cellule végétale.

[0333] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne une plante transgénique comprenant un acide nucléique codant un cPEP et les moyens de l'exprimer, ledit

cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques d'un pré-ARNm d'une protéine, ledit fragment ayant une taille de 3*n* nucléotides, *n* étant compris de 4 à 70, en particulier *n* étant compris de 4 à 41, et ladite séquence d'acides nucléiques comprenant deux parties contiguës :

- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante (*i.e.* non traduite naturellement, *e.g.* intron) ; et
- une partie située au sein d'une séquence d'acides nucléiques réputée codante (*i.e.* traduite naturellement, *e.g.* exon) ;

[0334] ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[0335] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que définie précédemment, dans laquelle la séquence codant ledit cPEP est plus courte que la séquence du pré-ARNm codant ladite protéine.

[0336] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, ladite plante étant : *Alopecurus myosuroides, Amaranthus hypochondriacus, Amaranthus palmeri, Amaranthus tuberculatus, Arabidopsis halleri, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis lyrata, Arabidopsis thaliana, Barbarea vulgaris, Boechera stricta, Brachypodium distachyon, Brassica napus* (colza), *Brassica oleracea, Brassica rapa* (colza), *Camelina sativa, Capsella grandiflora, Capsella rubella, Carica papaya, Eutrema salsugineum, Glycine max* (soja), *Gossypium raimondii, Gossypium spp.* (coton), *Hordeum vulgare* (orge), *Lollium spp., Lotus japonicus* (lotier), *Medicago sativa (luzerne), Medicago truncatula* (luzerne), *Nicotiana benthamiana* (tabac), *Oryza sativa* (riz), *Pisum sativum* (pois), *Raphanus sativus, Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Thellungiella halophila, Theobroma cacao, Triticum spp.* (blé), *Vitis vignifera* (vigne) et *Zea mays* (maïs).

[0337] Dans un mode de réalisation, l'invention concerne la plante transgénique telle que décrite précédemment, dans laquelle l'expression dudit cPEP est placée sous le contrôle d'un promoteur fort, de préférence un promoteur fort constitutif tel que le promoteur 35S.

[0338] A tout égard, il convient de noter que les différents aspects de l'invention, tout comme les différents modes de réalisation de celle-ci sont interdépendants. Ces derniers peuvent donc être combinés entre eux pour obtenir des aspects et/ou des modes de réalisation préférés de l'invention non explicitement décrits. Ceci est également valable pour l'ensemble des définitions fourni dans la présente description,

lequel s'applique à tous les aspects de l'invention et ses modes de réalisation.

[0339] En outre, la présente invention est illustrée, sans toutefois s'y limiter, par les Figures et Exemples suivants.

LISTE DES FIGURES

[0340] [Fig.1]

[0341] La [Fig.1] est une représentation schématique illustrant les premières étapes du procédé de préparation et de détermination d'un cPEP. En particulier sont illustrés les étapes permettant de déterminer au sein d'un pré-ARNm d'une protéine l'une des séquences d'acides nucléiques réputées non codantes à partir de laquelle le peptide à tester (*i.e.* le cPEP potentiel) est identifié.

[0342] Les séquences SEQ ID NOs : 165 à 168 sont uniquement fournies à titre d'exemple.

[0343] [Fig.2]

[0344] La [Fig.2] est une représentation schématique de la construction *NSP1*-GUS exprimée dans la racine de *Medicago truncatula* transformée.

[0345] La région *NSP1* du promoteur, le CDS de *NSP1*, le gène de la β-glucuronidase (GUS) et la région 3'UTR *NSP1* sont indiquées sur la séquence de la construction. Les peptides cPEPs sont positionnés au-dessus des régions qui ont été utilisées pour élaborer chacun des cPEPs.

[0346] [Fig.3]

[0347] La [Fig.3] représente l'effet du cPEP NSP1-5'UTR-10 sur l'accumulation de la protéine de fusion NSP1-GUS chez *Medicago truncatula.*

[0348] L'axe des ordonnées représente la quantification de l'activité GUS dans les racines d'une fusion NSP1-GUS en réponse au traitement pendant 5 jours avec 0,1 µM d'un cPEP ciblant la région 5'UTR du gène *NSP1*. Les barres d'erreur représentent les SEM, les astérisques indiquent une différence significative entre la condition d'essai et le témoin selon le test t de Student ($n = 30$, $p < 0,05$).

[0349] [Fig.4]

[0350] La [Fig.4] représente l'effet du cPEP NSP1-3'UTR-10 sur l'accumulation de la protéine de fusion NSP1-GUS chez *Medicago truncatula.*

[0351] L'axe des ordonnées représente la quantification de l'activité GUS dans les racines d'une fusion NSP1-GUS en réponse au traitement pendant 5 jours avec 0,1 µM d'un cPEP ciblant la région 5'UTR du gène *NSP1*. Les barres d'erreur représentent les SEM, les astérisques indiquent une différence significative entre la condition d'essai et le témoin selon le test t de Student ($n = 30$, $p < 0,05$).

EXEMPLES

Matériels & Méthodes

[0352] 1. <u>Préparation des cPEPs</u>

[0353] La séquence SEQ ID NO : 163 du cPEP NSP1-5'UTR-5 (5 acides aminés) a été obtenue en traduisant un fragment de 15 nucléotides situé dans la partie 5'UTR du pré-ARNm de *NSP1* (SEQ ID NO : 169) dans le cadre de lecture +3 par rapport au codon initiateur de la protéine nsp1.

[0354] La séquence SEQ ID NO : 162 du cPEP NSP1-5'UTR-11 (11 acides aminés) a été obtenue en traduisant un fragment de 30 nucléotides situé dans la partie 5'UTR du pré-ARNm de *NSP1* (SEQ ID NO : 169) dans le cadre de lecture +3 par rapport au codon initiateur de la protéine nsp1.

[0355] La séquence SEQ ID NO : 164 du cPEP NSP1-3'UTR (10 acides aminés) a été obtenue en traduisant un fragment de 30 nucléotides situé dans la partie 3'UTR du pré-ARNm de *NSP1* (SEQ ID NO : 169) dans le cadre de lecture +2 par rapport au codon initiateur de la protéine nsp1.

[0356] Chaque peptide a été synthétisé (Smartox Biotech) et dilué à 10 mM dans de l'eau.

[0357] 2. Construction du plasmide

[0358] La fusion NSP1::GUS a été réalisée, en utilisant un vecteur pCambia modifié (Lauressergues *et al.*, Nature, 520 : 90-3, 2015), en clonant 3 kb de promoteur de NSP1, la séquence codante du gène *NSP1*, la séquence codant la protéine GUS et 3 kb de la séquence en aval du gène *NSP1* ([Fig.2]).

[0359] 3. Transformation des plantes

[0360] La transformation racinaire de *M. truncatula* a été réalisée selon la méthode décrite dans Boisson-Dernier *et al.*, Mol Plant Microbe Interact, 14(6) : 695-700, 2001.

[0361] 4. Mesure de l'expression des gènes

[0362] Les plantes ont été traitées par arrosage avec une solution contenant une faible concentration de cPEPs (de 0,1 µM à 10 µM) ou avec de l'eau.

[0363] L'accumulation de la protéine ciblée par le cPEP a ensuite été mesurée dans chaque plante en quantifiant l'activité GUS ou en quantifiant l'activité protéine par Western blot (Blázquez M., *Quantitative GUS activity assay in intact plant tissue*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 2002).

Résultats

[0364] Les cPEPs ciblant les régions non codantes 5'UTR (SEQ ID NO : 162) et 3'UTR (SEQ ID NO : 164) du gène *NSP1* induisent une augmentation de l'accumulation de la protéine NSP1 chez *Medicago truncatula*, quel que soit le cadre de lecture utilisé pour élaborer le cPEP et quelle que soit la position du fragment utilisée pour élaborer le cPEP (Figures 3 et 4).

Revendications

[Revendication 1] Procédé de préparation et de détermination d'un cPEP, ledit cPEP :

- ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés ;
- étant capable de moduler l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale ; et
- n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine,

ledit procédé comprenant :
a. une étape de détermination de la séquence d'acides nucléiques de l'ARN pré-messager (pré-ARNm) codant ladite protéine ;
b. une étape de détermination au sein de ce pré-ARNm d'une des séquences d'acides nucléiques réputées non codantes ;
c. une étape de détermination au sein de cette séquence d'acides nucléiques réputée non codante d'un fragment de celle-ci,
ledit fragment ayant une taille de $3n$ nucléotides, n étant compris de 4 à 70, en particulier n étant compris de 4 à 41 ;
d. une étape de production du peptide codé par ledit fragment ; et
e. une étape de comparaison :

- entre l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale en présence dudit peptide et l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale de même type en absence dudit peptide ; et/ou
- entre le phénotype d'une plante en présence dudit peptide et le phénotype d'une plante de même type en absence dudit peptide,

dans laquelle :

- une différence de la quantité de ladite protéine en présence dudit peptide par rapport à la quantité de ladite protéine en absence dudit peptide ; et/ou
- une différence du phénotype en présence dudit peptide par rapport au phénotype en absence dudit peptide,

indique que ledit peptide est un cPEP capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale.

[Revendication 2] cPEP, de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,
ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans une cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[Revendication 3] Acide nucléique codant un cPEP selon la revendication 2.

[Revendication 4] Composition comprenant un cPEP en tant que substance active, ledit cPEP :

- ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine d'une cellule végétale ;
- étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine ; et
- étant notamment à une concentration comprise de 5 µM à 500 µM ou de 30 µM à 70 µM, ou étant notamment à une concentration de 50 µM.

[Revendication 5] Composition selon la revendication 4, ladite composition étant une composition phytopharmaceutique, une composition herbicide ou une composition d'enrobage,
en particulier ladite composition d'enrobage comprenant en outre au moins un agent de fixation.

[Revendication 6] Semence enrobée comprenant une graine de plante, ladite graine de plante étant enrobée par une composition d'enrobage selon la revendication 5.

[Revendication 7] Utilisation d'un cPEP en tant qu'agent phytosanitaire pour moduler l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale,
ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés

correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,
ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[Revendication 8] Procédé de modulation de l'accumulation d'une protéine dans une cellule végétale comprenant une étape d'introduction :

- d'un cPEP ; ou
- d'un acide nucléique codant ledit cPEP et les moyens de l'exprimer,

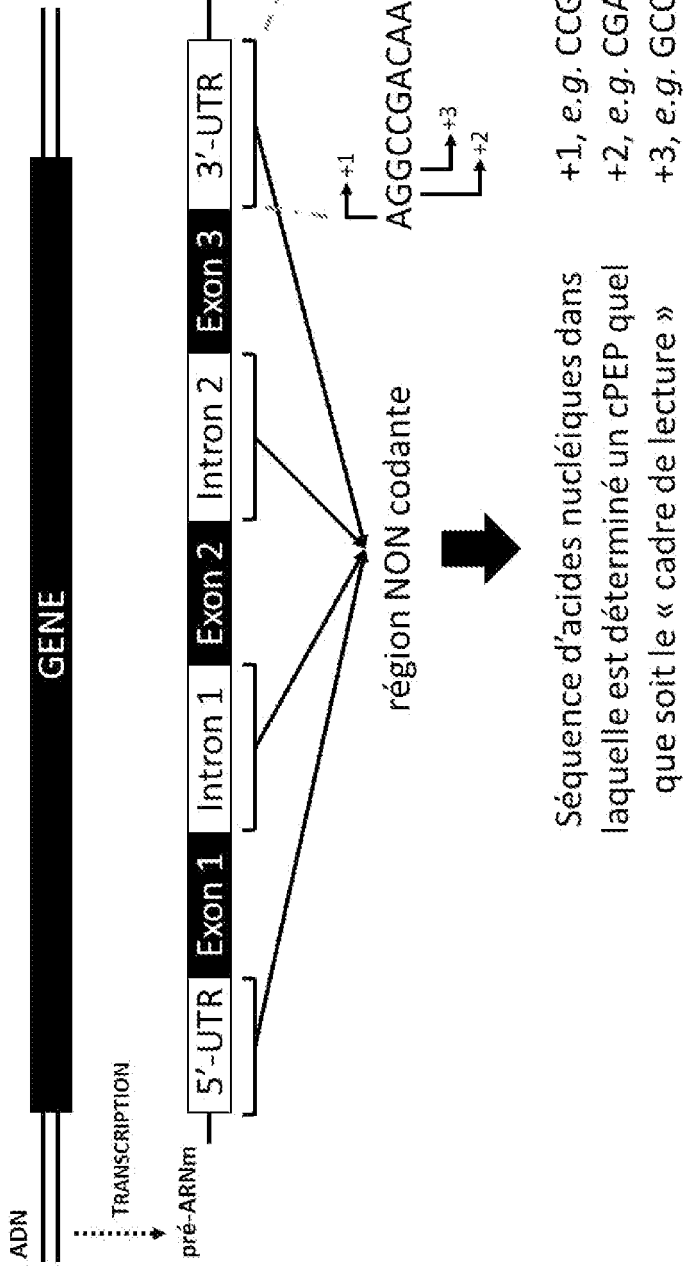
dans ladite cellule végétale, l'introduction dudit cPEP entraînant une modulation de la quantité de ladite protéine dans ladite cellule végétale,
ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine,
ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

[Revendication 9] Procédé selon la revendication 8, ledit procédé permettant :

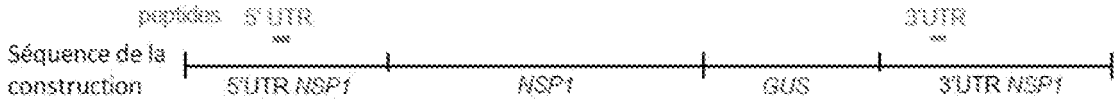
- de favoriser le développement d'une plante ; ou
- de ralentir ou d'empêcher le développement d'une plante.

[Revendication 10] Plante transgénique comprenant un acide nucléique codant un cPEP et les moyens de l'exprimer,
ledit cPEP ayant une taille comprise de 4 à 70 acides aminés, en particulier de 4 à 41 acides aminés, dont la séquence d'acides aminés correspond à la traduction *via* le code génétique d'un fragment d'une séquence d'acides nucléiques réputée non codante présente sur un pré-ARNm d'une protéine d'une cellule végétale,
ledit cPEP étant capable de moduler l'accumulation de ladite protéine dans la cellule végétale et n'étant pas capable de moduler l'accumulation de l'ARNm codant ladite protéine.

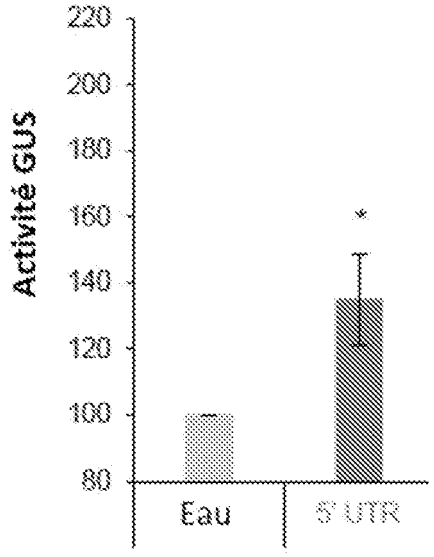
[Fig. 1]


ADN
TRANSCRIPTION
pré-ARNm
GENE
5'-UTR
Exon 1
Intron 1
Exon 2
Intron 2
Exon 3
3'-UTR
AAAA
région NON codante
+1
+2
+3
AGGCCGACAAGAUUCGGUAGAA
(SEQ ID NO : 165)
Séquence d'acides nucléiques dans laquelle est déterminé un cPEP quel que soit le « cadre de lecture »
+1, e.g. CCGACAAGAUUC (SEQ ID NO : 166)
+2, e.g. CGACAAGAUUCG (SEQ ID NO : 167)
+3, e.g. GCCGACAAGAUU (SEQ ID NO : 168)

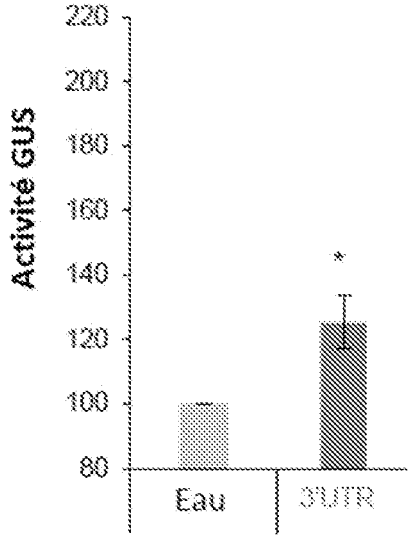
[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]



RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 913872
FR 2210832

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	HSU POLLY YINGSHAN ET AL: "Small but Mighty: Functional Peptides Encoded by Small ORFs in Plants", PROTEOMICS, vol. 18, no. 10, 12 octobre 2017 (2017-10-12), page 1700038, XP093047352, DE ISSN: 1615-9853, DOI: 10.1002/pmic.201700038 Extrait de l'Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full-xml/10.1002/pmic.201700038> * abrégé * * page 1, colonne de gauche, ligne 10 - ligne 14 * * page 3, colonne de gauche, ligne 8 - ligne 12 * * figure 2 * * Regulatory Roles of Translated uORFs; page 7 * * tableau 2 *	2-5	C07K14/00 C07K5/04 C07K7/04 C07K14/415 C12N15/11 C12N15/82 C12N15/29 A01H5/00 A01N37/18 A01N37/44 C12N15/113
	----- -/--		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
			C07K C12N

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
16 mai 2023	Mundel, Christophe

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons
.....
& : membre de la même famille, document correspondant

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 913872
FR 2210832

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WU HSIN-YEN LARRY ET AL: "The Tomato Translational Landscape Revealed by Transcriptome Assembly and Ribosome Profiling", PLANT PHYSIOLOGY, vol. 181, no. 1, 1 septembre 2019 (2019-09-01), pages 367-380, XP093047348, Rockville, Md, USA ISSN: 0032-0889, DOI: 10.1104/pp.19.00541 Extrait de l'Internet: URL:https://watermark.silverchair.com/plphys_v181_1_367.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAuUwggLhBgkqhkiG9w0BBwagggLSMIICzgIBADCCAscGCSqGSIb3DQEHATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMD-qnAYynSv9LHQu8AgEQgIICmEEtPJwPjonb4JJbvFNppdpN19q0bwAWnOJSoF4MtcMuaGAOLOI0QEcJaFG_Gn6kFMWJmx5NIP90xxvSEj> * abrégé * * Translational Landscape of Tomato Roots as Defined by Ribosome Profiling; page 370 * * Some sORFs and uORFs Generate Stable Proteins in Planta; page 372 *	2-5	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

-/--

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
16 mai 2023	Mundel, Christophe

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons
.....
& : membre de la même famille, document correspondant

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 913872
FR 2210832

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	FESENKO IGOR ET AL: "Distinct types of short open reading frames are translated in plant cells", GENOME RESEARCH, vol. 29, no. 9, 1 septembre 2019 (2019-09-01), pages 1464-1477, XP093047350, US ISSN: 1088-9051, DOI: 10.1101/gr.253302.119 Extrait de l'Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6724668/pdf/1464.pdf> * abrégé * * page 1465, colonne de droite, ligne 3 - ligne 14 *	2-5	
	----- -/--		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
16 mai 2023	Mundel, Christophe

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons
.....
& : membre de la même famille, document correspondant

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 913872
FR 2210832

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	CAUSIER BARRY ET AL: "Plants utilise ancient conserved peptide upstream open reading frames in stress-responsive translational regulation", PLANT CELL AND ENVIRONMENT, vol. 45, no. 4, 15 février 2022 (2022-02-15), pages 1229-1241, XP093047355, GB ISSN: 0140-7791, DOI: 10.1111/pce.14277 Extrait de l'Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full-xml/10.1111/pce.14277> * abrégé * * page 1231, colonne de gauche, ligne 7 - ligne 29 * * page 1231, colonne de gauche, ligne 52 - colonne de droite, ligne 4 * * page 1232, colonne de droite, ligne 6 - ligne 8 * * Stress and chemical treatments for in planta LUC assays; page 1232 * -----	2-5	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
16 mai 2023	Mundel, Christophe

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons
.....
& : membre de la même famille, document correspondant

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)