

Composition, remodelage et imagerie des parois au cours de la croissance cellulaire

A. Lehner
Laboratoire GlycoMEV,
Université de Rouen Normandie



Laboratoire de Glycobiologie et Matrice Extracellulaire Végétale, GlycoMEV

- spécialisé dans l'étude des glycomolécules complexes végétales (polysaccharides, glycoprotéines).

4 axes :

1. le rôle des glycomolécules dans les mécanismes de défense des plantes

2. l'étude de la biosynthèse et du remodelage des glycomolécules au cours de la croissance cellulaire

3. l'étude des voies de N-glycosylation des protéines chez les microalgues

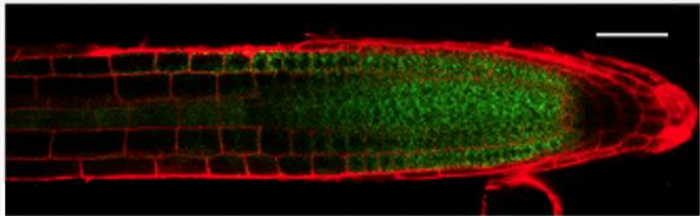
4. l'étude des glycomolécules et des biostimulants



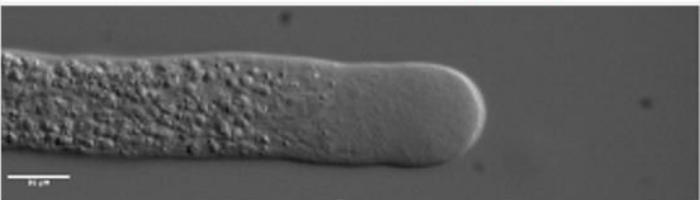
Pr Jean-Claude Mollet
Pr Arnaud Lehner

Glycomolécules et croissance cellulaire

- Comprendre le rôle et la fonction des pectines au cours de l'élongation cellulaire
- Développement de nouveaux outils : inhibiteurs glycosyltransférases, sucres fluorés; inhibiteurs photo-activable
- Développement de nouvelles techniques d'imagerie des pectines : marquage métabolique/Microscopie corrélative



Zone élongation
de la racine

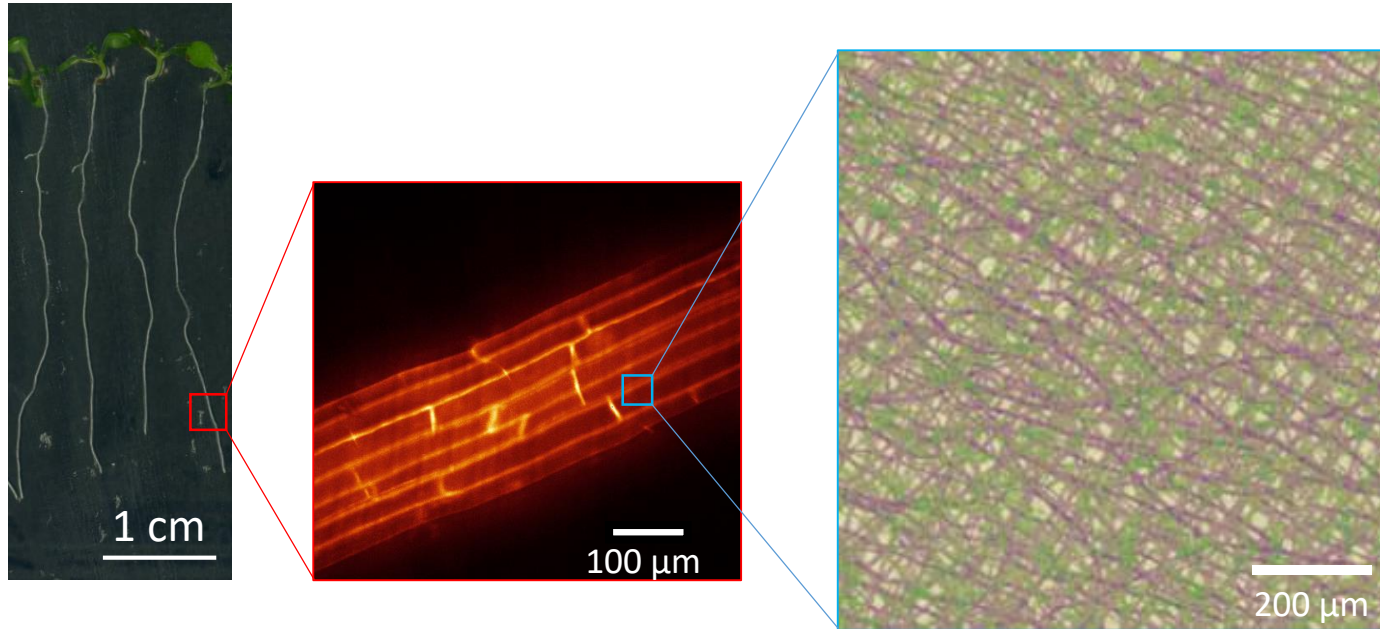


Tube pollinique



Arabidopsis (Organisme modèle),
tomate et tabac

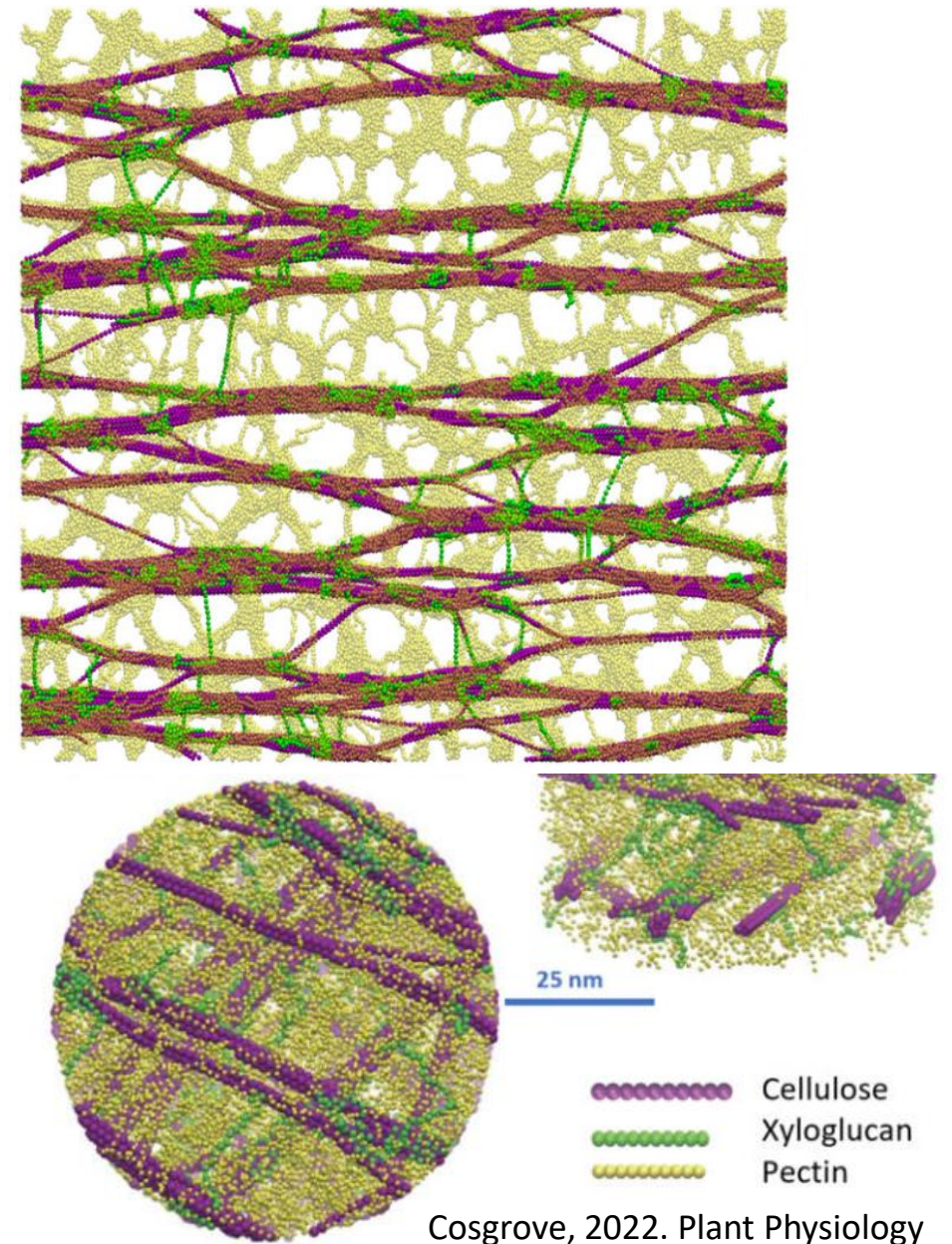
La paroi primaire végétale



Loin d'une barrière physique, c'est une matrice extracellulaire complexe et dynamique. Organes jeunes, en croissance

Chez les Eudicotyledones, majoritairement composée de polysaccharides et protéines

Remodelage et fonction au cours de la croissance



Cosgrove, 2022. Plant Physiology

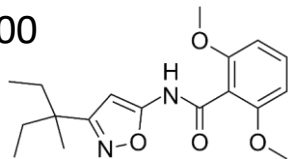
Composition-Paroi primaire

Les β -Glucanes

Cellulose
Hemicelluloses

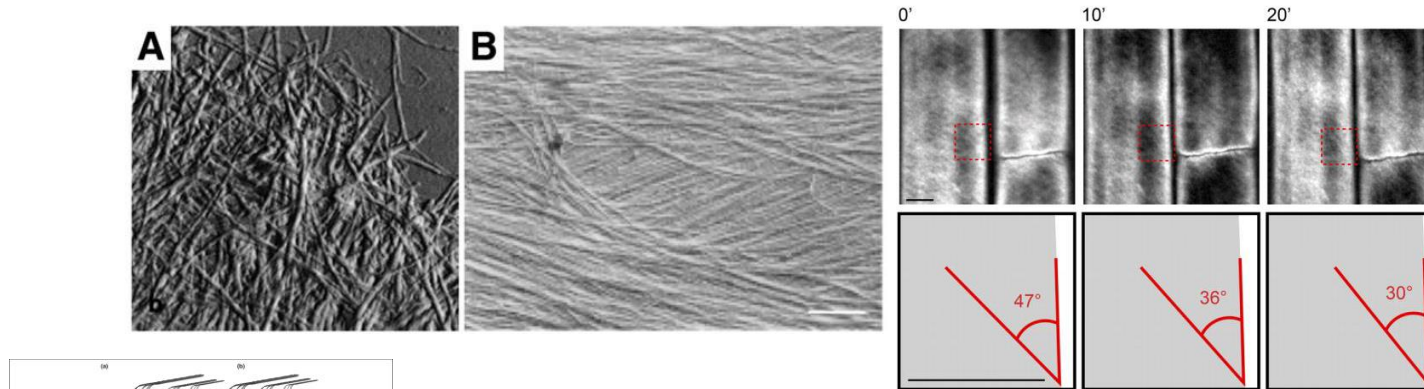
Représente 15 à 20 % de la paroi
Organisée en microfibrille de 18 chaînes de β -(1-4)Glc
Complexes de 18 CESA (Cellulose synthase) à la membrane plasmique

DP max 8000

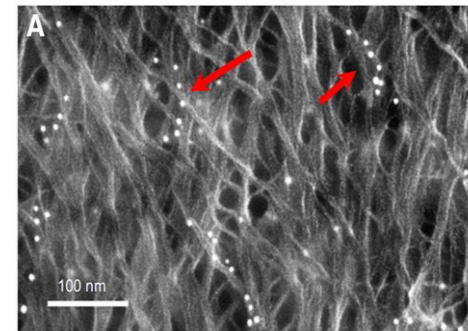
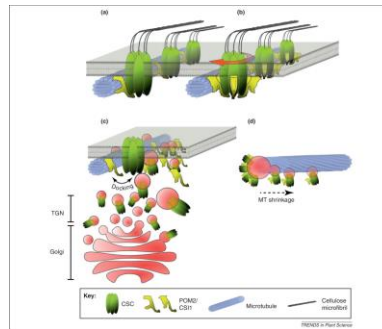


Isoxaben
Inhibiteur synthèse cellulose

Tsang et al., 2011 Plant Physiology

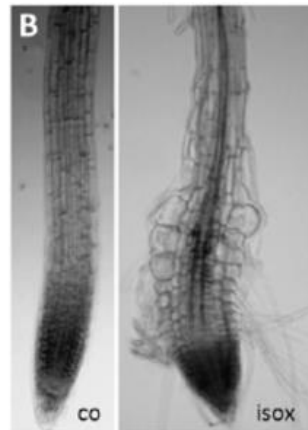


L'orientation microfibrille guide la direction de l'élongation cellulaire
Anderson et al., 2010 plant Physiology

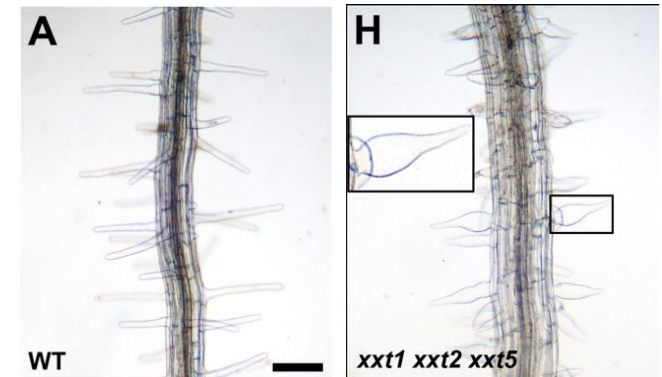
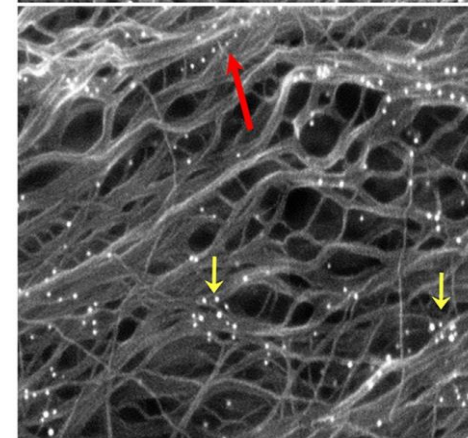


Role structural en interaction avec la cellulose.
Fleche rouges indiquent la présence de XyG.
Cosgrove, 2022 Plant Physiology

Triple mutant *xxt1,2,5*. phénotype léger poil absorbant. Zobotina et al., 2012 Plant Physiology



Lien CESA-microtubule
Bringmann et al., 2012 Trends Plant Science



Composition-Paroi primaire

Les β -Glucanes

Callose : β -(1-3)Glc avec branchement β -(1-6)Glc

Synthèse à la membrane plasmique

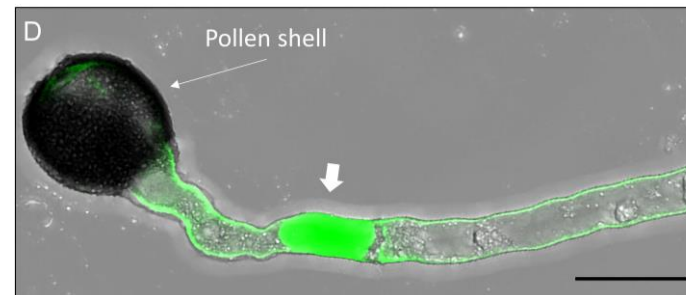
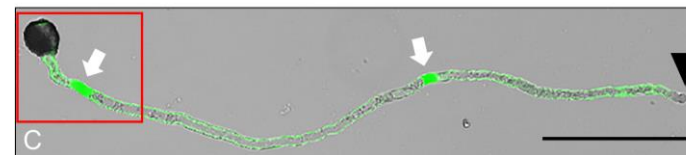
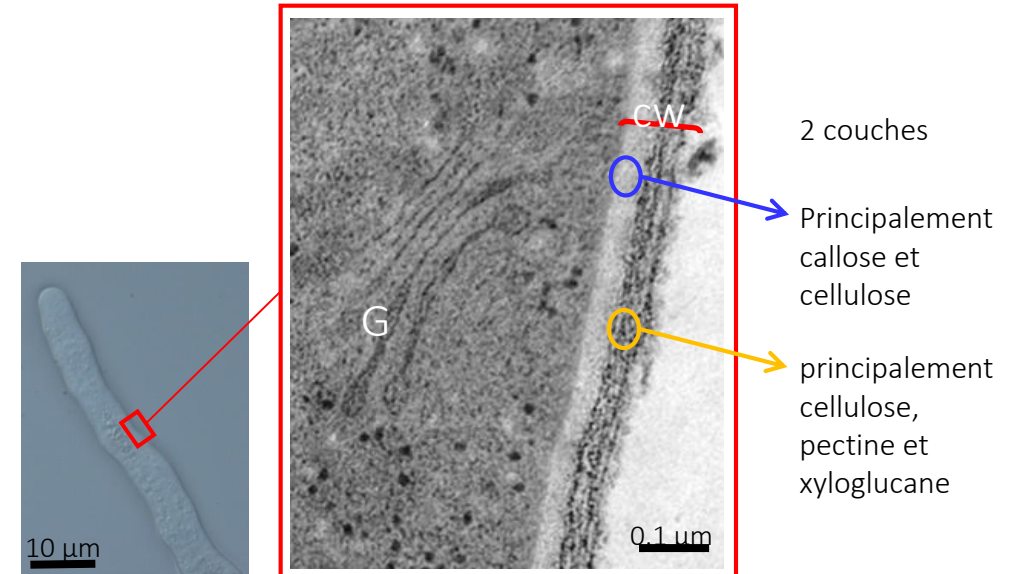
Généralement polymère pas présent dans les parois cellules végétatives

Sauf durant division cellulaire, éléments tubes criblés et en cas de stress biotique

Rôle de "pansement"

Particularité : tube pollinique.

Microscopie électronique à Transmission



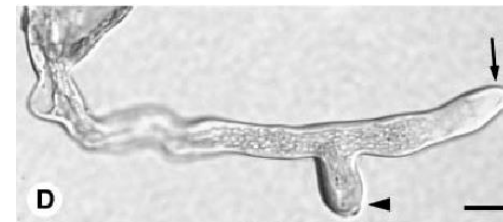
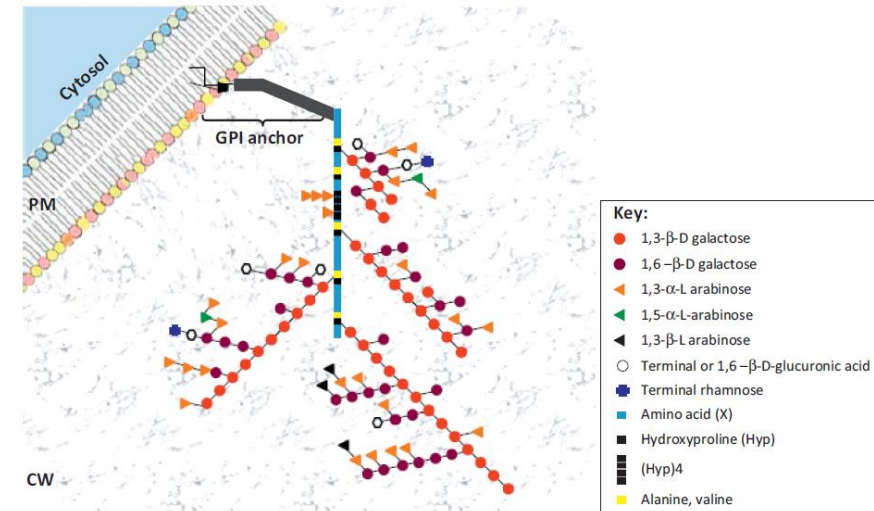
Callose paroi latérale
Bouchon de callose
Maintien du volume cytoplasmique
Pression de turgescence

Adhikari et al., 2020 *frontiers in Plant Science*

Composition-Paroi primaire

Protéoglycanes

- **O-Glycanes** : addition de sucres au niveau des résidus -OH des acides aminés proline, hydroxyproline Alanine, sérine et thréonine des chaînes peptidiques. Lieu : Golgi.
- Plantes : HRGP family : hydroxyprolin rich glycoproteins
 - AGP fortement glycosylées
 - Extensines : moyennement glycosylées
 - PRP prolin rich protein : faiblement glycosylées



Rôle dans croissance cellule polarisée.

Si bloque synthèse AGP (Beta Yariv) croissance stoppée

Mollet et al., 2002 Protoplasma

Composition-Paroi primaire

Pectines

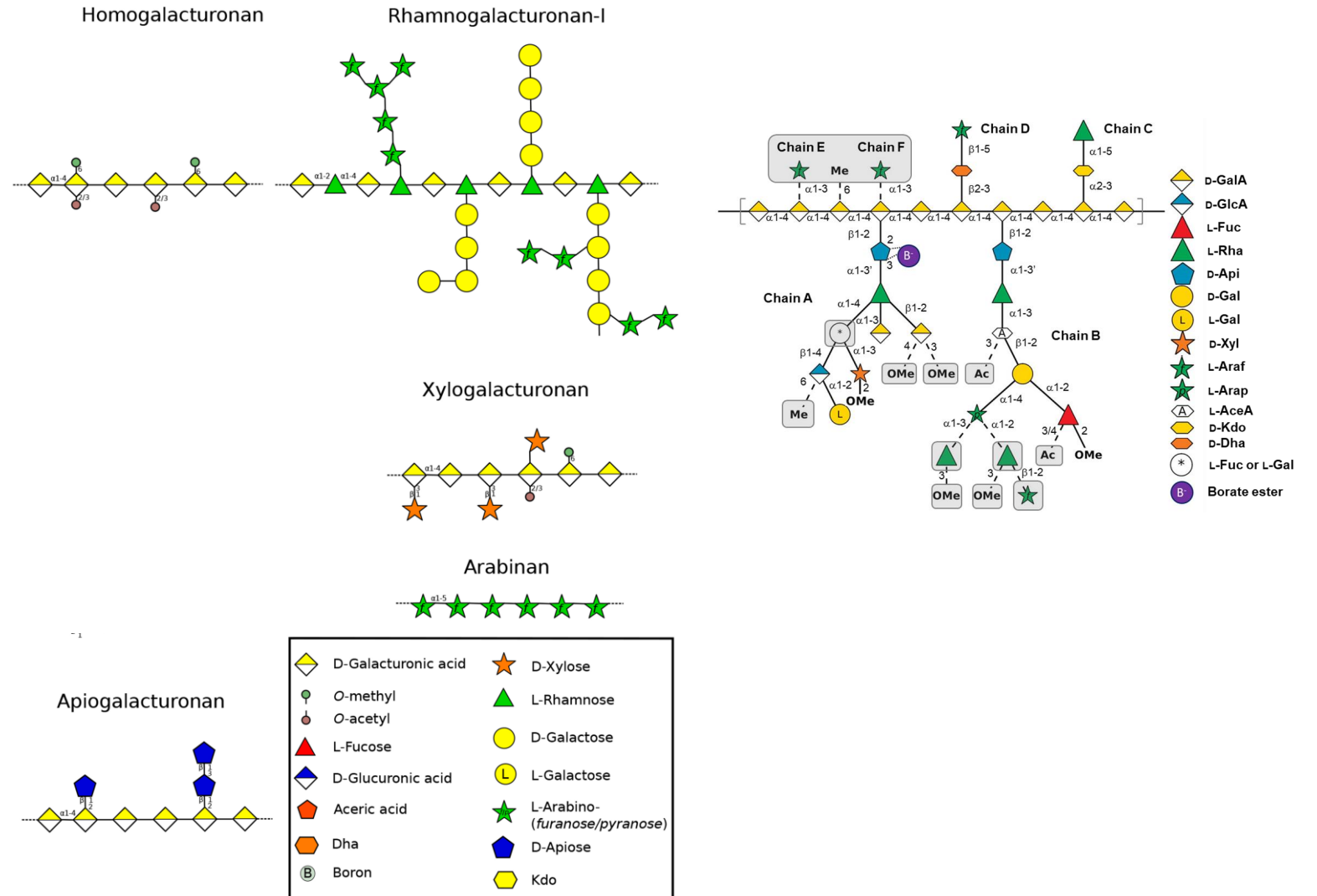
Synthèse Golgi

Diversité des domaines et des décorations (méthyl, acétyl) qui modifient les propriétés mécaniques

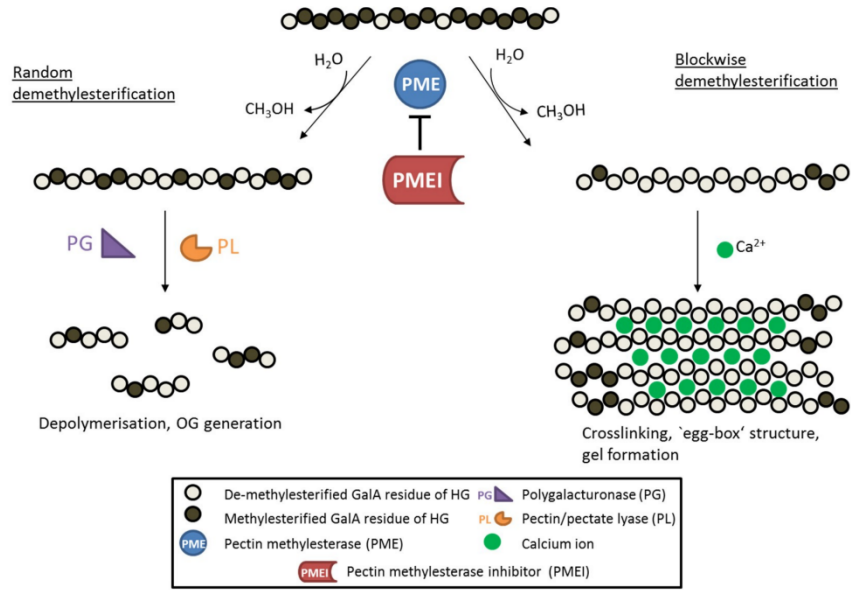
Rôle structural : boîtes à œuf et dimère de RG-II

Adhésion cellulaire

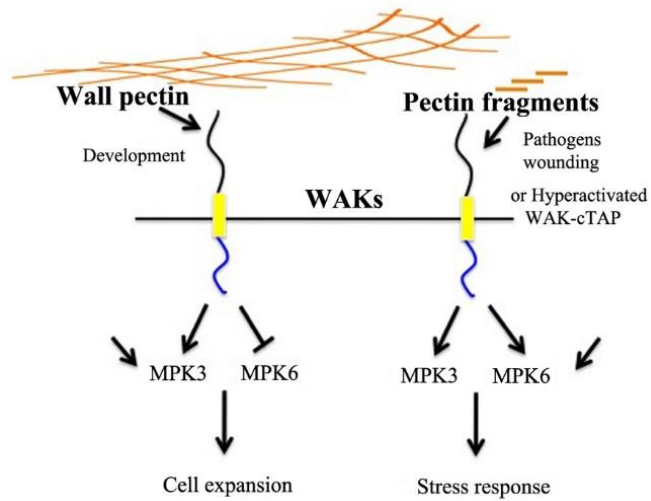
Rôle de signalisation : intégrité pariétale (WAK)



Modification des propriétés mécaniques de la paroi

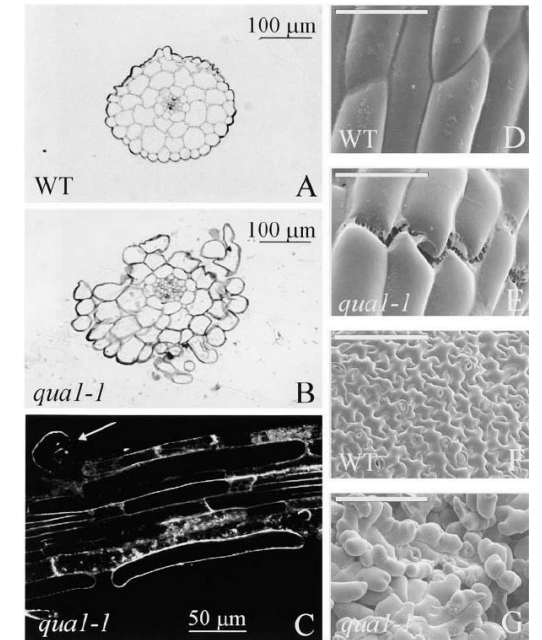
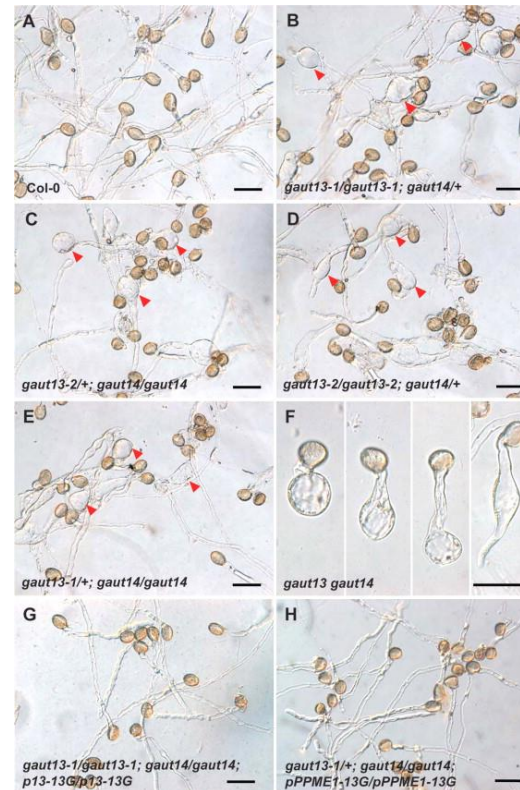
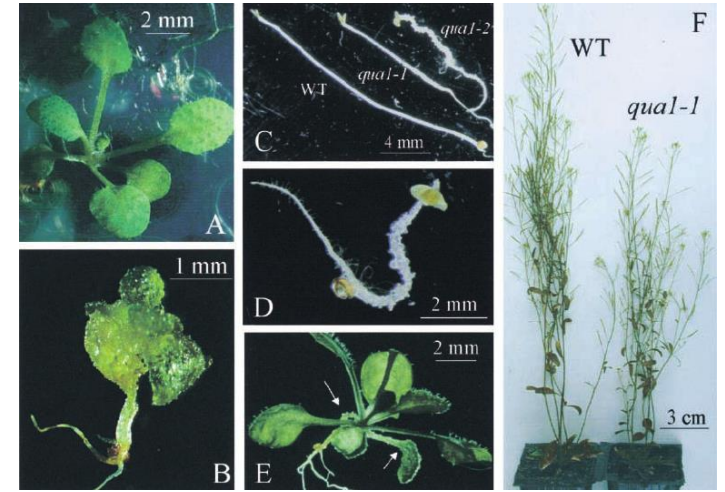


Sensing



Structure et adhésion

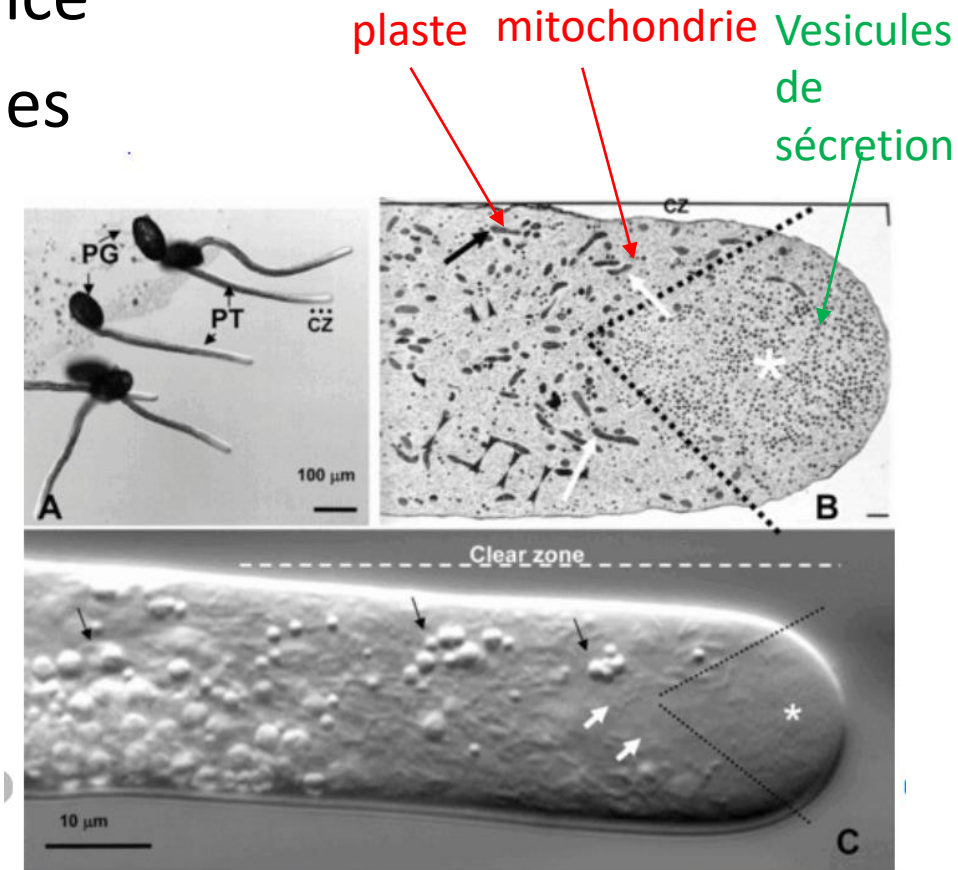
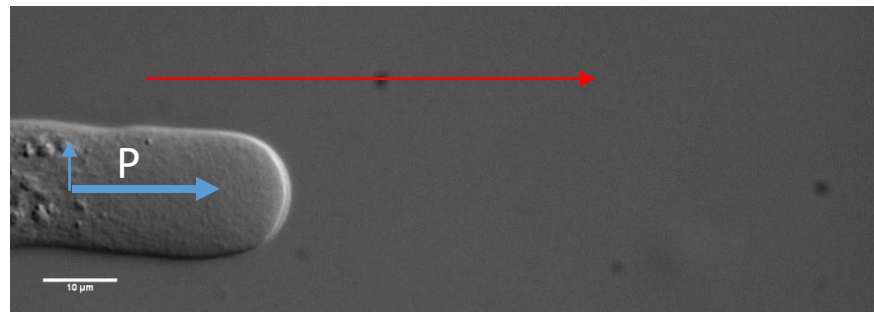
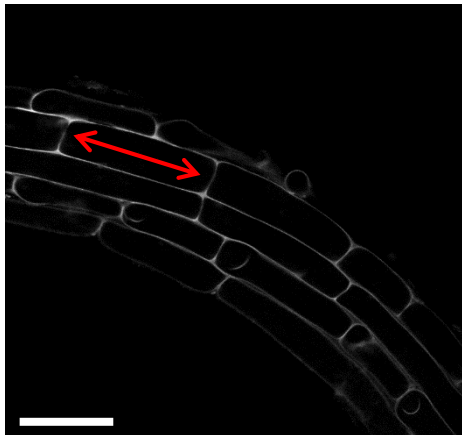
Mutant GAUT



Bouton et al., 2002. Plant Cell

Biosynthèse et remodelage de la paroi au cours de la croissance

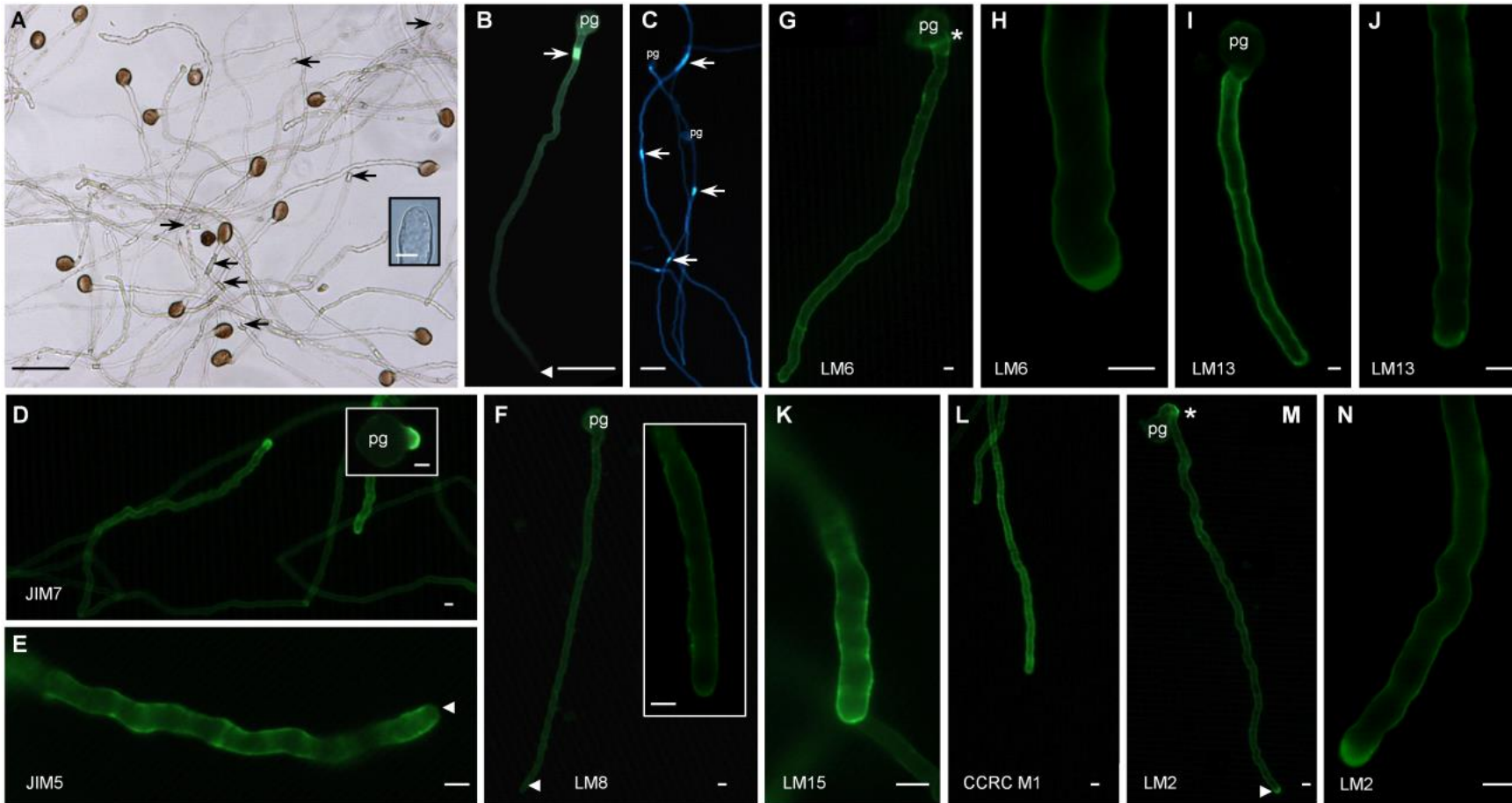
- Comment la cellule contrôle la synthèse, la mise en place et le remodelage des composés pariétaux pour assurer la croissance
- Quelle localisation et quels rôles pour les pectines
- Modèles d'études :
 - tube pollinique – croissance oscillatoire, polarisée
 - Zone élongation racine – croissance anisotropique



Marquage différencié des HG

Approche cyto et Immuno

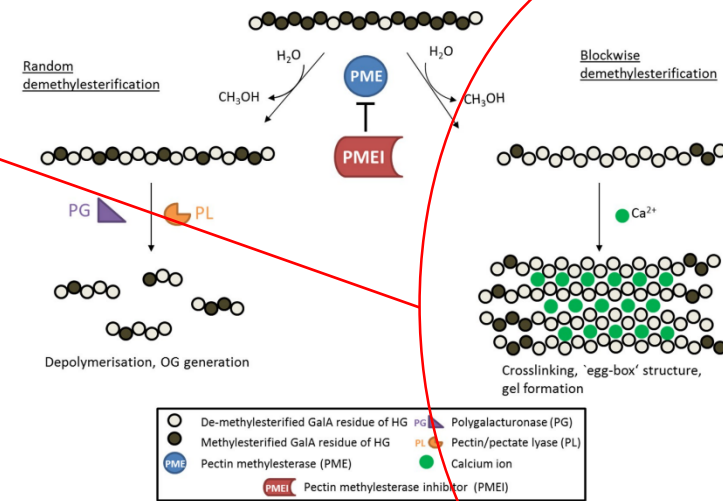
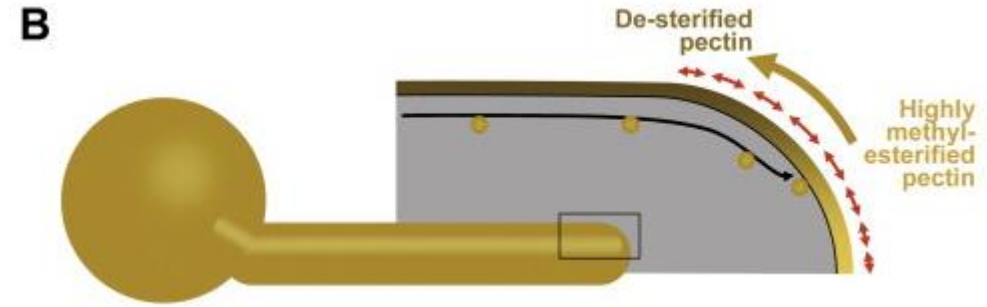
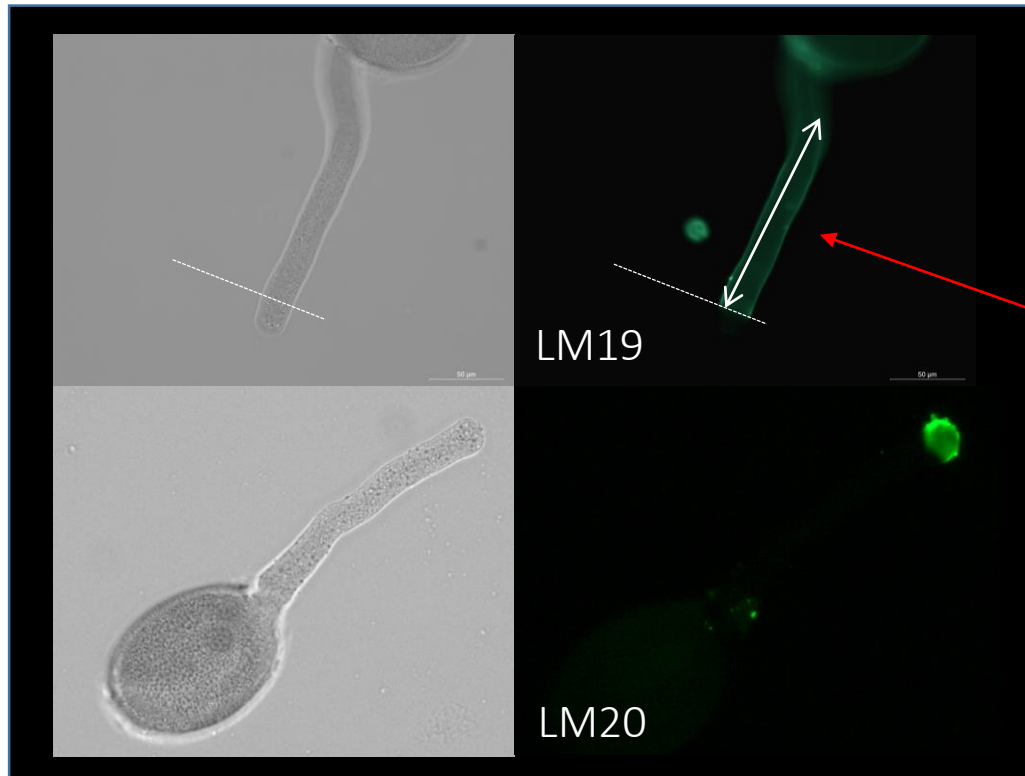
Marquage particulier avec LM19 et LM20. répartition des épitopes différentes entre apex et zone longitudinale



B, Aniline bleue. Specificque callose
C, Calcofluor, beta-glucans

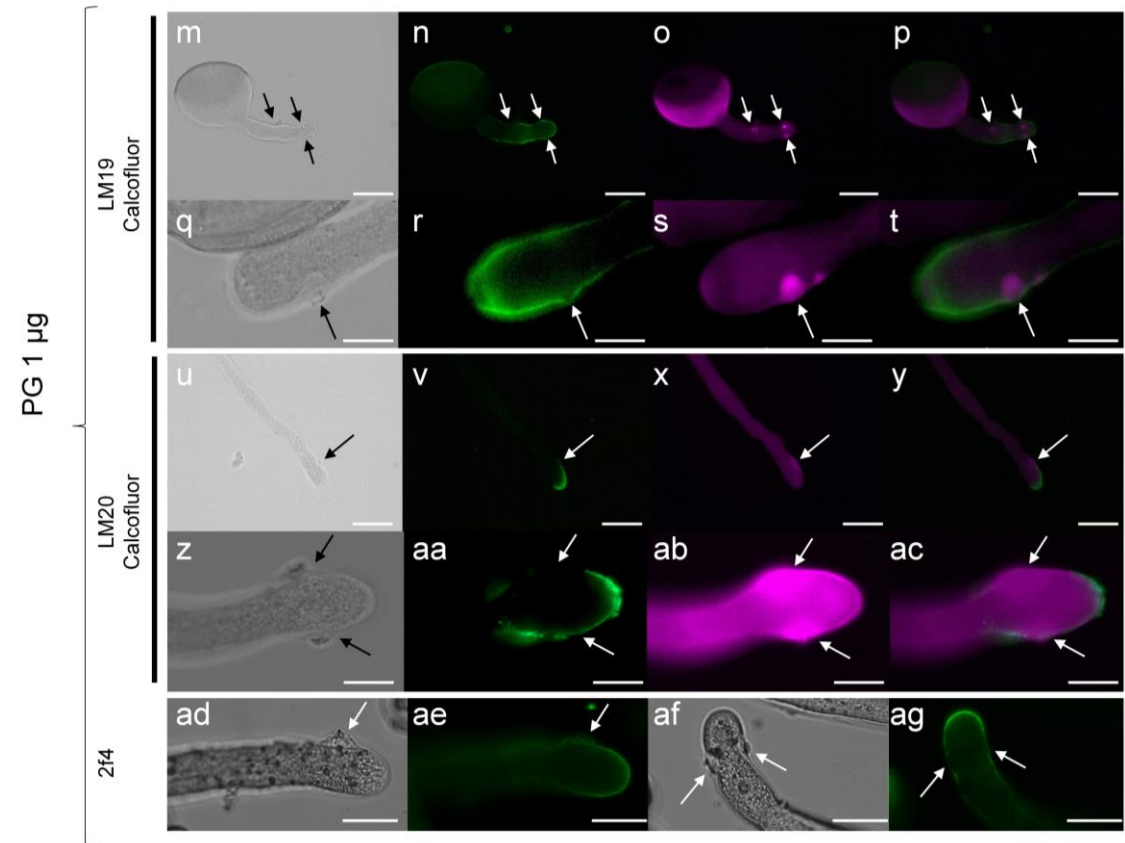
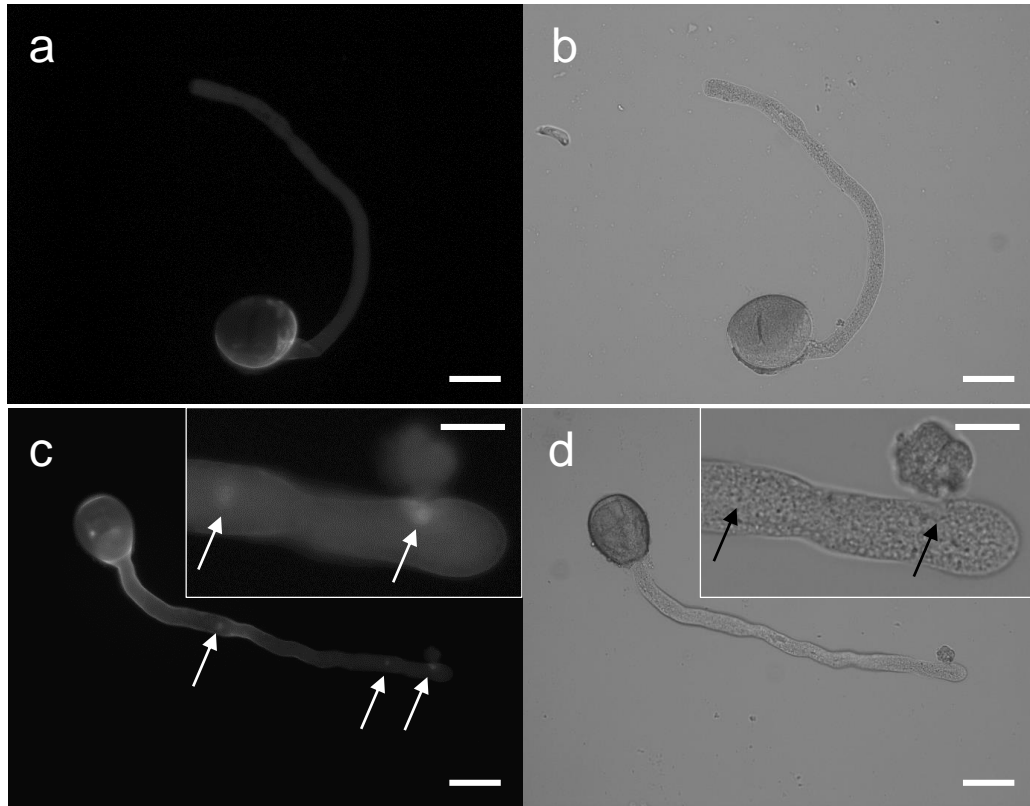
LM15 XyG
LM2 AGP
LM6 Arabinan RGI
LM13 arabinan RGI
LM8 Xylogalacturonan
JIM5, LM19 HG deméthylesterifié
JIM7, LM20 HG méthylesterifié

Rôle du remodelage des HG par les pectines méthyl estérases



Contrôle spatio-temporel de l'action des PMEs pour maintenir les propriétés mécaniques de la paroi

Le contrôle du remodelage des pectines est indispensable au maintien de la structure de la paroi

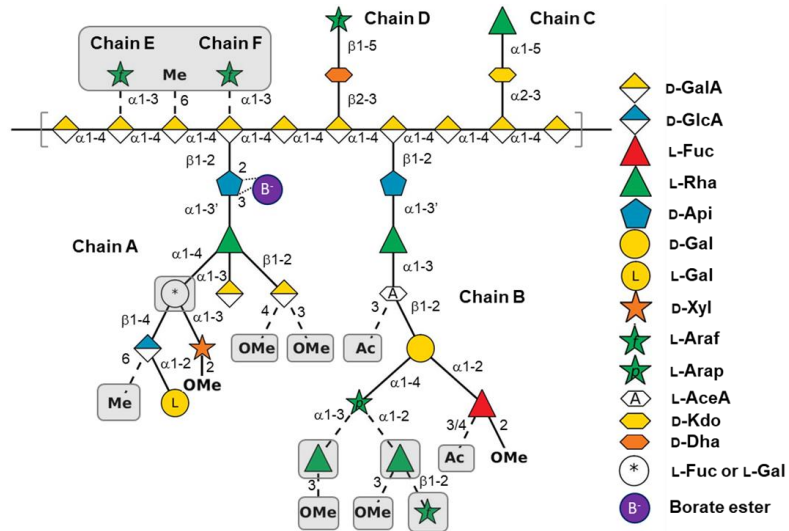


Modification enzymatique paroi-traitement avec endopolygalacturonase

Substrat HG-deméthylé. Action entre zone apicale et flanc du tube

Fuite- Sensing intégrité, réparation callose

Quid du Rhamnogalacturonan-II ?

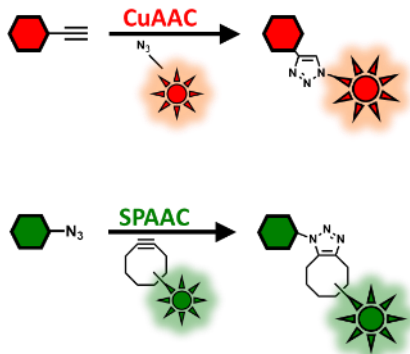


Mutant Biosynthèse RG-II léthaux

Exemple mutant Sialyltransferase like (transfert kDo ou Dha).

RG-II pas immunogène

Besoin développer autre technique pour visualisation

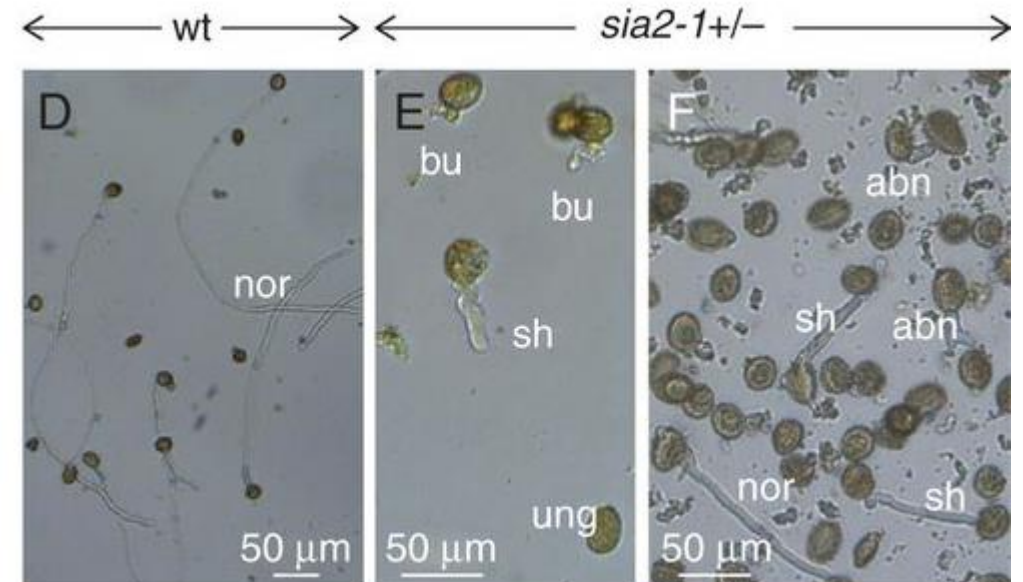


Chimie click, réaction bioorthogonale

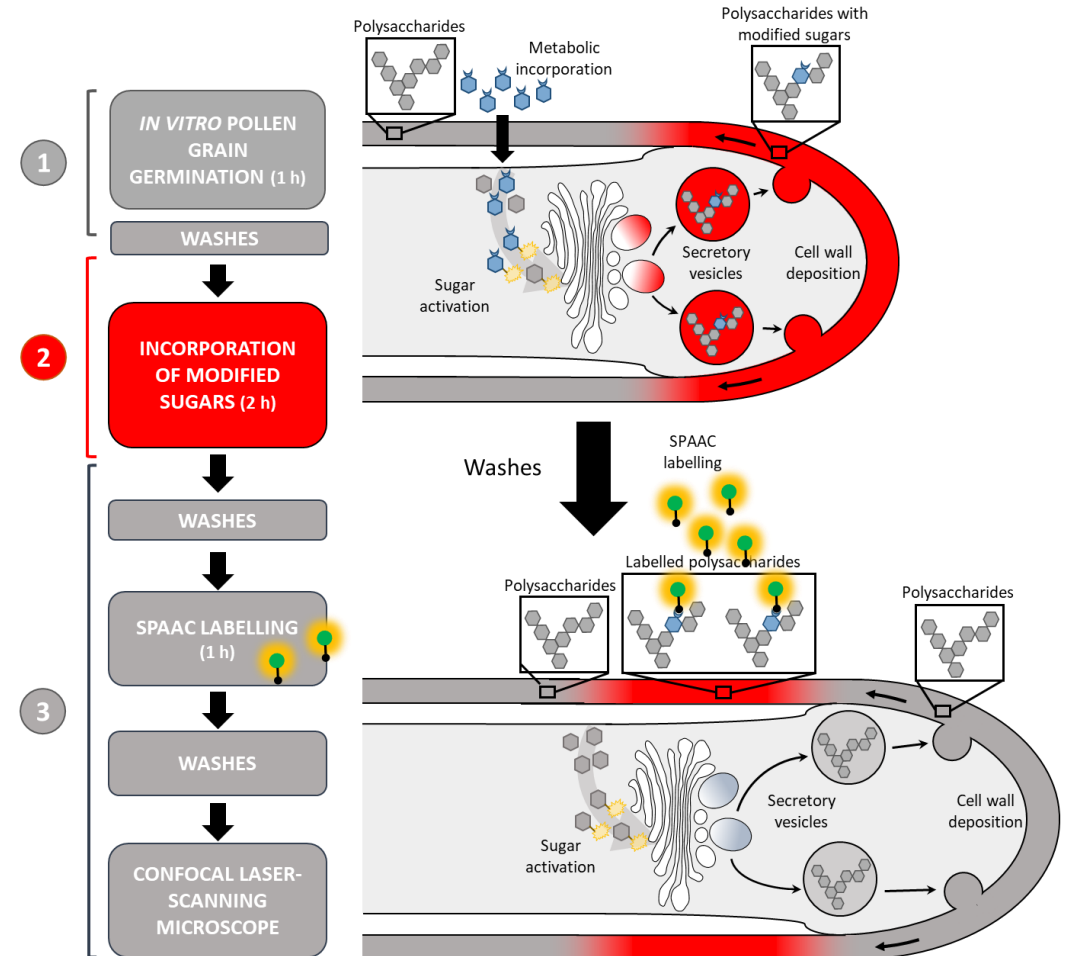
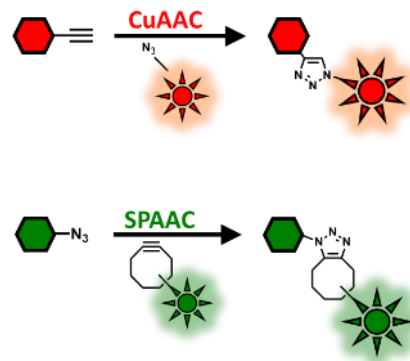
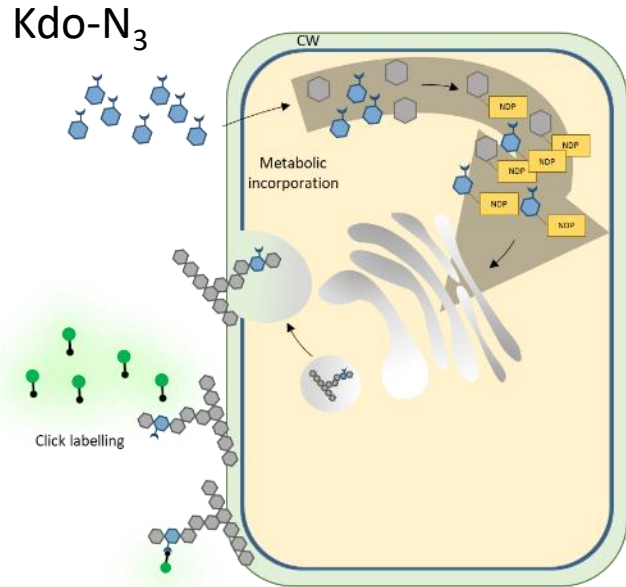
-Bio-compatible : condition physiologique

-hautement sélective : entre deux fonctions non naturellement présentes

-rapide



Marquage métabolique du rhamnogalacturonan-II

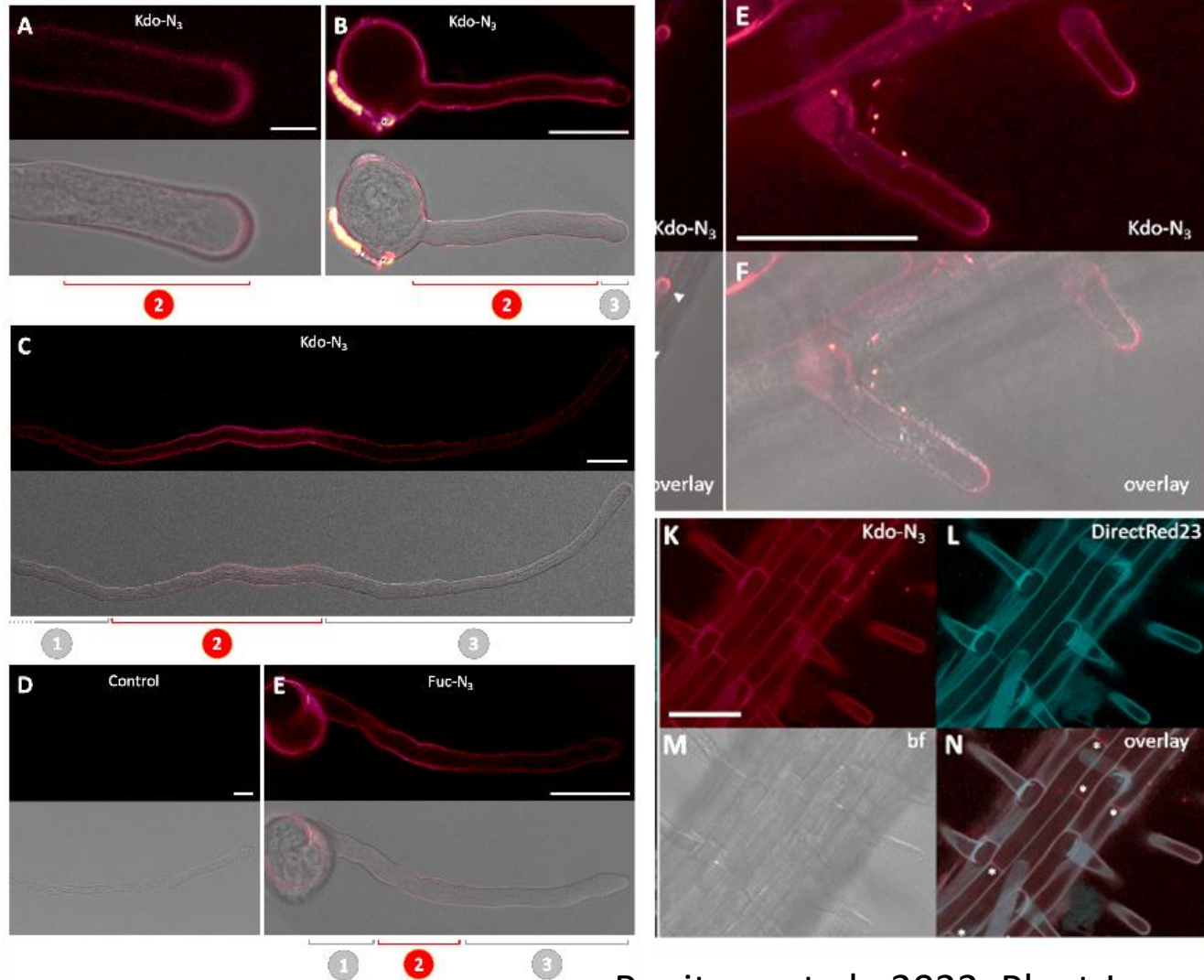


Marquage RG-II de tubes polliniques et racines en croissance

Développement d'outils imagerie pariétale dynamique

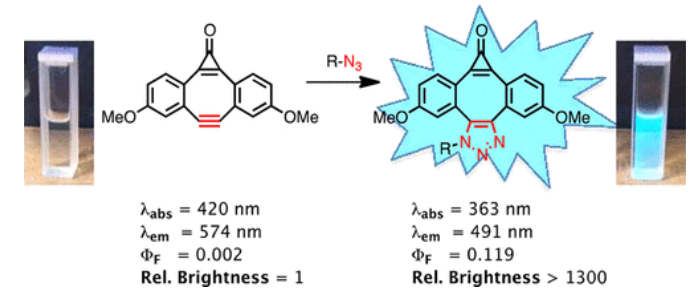
Marquage métabolique du rhamnogalacturonan-II

Projet NPT-2019-2022

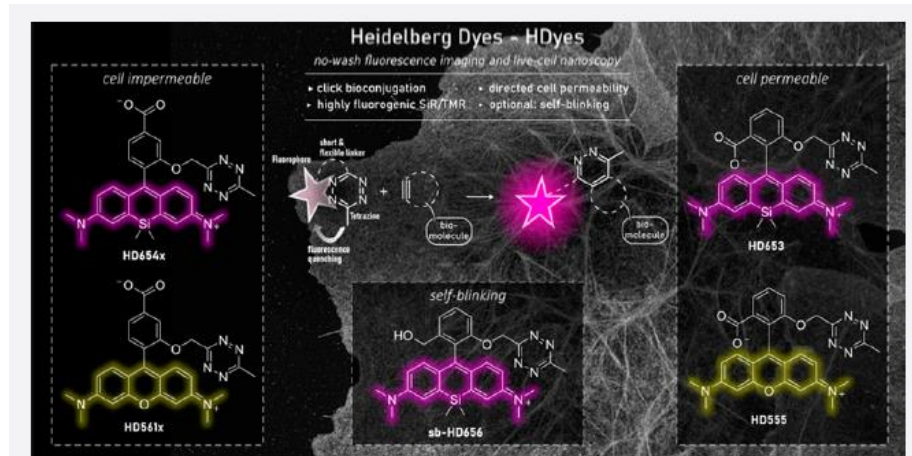


Ropitiaux et al., 2022. Plant Journal

Marquage métabolique wash-free



Friscourt et al., 2012. Journal of the American Chemical Society

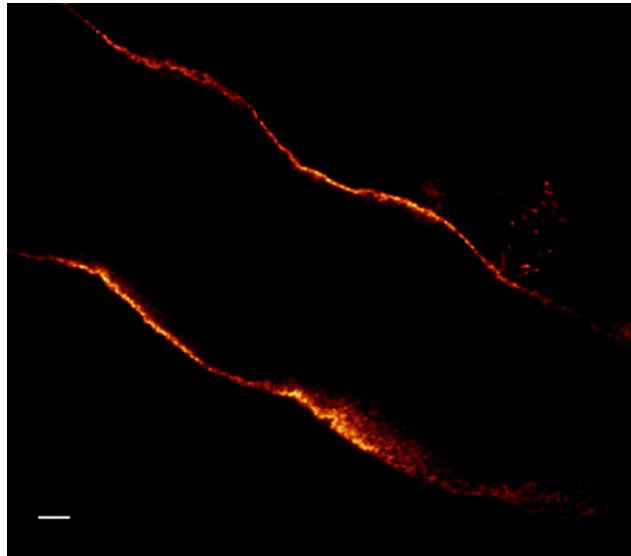


Werther et al., 2021

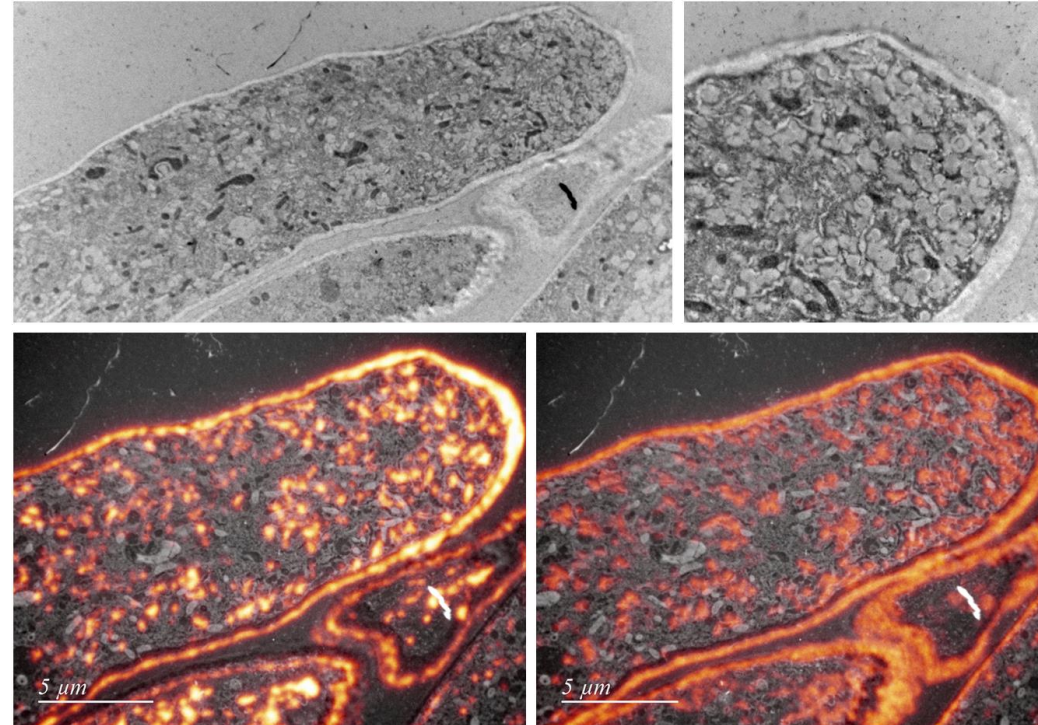
Localisation subcellulaire des polysaccharides

Gain résolution

STED stimulated-emission-depletion



CLEM Correlative light Electron microscopy



- LM20 HG highly methylesterified (cell wall and secretory pathway)
- CCRC-M1 fucosylated xyloglucan (cell wall and secretory pathway)

Remerciements

- Patrice Lerouge
- Jean-Claude Mollet
- Marc Ropitiaux
- Quentin Hays

- Boris Vauzeilles
- Aurélie Baron

