

## 50- La Plateforme de transformation de la vigne et exemple d'application en virologie

Mireille PERRIN<sup>1</sup>, Carine SCHMITT<sup>1</sup>, Claude GERTZ<sup>1</sup>, Isabelle SOUSTRE-GACOUGNOLLE<sup>2</sup>, Jean MASSON<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Virologie Vection UMR SVQV, INRA/UDS, 28 rue de Herrlisheim 68021 Colmar Cedex

<sup>2</sup> .Laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement, EA-3991, Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, 68008 Colmar cedex France

mireille.perrin@colmar.inra.fr; carine.schmitt@colmar.inra.fr

Suite au séquençage du génome de la vigne (Jaillon *et al.*, 2007) une forte demande en analyse fonctionnelle chez la vigne a émergé. Une enquête réalisée auprès des différents acteurs (2008-2009) a permis d'estimer les besoins et de co-définir le mode de fonctionnement attendu par les laboratoires. La plateforme est fonctionnelle depuis le printemps 2010. Elle fait appel à une méthode de transformation génétique/régénération de la vigne optimisée adaptée notamment à la lignée de Pinot Noir (P.N.) 40024.

La transformation est réalisée sur des cals embryogènes obtenus à partir du filet des anthères. De l'anthère jusqu'à l'obtention d'une plantule régénérée conforme à la plante d'origine, 6 mois sont nécessaires et les cultures de cellules doivent être renouvelées tous les deux ans (Perrin *et al* 2001, 2004). Après avoir testé la capacité à la régénération des cals embryogènes, la transformation par *Agrobacterium tumefaciens* est réalisée avec comme marqueur de sélection soit la *Green Fluorescent Protein* (GFP), soit la résistance aux antibiotiques (hygromycine, kanamycine). A partir de 100 µl de PVC (Pack Cell Volume), 10 à 30 transformants indépendants peuvent être obtenus en 6 à 8 mois, en fonction des génotypes (41B, Chardonnay, P.N. 40024, Nemadex AB). La plateforme produit 10 plantes transgéniques indépendantes caractérisées par analyses moléculaires (RT-PCR) 8 mois environ après réception de la construction du requérant.

Nous présenterons la méthodologie de transformation, le mode d'interaction plateforme/laboratoire demandeur, les coûts de prestation ainsi que les premiers résultats obtenus sur une analyse fonctionnelle de promoteur et sur la création de porte-greffes transgéniques pour une résistance aux virus.