



HAL
open science

Spécificité des laccases végétales dans la polymérisation in vivo et in vitro des monolignols

Davy Baratiny, Betty Cottyn Boitte, Serge Berthet, Lise Jouanin, Catherine
Lapierre, Paul Henri Ducrot, Nathalie Demont-Caulet, Nathalie
Caulet-Demont

► **To cite this version:**

Davy Baratiny, Betty Cottyn Boitte, Serge Berthet, Lise Jouanin, Catherine Lapierre, et al.. Spécificité des laccases végétales dans la polymérisation in vivo et in vitro des monolignols. Journées du Réseau Français des Parois 2011, Jun 2011, Lille, France. hal-04517705

HAL Id: hal-04517705

<https://hal.inrae.fr/hal-04517705>

Submitted on 22 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Spécificité des laccases végétales dans la polymérisation *in vivo* et *in vitro* des monolignols

BaratinyD^a, Cottyn B^a, Berthet S^a, Jouanin L^a, Lapierre C^a, Ducrot P-H^a, Demont-Caulet N^{a,b}

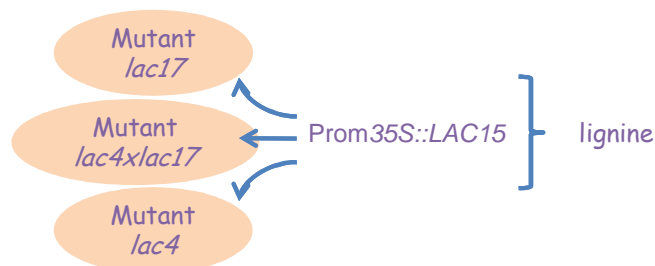
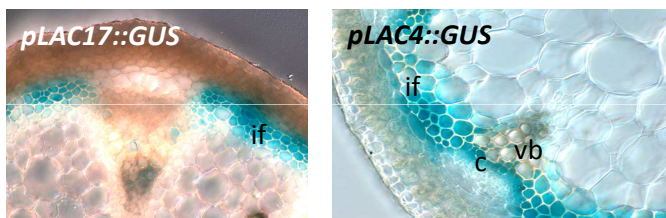
^aInstitut Jean-Pierre Bourgin, UMR 1318 Inra/AgroParisTech

^bUFR des sciences du Vivant, Université Paris Diderot-Paris7, 75205 Paris Cedex 13, France

Chez *Arabidopsisthaliana*, 8 des 17 laccases identifiées sont majoritairement exprimées dans les tiges. L'étude de mutants, a mis en évidence l'implication de LAC4 et LAC17 dans la lignification. Une autre laccase LAC 15 spécifiquement exprimée dans les graines, est elle connue pour son rôle dans l'oxydation des flavonoïdes¹. A ce jour aucune relation site d'expression-spécificité substrat n'a encore été démontré chez les laccases.

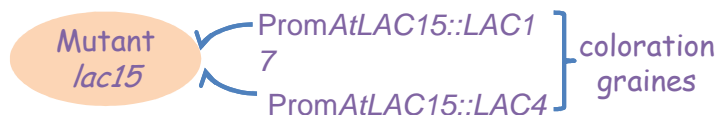
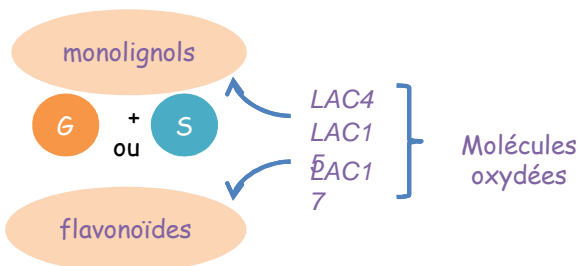
L'étude des sites d'expression des laccases localise LAC4 dans les fibres interfasciculaires et les vaisseaux tandis que LAC17 est présente uniquement dans les fibres². Cette spécificité de site d'expression ainsi que la présence d'unités G et S dans les fibres et uniquement S dans les vaisseaux pose la question d'une spécificité potentielle des enzymes vis-à-vis des monolignols.

In vivo la capacité d'une autre laccase à polymériser les monolignols, sera testée en réalisant des complémentations de mutants chez lesquels l'absence de laccase a pour conséquence une diminution de la quantité totale de lignines présente dans les tiges. La capacité de Lac15 à restaurer même partiellement le phénotype lignine sera recherché chez les simples et doubles mutants *lac4xlac17*.



La synthèse *in vitro* de lignine par la méthode des DHP (DeHydrogenationPolymers) permet de vérifier la capacité d'une enzyme à polymériser les monolignols. La mise en présence de laccases purifiées (purification par Tag) et de substrats (unités S et unités G) permettra de réaliser une étude de la disparition des substrats et d'apparition des produits pour connaître la spécificité enzyme-substrat.

L'étude des spécificités sera étendue non seulement aux monolignols mais aussi aux autres substrats connus des laccases notamment les flavonoïdes en réalisant des complémentations du mutant *lac15* (phénotype graines blanches) par les laccases 4 et 17 pour voir si la couleur brune des graines peut être restaurée.



CONCLUSION

L'objectif du projet de thèse est de déterminer d'une part s'il existe une réelle spécificité des laccases pour un type de monolignols et d'autre part, si elles sont spécifiques d'un type de substrats, monolignols ou flavonoïdes. La possibilité que cette spécificité soit le résultat de l'expression spatio-temporelle des gènes sera aussi étudiée en exprimant spécifiquement des gènes en lieu et place d'autres gènes chez des mutants. *In vitro* La détermination des paramètres enzymatiques confirmera l'affinité ou non des enzymes pour les substrats.

1. Pourcel L. *et al* (2005). *The Plant Cell*, Vol. 17, 2966–2980.
2. Berthet S. *et al* (2011). *Plant Cell Mar*;23(3):1124-37.
- Demont-Caulet N. *et al* (2010), *Phytochemistry* 71, 1673-1683.