HAL open science

Les radeaux membranaires et la signalisation végétale

Patricia Gerbeau-Pissot

To cite this version:

Patricia Gerbeau-Pissot. Les radeaux membranaires et la signalisation végétale. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Bourgogne Franche-Comté, 2016. tel-03696238

HAL Id: tel-03696238

https://hal.inrae.fr/tel-03696238v1

Submitted on 15 Jun 2022

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.

Face à une fluctuation des paramètres de son milieu ambiant ou à une agression biotique, la cellule végétale met en place une réponse adaptative dont les étapes les plus précoces sont la reconnaissance précise et rapide du stress, capable d'induire le développement d'une cascade de signalisation appropriée. Certains des acteurs de ces voies sont localisés sur la membrane plasmique (MP). En fonction de l'espèce, l'état physiologique… d'une cellule, on trouve au sein de sa MP des lipides, des protéines et des oses de structures et en concentrations variables. Chez les cellules de tabac, par exemple, on compte environ 50 lipides pour une protéine.

Bien que moins nombreuses, les protéines ont pourtant depuis tous temps été considérées comme les principales responsables du fonctionnement plasmalemmique, et plus largement membranaire. Dans ce contexte, l'étude du lien entre la perméabilité d'une membrane et l'activité spécifique des canaux qui s'y trouve semblait prometteuse. Ainsi, des expériences de sonde de pression évaluant la conductance hydraulique d'un organe ou d'une cellule entière, et de spectrophotométrie en flux interrompu mesurant la perméabilité de vésicules de membrane purifiée, ont été couplées à des approches d'expression fonctionnelle en ovocyte de xénope caractérisant l'activité d'une protéine isolée. Ces approches, développées pendant ma thèse, ont permis de montrer une excellente analogie entre la haute perméabilité aux solutés, notamment à l'urée, du tonoplaste de cellules de tabac et la sélectivité de l'activité de transport de Nt-TIPa, une nouvelle aquaporine tonoplastique. D'autres données ont confirmé de telles similitudes en rapprochant la régulation par le pH et les cations divalents de la conductivité hydraulique de cellules d'*Arabidopsis* à la sensibilité aux pH acides et aux concentrations croissantes en calcium de la perméabilité hydrique de vésicules de plasmalemme purifié. Depuis, l'étude de mutations de l'aquaporine plasmalemmique At-PIP2;1 a permis de décrypter les modifications de l'ouverture du pore, en réponse à pH et calcium.

La plasticité des membranes biologiques ne s'exprime pas uniquement dans la multitude des régulations de leurs activités de transport, leurs compositions lipidiques peuvent être tout aussi (et localement) modulables. Par exemple, chez le tabac des fractions, montrant des singularités biochimiques et notamment une résistance à la solubilisation par les détergents, sont enrichies en stérols et sphingolipides. L'existence au sein de la MP de différentes fractions aux caractéristiques distinctes laissait entrevoir la possibilité d'une hétérogénéité de cette membrane *in vivo*. Les propriétés d'une sonde fluorescente sensible à l'état d'ordre de la membrane ont été utilisées pour dépeindre l'organisation spatiale du plasmalemme directement sur cellule végétale. Associées à des techniques d'imagerie telles que la microscopie confocale multispectrale, elles ont permis de localiser, *in situ,* des domaines plus ordonnés à la surface de cellules de tabac. Des approches pharmacologiques ont établi l'implication des stérols dans la structuration du plasmalemme en domaines ordonnés, en parfait accord avec nos résultats de spectroscopie de fluorescence sur fractions de membrane purifiée. Des vésicules membranaires géantes constituées de mélanges de complexité croissante de molécules telles que des phytostérols, phytosphingolipides et phospholipides ont revisité la vision classique de la communauté scientifique sur l'hétérogénéité latérale du plasmalemme, en déterminant l'implication d'une part de la structure et d'autre part de la concentration locale, de chacune de ces molécules dans l'organisation spatiale de cette membrane. Ces travaux, actuellement complétés par des approches *in vivo*, fixaient le rôle majeur des interactions sphingolipides/phytostérols et protéines/lipides dans l'organisation latérale de la membrane plasmique.

Pour être complète la caractérisation de la MP doit maintenant se tourner vers l'identification des espèces et des mécanismes moléculaires qui gouvernent ces regroupements locaux. Des approches de titration calorimétrique et/ou d'optique fine (microscopie à force atomique) peuvent être envisagées, en collaboration avec des unités maitrisant ces techniques, pour déterminer les partenaires et les interactions impliquées. Simultanément, l'observation d'une augmentation de la densité et de la taille des domaines les plus ordonnés de la MP en réponse à des éliciteurs de réactions de défense propose la formation de plateforme de signalisation, comme celle décrite chez les animaux. Afin de comprendre les fondements sous-jacents à la dynamique de ces plateformes, l'imagerie cellulaire pourrait être couplée à des outils pharmacologiques afin de i) montrer un éventuel adressage au plasmalemme de domaines ordonnées en attente sous forme de vésicules sous-jacentes, et de ii) préciser les points de rencontre entre différentes voies du trafic membranaire induites concomitamment par le stress biotique, à savoir la déstructuration des tubules, la production de vésicules d'endocytose, la régulation de l'architecture du tonoplaste… En lieu et place ou en parallèle de cette arrivée de domaines plus ordonnés, une néo-synthèse par changement des propriétés biophysiques des domaines pré-existants est probable. Dans ce laps de temps, des modifications induites par le burst oxydatif des molécules déjà en place semblent en effet appropriées. Pour tester cette hypothèse, la visualisation *in vivo* du niveau d'oxydation de la membrane serait pertinente. La mesure, en parallèle, des effets de ces modifications sur l'état d'ordre de la membrane pourrait se faire sur système simplifié par des analyses biophysiques. Enfin, afin d'apporter des éléments de réponse à la question de l'implication des radeaux membranaires dans les différentes étapes de l'interaction plante-microorganismes, une piste, actuellement relativement vierge, à explorer serait l'étude des conséquences d'un enrichissement en domaines ordonnés dans la réponse adaptative. La réquisition de protéine cible dans ces domaines, pour en modifier l'activité *via* l'interaction avec des co-facteurs enrichis localement, est avancée de façon consensuelle. Ayant, nous, suggéré une forte implication des lipides, quel(s) rôle(s) pourrait alors jouer la régulation de leur concentration d'une part, et de leur organisation locale d'autre part ?