

Implication du continuum matrice-plasmalemme-cytosquelette dans le développement embryogène de protoplastes

M. Petitprez¹

H. Barthou¹

C. Brière¹

G. Alibert¹

Des protoplastes d'hypocotyle de Tournesol cultivés en milieu liquide se divisent de manière symétrique pour donner des microcolonies qui évoluent en cals. Lorsque ces protoplastes sont préalablement inclus dans une matrice d'agarose, les premières divisions sont majoritairement asymétriques et conduisent à la différenciation d'embryoïdes. L'inclusion en agarose induit donc une polarisation qui aboutit à la formation d'un embryoïde. Nous avons montré que l'adhésion matrice-membrane est un facteur déterminant de la polarisation cellulaire : la plasmolyse ainsi que les peptides porteurs du motif RGD inhibent la différenciation d'embryoïdes. Sur le plasmalemme des protoplastes nous avons mis en évidence des protéines homologues de AtELP, récepteurs à motif intégrine caractérisés précédemment chez *Arabidopsis*. Parallèlement, des fractions protéiques de plasmalemme de tournesol sont capables de lier spécifiquement le motif RGD. De telles protéines trans-plasmalemmiques pourraient être impliquées dans l'ancrage matrice-plasmalemme et la réception du signal d'adhésion.

¹ Laboratoire de Biotechnologie et amélioration des plantes (BAP), INP-Ensat/UA Inra, pôle de Biotechnologie végétale, 18 chemin de Borde Rouge, Auzeville, BP 107, 31326 Castanet Tolosan, France.

L'inclusion des protoplastes en agarose se traduit par une stabilisation du cytosquelette. Les microtubules s'organisent en travées parallèles et une cage de microtubules s'édifie rapidement autour du noyau. Le réseau d'actine, totalement déstructuré par la protoplastisation se reconstruit en trois jours et aboutit à la formation de cables d'actine reliant la cage périnucléaire au cortex. La suppression des contacts matrice-plasmalemme par plasmolyse ou par addition de peptides porteurs du motif RGD, provoque la déstructuration du réseau de microtubules – rupture des microtubules corticaux et disparition des microtubules périnucléaires – et des microfilaments – rupture des filaments corticaux d'actine et des cables cytoplasmiques. La stabilisation des réseaux de microtubules et de microfilaments dépend donc des ancrages de protéines plasmalemme à la matrice extra-cellulaire, et le cytosquelette pourrait participer à la transduction du signal d'adhésion vers le noyau.

L'adhésion du protoplaste à la matrice d'agarose s'accompagne aussi d'une réorganisation de la distribution des canaux ioniques. En utilisant un antagoniste des canaux calciques fluorescent, nous avons montré que la distribution des canaux ioniques, isotrope au premier jour de culture, devient anisotrope pour marquer le futur site de division cellulaire, et ce de façon très différente suivant le type de division symétrique ou assymétrique. Le contact matrice-plasmalemme permet donc une migration orientée des canaux ioniques du plasmalemme, ce qui peut contribuer à la mise en place d'un gradient cytosolique de calcium, d'une polarité cellulaire et du futur plan de division.

Nos travaux illustrent ainsi le rôle du continuum matrice-plasmalemme-cytosquelette-canaux dans l'établissement de la polarité cellulaire qui conduit à l'initiation d'un programme de développement embryogène. Nous centrons actuellement nos efforts sur la caractérisation des récepteurs membranaires impliqués dans la réception du signal d'adhésion et dans l'identification des protéines associées au cytosquelette. Nous développons également un suivi de l'expression des gènes au cours de l'acquisition de polarité chez le protoplaste.