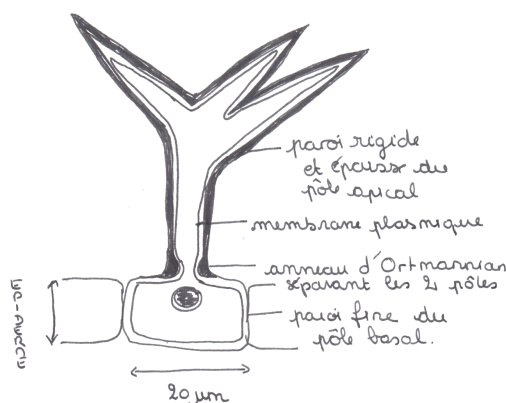


Rappel :

- composition d'une membrane ; les cas particuliers
- fonctions d'une membrane
- propriétés d'une membrane
- diversité des membranes
- composition de la paroi végétale
- fonctions d'une paroi
- propriétés d'une paroi
- diversité des paroi

Les trichomes sont des cellules épidermiques spécialisées en forme de poils qui l'on trouve sur les feuilles de nombreuses plantes. Pour la plante modèle *Arabidopsis thaliana*, les trichomes sont des grandes cellules régionalisées : on décrit un pôle basal recouvert d'une paroi fine riche en pectine et un pôle apical plurilobé revêtu d'une paroi épaisse et rigide ; la frontière entre les deux zones est marquée par un épaississement de la paroi nommé l'anneau d'Ortmannian.

Schéma de la structure d'un trichome d'*Arabidopsis thaliana*



L'équipe d'Ivan Kulich de l'université de Prague utilise les trichomes d'*Arabidopsis thaliana* comme support de recherche et s'intéresse à la régionalisation membranaire et pariétale sur cette cellule.

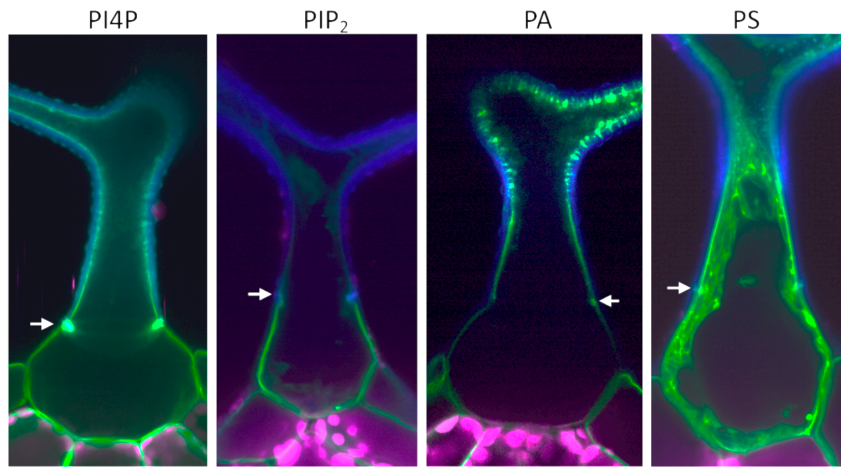
Kulich et al, Plant physiology, 2015

Kulich et al, Plant physiology 2018

Kubatova et Kulich, Int.J.Mol.Sci., 2019

Document 1 : répartition des lipides dans la membrane des trichomes d'*Arabidopsis thaliana*

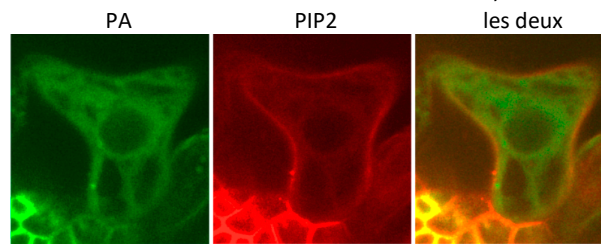
On colore sur un trichome, en bleu la paroi, en rose la chlorophylle, et en vert un phospholipide donné (PI4P, PIP₂, PA ou PS). Barre d'échelle : 20 µm. La flèche indique la position de l'anneau d'Ortmannian



Document 1.1 : localisation de quatre lipides sur un trichome sauvage mature d'*Arabidopsis thaliana*

Q1- Localiser les quatre lipides

On réalise la même expérience de localisation sur un trichome immature, en cours de croissance et différenciation.



Document 1.2 : localisation sur un trichome sauvage immature, en cours de différenciation.

PA en vert ou PIP₂ en rouge ou les 2 superposés ; barre d'échelle 10 µm

Q2- Comparer la localisation des lipides sur le trichome immature et mature. Qu'en déduire ?

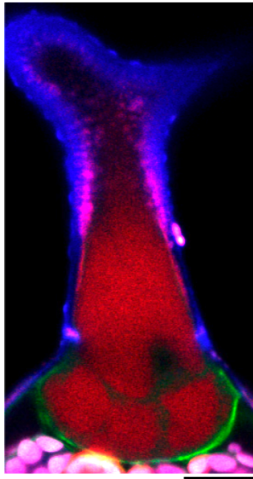
Document 2 : les isoformes de la protéine EXO70 dans les trichomes d'*Arabidopsis thaliana*

La protéine EXO70 appartient à un complexe protéique, l'exocytome, qui participe à l'arrimage des vésicules d'exocytose, issues de l'appareil de Golgi, à la membrane plasmique. L'exocytome complète le fonctionnement des protéines SNARE.

Chez les végétaux la protéine EXO70 possède de nombreuses isoformes¹ codées par des gènes paralogues : on dénombre par exemple 23 gènes² EXO70 légèrement différents dans le génome d'*Arabidopsis thaliana*. Dans les trichomes seuls les gènes EXO70A1, EXO70B1 et EXO70H4 sont exprimés.

¹ protéines isoformes = protéines de séquences proches, codées par des gènes différents, assurant des fonctions similaires dans des lieux différents

² gène, à ne pas confondre avec allèle ! Ici il y a bien 23 gènes, chacun pouvant posséder plusieurs allèles.

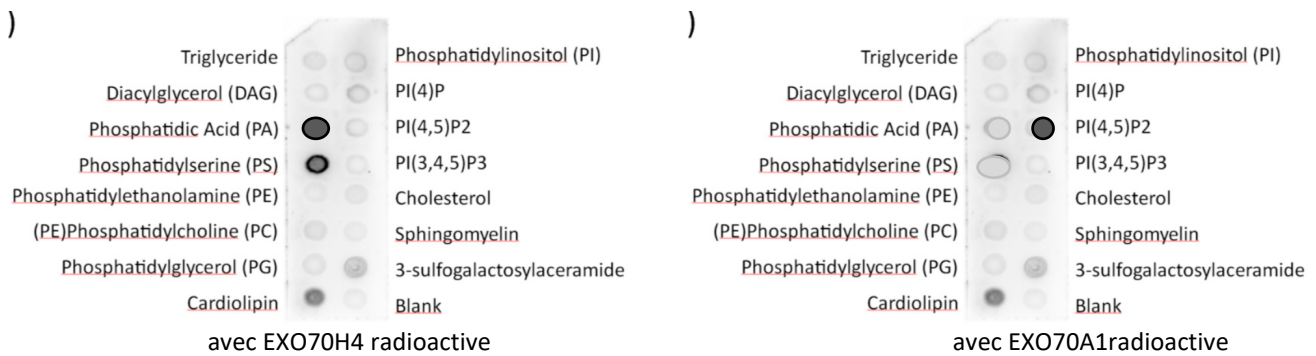


Document 2.1 : localisation des protéines EXO70A1(en vert) et EXO70H4 (en rose) sur un trichome sauvage mature.

Par ailleurs, en bleu la paroi, en rose la chlorophylle. Barre d'échelle : 20 μ m

Q3- Localiser les isoformes des protéines EXO70. Identifier les molécules localisées au même endroit.

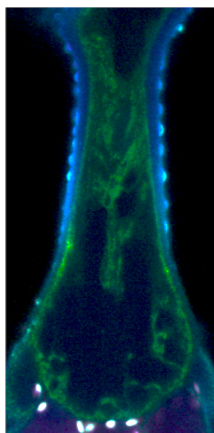
Afin de comprendre cette localisation on réalise le montage *in vitro* suivant. Sur une plaque, des puits contenant des phospholipides différents sont mis au contact avec des protéines EXO70H4 ou EXO70A1 radioactives ; après rinçage on révèle la plaque par autoradiographie : la radioactivité donne une tache noire.



Document 2.2 : mise en contact in vitro des protéines EXO70 et des phospholipides

Q4- Analyser les résultats. En déduire la cause des colocalisations précédemment identifiées

Par ailleurs on localise les lipides PA dans des trichomes de plants mutants d'*Arabidopsis thaliana* : les mutants *exo70h4-* sont dépourvus de protéines EXO70H4 fonctionnelles



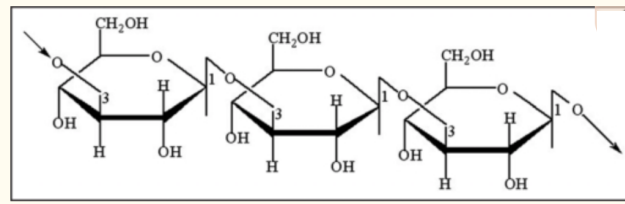
Document 2.3 : localisation des phospholipides PA (en vert) dans un trichome mature d'un plant mutant *exo70h4-*

barre d'échelle 20 μ m

Q5- Comparer ce résultat avec le résultat du document 1.2. Préciser alors la fonction de l'isoforme EXO70H4

Document 3 : synthèse de callose dans la paroi des trichomes d'*Arabidopsis thaliana*

La callose est une macromolécule que l'on trouve quelquefois dans la paroi des cellules végétales

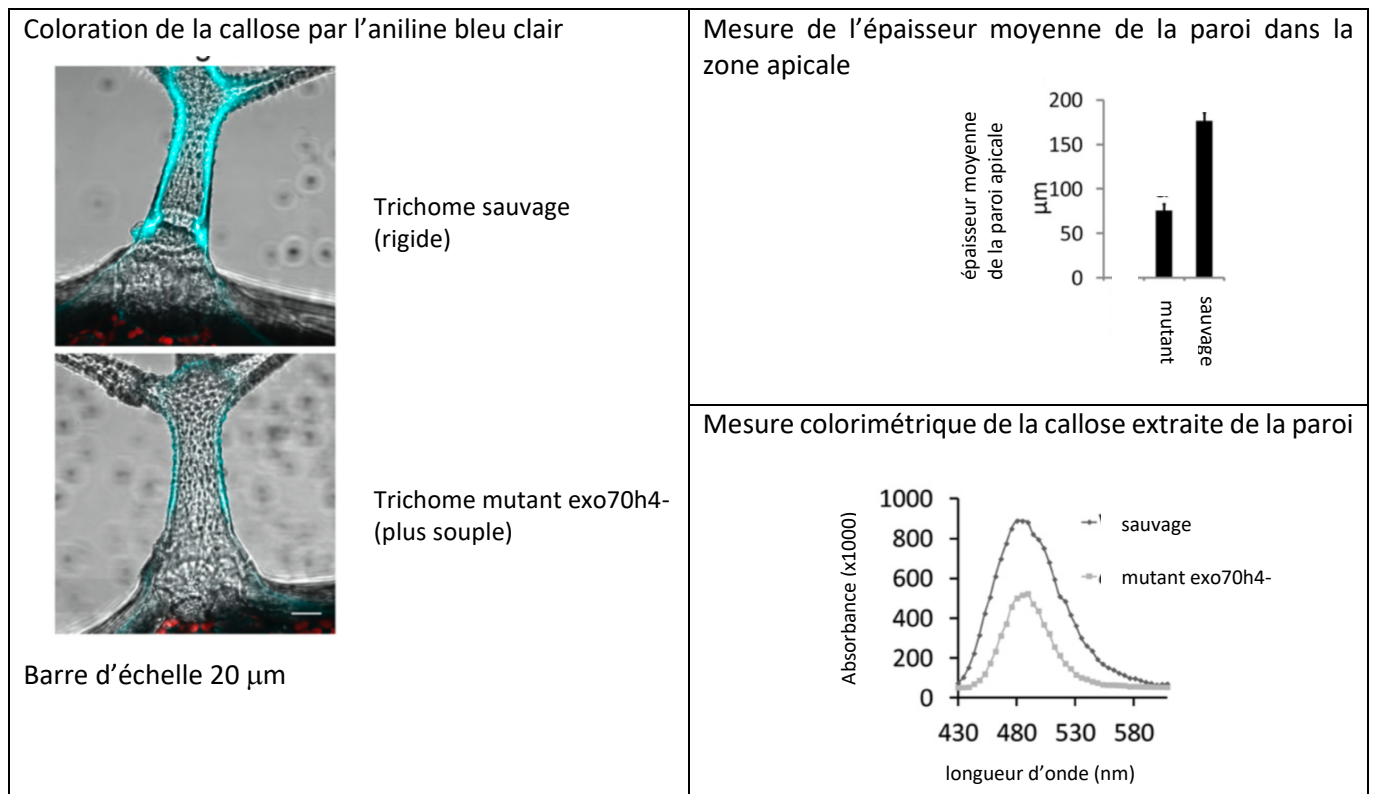


Document 3.1 : extrait de la formule développée de la callose

Q6- Décrire cette molécule.

La callose peut être colorée de façon spécifique par l'aniline bleu clair. On peut ainsi localiser la callose colorée en bleu dans les trichomes d'*Arabidopsis thaliana*. Cette localisation est effectuée sur un trichome sauvage et sur un trichome mutant *exo70h4-*. Pour compléter l'observation, la paroi est mesurée sur les deux trichomes puis la callose est extraite pour une mesure colorimétrique.

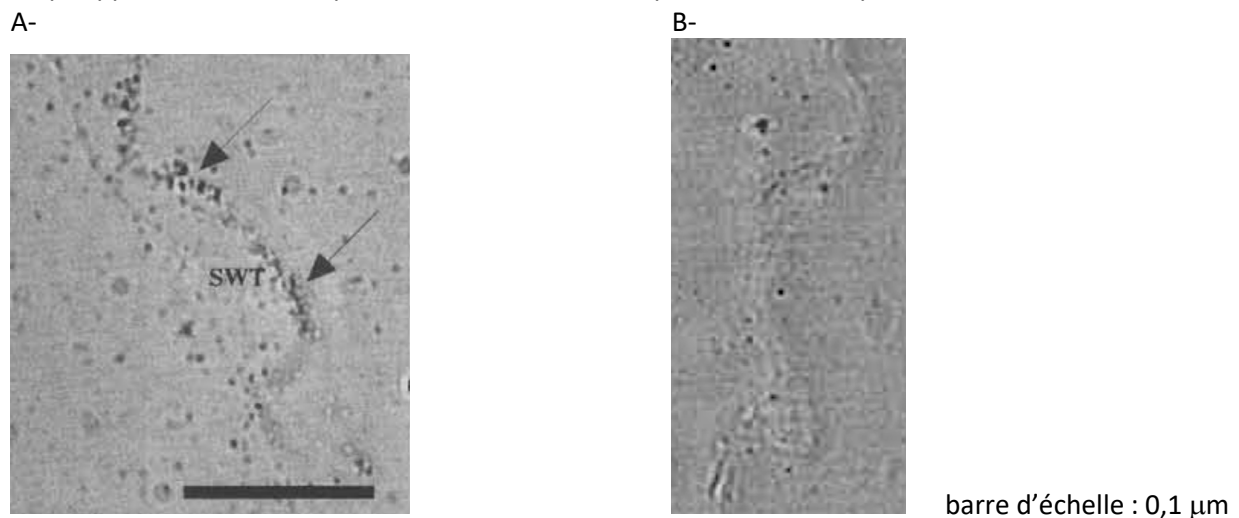
Par ailleurs le nombre de trichomes est similaire chez les deux plants.



Document 3.2 : comparaison de la répartition de la callose dans la paroi de trichome sauvage et de trichome mutant *exo70h4-*

Q7- Comparer, dans un tableau, la callose entre le sauvage et le mutant *exo70h4-* sur les 3 parties du document 3.2. Interpréter.

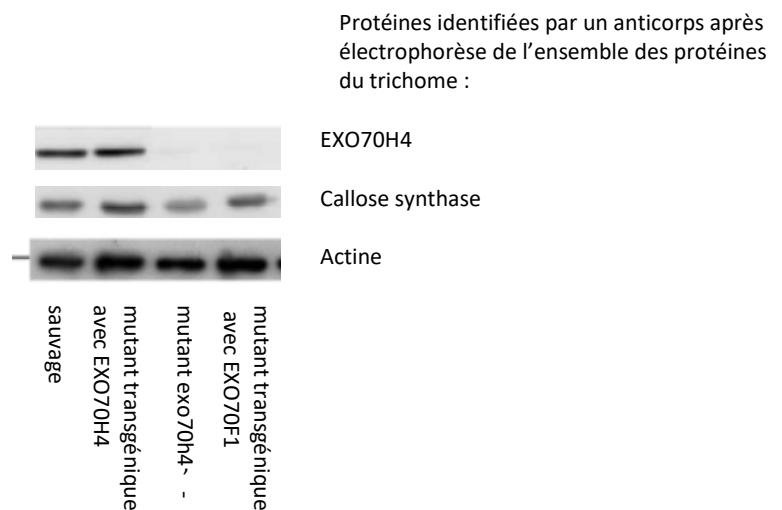
La callose est produite par une enzyme nommée callose-synthase. In vitro, sur des lambeaux de membrane de trichomes sauvages, on fait agir des anticorps anti-callose synthase marqués à l'or : au microscope électronique l'or des anticorps apparaît comme des points noirs nets ; certains points noirs sont pointés.



Document 3.3 : immunolocalisation de la callose-synthase sur des lambeaux de membranes de trichome sauvage
(A) sur un lambeau de membrane du pôle apical. (B) sur un lambeau de membrane du pôle basal

Q8- Analyser et interpréter les clichés du document 3.3

Document 3.4 : Western blot permettant de vérifier la présence des protéines EXO70H4, actine (témoin) et callose-synthase dans les trichomes de 4 individus, un sauvage, le mutant *exo70h4-*, deux transgéniques dérivant du mutant mais ayant reçu soit le gène *exo70h4* soit le gène *exo70f1*.



Q9- Analyser et interpréter le Western blot.

Q10- Proposer un schéma bilan.