

# **PROTÉOMIQUE DE LA PAROI PRIMAIRE D'*Arabidopsis thaliana* : COMPARAISON DES PROTÉINES FAIBLEMENT ASSOCIÉES EXTRAITES DE SUSPENSIONS CELLULAIRES OU DE ROSETTES**

BOUDART Georges, LAFITTE Claude,  
BORDERIES Gisèle, ROSSIGNOL Michel, JAMET Elisabeth, PONT-LEZICA Rafaël

*Signaux et Messages Cellulaires chez les Végétaux, UMR CNRS UPS 5546,  
Pôle de Biotechnologie Végétale, 24 chemin de Borderouge, BP17 AUZEVILLE,  
31326 CASTANET TOLOSAN  
boudart@smcv.ups-tlse.fr*

Les parois des cellules végétales jouent des rôles majeurs dans la croissance et le développement ainsi que dans les interactions entre cellules. Le séquençage complet du génome d'*Arabidopsis thaliana* permet l'emploi des méthodes de la spectrométrie de masse pour identifier les protéines pariétales. Cependant, l'extraction des protéines de la paroi s'avère particulièrement difficile dans la mesure où les protéines peuvent être libres dans l'apoplasme ou retenues dans une matrice polysaccharidique complexe par différents types d'interaction ou des liaisons covalentes. Des procédures d'extraction spécifiques doivent donc être établies.

Des extractions de protéines faiblement associées aux parois ont été effectuées à partir de suspensions cellulaires ou de rosettes, en préservant autant que possible l'intégrité cellulaire. Différents sels (NaCl, CaCl<sub>2</sub>, LiCl), des agents chélatants (EDTA, CDTA) ainsi que l'imidazole ont été employés. Les protéines basiques et acides ont été séparées en utilisant des colonnes échangeuses d'ions, puis analysées par électrophorèse 1-D et 2-D respectivement. Des cartographies peptidiques en masse ont été obtenues par spectrométrie MALDI-TOF. Des logiciels bioinformatiques appropriés ont été employés pour identifier les protéines, prédire leur localisation sub-cellulaire ainsi que des domaines fonctionnels.

Les données obtenues ont montré que la membrane plasmique des cellules en culture est fragile, ce qui peut conduire à la contamination des préparations par des protéines cytoplasmiques. Cinquante protéines pariétales ont été identifiées à partir des suspensions cellulaires, et quatre-vingt-deux à partir des rosettes. Une forte proportion de ces protéines sont basiques. Seulement dix-sept sont communes aux deux types cellulaires, ce qui montre une forte spécificité d'expression. Ces protéines ont été réparties en cinq classes : (i) des protéines enzymatiques, (ii) des protéines de défense, (iii) des protéines présentant des domaines d'interaction avec d'autres protéines, (iv) des protéines impliquées dans différentes fonctions connues, (v) des protéines de fonction inconnue. Certaines protéines pariétales sont faiblement représentées ou absentes, ce qui souligne la nécessité de prolonger cette approche par d'autres stratégies de préparation des parois ou d'extraction des protéines.