

Recherche d'enzymes impliquées dans la synthèse des galactanes pectiques via la biologie moléculaire.

BRUYANT Philippe, KIEFER-MEYER Marie-Christine et MORVAN Claudine
UMR CNRS 6037, IFRMP 23, UFR des Sciences, Université de Rouen,
76821 Mont-Saint-Aignan cedex
Philippe.Bruyant@univ-rouen.fr

Notre objectif est de comprendre la synthèse des galactanes, lors de la croissance des cellules. Ceci nécessite de purifier et d'obtenir les séquences, entre autres, des galactosyl-transférases impliquées dans cette synthèse. L'approche biochimique nous a permis de caractériser, chez le lin, *Linum usitatissimum* L., une activité rhamnogalacturonane I-galactosyl-transférase [1]. Cependant nous n'avons pas pu en obtenir la séquence par cette approche. Pour résoudre ce problème, nous essayons de cloner et de faire exprimer des gènes d'*Arabidopsis thaliana* codant des galactosyl-transférases potentielles.

En premier lieu nous avons montré que les activités galactosyl-transférase et/ou rhamnogalacturonane I-galactosyl-transférase sont bien présentes dans les parties aériennes de plantules d'*Arabidopsis thaliana*.

Trois gènes d'*Arabidopsis thaliana* codant des β 1-4 galactosyl-transférases potentielles ont été sélectionnées dans les banques de données (en collaboration avec A. FAIK, Université du Michigan). Ces enzymes potentielles seraient des protéines d'environ 400 acides-aminés avec un site transmembranaire unique dans leur partie N-terminale, typique des protéines membranaire de type II localisées dans l'appareil de Golgi. Ces séquences contiennent les motifs DVD ou DXD caractéristiques des glycosyl-transférases utilisant les UDP-oses comme donneurs.

A partir d'ARN totaux d'*Arabidopsis thaliana* les ADNc d'intérêt sont obtenus grâce à des sondes synthétiques spécifiques. Ils sont vérifiés par séquençage. Un premier gène complet a été obtenu. Après délétion de la partie codant la fraction N-terminale contenant le domaine transmembranaire, il sera cloné dans des cellules d'insecte afin de produire une forme soluble de l'enzyme. Nous pourrons alors en étudier l'activité.

[1] I. Peugnet, F. Goubet, MP. Bruyant-Vannier, B. Thoiron, C. Morvan, HA. Schols & AGJ. Voragen. *Planta*, 213 (2201) 435-445.