

Depuis une quinzaine d'année, une équipe de recherche dirigée par le professeur Marc Boutry au sein de l'Institut des Sciences de la Vie (ISV) de l'Université catholique de Louvain (UCL) travaille sur la caractérisation de transporteurs ABC de plantes. ABC, pour ATP binding cassette, vient du fait qu'un domaine de ces protéines est capable de lier l'ATP (adénosine triphosphate), qui est la source d'énergie dans les cellules. Ces transporteurs, ou pompes moléculaires, sont donc des protéines membranaires qui utilisent de l'ATP comme source d'énergie pour transporter leurs substrats à travers, par exemple, la membrane qui entoure les cellules. Les transporteurs ABC sont présents chez tous les êtres vivants. Certains d'entre eux sont entre autres responsables de la résistance de certains cancers à la chimiothérapie en refoulant à l'extérieur des cellules cancéreuses les drogues censées les détruire. Ces transporteurs sont particulièrement représentés chez les plantes. Cette constatation peut être reliée au fait que ces pompes moléculaires sont souvent impliquées dans la résistance aux contraintes et que les plantes, de par leur caractère immobile, sont particulièrement touchées par des contraintes diverses (attaques par des pathogènes et des prédateurs, intoxication aux métaux lourds, manque de nutriments, sécheresse, etc.).

Afin de faciliter l'étude de ces pompes moléculaires, notre équipe de recherche utilise une lignée de cellules en culture (cellules BY-2) issues du tabac. Cette lignée cellulaire sert de modèle pour l'étude de différents mécanismes biologiques car elle peut être modifiée génétiquement et cultivée relativement facilement. Elle peut aussi être utilisée pour produire des protéines d'intérêt en grande quantité. A titre d'exemple, une équipe de l'ISV étudie l'utilisation de la lignée BY-2 pour produire des anticorps (qui peuvent servir au diagnostic ou au traitement de maladies) ou encore de vaccins.

La lignée BY-2 est donc utilisée afin de produire des transporteurs ABC qui sont ensuite caractérisés au niveau biochimique. Récemment, l'équipe s'est particulièrement intéressée aux rôles de trois transporteurs ABC du tabac appartenant à la sous-famille des PDR, pour « pleiotropic drug resistance ».

Le nom de cette sous-famille vient du fait que les premiers transporteurs PDR, identifiés chez la levure, confèrent à celle-ci une résistance à différentes drogues toxiques.

NtPDR3 est impliqué dans la réponse de la plante à la déficience en fer en sécrétant dans le sol des molécules qui vont aider à mobiliser le fer, tandis que NpPDR5 est impliqué dans la résistance aux insectes herbivores et que NtPDR1 est impliqué dans la résistance aux pathogènes microbiens en sécrétant des molécules qui leur sont toxiques. Les objectifs vont, selon les cas, de l'identification des substrats (molécules transportées) par les pompes moléculaires à la purification des transporteurs ABC afin d'en déterminer les paramètres enzymatiques (vitesse de réaction, affinité pour les différents substrats etc.).

C'est suite à l'expertise acquise dans l'analyse biochimique des transporteurs ABC de plantes que notre équipe a été contactée par le laboratoire de Natalia Dudareva de l'université de Purdue (USA) afin de collaborer sur le projet concernant ABCG1 de pétunia et l'émission de composés organiques volatils (appelés « volatiles » dans la suite de ce texte).

Chez les plantes, l'émission de volatiles (terpènes, dérivés d'acides gras et d'acides aminés et benzénoïdes), notamment par les pétales des fleurs, a différents buts. Tout d'abord, ces volatiles peuvent attirer les insectes pollinisateurs et donc jouer un rôle dans la reproduction. Ensuite, ces composés sont impliqués dans la défense de la plante. Ils peuvent avoir des effets directs (composés répulsifs ou toxiques pour les pathogènes) ou indirects en attirant les prédateurs naturels des pathogènes qui attaquent la plante. Ces composés servent aussi à la communication entre plantes. Ainsi, une plante attaquée par un pathogène ou exposée à la sécheresse par exemple, va produire des volatiles pour « avertir » les plantes voisines afin qu'elles puissent préparer leurs mécanismes de défense pour y résister.

Jusque récemment, il était considéré que les volatiles sont capables de sortir des cellules qui les produisent afin de diffuser dans l'atmosphère de manière tout à fait passive. Cependant, le laboratoire de N. Dudareva a démontré par modélisation mathématique qu'une telle situation nécessiterait une production très élevée de volatiles qui serait toxique pour les cellules des pétales. Dès lors, l'hypothèse d'une pompe moléculaire qui faciliterait la sortie des composés des cellules a été émise. En comparant les transporteurs présents dans les pétales de pétunia lorsque celles-ci émettent peu ou beaucoup de volatiles, son laboratoire s'est rendu compte qu'une pompe moléculaire de la famille ABC, ABCG1, est beaucoup plus présente lorsque la plante émet des volatiles. Des plants de pétunia incapables de synthétiser cette pompe ont été générés et ces

plantes émettent nettement moins de volatiles. De plus, la concentration en volatiles à l'intérieur des cellules des pétales augmente de façon significative au point d'être toxique pour ces dernières. Cette observation est tout à fait en accord avec l'hypothèse qu'ABCG1 est impliqué dans la sécrétion des volatiles en dehors des cellules. Cependant, ce type d'expérience ne permet pas de discriminer entre un effet direct ou indirect de la pompe moléculaire. Est-ce ABCG1 qui transporte les composés en dehors des cellules ou est-ce que son absence provoque d'autres modifications dans les cellules de pétunia qui sont elles-mêmes responsables de la diminution d'émission de volatiles ?

C'est pour répondre à cette question que notre équipe a produit ABCG1 dans des cellules de plantes en culture de la lignée BY-2. Nous avons vérifié que la protéine ABCG1 était bien produite et localisée dans les cellules et nous avons réalisé des tests de transport. Ceux-ci ont démontré qu'ABCG1 est bien capable de véhiculer deux types de benzénoïdes volatils (le benzoate de méthyle et l'alcool benzylique). Par contre, ABCG1 n'est pas capable de transporter certains autres volatiles typiquement émis par les feuilles, démontrant ainsi une certaine spécificité de ces pompes.

Les résultats de ces recherches ont tout d'abord un grand intérêt au niveau fondamental. Ainsi, ils peuvent servir de base à l'étude des mécanismes d'émission de composés volatils par d'autres organismes vivants comme les microbes, les insectes ou même par notre propre organisme.

Par ailleurs, ils offrent des perspectives au niveau de l'ingénierie métabolique de plantes. Les pompes moléculaires de la famille ABC (dont il peut exister plus de 120 variantes chez les plantes) forment une cible intéressante pour améliorer la production de composés à forte valeur ajoutée, que ce soit des composés volatils pour la parfumerie et la cosmétique, mais aussi d'autres composés qui peuvent entrer dans la composition de médicaments. Par exemple, la plante *Artemisia annua* (armoïse annuelle) produit de l'artémisinine, une molécule utilisée pour le traitement du paludisme. Le problème est que cette plante produit très peu d'artémisinine et que cette molécule est très difficile à obtenir par synthèse chimique. Aussi, plusieurs laboratoires tentent de produire cette molécule en grande quantité dans des plantes plus adaptées comme le tabac. On appelle cela de l'ingénierie métabolique. Dans ce cadre, notre équipe a montré l'importance d'un transporteur ABC pour faire ressortir de la cellule l'artémisinine, qui en concentration importante, devient toxique pour les cellules qui la produisent.