

Glycobiologie et matrice Extracellulaire Végétale

Etude des mécanismes de croissance et d'adhésion cellulaire des tubes polliniques d'*Arabidopsis thaliana* par des approches enzymatiques et impact de cette adhésion sur le remodelage de la paroi et la machinerie intracellulaire

Study of *Arabidopsis thaliana* pollen tube growth and adhesion mechanisms by enzymatic approaches and effect of this adhesion event on cell wall remodeling and the intracellular machinery

Unité de recherche / Research Unit

UR 4358

Université de Rouen Normandie

Sujet de thèse / Thesis subject

Avec les changements climatiques annoncés et l'augmentation de la population mondiale, il y a un besoin urgent de mieux comprendre les mécanismes moléculaires de la reproduction sexuée aboutissant à la production importante de graines viables et de fruits, matières premières pour la nutrition humaine et animale. En effet, au cours de la reproduction sexuée des plantes, la germination du pollen et la croissance des tubes polliniques sont soumises à un contrôle spatio-temporel dans les tissus femelles afin d'acheminer les gamètes mâles jusqu'aux ovules. L'un de ces signaux pourrait être un mécanisme de guidage par adhésion entre la paroi du tube pollinique et la paroi du tissu femelle. Des travaux préliminaires ont permis de reconstituer une matrice d'adhésion constituée de polysaccharides pariétaux de fleurs d'*Arabidopsis thaliana* et de feuilles. Cette matrice a été utilisée pour mettre en place un test fiable et robuste d'adhésion des tubes polliniques. La digestion enzymatique de la matrice par une *endo*-polygalacturonase provoque la perte d'adhésion cellulaire des tubes polliniques. La configuration et la structuration des pectines semblent donc primordiales dans ces phénomènes d'adhésion. Ce projet de thèse visera à déterminer, (1) par des approches enzymatiques (traitements avec des enzymes produites dans des systèmes hétérologues, purifiées et caractérisées par nos collaborateurs du laboratoire BioPI, Université d'Amiens), la structure minimale de cette fraction pectique nécessaire à l'adhésion, (2) l'impact de cette adhésion cellulaire sur le remodelage des polymères de la paroi des tubes polliniques par des approches d'immuno-localisation et l'organisation intracellulaire de protéines et du système endomembranaire impliqués dans la croissance polarisée et (3) l'impact de ces traitements enzymatiques sur les tubes polliniques en croissance.

En Anglais :

With the expected climate changes and the increase of the population in the world, there are urgent needs to better understand the molecular mechanisms of sexual plant reproduction, leading to the production of numerous and healthy seeds and fruits, which are raw materials used in human and animal nutrition. Indeed, during sexual plant reproduction, pollen germination and pollen tube growth require a tight temporal and spatial control while traveling through the female tissues in order to deliver properly the sperm cells to the ovules. One of these signals could be the control of the guidance by the adhesion between the pollen tube wall and the female tissues cell walls. A preliminary study has shown that it was possible to induce reliably pollen tube adhesion on an artificial matrix made of polysaccharides extracted from flowers and leaves of *Arabidopsis thaliana*. Enzymatic treatment of the matrix with an *endo*-polygalacturonase led to a loss of cell adhesion. Thus, it seems that the composition and the structural conformation of pectins play a major role during adhesion. The objectives of this PhD are to determine, (1) by enzymatic approaches (treatment with enzymes produced in heterologous systems, purified and characterized by our collaborators at BioPI lab, University of Amiens), the minimal structure of the pectic fraction required to promote pollen tube adhesion, (2) the impact of this adhesion on the cell wall remodeling using immuno-localization technics and the intracellular organization of proteins and the endomembrane system involved in tip-polarized growth, and (3) the effect of enzymatic treatments on pollen tube

growth.

Expérience et formation souhaitées / searched skills

Le(a) candidat(e) devra posséder les connaissances requises pour la culture *in vivo* et *in vitro* de plantes chez Arabidopsis. La maîtrise des techniques de biochimie (extraction de paroi, traitement enzymatique, techniques chromatographiques préparatives et analytiques) ainsi qu'une expérience dans les techniques d'imagerie cellulaire (microscopie confocale et/ou microscopie électronique) sont fortement souhaitées. Finalement, une pratique des méthodes culturales des tubes polliniques d'Arabidopsis serait un atout non négligeable pour le(a) candidat(e).

En Anglais :

The candidate must possess the skills required for *in vivo* and *in vitro* growth of Arabidopsis. The techniques of biochemistry (cell wall extraction, enzymatic treatments, preparative and analytical chromatography) must be known and an experience in cell imaging techniques (confocal and / or electron microscopies) is strongly desired. Finally, a first experience with the specific techniques of the culture of Arabidopsis pollen tubes would be an asset for the candidate.

Contacts

LEHNER Arnaud	arnaud.lehner@univ-rouen.fr	02 35 14 66 90
MOLLET Jean-Claude	jean-claude.mollet@univ-rouen.fr	02 31 14 66 89