

L'influence des transporteurs tonoplastiques sur la répartition des sucres chez *Solanum lycopersicum*

Existe-t-il une corrélation entre les flux de glucose et de malate dans les vacuoles du péricarpe ?

Sommaire

Existe-t-il une corrélation entre les flux de glucose et de malate dans les vacuoles du péricarpe ?

Introduction

1. Matériel et Méthodes

1. Extraction
2. Dosage du malate
3. Dosage du glucose

2. Analyse des résultats

1. Analyse statistique R
2. Interprétation Biologique

Conclusion

Bibliographie

Introduction

L'organisme modèle : *Solanum lycopersicum*

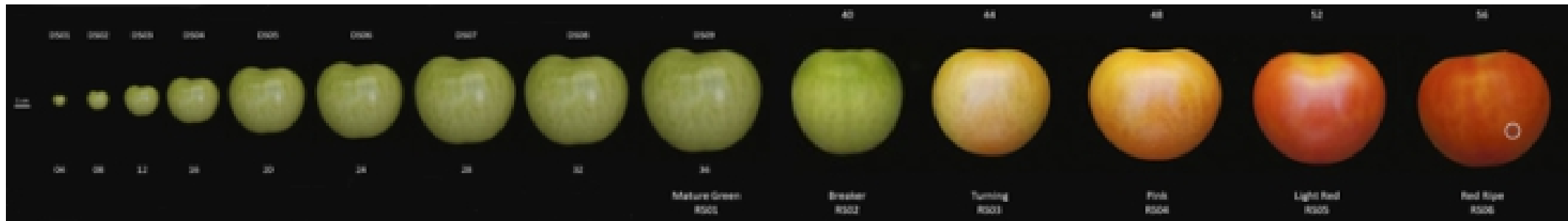
- Famille des ***Solanaceae*** : *Solanum tuberosum* (pomme de terre), *Solanum melongena* (aubergine), Genre *Capsicum* (piments)
- Caractères intéressants au niveau agronomique : feuilles (composés), ramification (sympodiale), péricarpe (charnu)



Péricarpe charnu de
Solanum lycopersicum
@snv.jussieu.fr



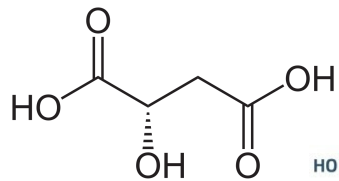
Structure sympodiale
@LinneenneLyon.org



Stades du développement de *Solanum lycopersicum* @BMC Plant Biology

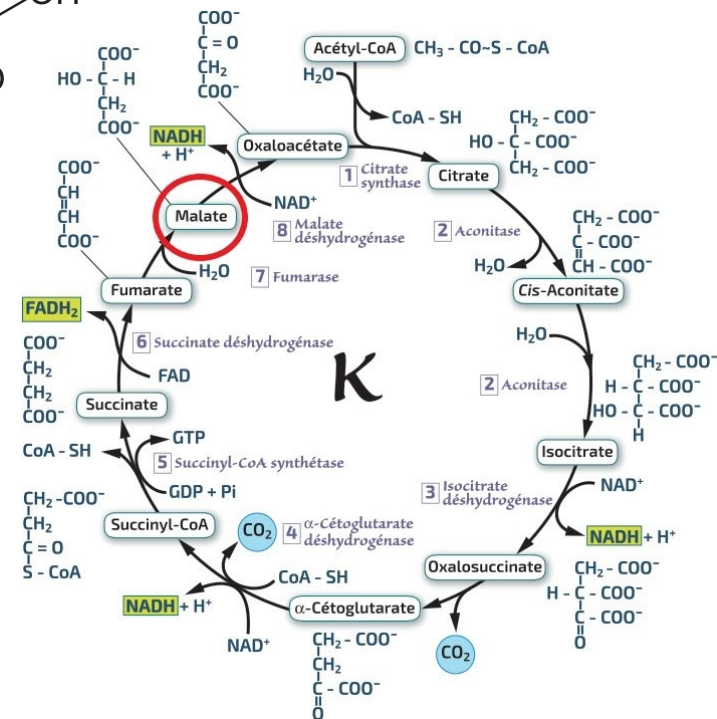
Introduction

Les métabolites d'étude



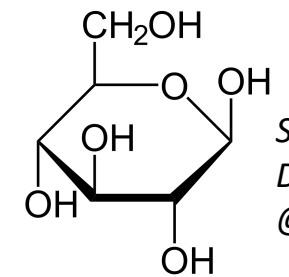
Structure de l'acide
L-malique
@Wikipédia

Le Malate

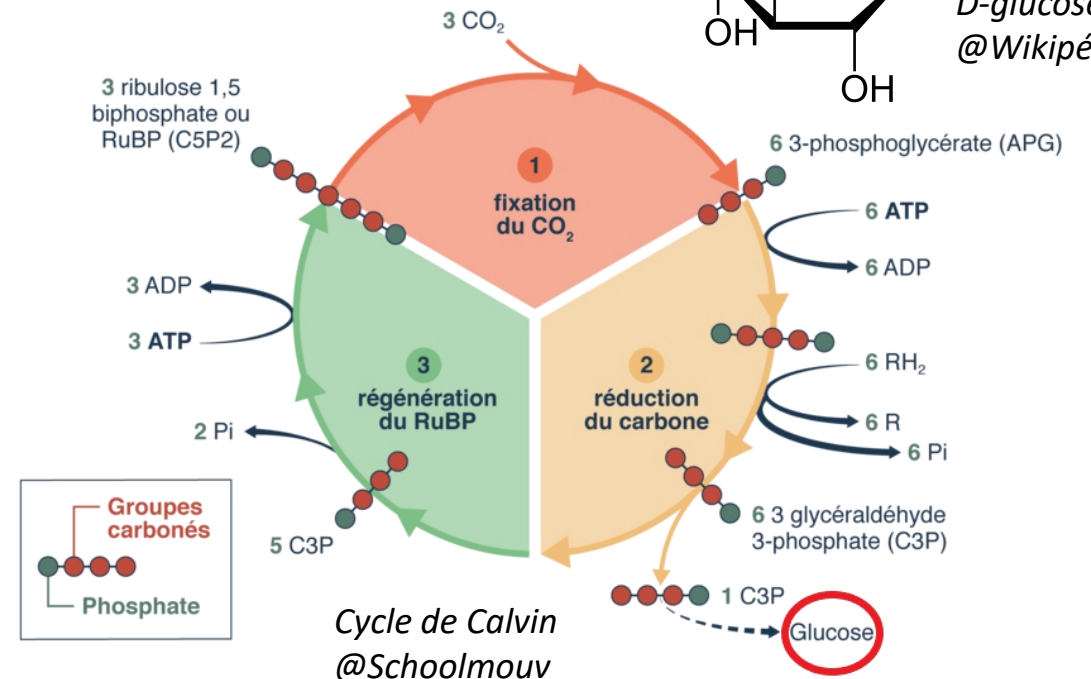


Cycle de Krebs
@RN'Bio

Le Glucose



Structure du
D-glucose
@Wikipédia



Cycle de Calvin
@Schoolmouv

Introduction

Un transporteur tonoplastique des monosaccharides : TMT1

- Importateur vacuolaire de glucose
- Sous-famille des TMT (tonoplast monosaccharide transporter)

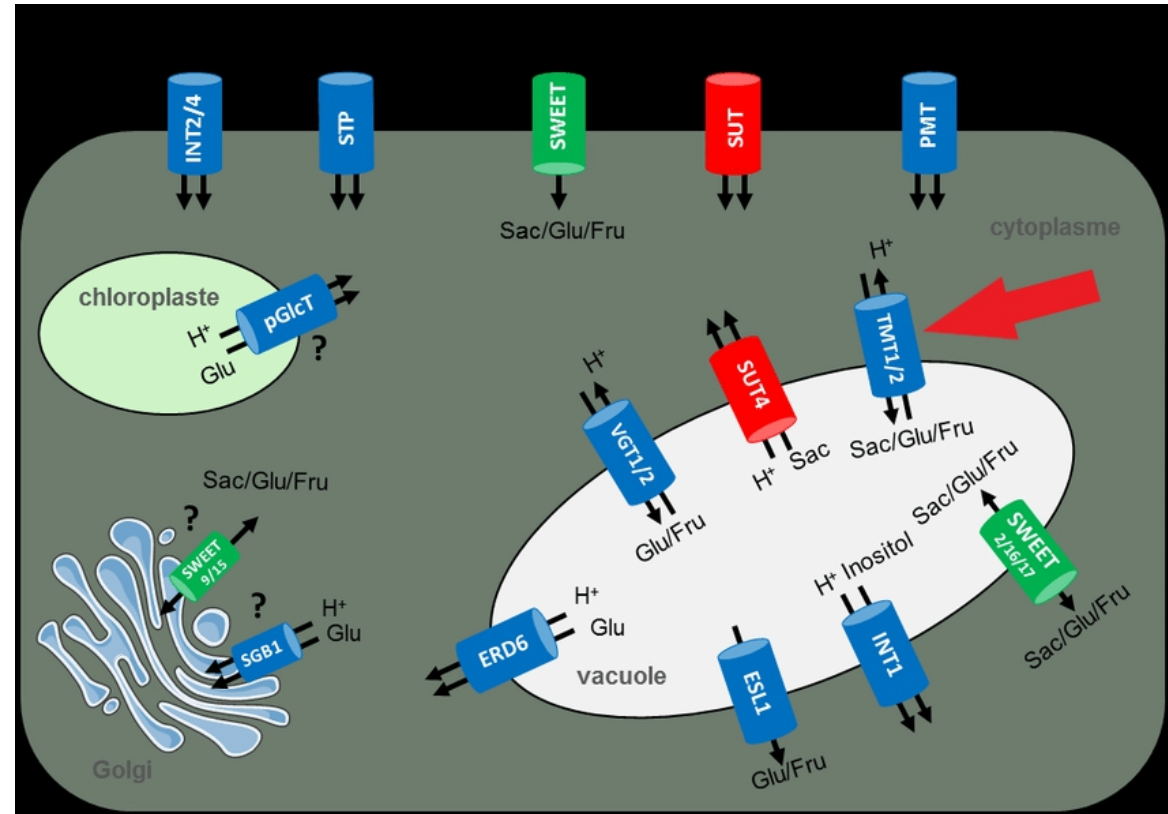
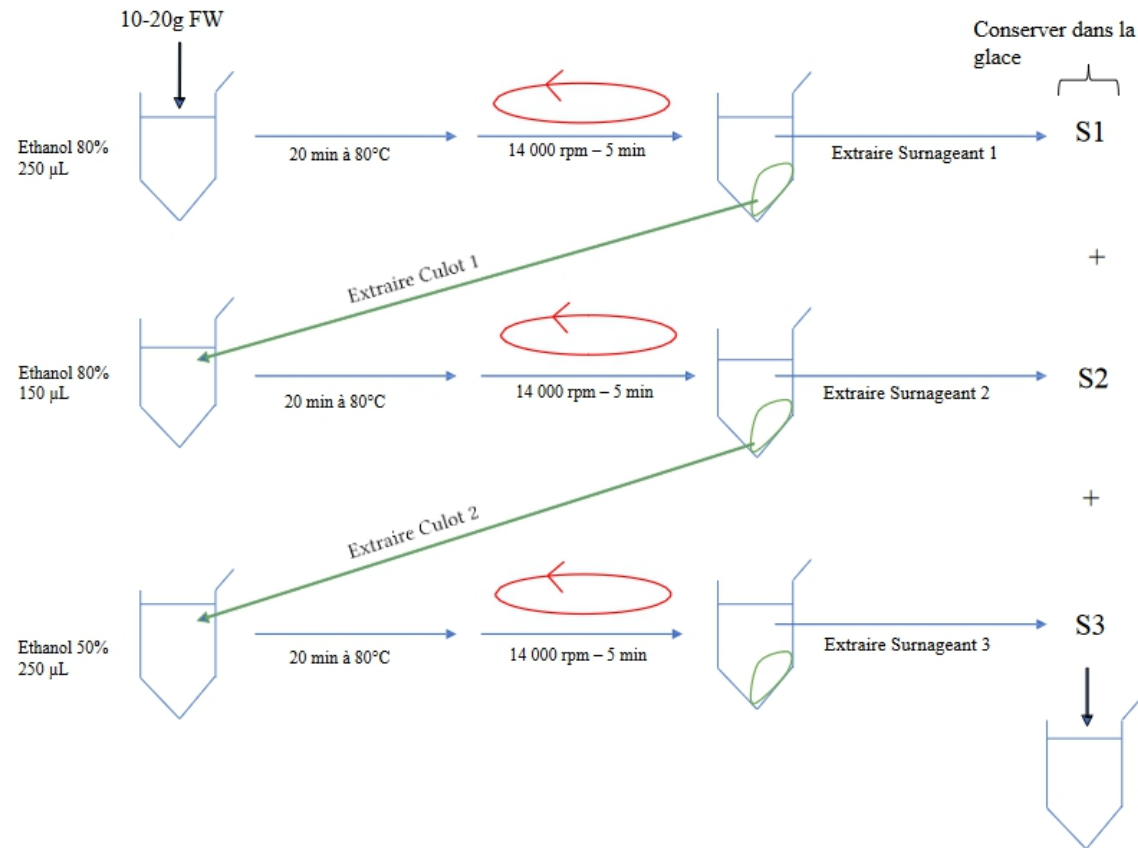


Schéma résumant la localisation et la fonction des différents transporteurs de sucres dans la cellule végétale - @researchgate.net

1. Matériel et Méthodes

1. Extraction



- 3 cycles → épuiser le culot
- Éthanol à 80% → solubilise membrane
- Éthanol à 50% → solubilité composés (acides organiques, ..)
- 80°C → favoriser échange - inactiver protéines

1. Matériel et Méthodes

2. Dosage du malate

Exemple calcul :

Tricine ($M = 179,17 \text{ g/mol}$)

On veut 1,5 mL d'une solution à 1M

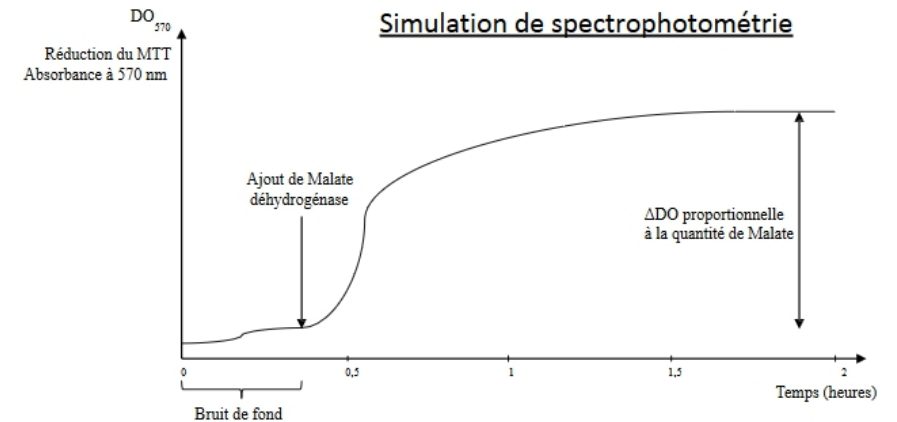
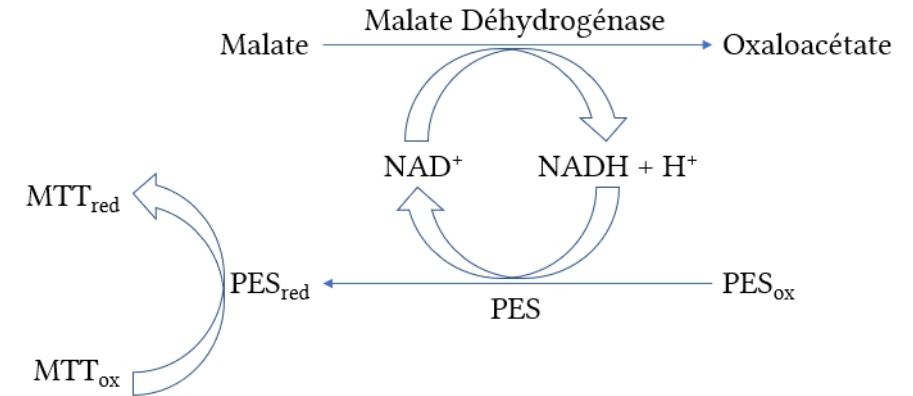
1M = 1 mol/L

1L de 1M = 179,17 g

1 mL de 1M = 179,17 mg

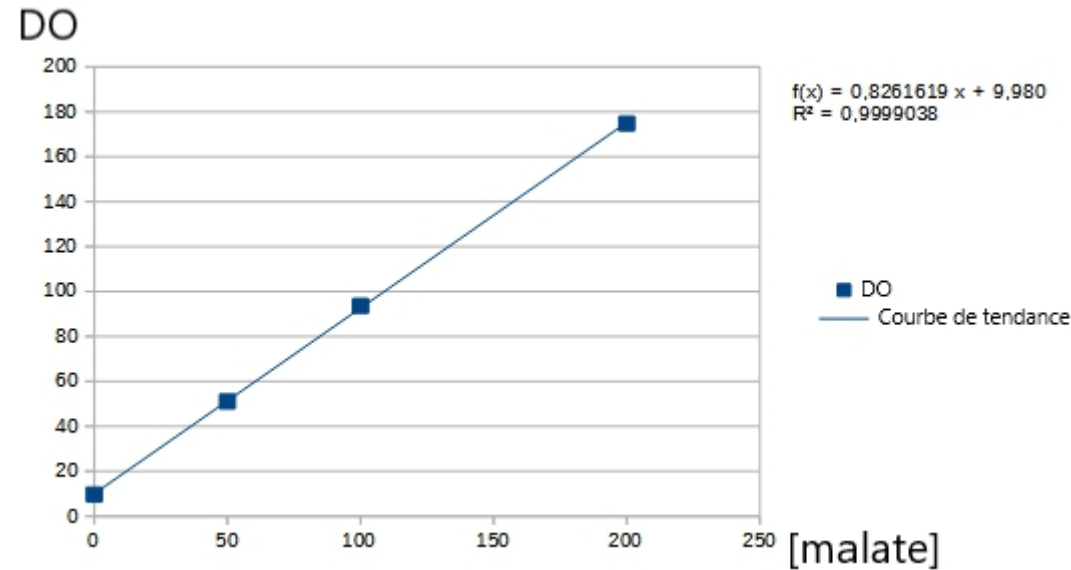
donc :

1,5 mL de 1M = 268,755 mg



1. Matériel et Méthodes

2. Dosage du malate



$$y = ax + b$$

ΔDO $[Malate]_p$

↑ y x

↓ a b

pente ordonnée à l'origine

$$DO - DO_{blanc} = \Delta DO$$

$$[Malate]_p = \frac{\Delta DO - b}{a}$$

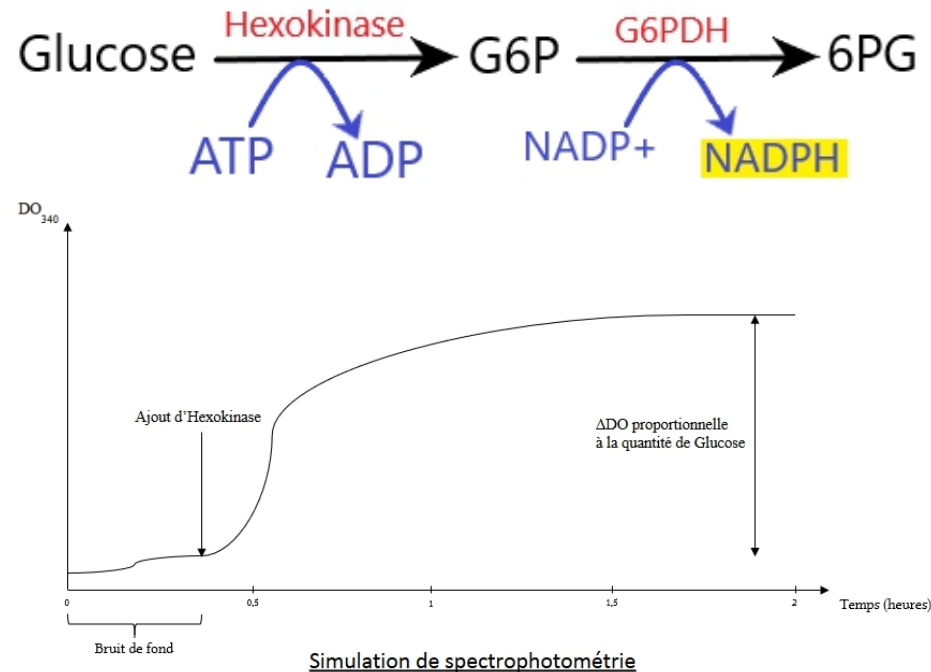
$$[Malate]_p / V_{réactionel} = [Malate]_{\mu L d'extract}$$

$$[Malate]_{\mu L d'extract} * V_{total} = [Malate]_{extract}$$

$$[Malate]_{extract} / m = [Malate] / mgFW$$

1. Matériel et Méthodes

3. Dosage du glucose



Exemple calcul :

NADP⁺ (M = 744,413 g/mol)

On veut 0,6 mL une solution à 45mM

1M = 1 mol/L

1L de 1M = 744,413 g

1 mL de 1M = 744,413 mg

1 mL de 0,045M = 33,499 mg

donc :

0,6 mL de 0,045M = 20,0994 mg

$$\mu\text{mol NADPH} = \frac{\Delta DO}{2,85 * 6,22}$$

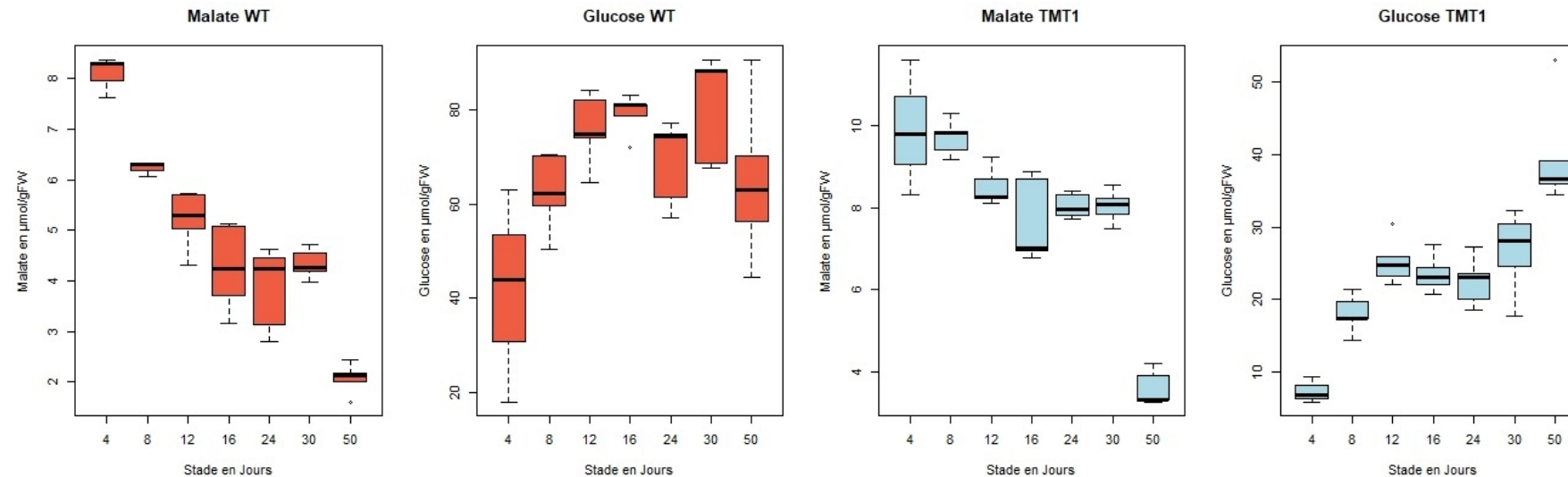
2. Analyse des résultats

1. Analyse statistique R – Statistiques descriptives

Analyse des données aberrantes, tendances centrales et dispersion

Row Labels	Count of Glucose	Moyenne	Écartype	Min	Max	coefficient de variation	Row Labels	Count of Malate	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	Coefficient de variation
TMT135S2	33	24	9	6	53	38%	TMT135S2	33	3	12	8	2	26%
TMT235S6	33	55	16	7	82	29%	TMT235S6	33	2	11	6	2	37%
WT	33	69	15	18	91	22%	WT	33	2	8	5	2	36%
Grand Total	99	49	23	6	91		Total	99	2	12	6	2	

Analyse de la répartition de Glucose et Malate chez TMT1 et WT



2. Analyse des résultats

1. Analyse statistique R – Statistiques décisionnelles

Etude par comparaisons des moyennes suivie d'un test de corrélation

Les tests de Shapiro montrent que les répartitions ne suivent pas toutes la loi normale

- Test de Wilcoxon-Mann-Whitney pour échantillons non-appariés :

```
>wilcox.test(TMT1$Glucose,WT$Glucose, alternative ="less")
```

Wilcoxon rank sum exact test

```
data: TMT1$Glucose and WT$Glucose  
W = 29, p-value = 3.189e-15  
alternative hypothesis: true location shift is less than 0
```

>Test de comparaison du Glucose
Hypothèse Forte

Wilcoxon rank sum test with continuity correction

```
data: TMT1$Malate and WT$Malate  
W = 936, p-value = 5.317e-07  
alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

>Test de comparaison du Malate
Hypothèse faible

2. Analyse des résultats

1. Analyse statistique R – Statistiques décisionnelles

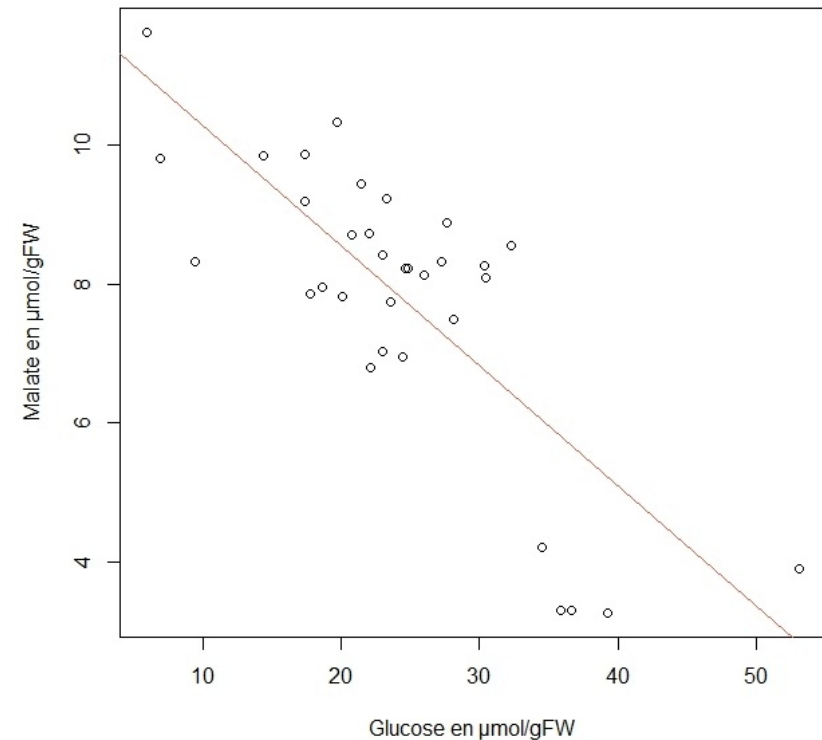
Coefficient de corrélation et droite de régression linéaire

```
>cor(TMT1$Malate,TMT1$Glucose,use="everything")  
>cor.test(TMT1$Glucose,TMT1$Malate)
```

Pearson's product-moment correlation

```
data: TMT1$Glucose and TMT1$Malate  
t = -7.0577, df = 31, p-value = 6.313e-08  
alternative hypothesis: true correlation is not equal to  
0  
95 percent confidence interval:  
-0.8888413 -0.6048135  
sample estimates:  
cor  
-0.7851049
```

Malate en fonction du glucose chez le mutant TMT1



2. Analyse des résultats

1. Analyse statistique R – Statistiques décisionnelles

Comparaison avec le Wild-Type

```
>cor(WT$Malate,WT$Glucose,use="everything")  
>cor.test(WT$Glucose,WT$Malate,method = c("spearman"))
```

Spearman's rank correlation rho

data: WT\$Glucose and WT\$Malate

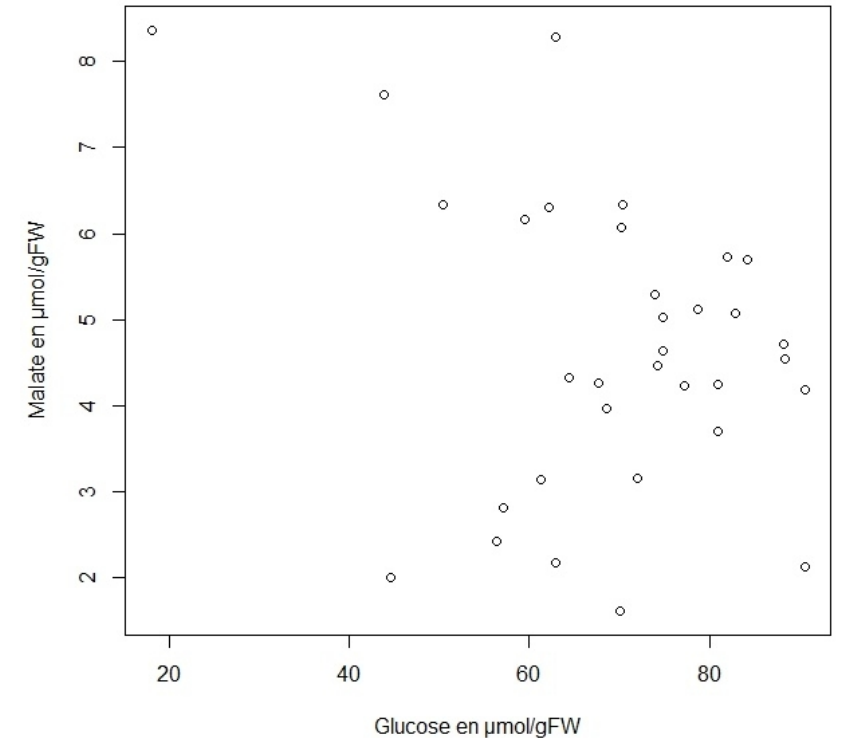
S = 6721.1, p-value = 0.4947

alternative hypothesis: true rho is not equal to 0

sample estimates:

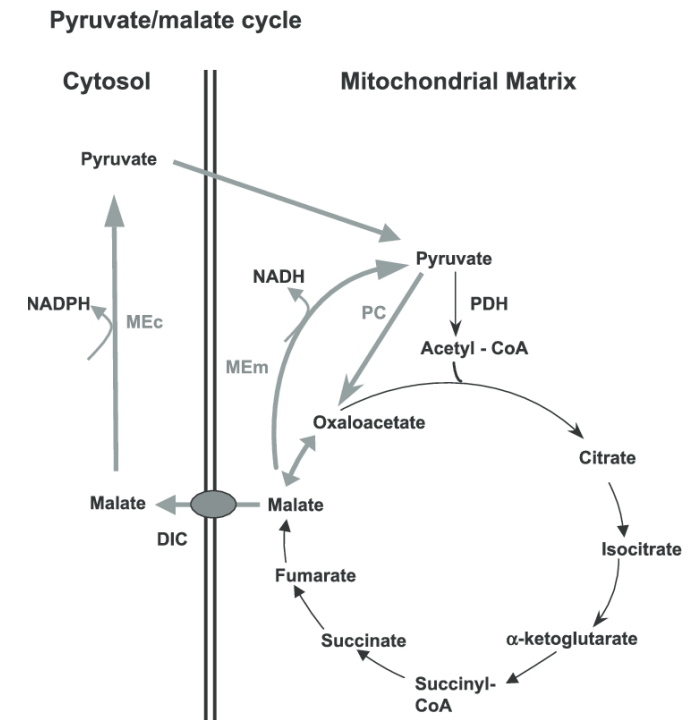
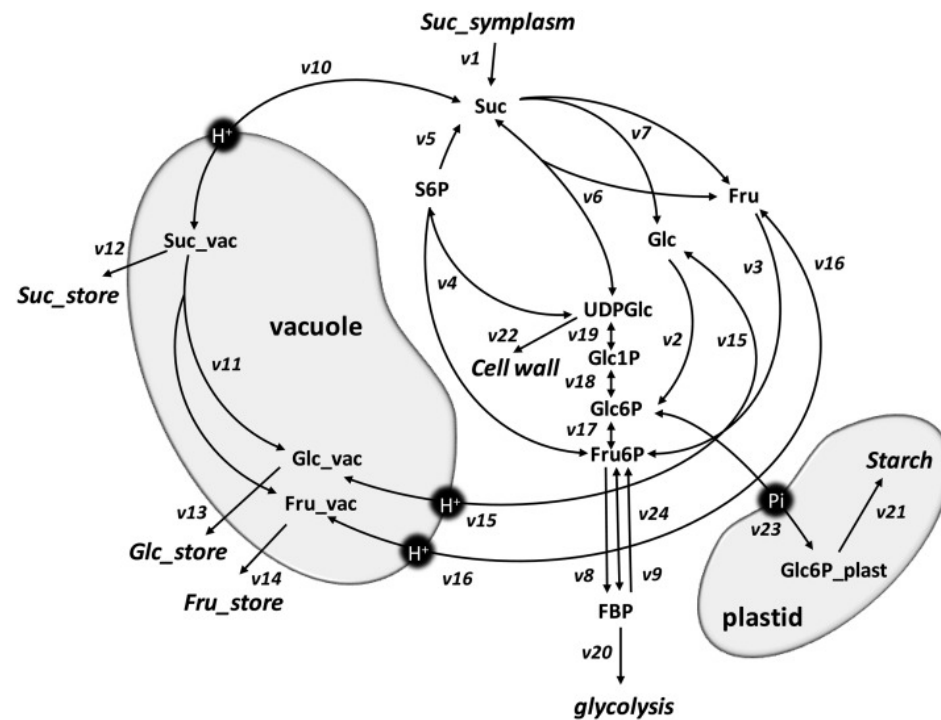
rho
-0.1231721

Malate en fonction du glucose chez WT



2. Analyse des résultats

2. Interprétation Biologique



Conclusion

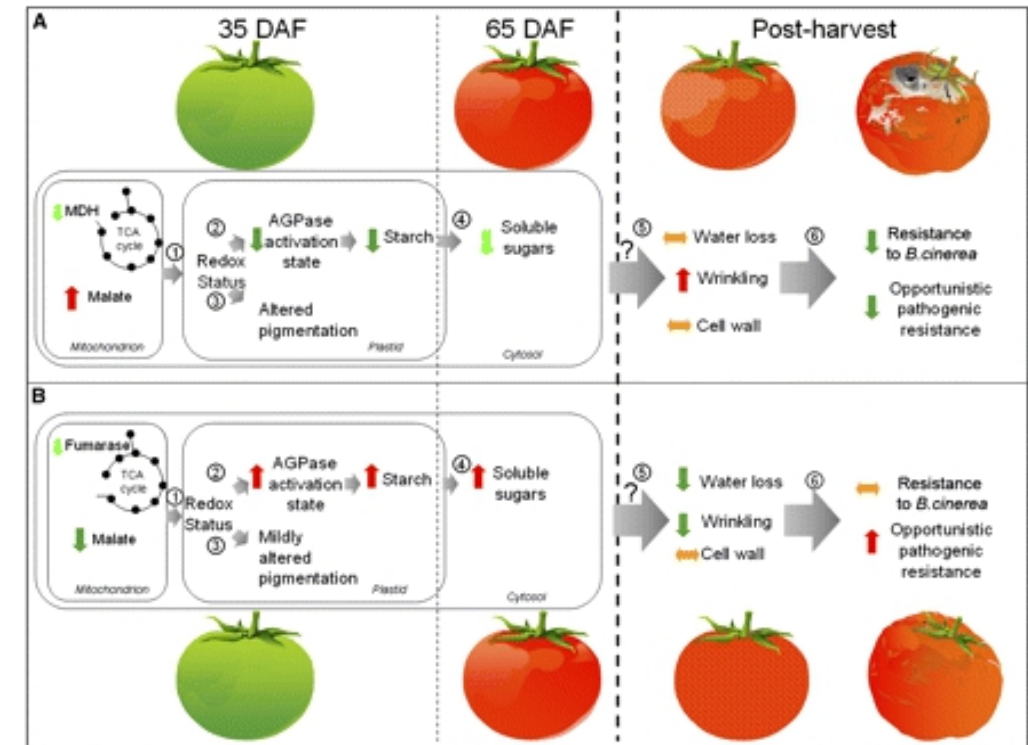
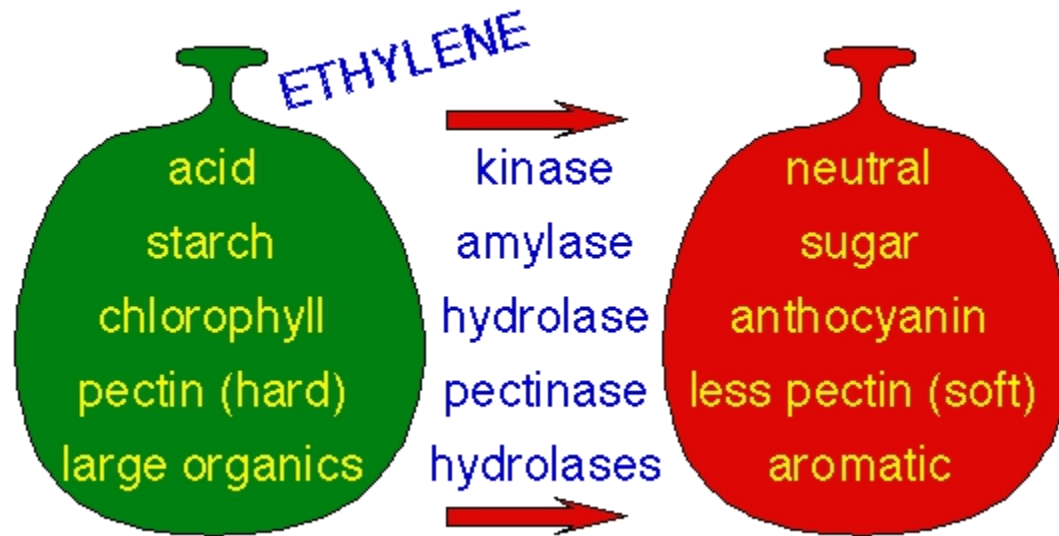
Différences significatives de concentration en malate chez le mutant TMT1:35S → effet de la mutation sur la concentration en malate

Corrélation négative et significative du malate et du glucose chez le mutant TMT1:35S (inexistante chez le Wild Type)

Mutant TMT135S2 → Knock-out du gène TMT1 → non expression du gène TMT1 → absence de protéine TMT1 → importations monosaccharides par d'autres transporteurs → faible concentrations en glucose dans la vacuole

Glucose dans le cytosol → utilisé par d'autres organelles (plastides, mitochondries) → voies métaboliques plus prolifiques → explique l'accumulation de malate observée dans la vacuole chez TMT135S2

Discussion



Bibliographie

Martinière A. et al. *In Vivo Intracellular pH Measurements in Tobacco and Arabidopsis Reveal an Unexpected pH Gradient in the Endomembrane System*, October 2013.
<https://doi.org/10.1105/tpc.113.116897>

Karina Wingenter et al., *Increased Activity of the Vacuolar Monosaccharide Transporter TMT1 Alters Cellular Sugar Partitioning, Sugar Signaling, and Seed Yield in Arabidopsis*, October 2010. DOI:
<https://doi.org/10.1104/pp.110.162040>

Finkemeier, Iris, and Lee J Sweetlove. *The role of malate in plant homeostasis*, F1000 biology reports vol. 1 47. 29 Jun. 2009, doi:10.3410/B1-47

Bertrand P. Beauvoit et al. *Model-Assisted Analysis of Sugar Metabolism throughout Tomato Fruit Development Reveals Enzyme and Carrier Properties in Relation to Vacuole Expansion*, Published August 2014. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.127761>

Danilo C. et al. *Malate Plays a Crucial Role in Starch Metabolism, Ripening, and Soluble Solid Content of Tomato Fruit and Affects Postharvest Softening*, January 2011. DOI:
<https://doi.org/10.1105/tpc.109.072231>

AGRIKOLA: Systematic RNAi knockouts in Arabidopsis <http://arabidopsis.info/CollectionInfo?id=68>