

UCL

Université catholique
de Louvain

Institut des Sciences
de la Vie



Les mouvements de l'eau dans les organismes vivants : l'exemple de la plante

François Chaumont

Société Royale des Sciences de Liège, le 3 décembre 2010

Les mouvements de l'eau dans les organismes vivants : l'exemple de la plante

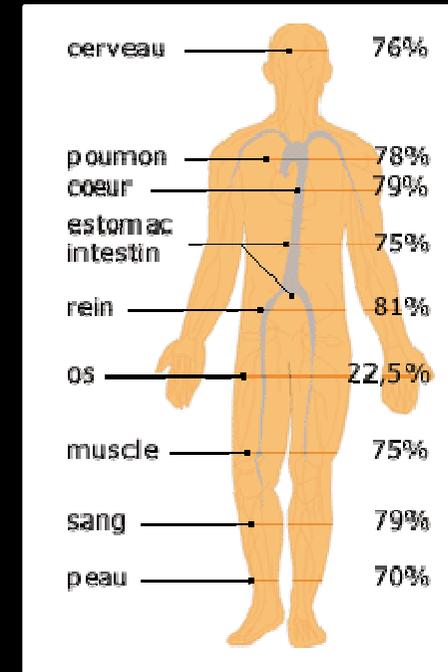


- L'eau et les organismes vivants
- L'eau et son mouvement au sein des plantes
- Les aquaporines
- Le rôle des aquaporines végétales
- La régulation des aquaporines végétales
- Conclusions et perspectives

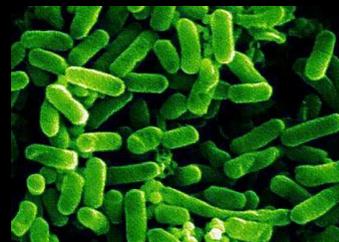
L'eau, constituant majeur des organismes vivants

- Corps humain : 65 % du poids total

- Plantes : entre 80 et 95 % du poids total



- Bactéries : 70 % du poids total (*E. coli*)



L'eau, constituant majeur des organismes vivants

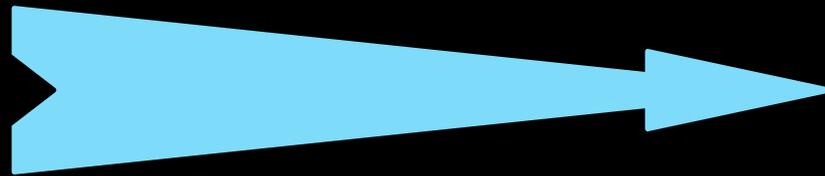
Fonctions

- solvant
- réactions chimiques
- transport d'éléments nutritifs nécessaires au métabolisme
- pression de turgescence
- élimination des déchets métaboliques
- thermorégulation des organismes

Le mouvement de l'eau

Ψ = potentiel hydrique

Ψ le plus élevé

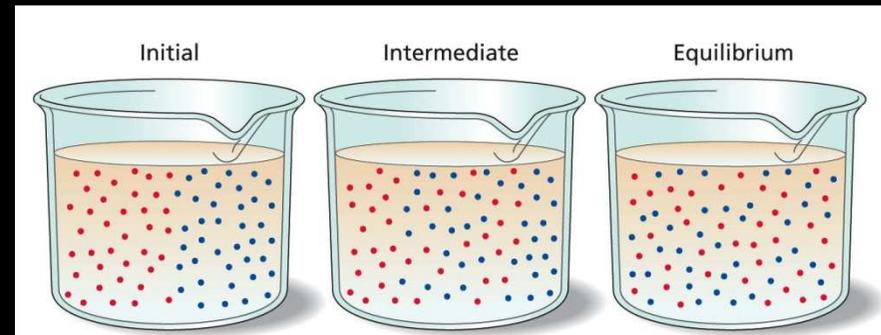


Ψ le plus bas

Flux de masse

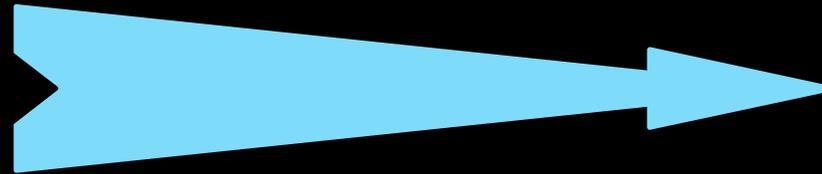


Diffusion



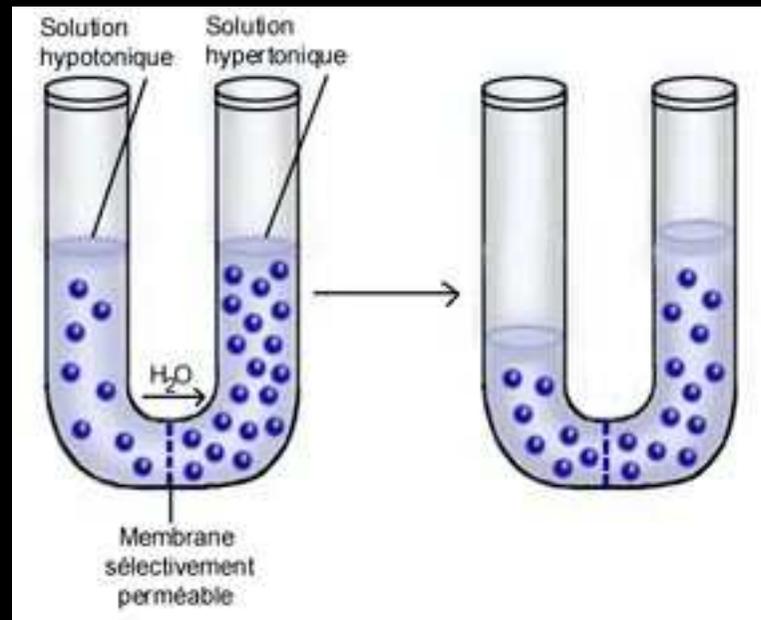
Le mouvement de l'eau

Ψ le plus élevé



Ψ le plus bas

Osmose

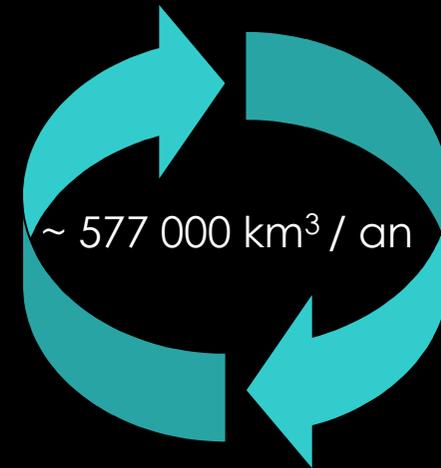
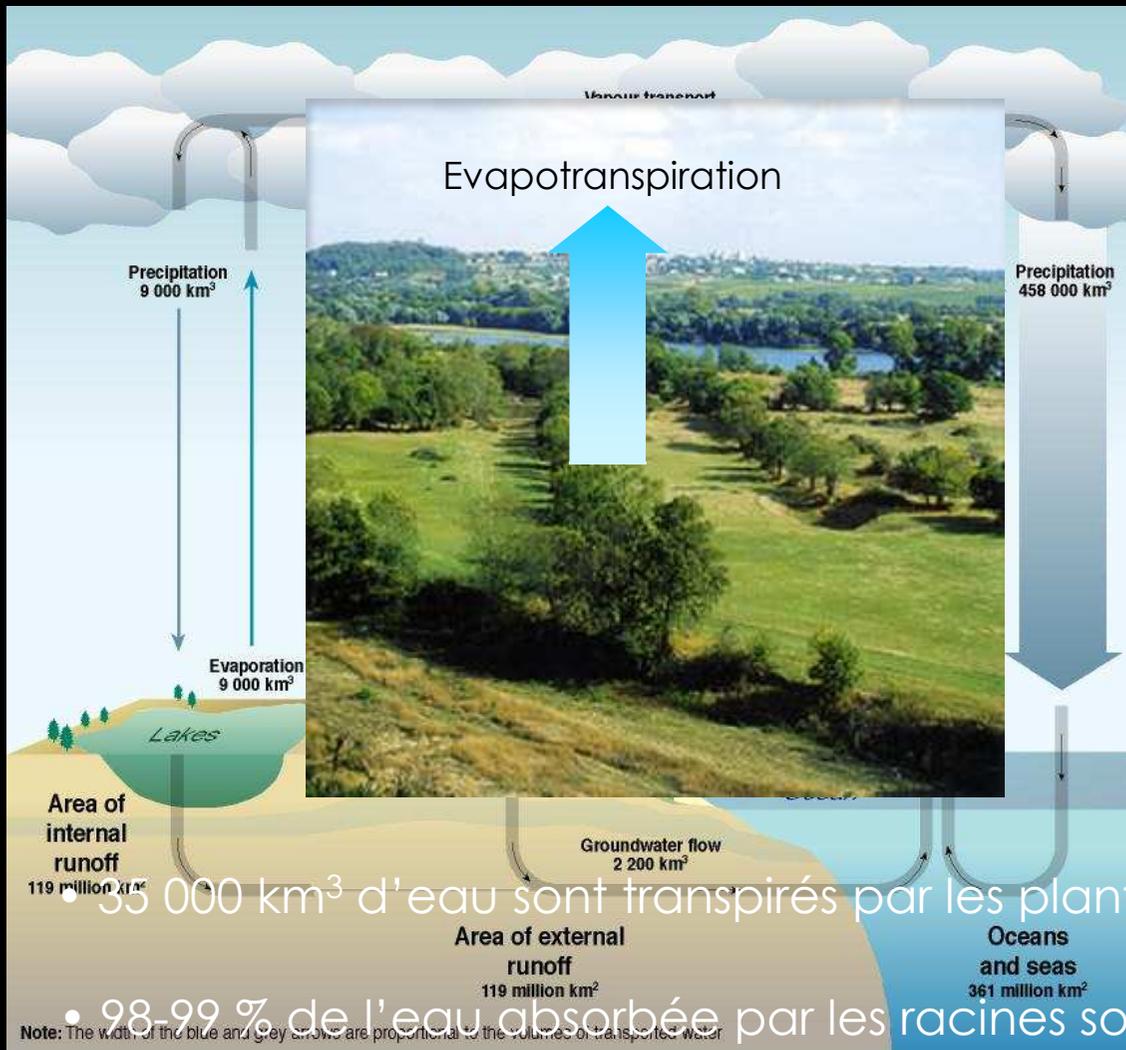


$$\Pi = icRT$$

L'eau et son mouvement au sein des plantes



La contribution des plantes dans le cycle de l'eau

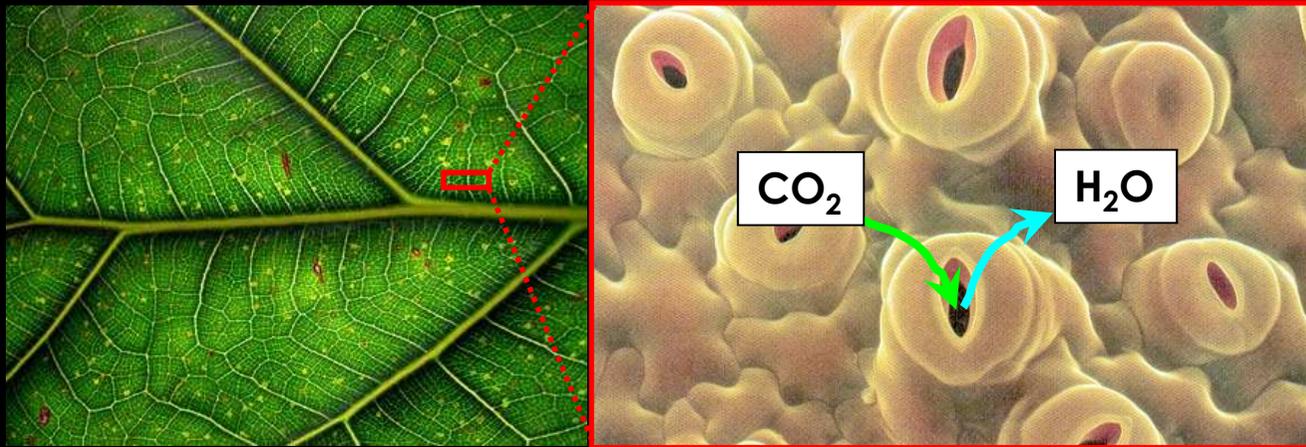


• 35 000 km³ d'eau sont transpirés par les plantes supérieures

• 98-99 % de l'eau absorbée par les racines sont libérés dans l'air...

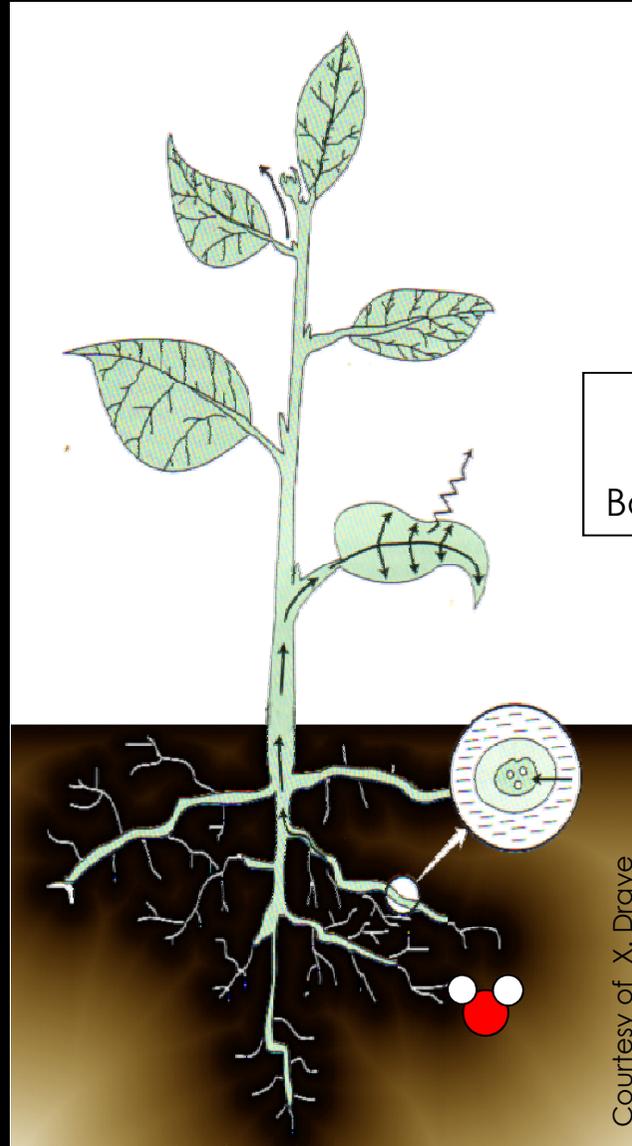
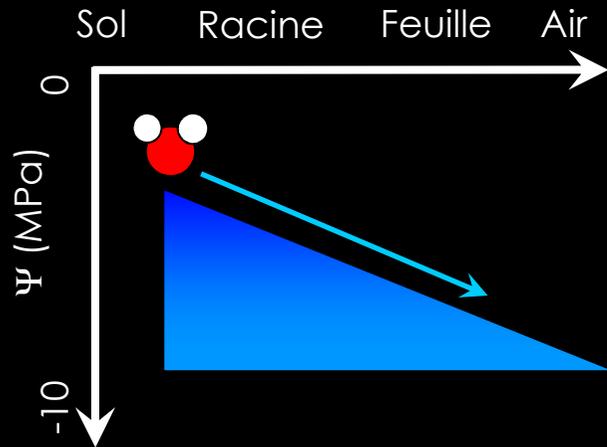
Le prélèvement et le mouvement de l'eau chez la plante

- Transpiration de l'eau lié à l'absorption du CO_2 nécessaire à la photosynthèse



- Phénomène passif contrôlé par le gradient de potentiel hydrique

Le gradient de potentiel hydrique



Ψ atmosphérique :

Change avec l'humidité
Généralement très faible

Ψ de la feuille :

Dépend du taux de transpiration
Bas quand les stomates sont ouverts

Ψ racinaire :

Modéré à élevé

Ψ du sol :

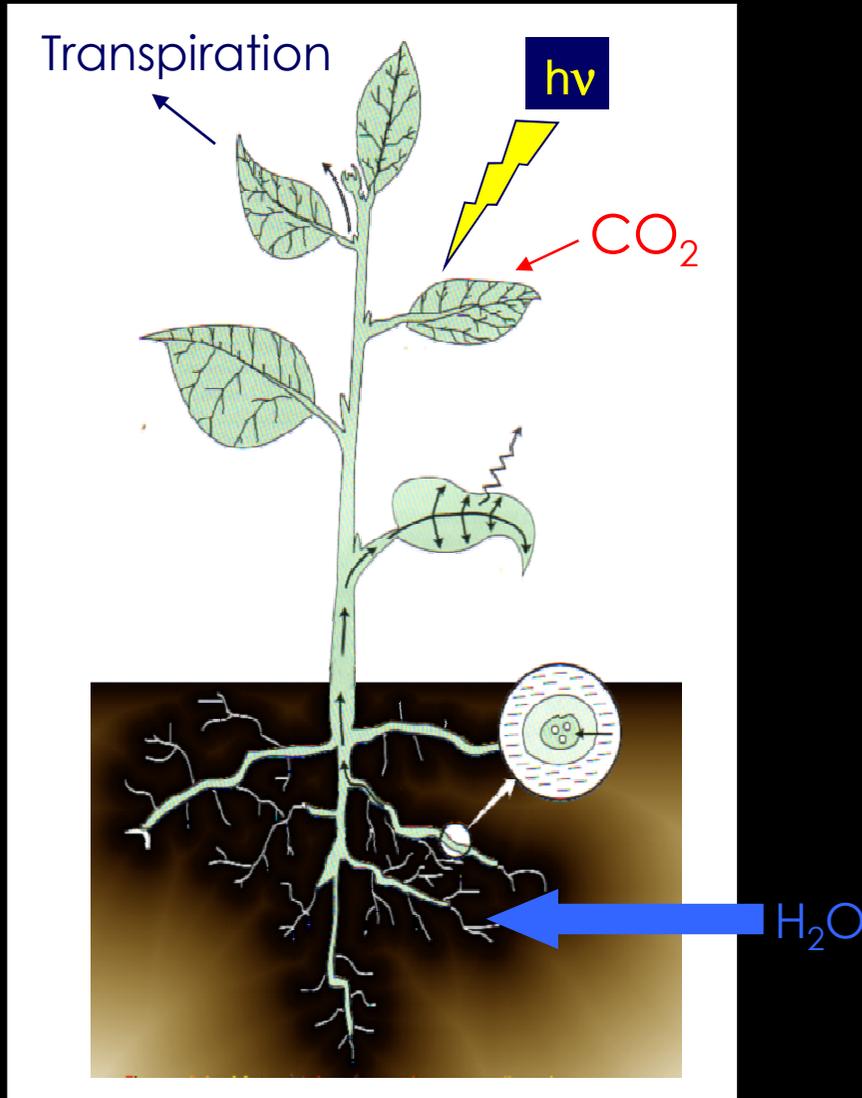
Élevé si humide
(bas en cas de sécheresse)

Le mouvement de l'eau lors de la transpiration

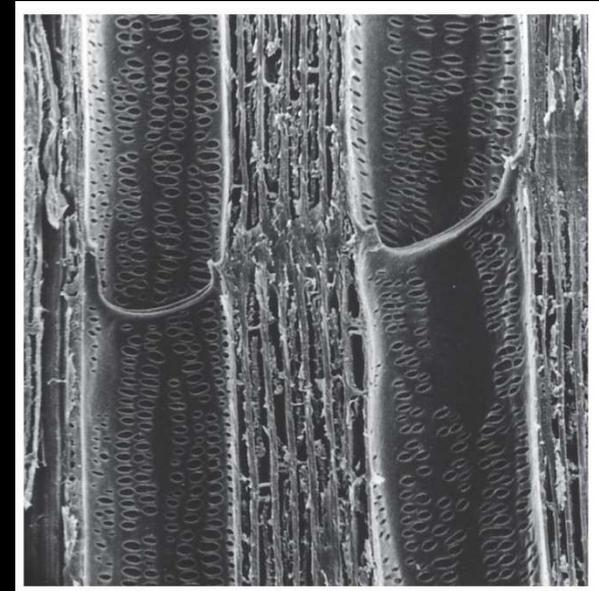
Lower Ψ



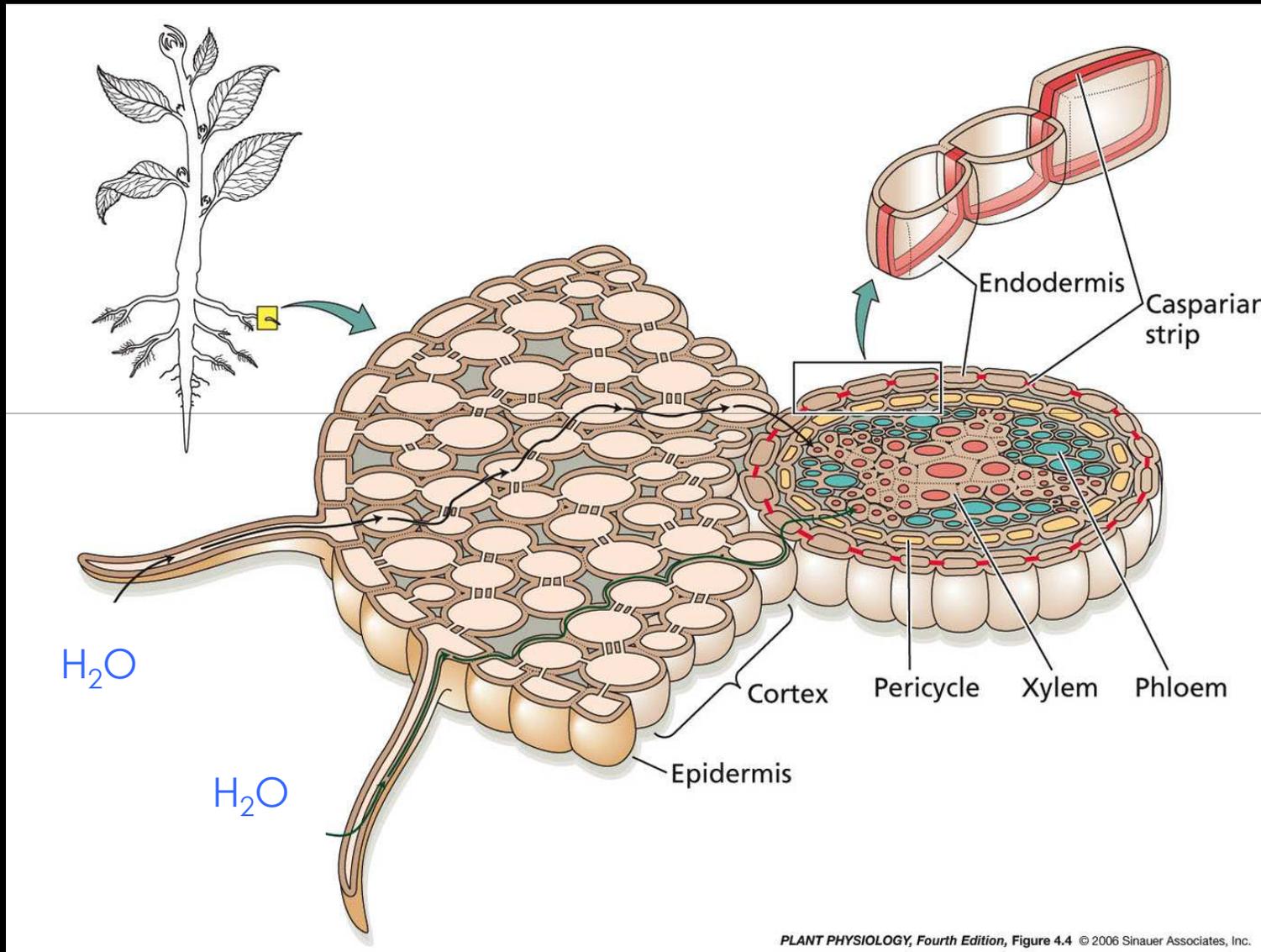
Higher Ψ



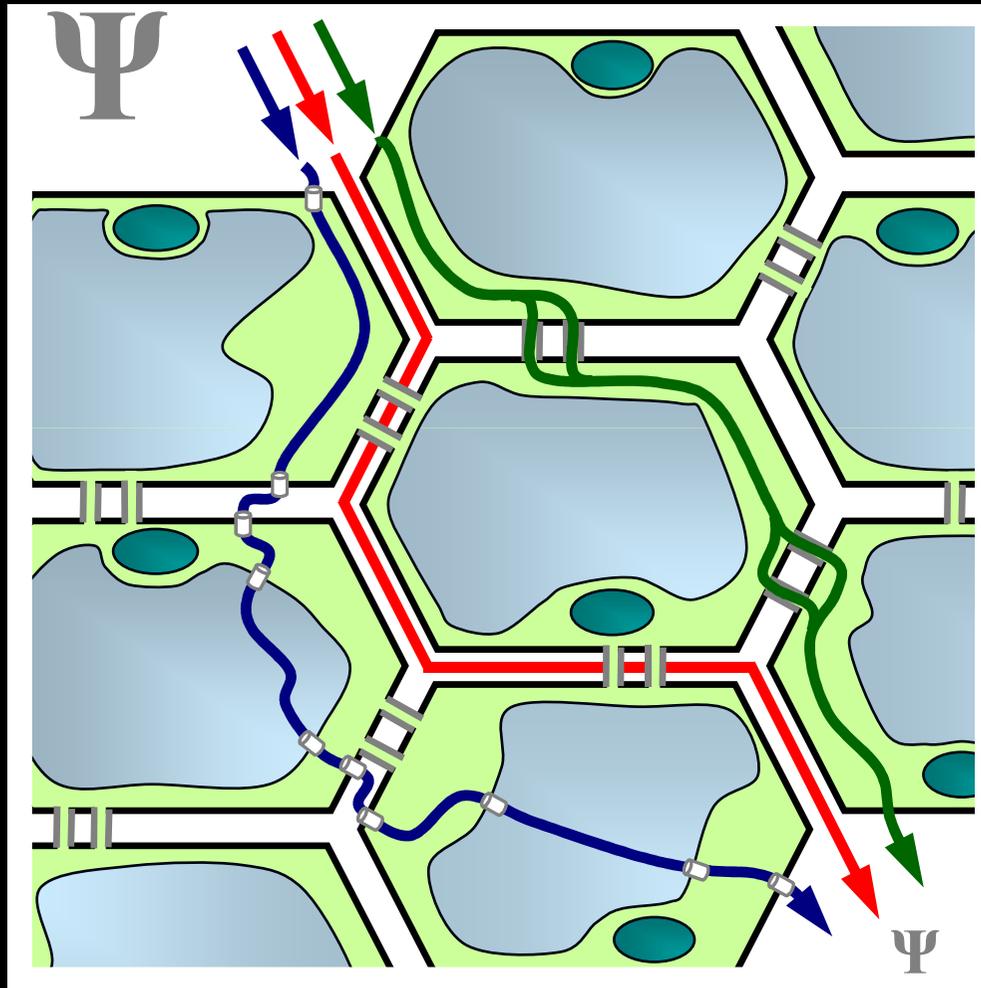
Vaisseaux xylémiens



Le mouvement de l'eau lors de la transpiration



Trois chemins pour le mouvement de l'eau dans les tissus végétaux



- Apoplastique (paroi cellulaire)

- Symplastique (plasmodesmes)

- Transcellulaire (membranes)

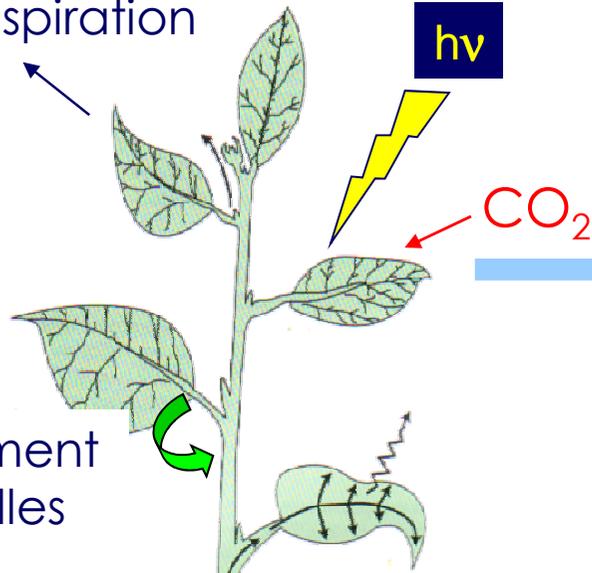
Le mouvement de l'eau au niveau cellulaire

Ψ bas



Ψ élevé

Transpiration

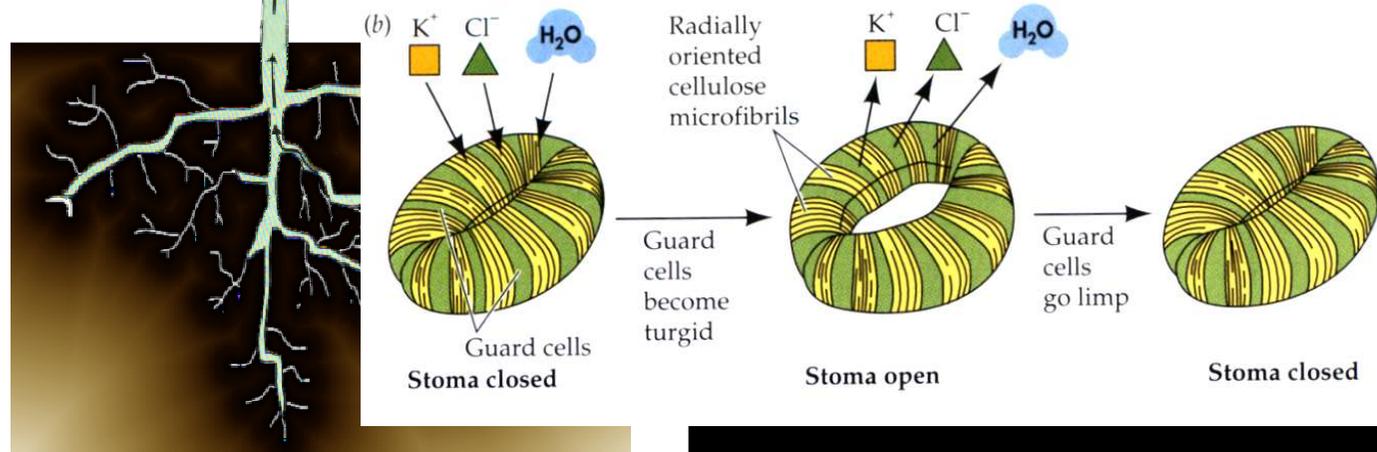


Mouvement
des feuilles

Ouverture et fermeture
des stomates



D. Bergmann



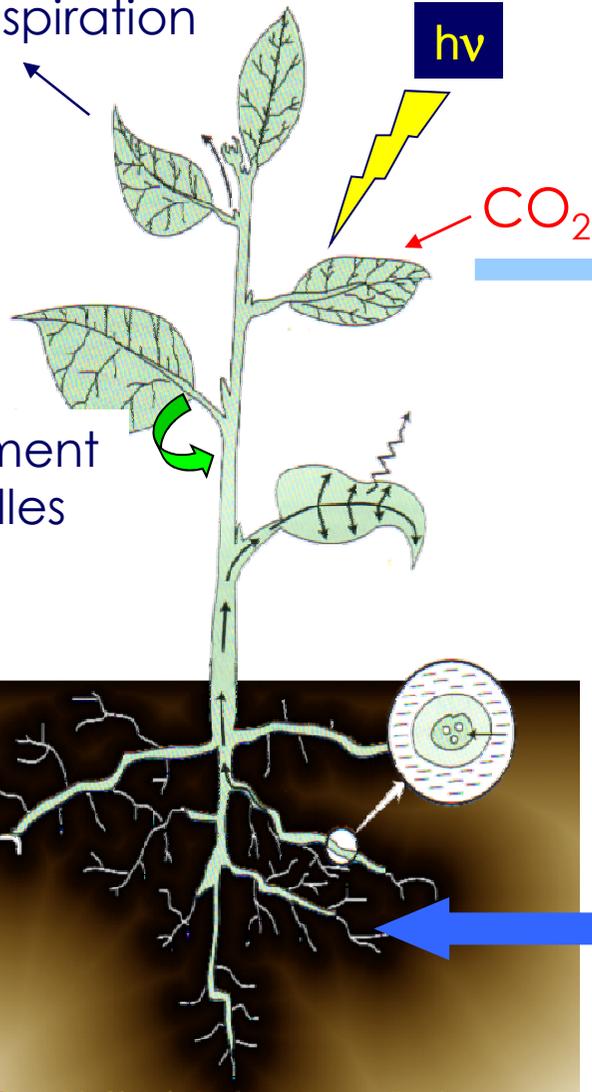
Le mouvement de l'eau au niveau cellulaire

Ψ bas



Ψ élevé

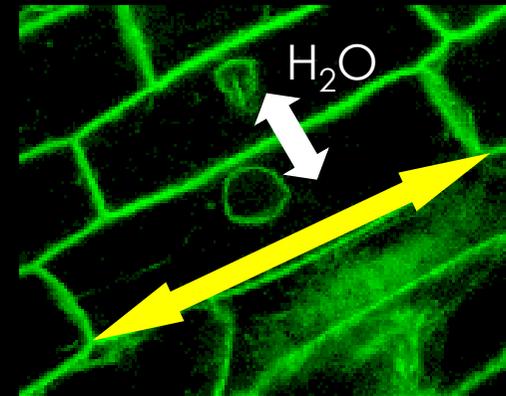
Transpiration



Ouverture et fermeture
des stomates

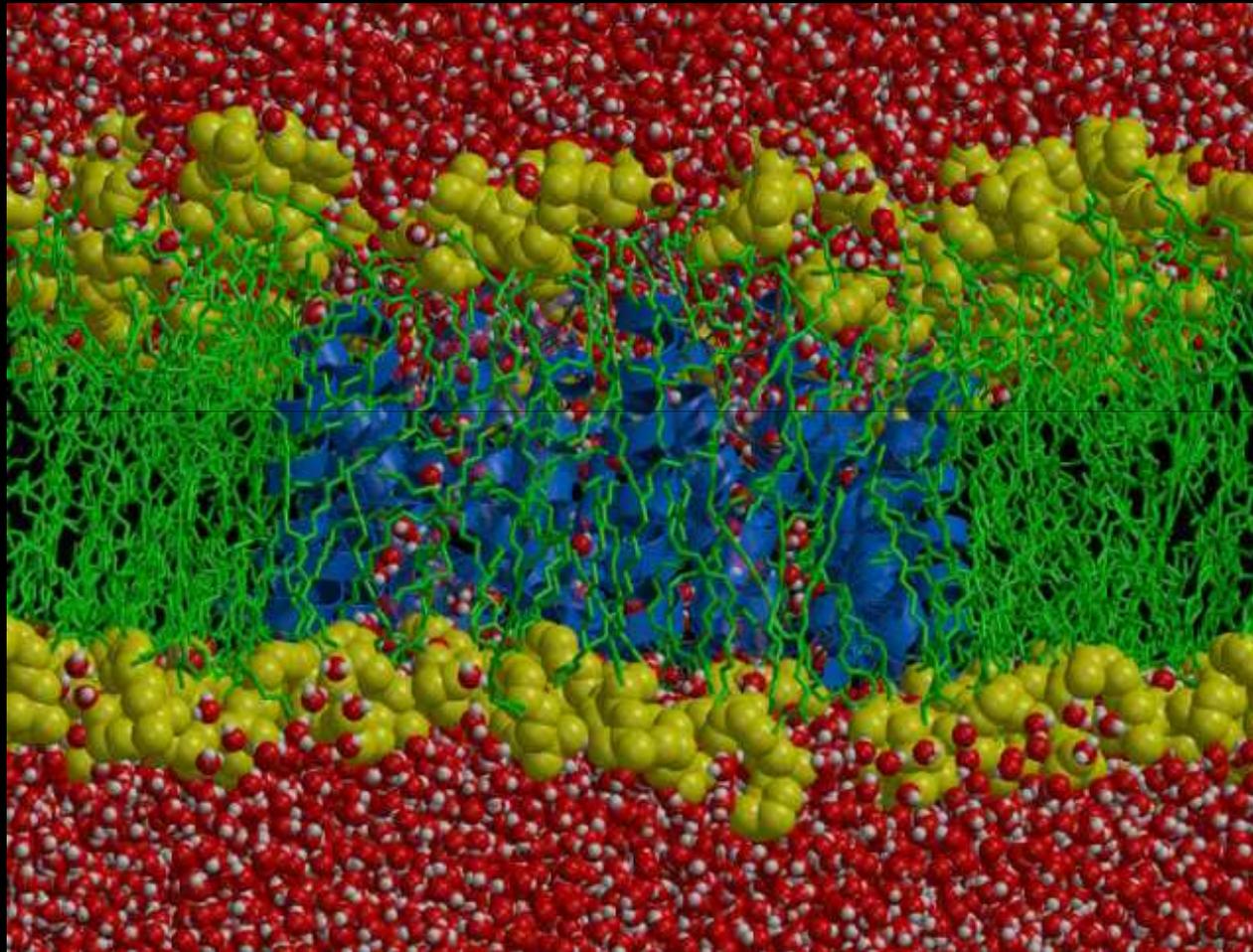


D. Bergmann



Turgescence
Volume
Elongation

Les aquaporins facilitent le mouvement de l'eau à travers les membranes cellulaires

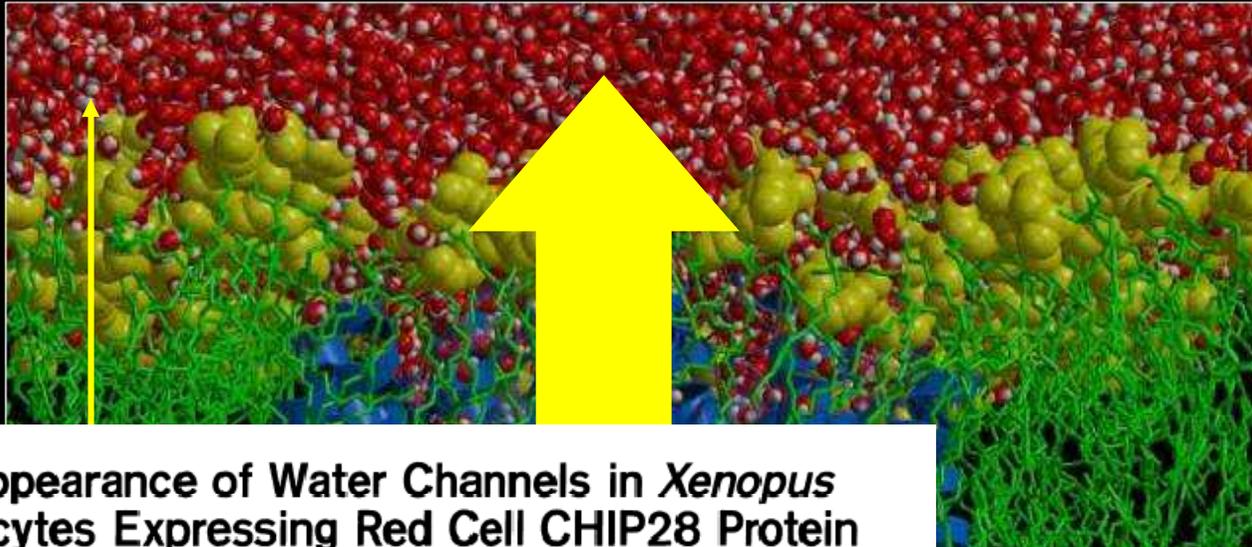


Membrane

De Groot and Grubmüller (2001) *Science*, 294, 2353

Les aquaporins facilitent le mouvement de l'eau à travers les membranes cellulaires

Diffusion
(P_d)



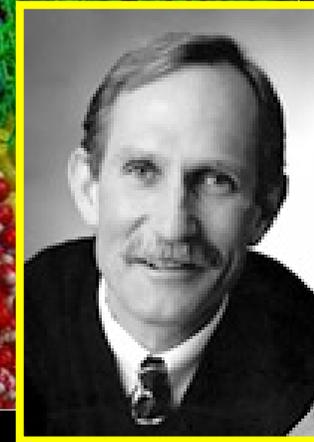
Membrane

Appearance of Water Channels in *Xenopus* Oocytes Expressing Red Cell CHIP28 Protein

Gregory M. Preston, Tiziana Piazza Carroll,
William B. Guggino, Peter Agre*

Water rapidly crosses the plasma membrane of red blood cells (RBCs) and renal tubules through specialized channels. Although selective for water, the molecular structure of these channels is unknown. The CHIP28 protein is an abundant integral membrane protein in mammalian RBCs and renal proximal tubules and belongs to a family of membrane proteins with unknown functions. Oocytes from *Xenopus laevis* microinjected with in vitro-transcribed CHIP28 RNA exhibited increased osmotic water permeability; this was reversibly inhibited by mercuric chloride, a known inhibitor of water channels. Therefore it is likely that CHIP28 is a functional unit of membrane water channels.

SCIENCE • VOL. 256 • 17 APRIL 1992



Peter Agre

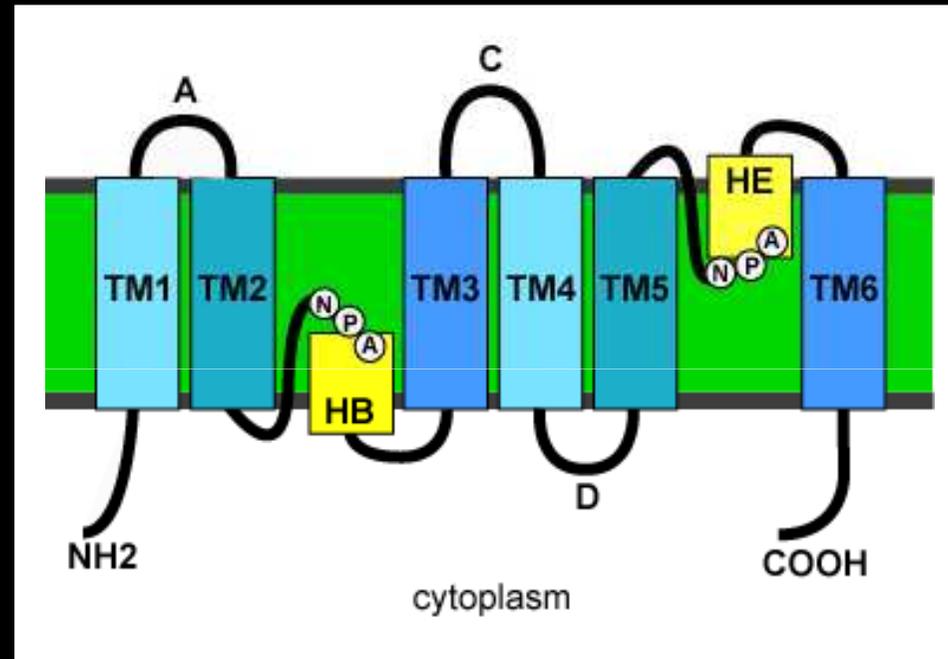
Prix Nobel de Chimie en 2003

Mouve
fac

$P_f >$

Inhibiti
le mercure

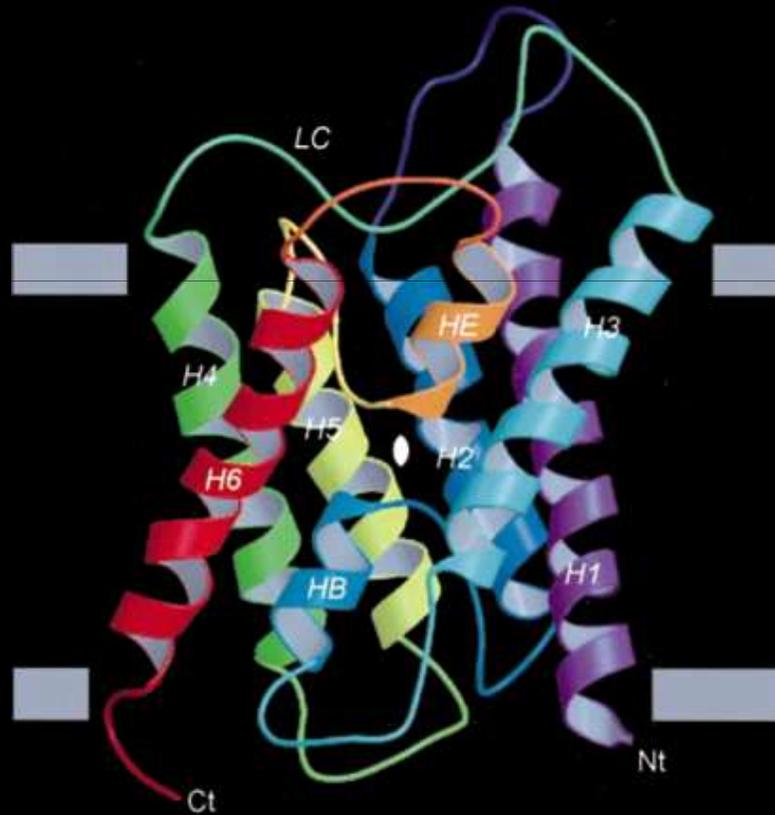
Aquaporines



- Major Intrinsic Protein (MIP)
- 25-34 kDa
- 6 domaines transmembranaires + signatures NPA
- canaux pour l'eau et/ou de petites molécules non chargées

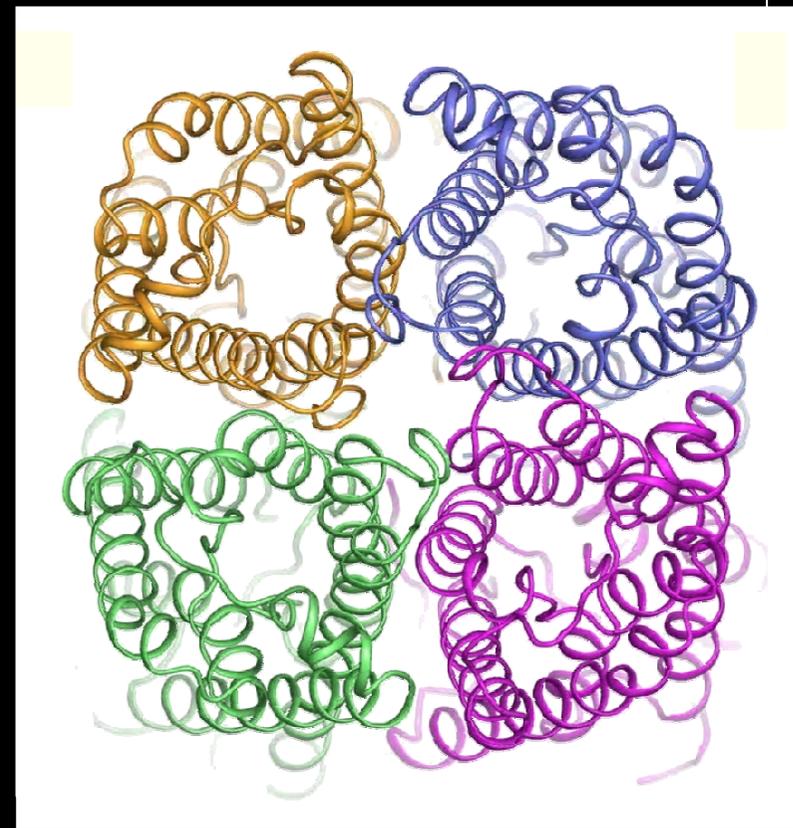
Les aquaporines s'assemblent en tétramères

AQP1



Murata *et al.* (2000) *Nature*, 407, 599-605

SoPIP2;1

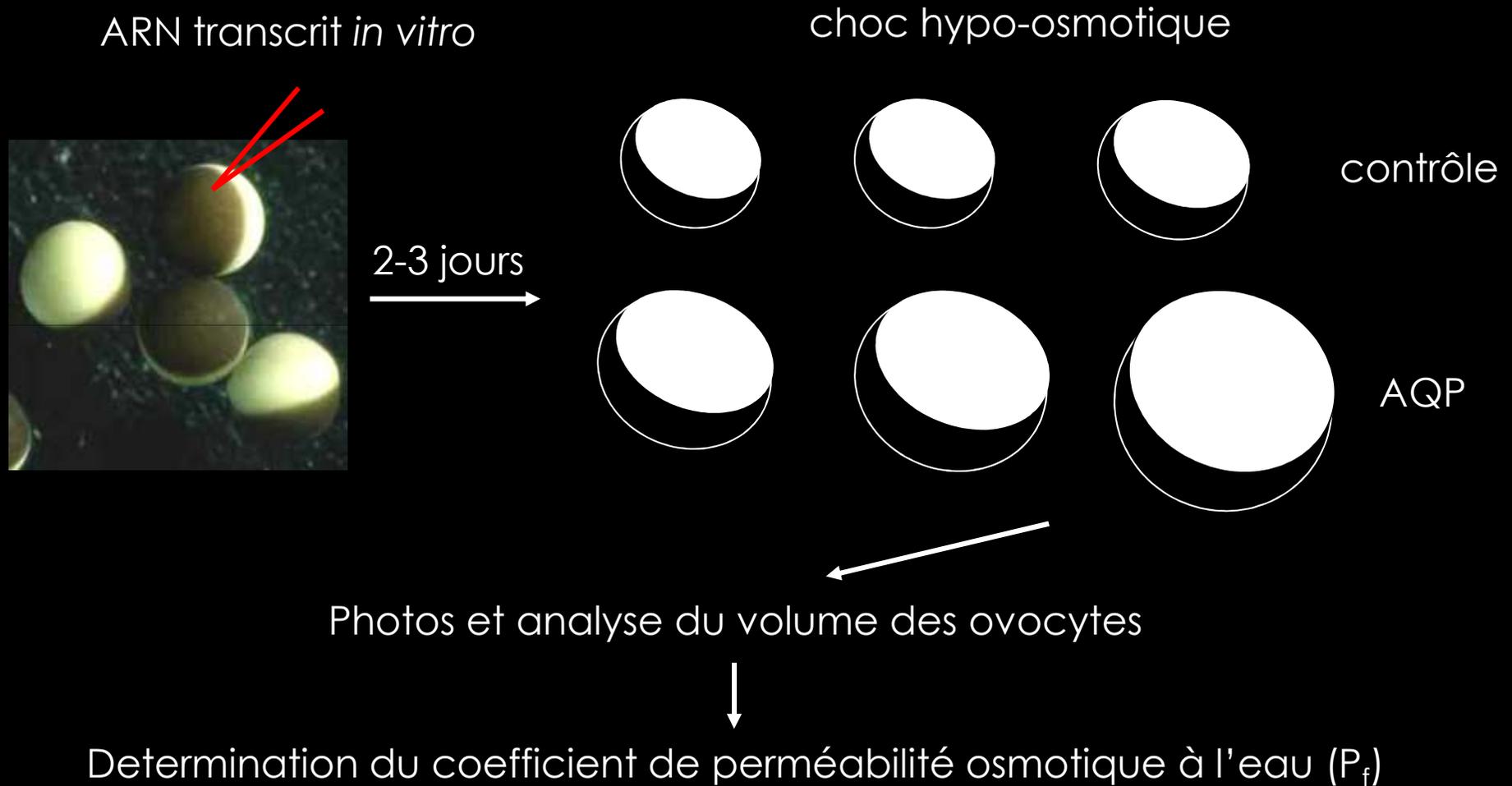


Törnroth *et al.* (2006) *Nature*, 439, 688-694

L'activité de transport d'eau des aquaporines déterminée par l'expression dans des ovocytes de Xénope



Water channel activity of AQPs can be determined by expression in *Xenopus* oocytes



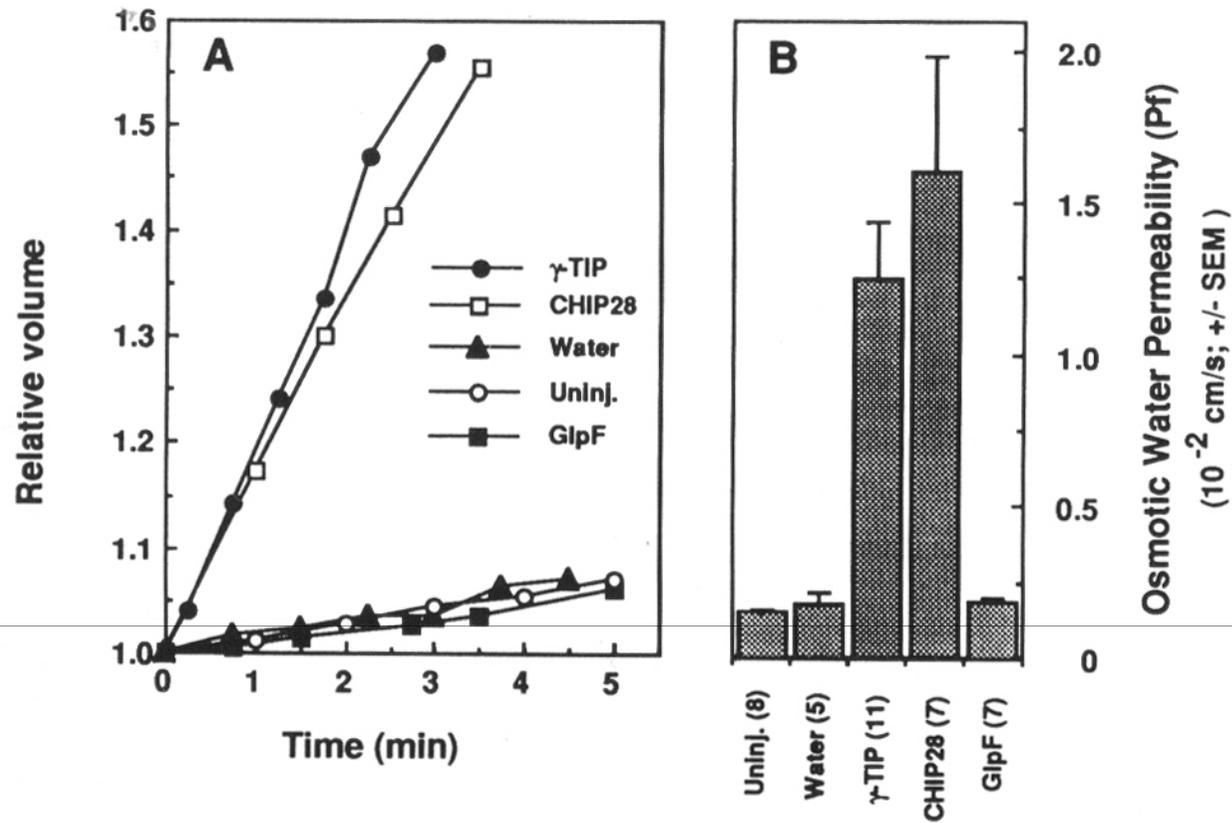


Fig. 1. Osmotic water permeability in mRNA injected oocytes. **(A)** Time course of osmotic swelling of individual oocytes uninjected (○) or injected with water (▲) or *in vitro* synthesized mRNA encoding γ -TIP (●), GlpF (■) or CHIP28 (□). Oocytes in Barth's buffer were perfused from $t = 0$ with a 5-fold dilution of Barth's buffer with distilled water. Measurements on oocytes injected with γ -TIP and CHIP28 mRNA stopped at the time of cell rupture. Representative data from the same batch of oocytes. **(B)** Osmotic water permeability (P_f) values. P_f values of individual oocytes were derived from volume change measurements made with three independent batches of oocytes. Data are expressed as the mean \pm SEM; the number of cells is indicated in parentheses.



Les aquaporines du maïs

- Culture importante
- Irrigation
- Beaucoup d'études physiologiques sur les relations hydriques au niveau de la plante entière et des tissus
- Peu de données aux niveaux moléculaire et cellulaire
- Accès à des banques de données moléculaires de Pioneer Hi-Bred International

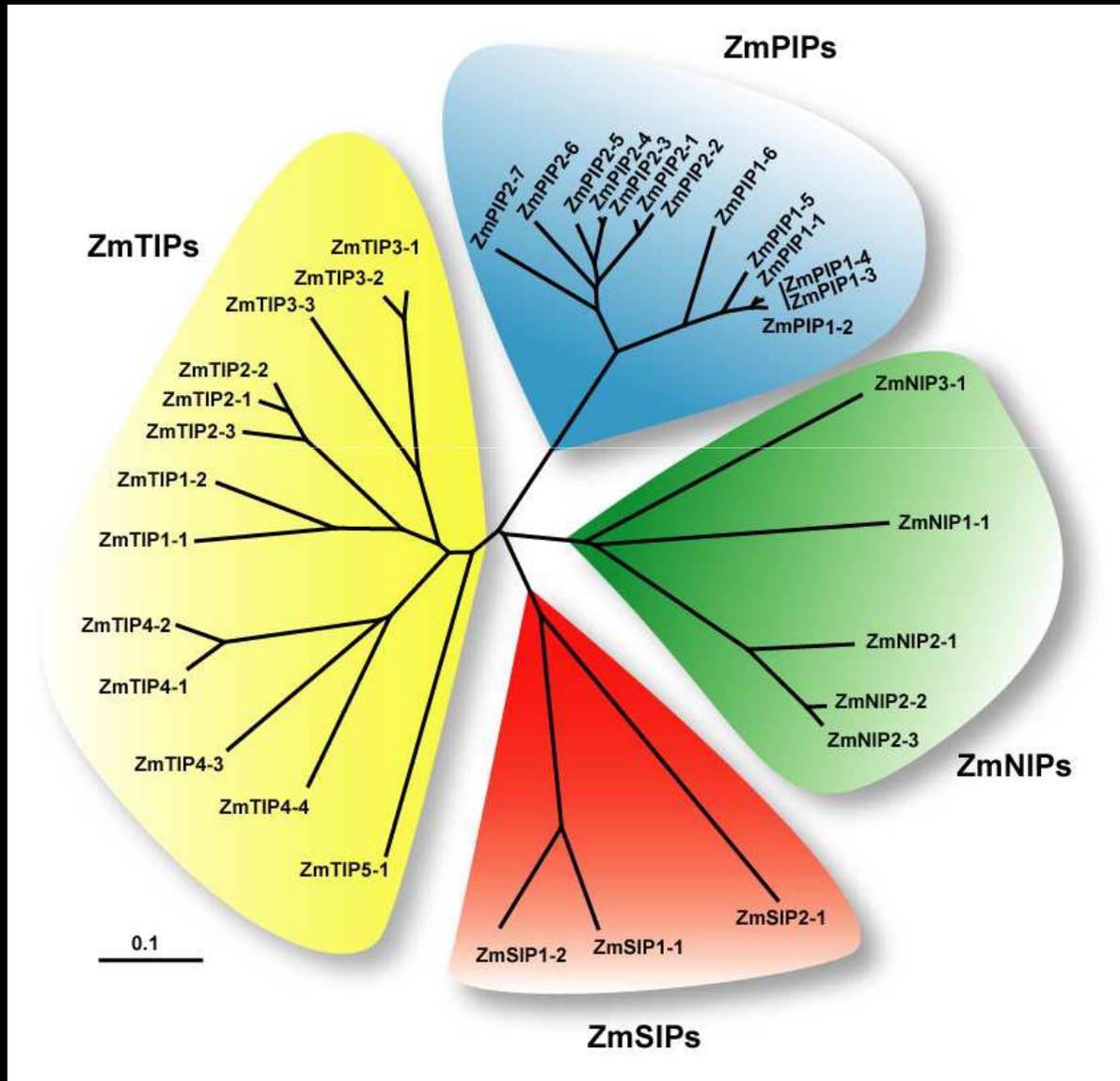


**Identification
de 38 gènes d'aquaporines**



Les aquaporines végétales forment une grande famille de protéines divergentes

Tonoplaste



Membrane plasmique

Symbiosome

Reticulum endoplasmique

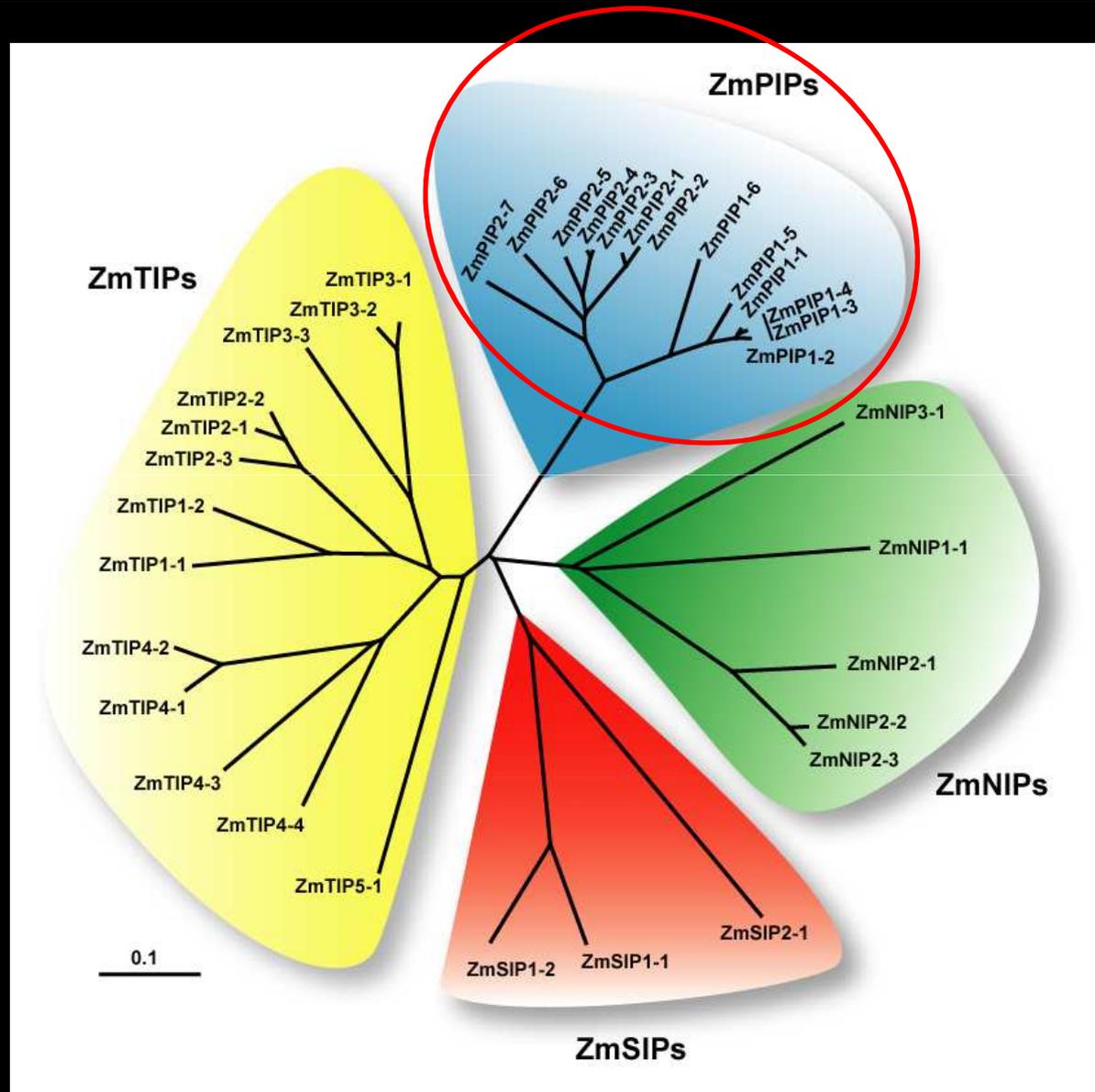
Membrane plasmique

Reticulum endoplasmique

Les aquaporines végétales forment une grande famille de protéines divergentes

eau, urée,
glycérol,
ammoniac,
 H_2O_2 , ...

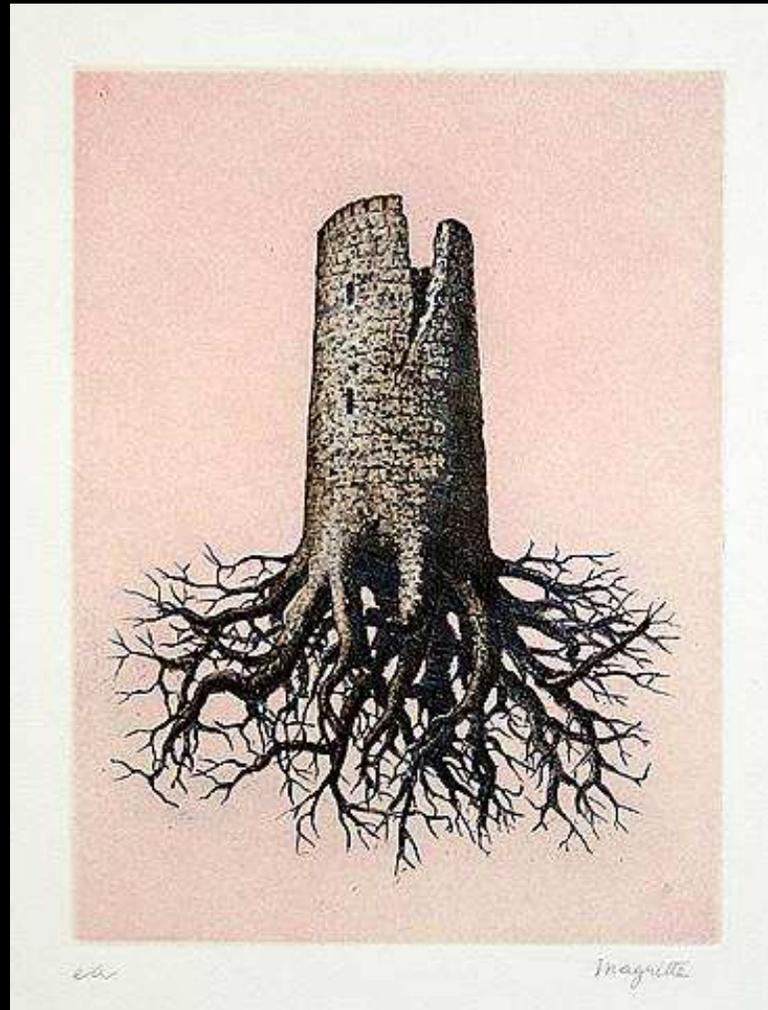
water, ...



Eau, CO_2 , ...

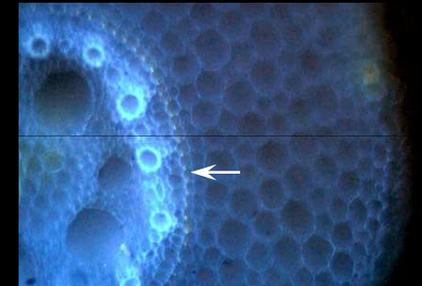
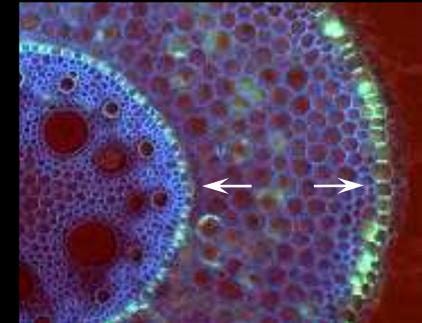
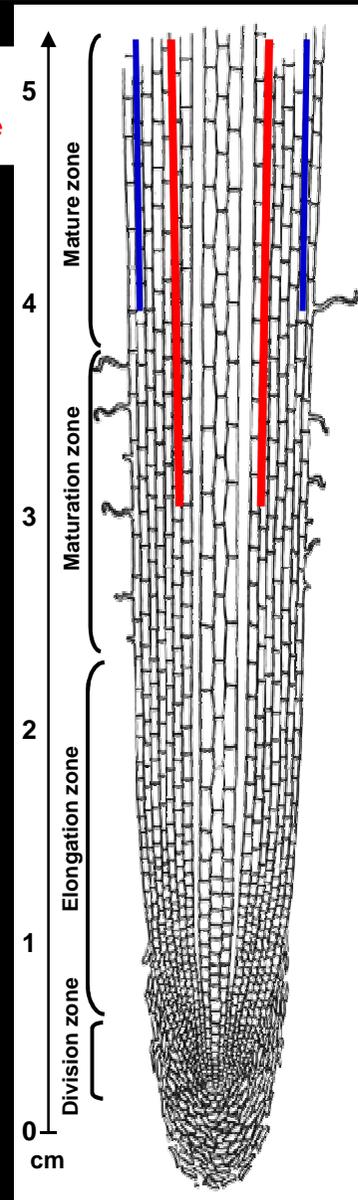
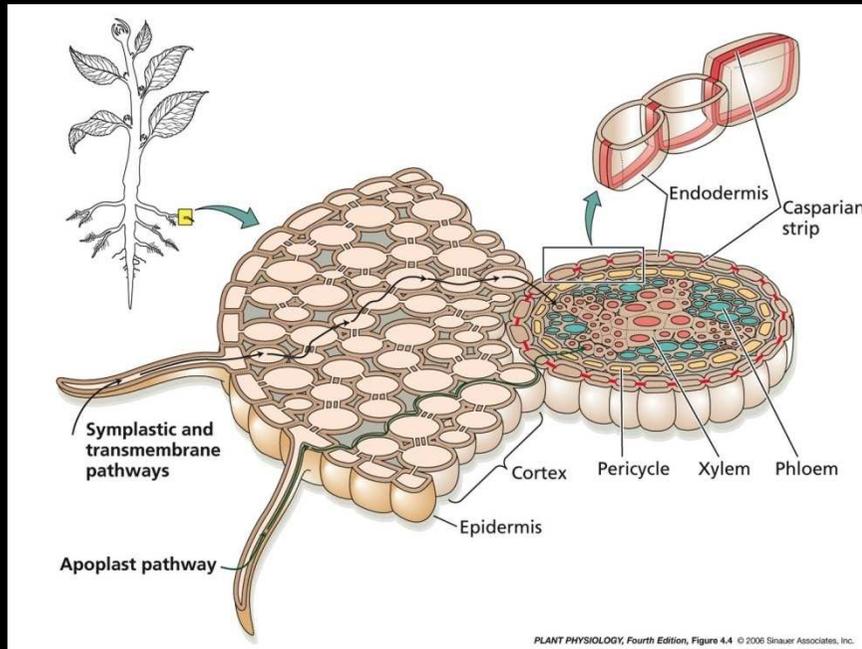
eau, NH_3/NH_4^+ ,
glycérol,
acide borique,
acide silicilique,
arsenite,
antimonite,
acide lactique

Rôles des aquaporines végétales : l'exemple de la racine

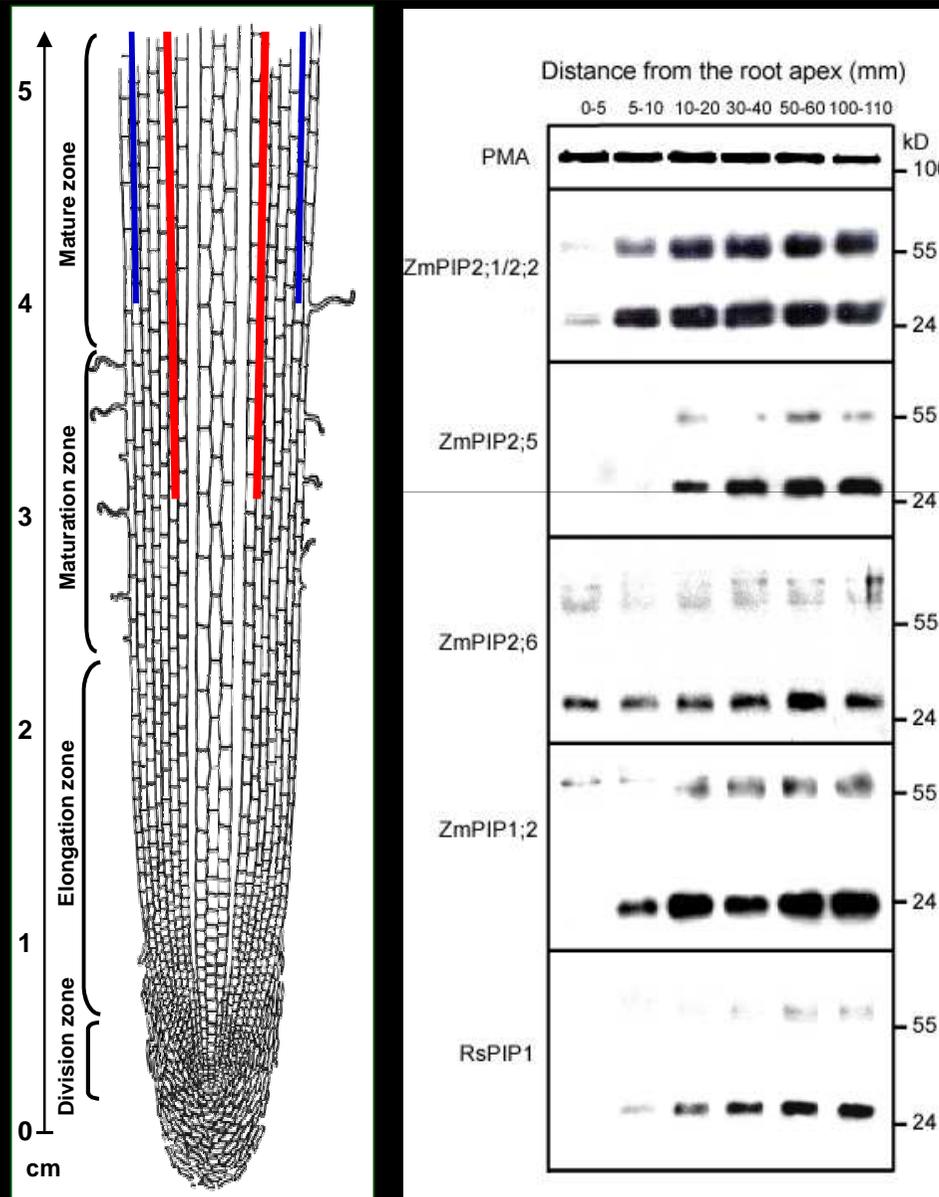


Expression des aquaporines dans les racines de maïs

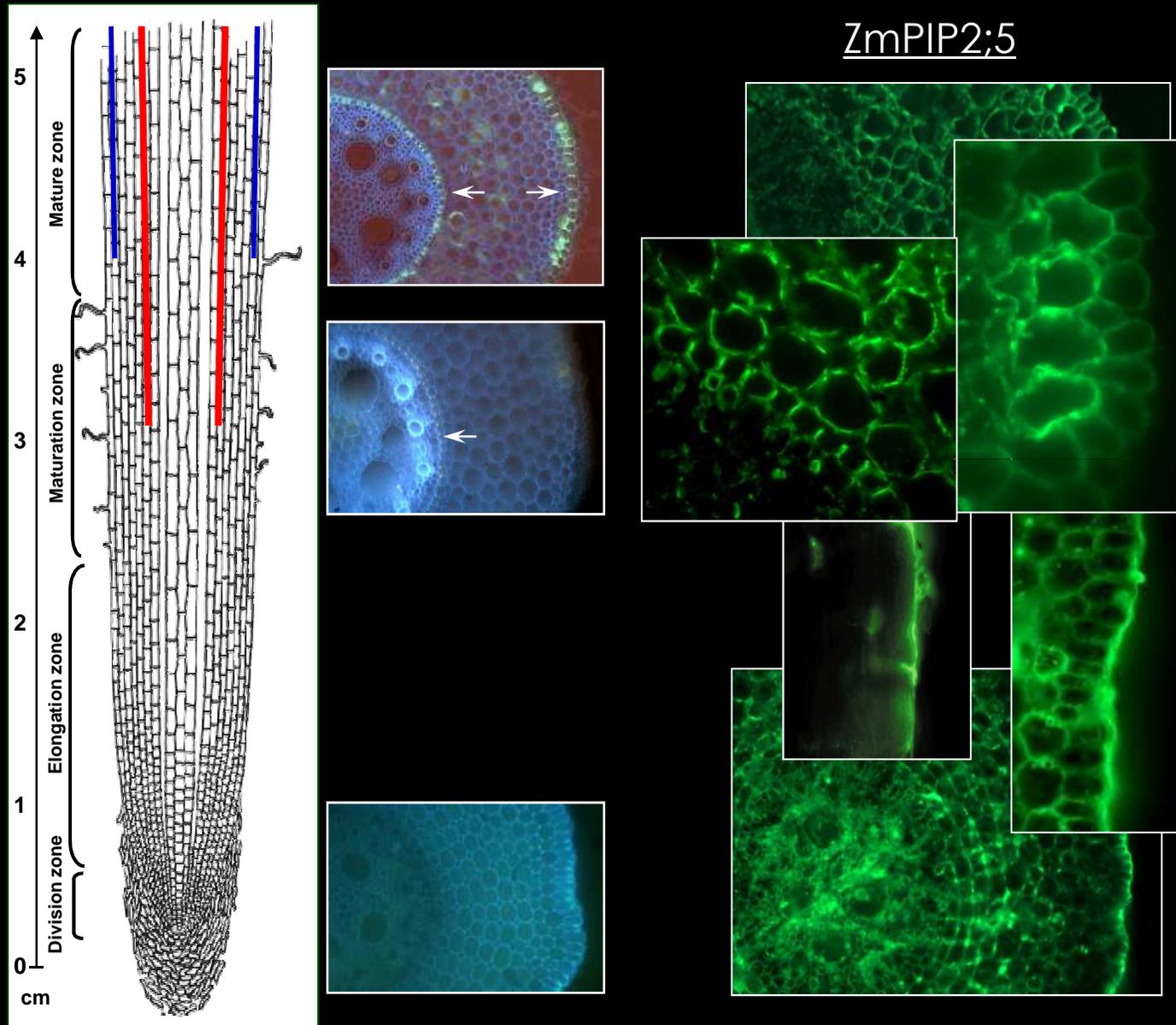
exoderme
endoderme



Le niveau d'expression des aquaporines dépend du stade de développement des racines



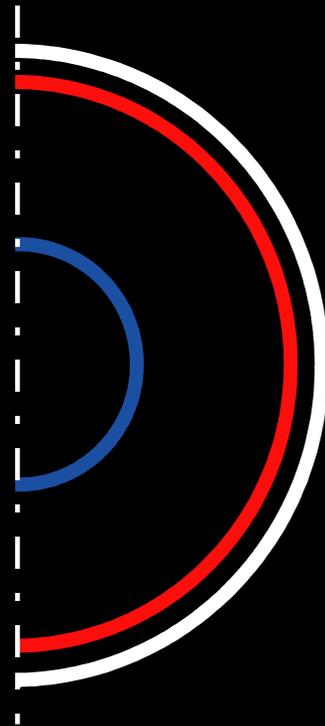
Expression de ZmPIP2;5 dans la racine



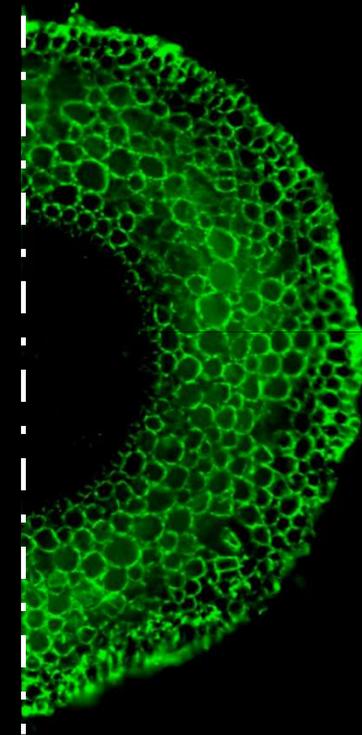
L'expression de ZmPIP2;5 dépend des conditions de croissance

Zone mature

Aéroponique



Aéroponique

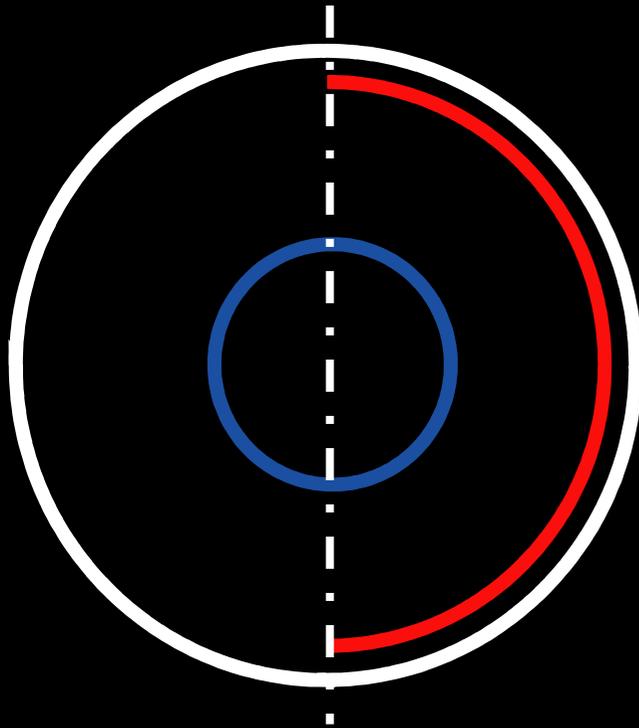


-  Endoderme subérisé
-  Exoderme subérisé

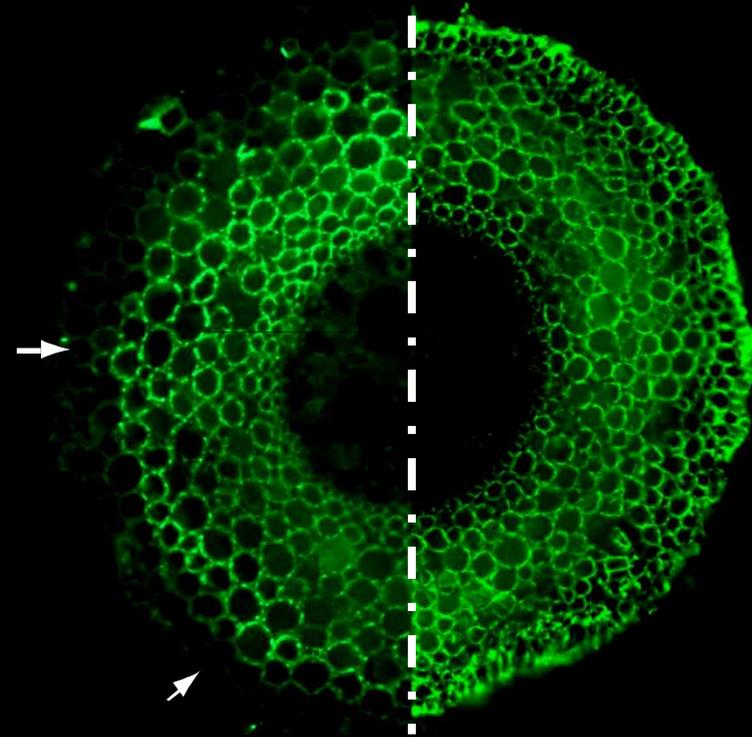
L'expression de ZmPIP2;5 dépend des conditions de culture

Zone mature

Hydroponique Aéroponique



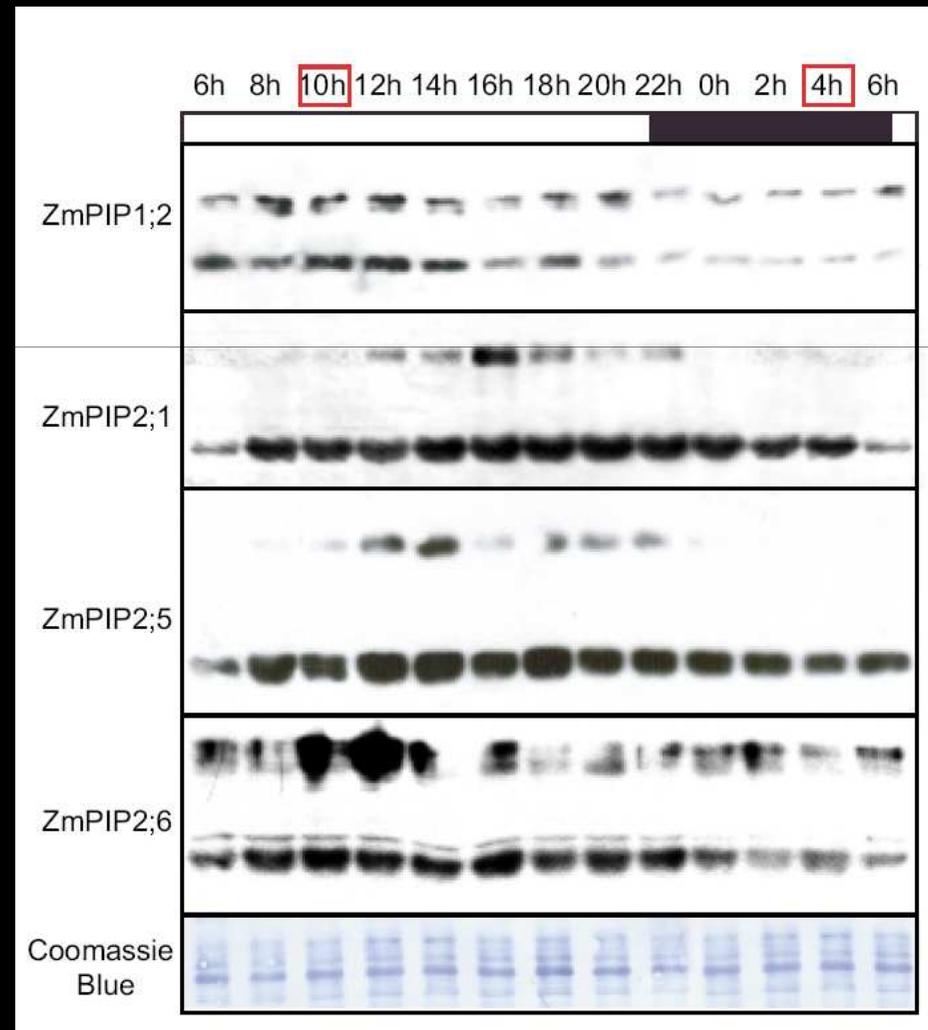
Hydroponique Aéroponique



- Endoderme subérisé
- Exoderme subérisé

→ ZmPIP2;5 est présent aux endroits où le mouvement apoplastique de l'eau n'est plus possible

L'expression des ZmPIP et la perméabilité des membranes cellulaires sont régulés durant la journée



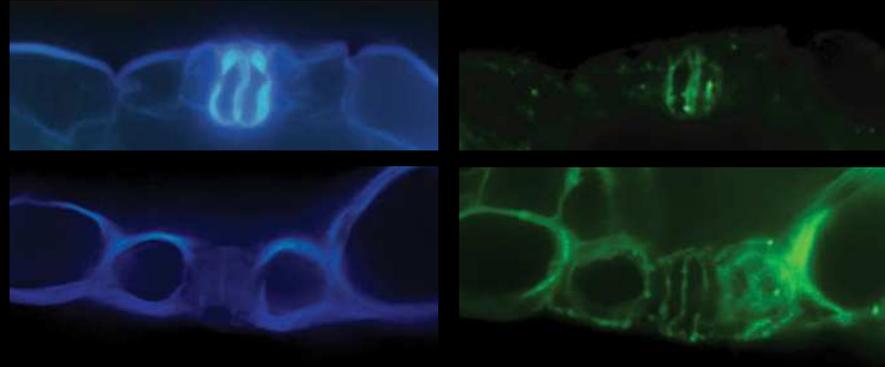
Rôles des aquaporines végétales : l'exemple de la feuille



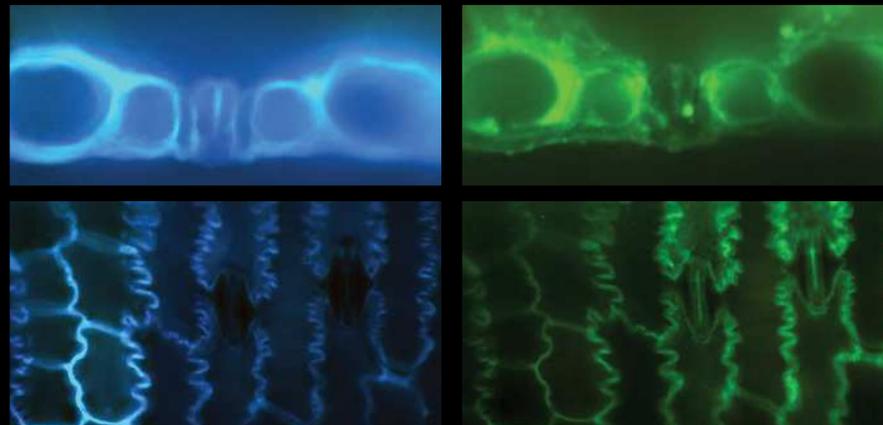
Magritte

Les ZmPIP sont exprimés dans l'épiderme et les cellules de garde de la feuille mature

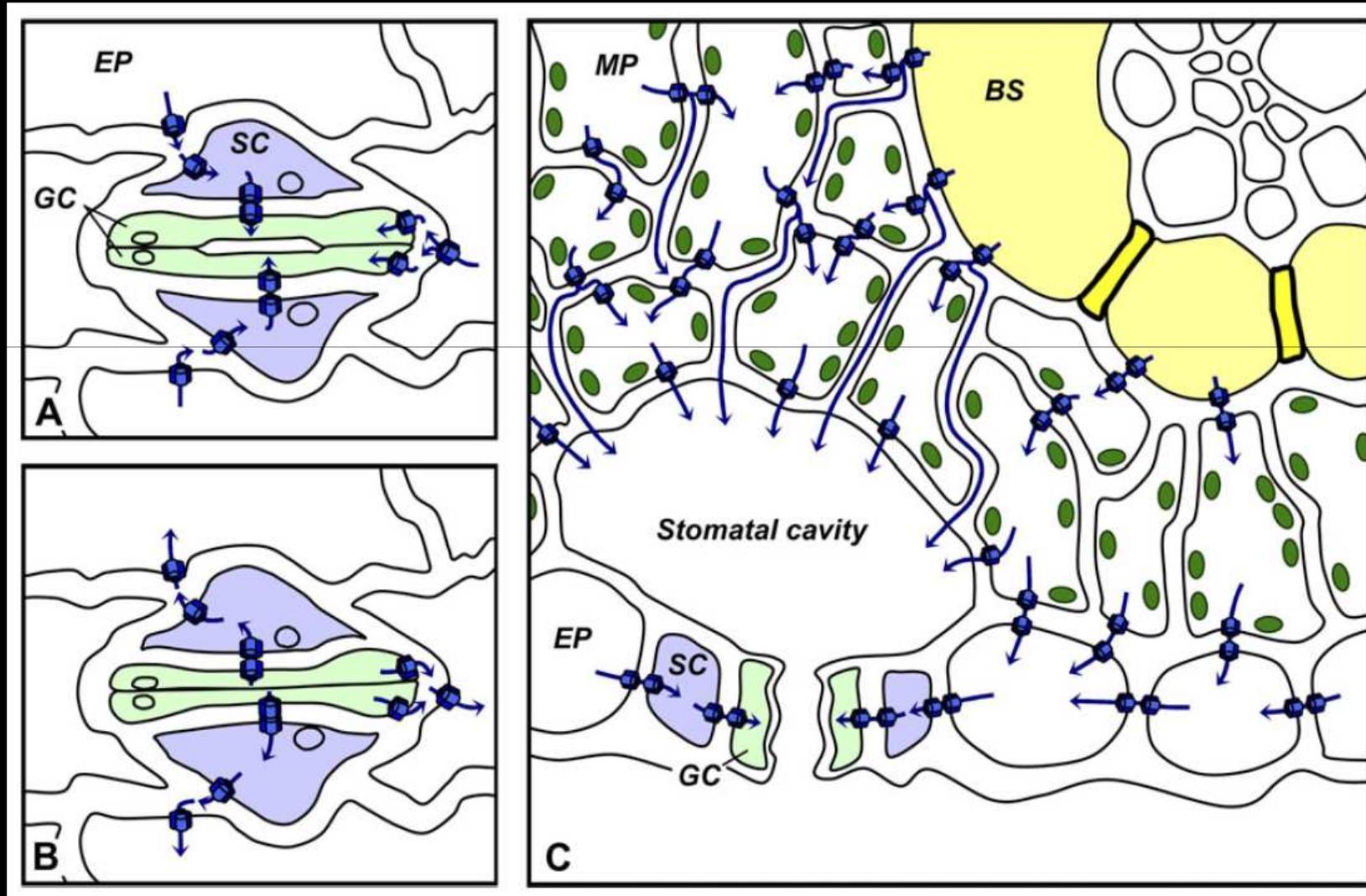
ZmPIP1;2



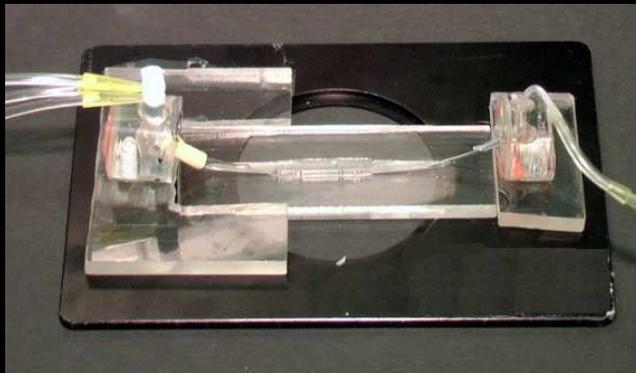
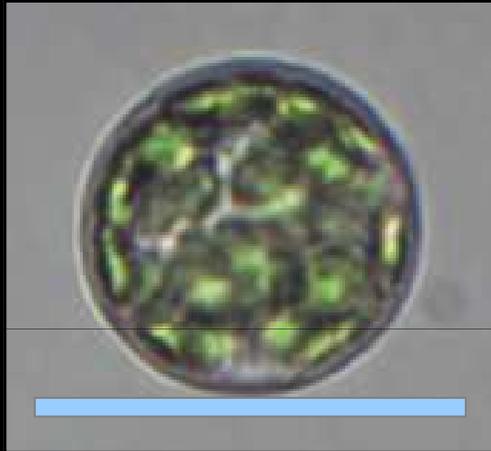
ZmPIP2;1/2;2



Les ZmPIP sont exprimés dans l'épiderme et les cellules de garde de la feuille mature

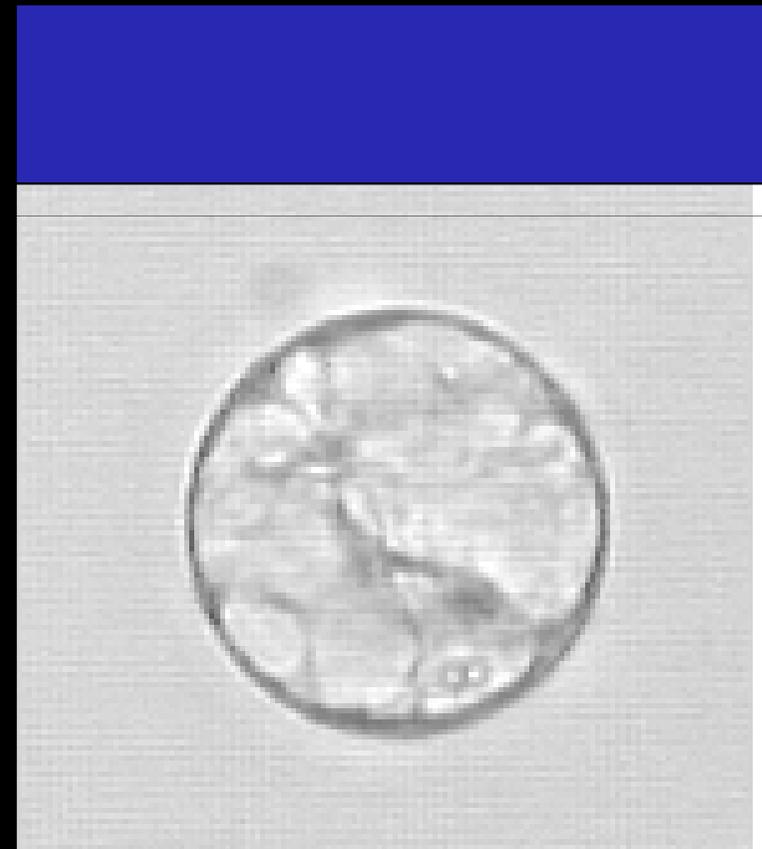
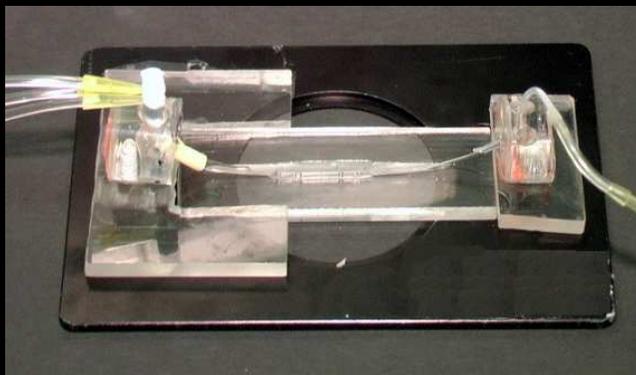
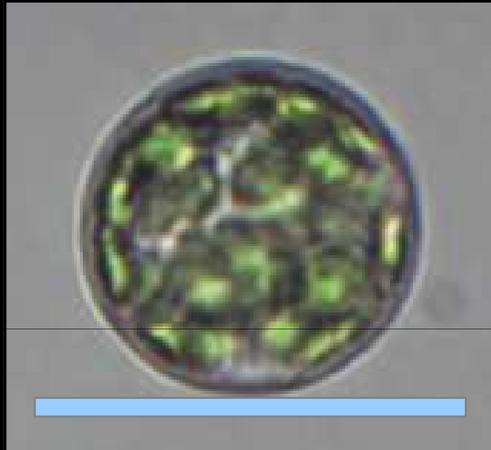


Détermination de la perméabilité osmotique à l'eau des membranes : gonflement de protoplastes

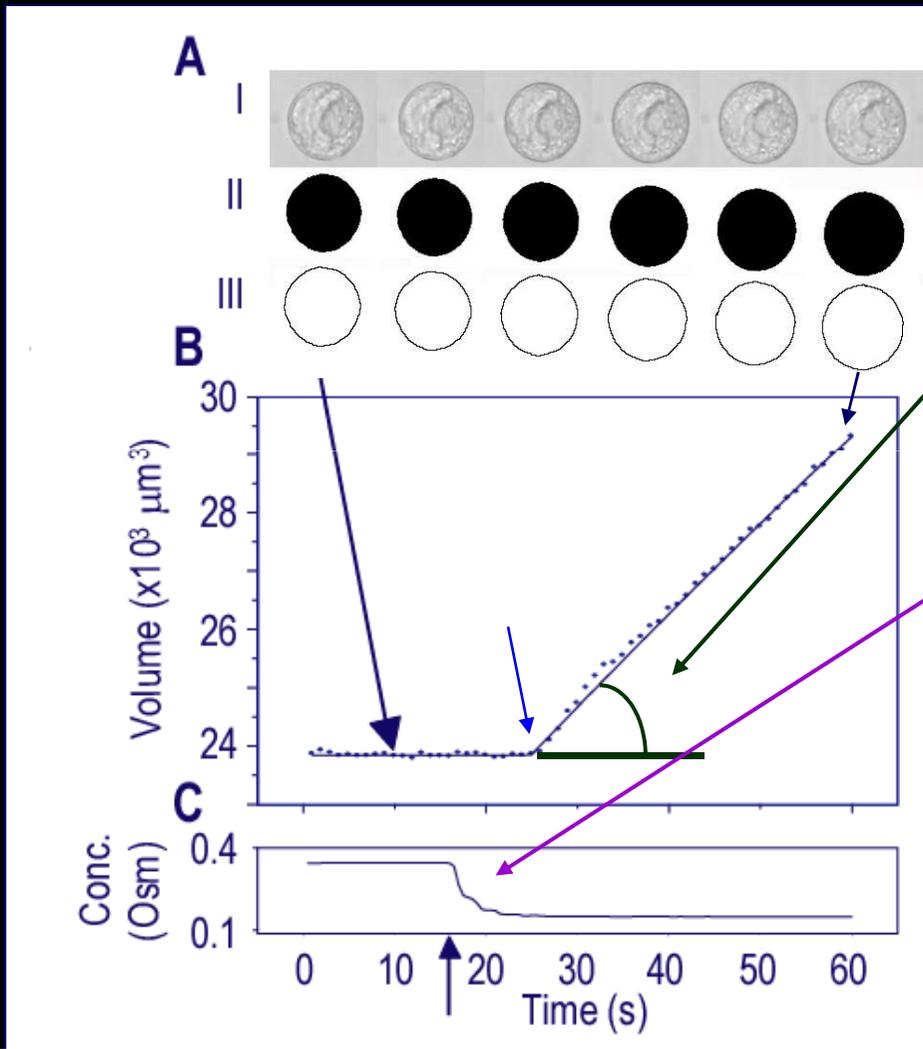


Détermination de la perméabilité osmotique à l'eau des membranes : gonflement de protoplastes

 Solution isotonique
 Solution hypotonique



Détermination de la perméabilité osmotique à l'eau des membranes



$$\frac{dV}{dt} = P_f \cdot S_o \cdot (C_{out} - C_{in}) \cdot V_w$$

?

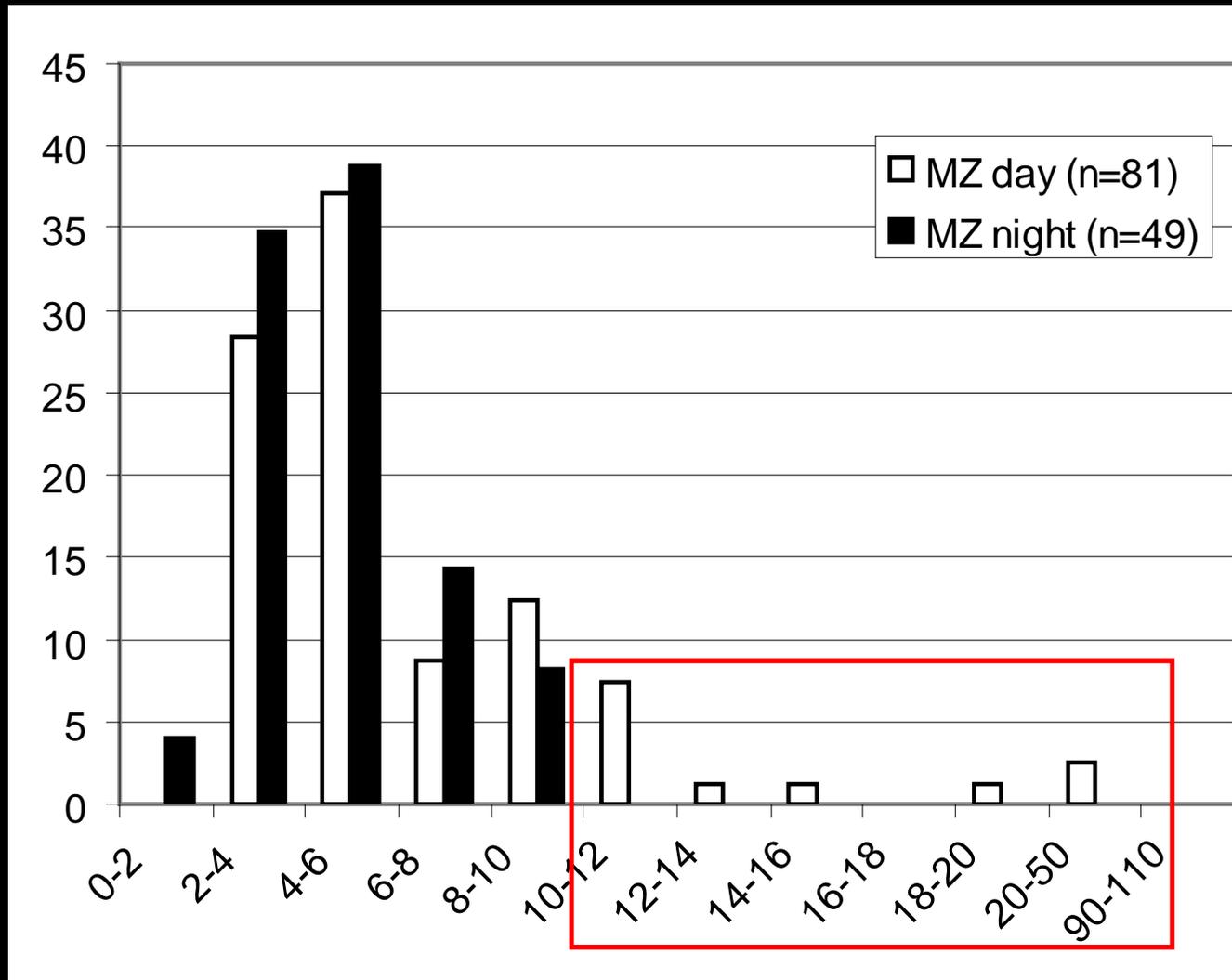
$18 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$

$$C_{int} = C_{ino} \cdot V_0 / V_t$$

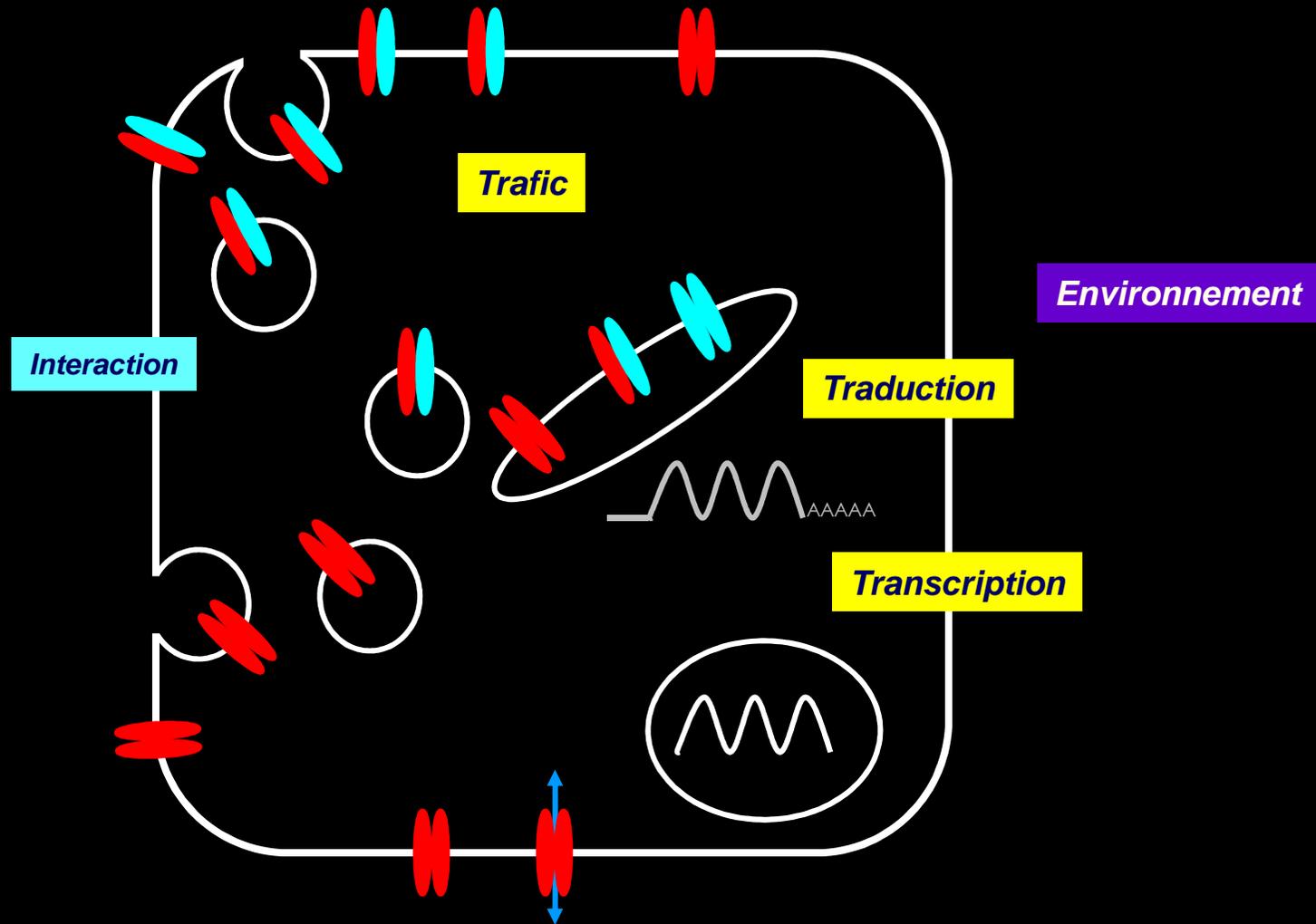
Best-Fitting program



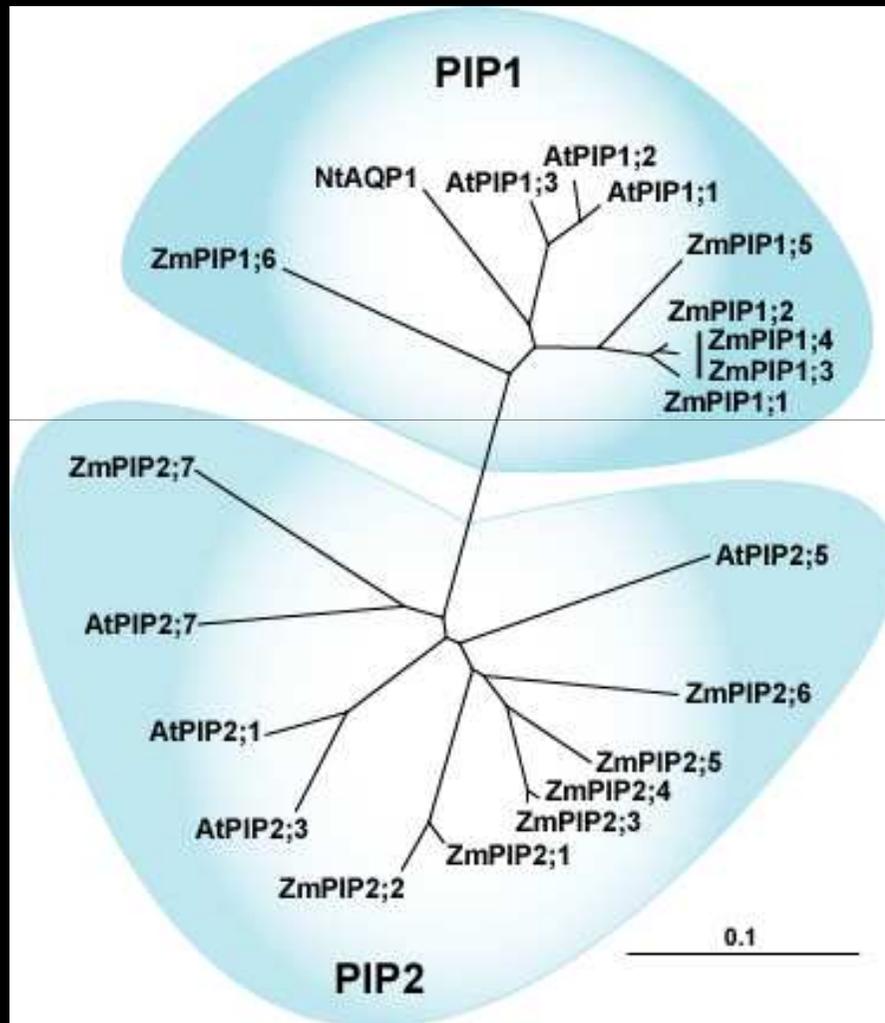
Les protoplastes de feuilles isolés la journée gonflent plus rapidement que ceux isolés la nuit



Régulation des aquaporines végétales



Les aquaporines ZmPIP forment deux groupes avec des activités de transport d'eau différentes



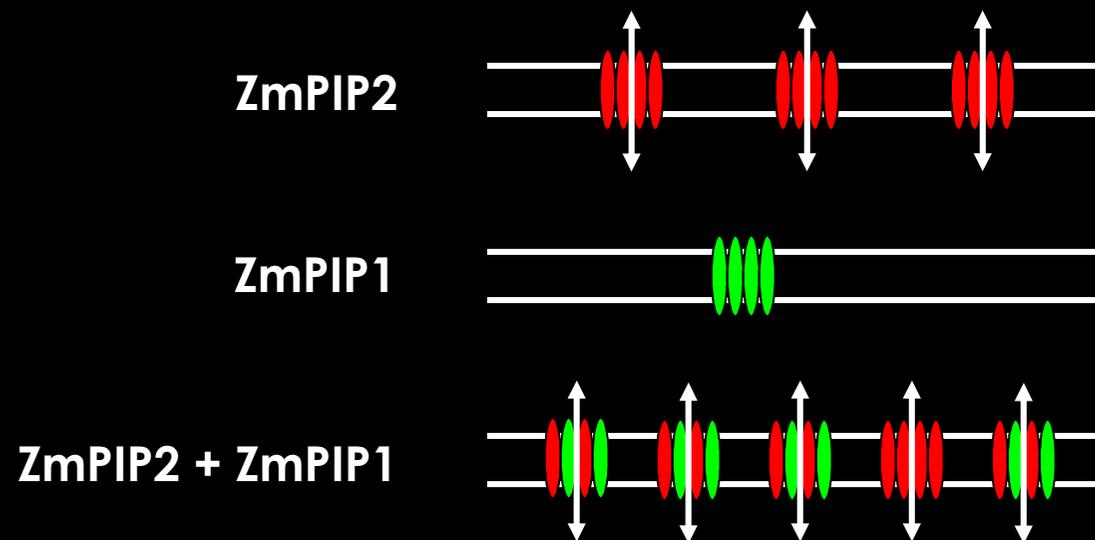
Pas d'activité de transport



Canaux à eau efficaces



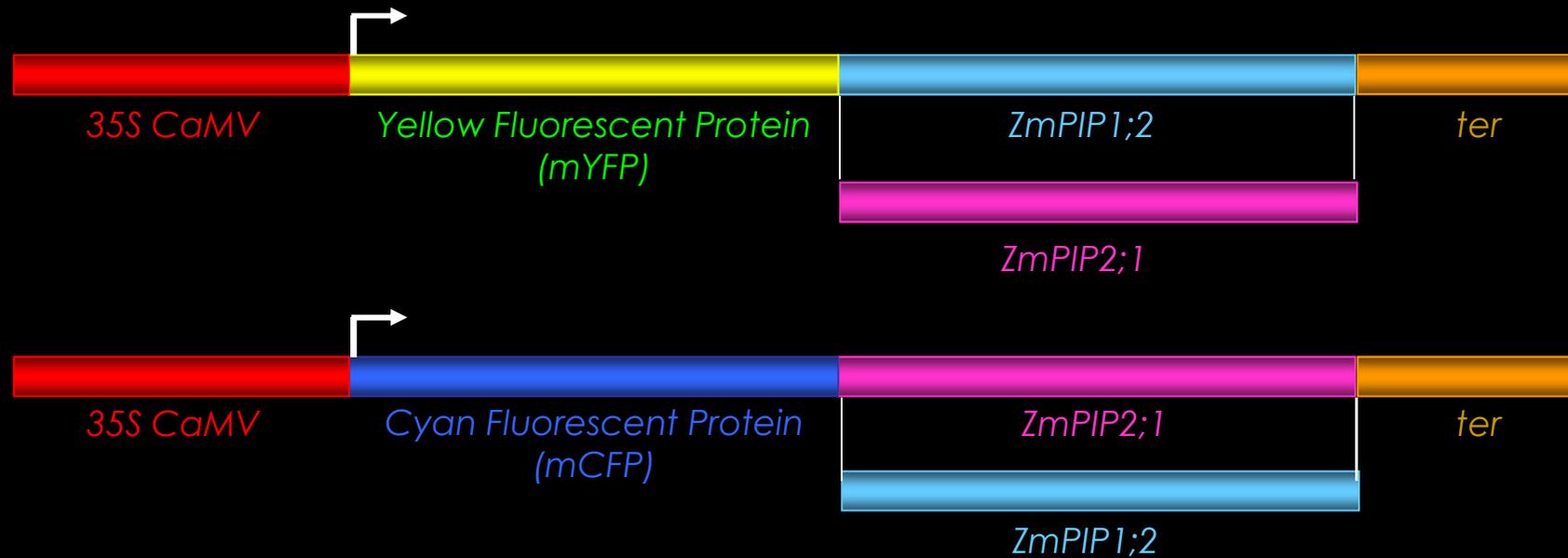
Les aquaporines ZmPIP1 et ZmPIP2 interagissent pour réguler la perméabilité membranaire à l'eau



Fetter *et al.* (2004) *Plant Cell*, 16, 215-228

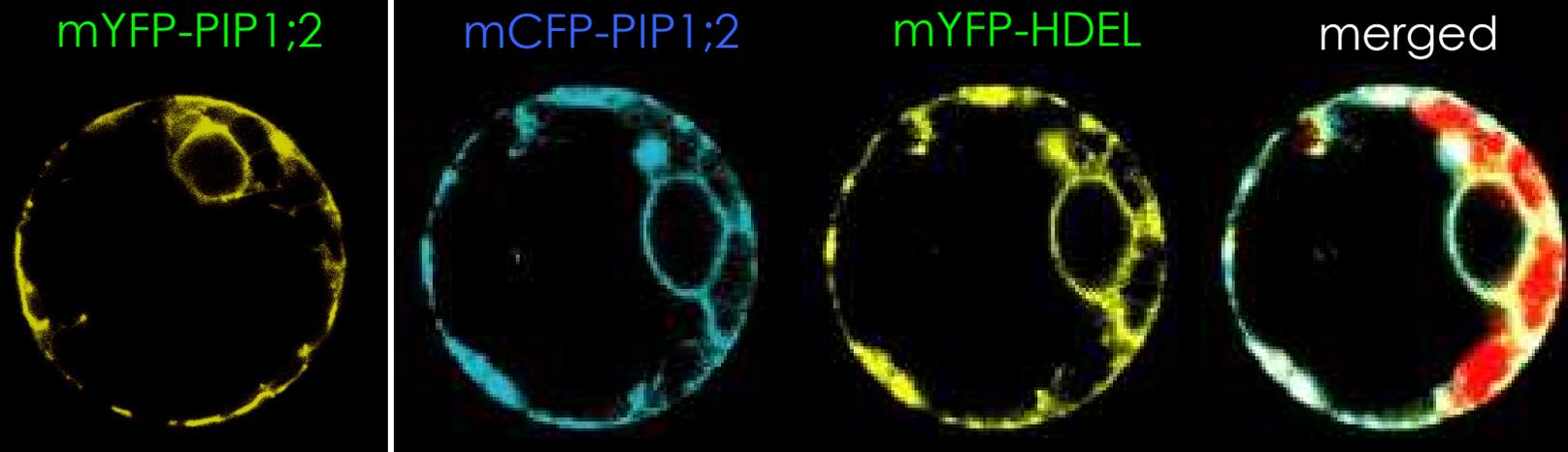
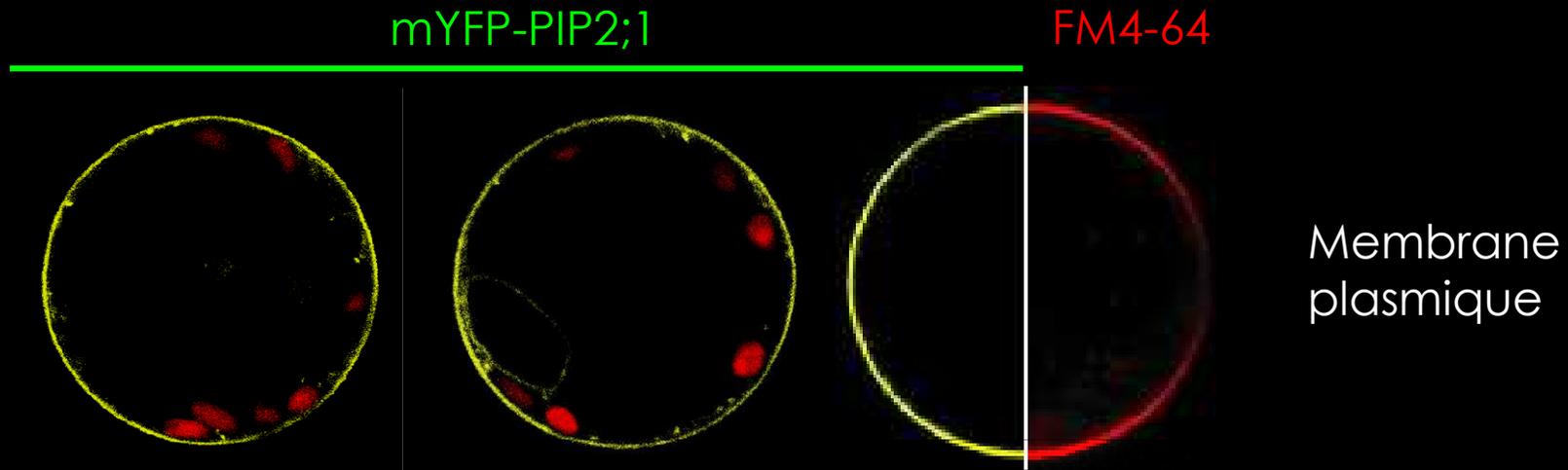
Cette interaction entre aquaporines a-t-elle lieu dans les cellules végétales?

Etude de la localisation et de l'interaction des ZmPIP dans les cellules végétales



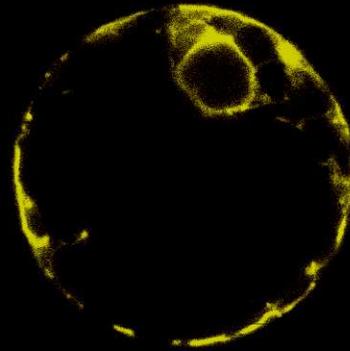
Expression transitoire dans des protoplastes de mésophylle

ZmPIP1;2 and ZmPIP2;1 sont localisés dans des membranes différentes

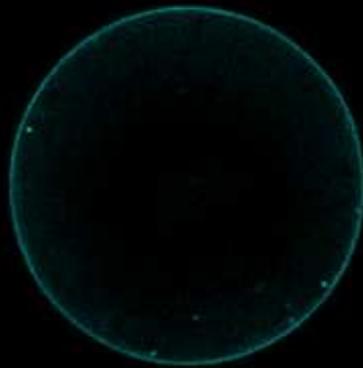


ZmPIP1;2 est localisé dans la membrane plasmique lorsqu'il est exprimé avec ZmPIP2;1

mYFP-PIP1;2 exprimé seul



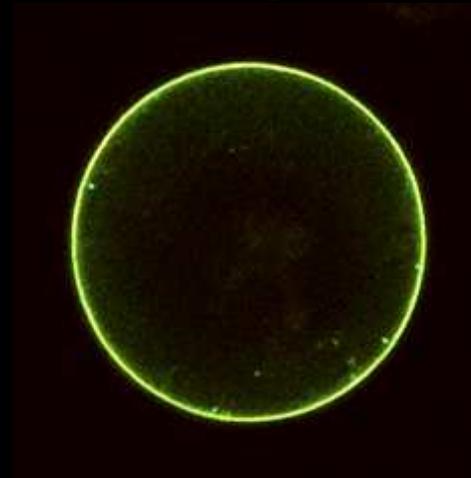
mCFP-PIP2;1



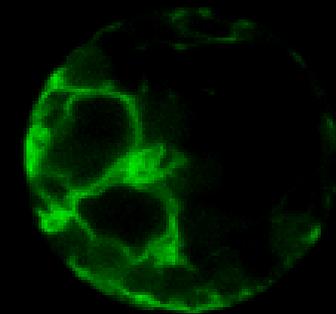
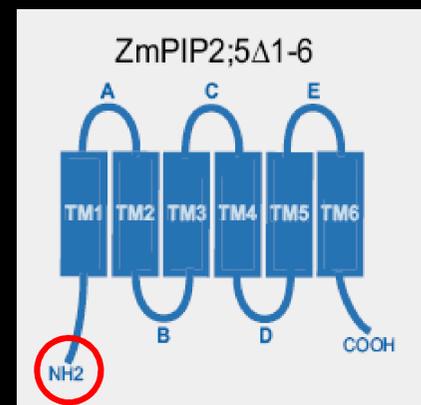
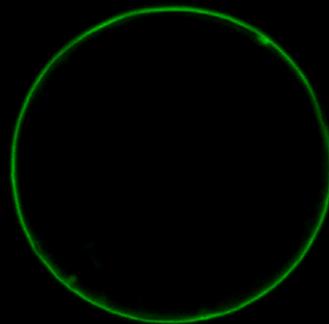
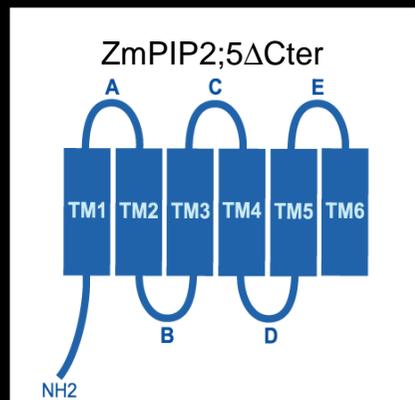
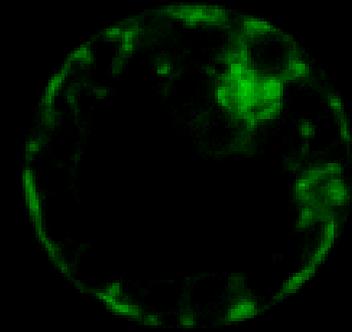
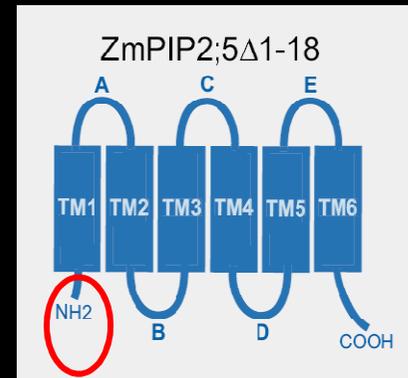
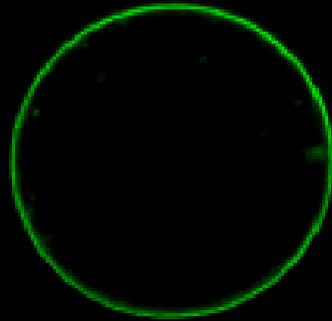
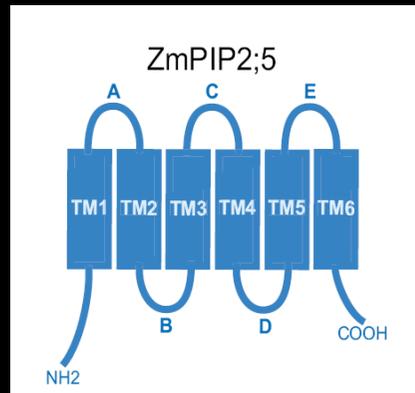
mYFP-PIP1;2



Merged



L'extrémité N-terminale de ZmPIP2;5 est nécessaire pour son adressage dans la membrane plasmique

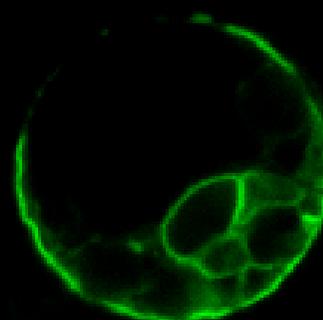
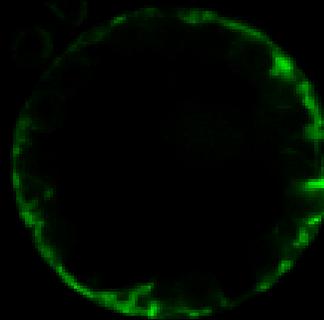
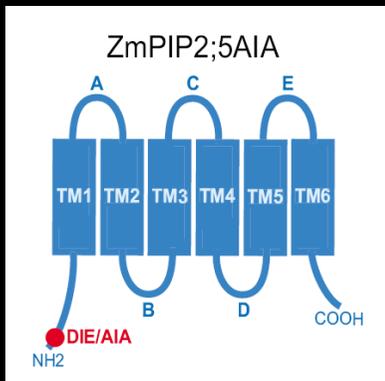
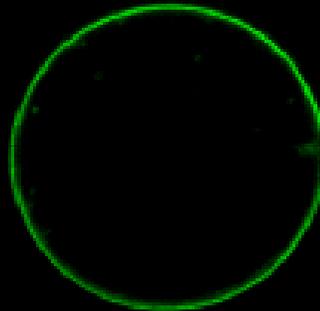
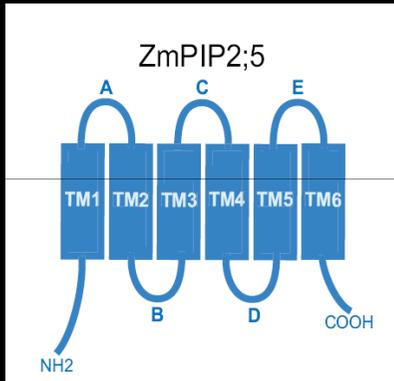


Un motif di-acide est nécessaire pour l'adressage de ZmPIP2;5 dans la membrane plasmique

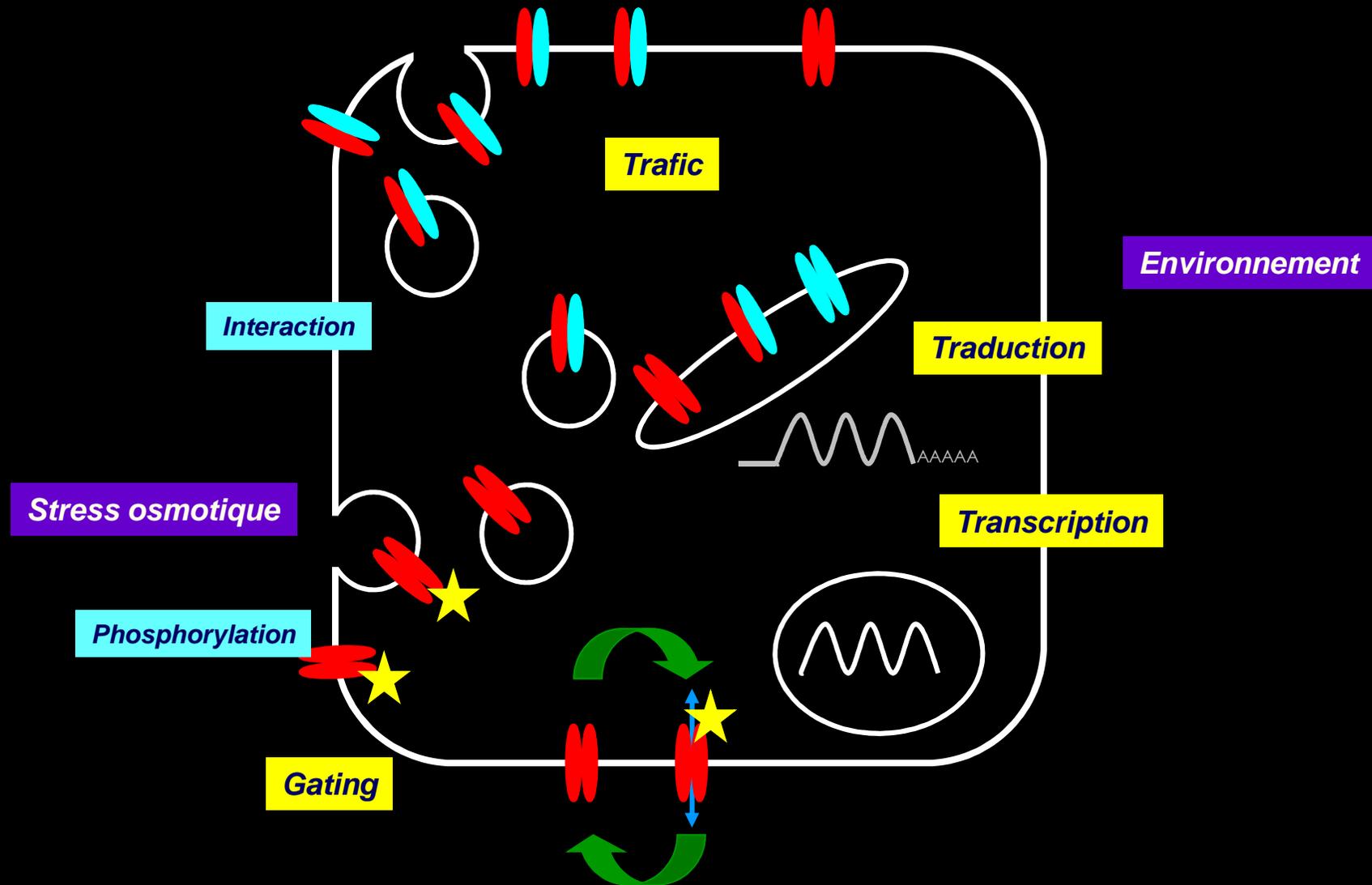
ZmPIP2 ; 5 -----MAK-DIEAAAHEG-----KDYSDDPPAPLVDAEELTKWS
 ZmPIP1 ; 2 MEGKEEDVRLGANKFSEKQPIGTAAQGAADDKDYKEPPAPLFEPGELKSWK

ZmPIP2 ; 5

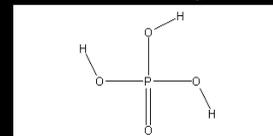
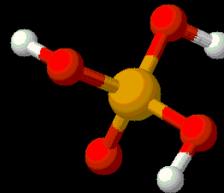
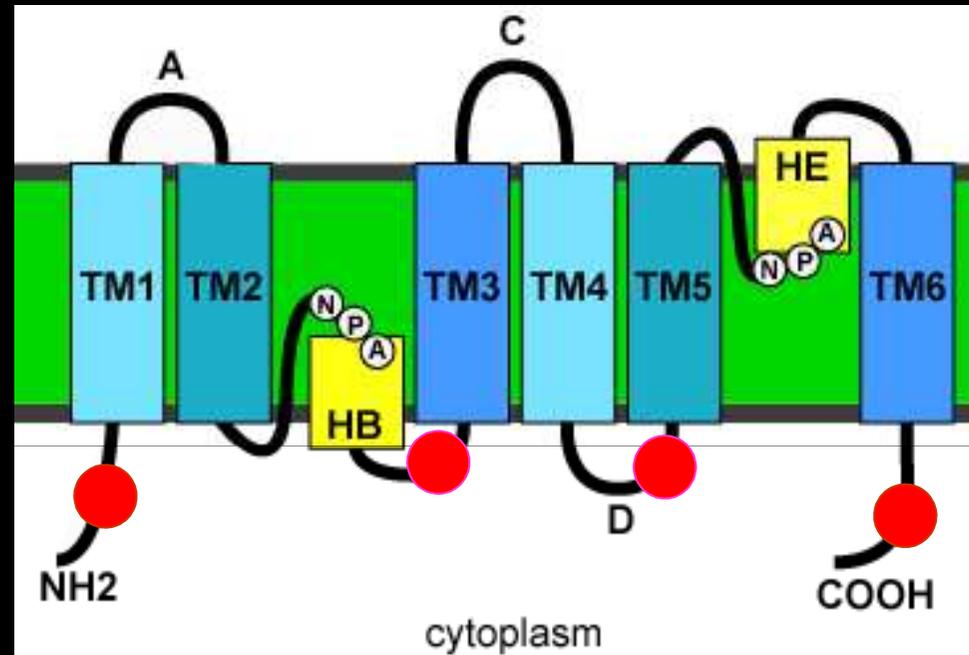
MAK**DIE**AAAHEGKDYSDD
 MAK**AIA**AAAHEGKDYSDD



Régulation des aquaporines végétales



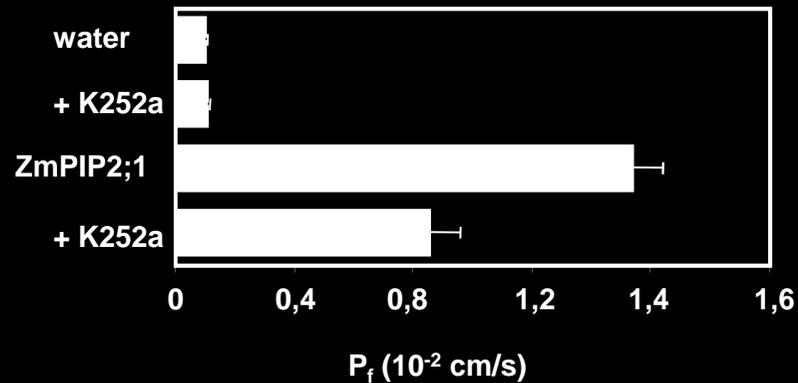
Les aquaporines ZmPIPs peuvent être phosphorylées



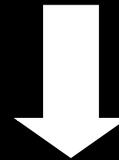
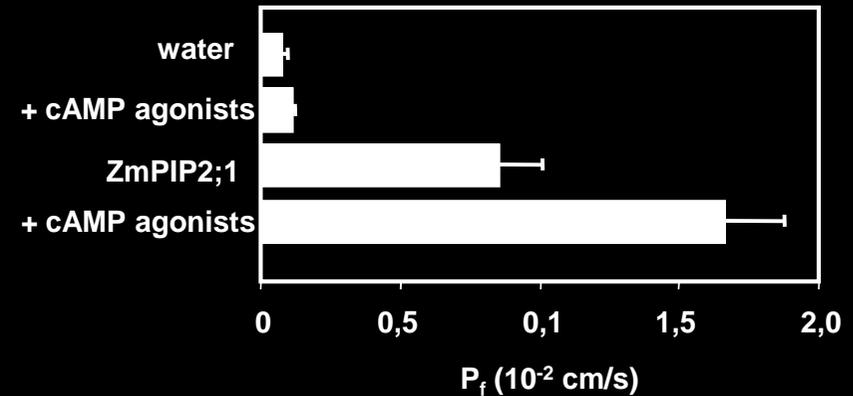
Groupement phosphate

L'activité de canal à eau de ZmPIP2 est modulée par la phosphorylation

ZmPIP2;1 + K252a kinase inhibitor



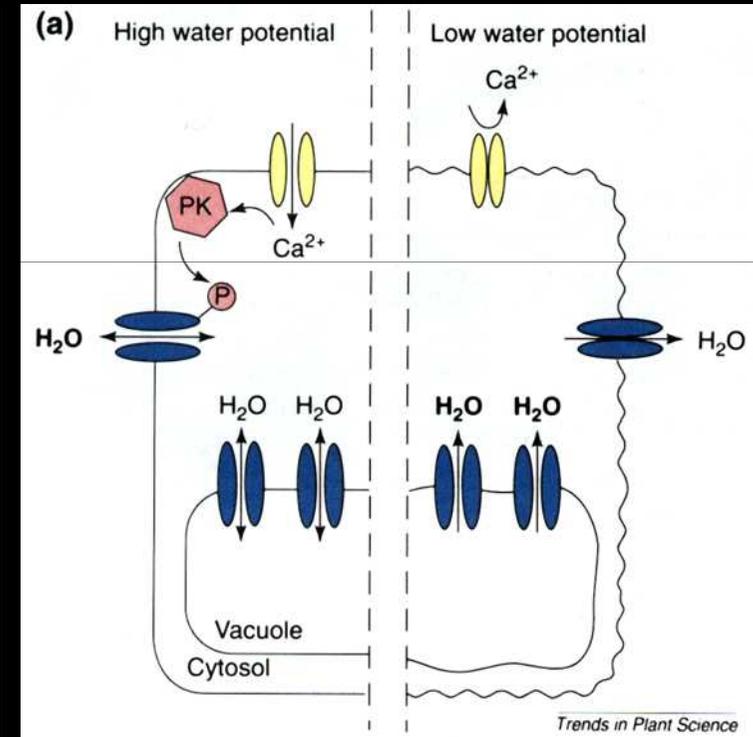
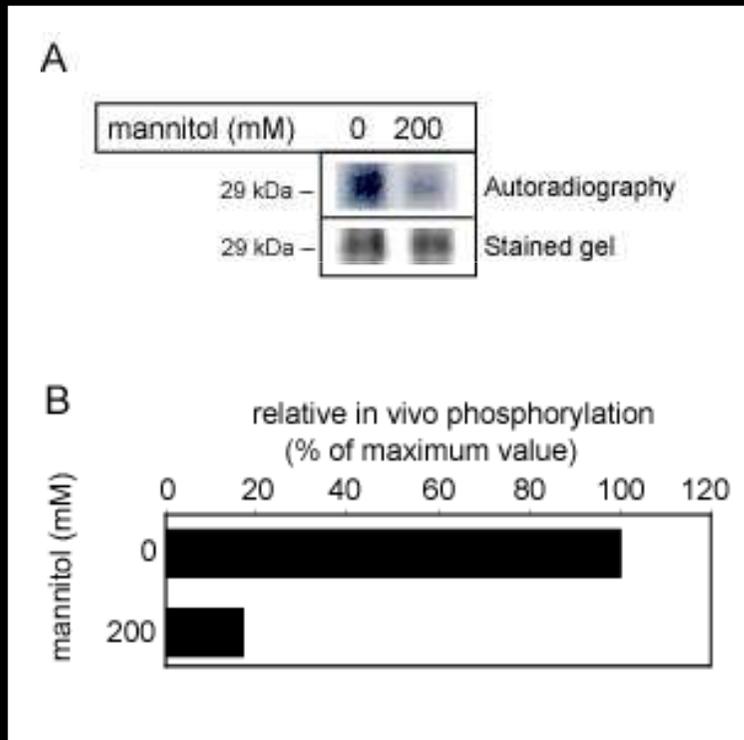
ZmPIP2;1 + PKA agonists



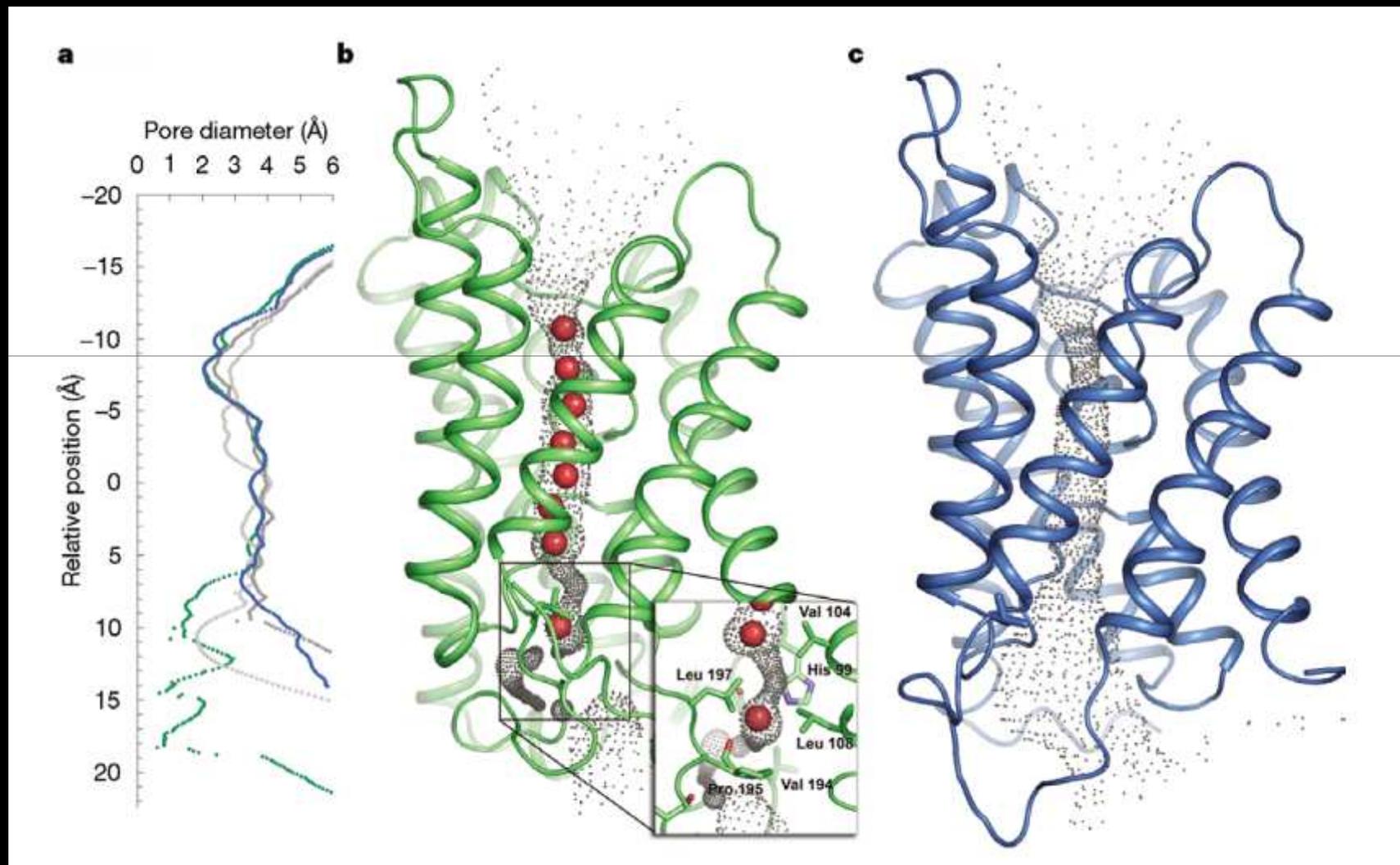
Phosphorylation augmente l'activité de transport d'eau



La phosphorylation des ZmPIP diminue quand l'osmolarité du milieu augmente

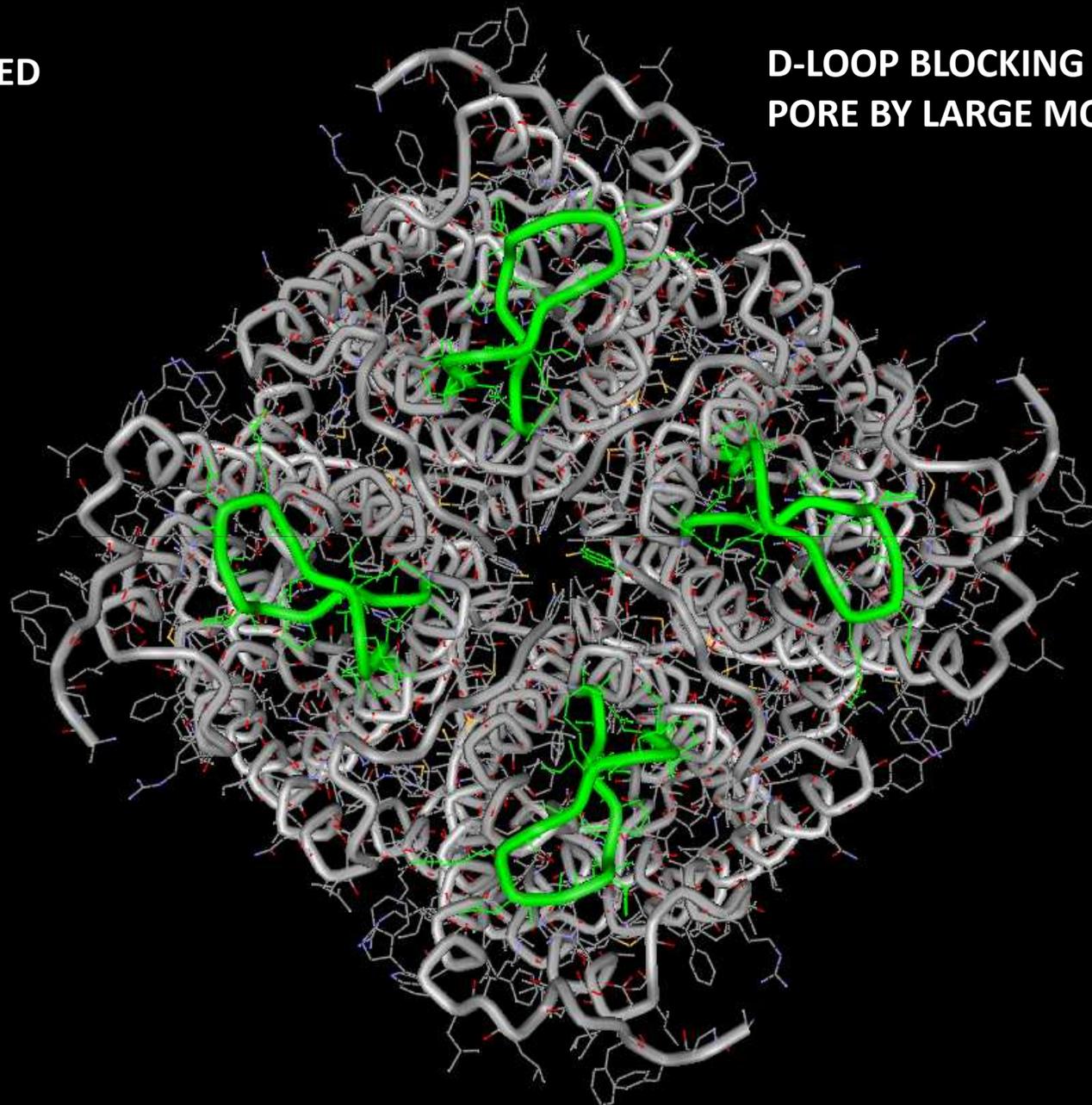


La structure de SoPIP2;1 dans une conformation ouverte ou fermée



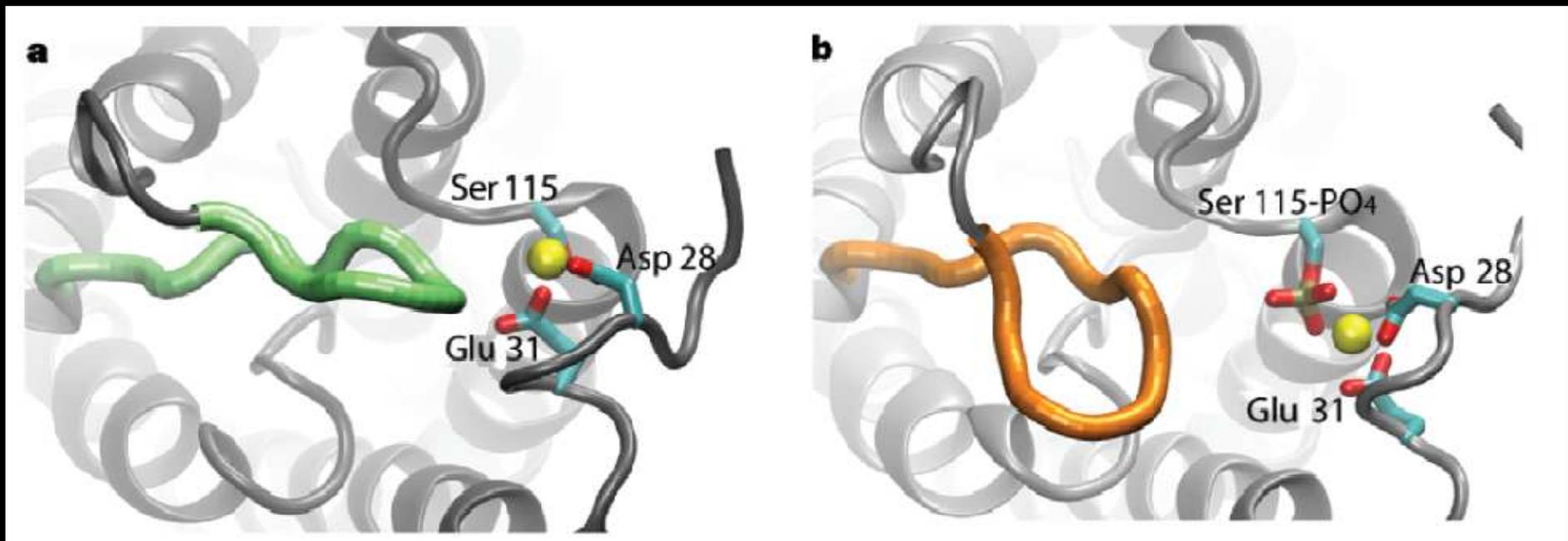
CLOSED

**D-LOOP BLOCKING THE
PORE BY LARGE MOVEMENT**

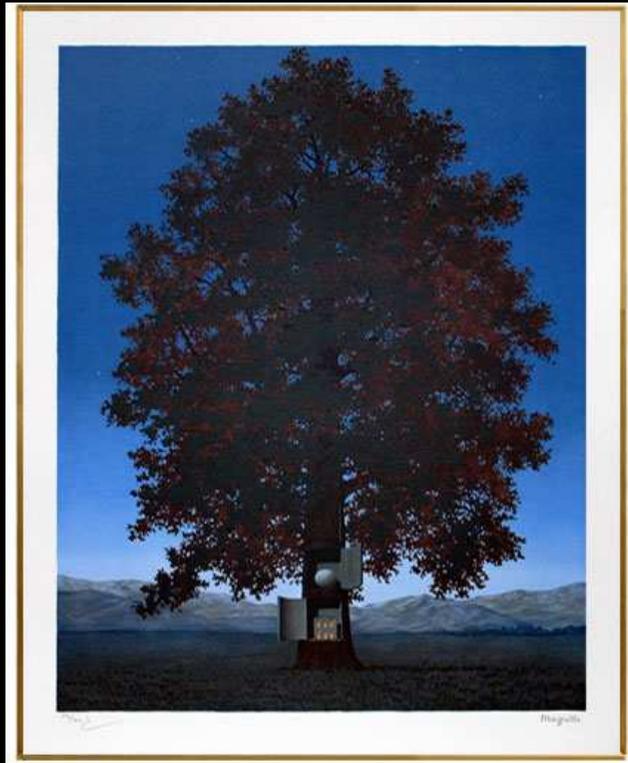


Courtesy of U. Johanson, Lund University

S115 phosphorylation regulates SoPIP2;1 gating



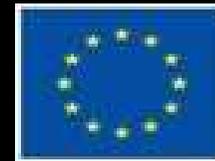
Conclusions



- Le mouvement de l'eau est essentiel à la croissance et développement de la plante
- Les aquaporines facilitent le passage de l'eau à travers les membranes cellulaires
- Les aquaporines végétales forment une famille divergente de canaux
- Les aquaporines de la membrane plasmique sont fortement régulées
 - Leur quantité dépend du stade de développement et des conditions environnementales
 - Leur adressage vers la membrane plasmique dépend d'interactions et de signaux spécifiques
 - L'ouverture du canal est contrôlée par phosphorylation et dépend des conditions environnementales

Perspectives

- Intégration des connaissances sur la régulation du mouvement de l'eau et son utilisation par la plante dans un environnement fluctuant devrait permettre d'explorer de nouvelles ressources génétiques et d'obtenir des plantes plus tolérantes à la sécheresse



Post-docs

Patrick Bienert
Arnaud Besserer

Doctorands

Urszula Miecielica
Damien Cavez
Robert Heinen
Hagen Reinhardt
Marie Berny
Adrien Chevalier

Anciens post-docs et doctorands

Menachem Moshelion
Olga Olinevich
Mohammed Bajji
Dmitry Veselov
Qing Ye

Karolina Fetter
Valérie Van Wilder
Eric Zelazny
Charles Hachez
Anne-Sophie Lebrun
Mélanie Muylaert



BELGIAN SCIENCE POLICY



fnrs
LA LIBERTÉ DE CHERCHER

