

An 11S-Type Storage Protein from *Coffea arabica* L. Endosperm: Biochemical Characterization, Promoter Function and Expression During Grain Maturation

W. J. ROGERS¹, G. BEZARD², A. DESHAYES¹, V. PETIARD¹, P. MARRACCINI¹

¹Nestlé Research Centre Tours, Plant Science and Technology,
37390 Notre Dame d'Oé, Tours, France,

²Institut National de Recherches Agronomiques, Infectious Pathology and Immunology,
Research Centre Tours, 37380 Nouzilly, France

ABSTRACT

Coffea arabica L. endosperm proteins have been analysed by 2-dimensional electrophoresis (IPG-2DE) and amino acid micro-sequencing. The principal grain storage protein has been characterized and a full length 1706 bp cDNA coding for this protein has been isolated. The sequence is closely homologous to the 11S (legumin) family of plant storage proteins. The protein accounts for at least 50% of total grain protein and exists *in vivo* as a mature precursor of approximately 52 kDa. It is also detected on 2DE profiles as reduced cleavage products with MW's of 20 (the β arm), 32 (the α arm) and 80 kDa (β arm complexes). The expression of the 11S gene and protein during grain maturation is reported. Upstream promoter regions of the 11S protein gene have been isolated and sequenced. Transformation of tobacco with constructs of 11S promoter regions linked to the GUS reporter gene has shown that these promoter regions are capable of inducing high level expression which is specific to the grain tissue in this species.

RÉSUMÉ

Les protéines de l'endosperme de *Coffea arabica* L. ont été analysées par électrophorèse bidimensionnelle (IPG-2DE) et micro-séquençage des acides aminés. La protéine de réserve principale a été caractérisée et un ADNc de pleine longueur (1706 pb) codant pour cette protéine a été isolé. La séquence codante possède une forte homologie avec la famille 11S (légumine) des protéines de réserve végétales. Cette protéine représente environ 50% des protéines totales du grain mûr et se trouve *in vivo* sous la forme d'un précurseur ayant un poids moléculaire approximatif de 52 kDa. Elle est aussi détectée dans les profils IPG-2DE sous sa forme réduite, composée des bras α (32 kDa), des bras β (20 kDa) et des complexes des bras β (80 kDa). L'expression du gène et de la protéine pendant la maturation du grain est décrite. La région génétique en amont de la partie codante du gène 11S a été isolée et séquencée. La transformation des plantes de tabac avec des constructions génétiques liant ces régions au gène rapporteur GUS a permis de montrer leur capacité d'induire une forte expression de ce gène uniquement dans les graines des plantes transformées.