



HAL
open science

Polymorphisme au locus CSN1S1 : un facteur de STRESS (Splicing, Transport, Reticulum Endoplasmique, Structuration & Sécrétion)

Bouabid Badaoui, Christian Beauvallet, Claudia Bevilacqua, Christelle Cebo,
Samira Makhzami, Sophie Pollet, Emmanuelle Zalachas, Eric Chanat, Patrice
Martin

► To cite this version:

Bouabid Badaoui, Christian Beauvallet, Claudia Bevilacqua, Christelle Cebo, Samira Makhzami, et al.. Polymorphisme au locus CSN1S1 : un facteur de STRESS (Splicing, Transport, Reticulum Endoplasmique, Structuration & Sécrétion). 2. Journées d'animation scientifique du département Phase, Oct 2007, Tours, France. hal-02751439

HAL Id: hal-02751439

<https://hal.inrae.fr/hal-02751439v1>

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

POLYMORPHISME AU LOCUS *CSN1S1* : un facteur de STRESS (Splicing, Transport, Reticulum Endoplasmique, Structuration & Sécrétion)

Bouabid BADAOU, Christian BEAUVALLET, Claudia BEVILACQUA, Christelle CÉBO,
Samira MAKHZAMI, Sophie POLLET, Emmanuelle ZALACHAS,
Eric CHANAT et Patrice MARTIN

Génomique et Physiologie de la Lactation, INRA, 78350 Jouy-en-Josas

Adresse e-mail du 1^{er} auteur : bouabid.badaoui@jouy.inra.fr

Souhait de présentation (cocher la case) : Poster - Oral

Champ Thématique : CT 4

INTRODUCTION

Le polymorphisme génétique décrit au locus *CSN1S1* chez la chèvre influence la composition du lait, tant au niveau protéique que lipidique, et ses propriétés techno-fonctionnelles (Grosclaude *et al.*, 1994).

Un taux réduit et plus encore l'absence de caséine α_{s1} est responsable de l'accumulation de caséines immatures dans le réticulum endoplasmique (RE) qui se traduit par une perturbation globale du processus sécrétoire (Chanat *et al.*, 1999). En revanche, un tel phénomène n'est pas observé dans la cellule épithéliale mammaire (CEM) n'exprimant pas la caséine β . Ceci suggère que la caséine α_{s1} interagit avec les autres caséines pour former des complexes nécessaires à leur transport vers l'appareil de Golgi. Pour mieux comprendre les phénomènes mis en jeu et le fonctionnement de la CEM, nous avons entrepris de réaliser une analyse expressionnelle comparative (transcrits et protéines) à partir de tissu mammaire prélevé sur des chèvres lactantes de génotypes extrêmes au locus *CSN1S1* (OO vs. AA).

MATERIEL ET METHODES

Des acini ont été isolés par microdissection laser (LCM) à partir de tissu mammaire d'individus homozygotes AA et OO au locus *CSN1S1*. Les ARN et les protéines extraits des cellules microdisséquées ont ensuite fait l'objet d'analyses transcriptionnelles (oligoarrays et qPCR en temps réel) et de protéomique différentielle (2D-DIGE, spectrométrie de masse). Une préparation de microsomes a été réalisée par fractionnement subcellulaire sur du tissu mammaire frais, prélevé sur des chèvres de chaque génotype, pour réduire la complexité des échantillons en vue de produire des profils protéiques de chaque compartiment du RE, par électrophorèse bidimensionnelle à haute résolution couplée à la spectrométrie de masse.

Les laits de 6 chèvres homozygotes AA et OO appauvris en caséines micellaires et la fraction protéique de la membrane des globules gras (MFGM) ont également fait l'objet d'une analyse

comparative (2D-DIGE, 2D conventionnelle et western blot).

RESULTATS

Un accroissement significatif de l'expression de la BiP dans le RE des CEM des chèvres OO, comparativement aux chèvres AA suggérant un stress du RE, des expériences ciblant des gènes impliqués dans la réponse UPR (unfolded protein response) ont été entreprises pour tester cette hypothèse qui a été validée par la mise en évidence d'un transcrit « épissé » spécifiant une forme caractéristique de la protéine XBP1 (Sriburi *et al.*, 2004).

L'analyse protéomique différentielle en gels 2D des laits AA et OO débarrassés des caséines micellaires a révélé après analyse des images en fluorescence (logiciel Samespots) l'existence de 95 protéines différentiellement représentées, dont une vingtaine a pu être identifiée par spectrométrie de masse (MALDI-Tof).

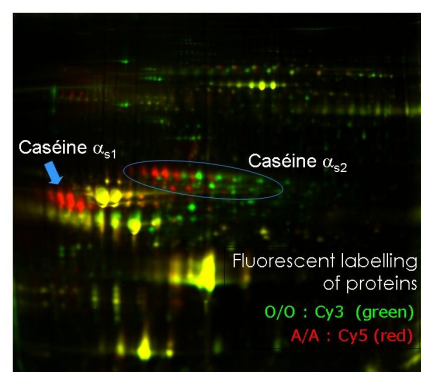


Figure - Analyse différentielle multiplexée en gel d'électrophorèse 2D (DIGE) des laits de chèvres de génotypes OO (marquage Cy3) et AA (Cy5)

DISCUSSION/CONCLUSION

L'ensemble des résultats obtenus à ce jour sur la comparaison des génotypes AA et OO au locus *CSN1S1* et notamment la présence de protéines résidentes du réticulum dans le lait des chèvres OO suggère fortement l'existence d'un mécanisme sécrétoire différent pour ce génotype.

REFERENCES

Chanat *et al.* (1999) *J. Cell Sci.* **112**, 3399-3412

Grosclaude et al. (1994) INRA Productions animales 7,
3-19
Sriburi et al. (2004) J. Cell Biol. **167**, 35-41