

Ponts disulfures dans la micelle de caséine

Edwige Bouguyon, Eric Chanat

► **To cite this version:**

Edwige Bouguyon, Eric Chanat. Ponts disulfures dans la micelle de caséine. 1. Journées d'Animation Scientifiques du département Phase, Mar 2005, Tours, France. 2005, 1eres journées d'animation scientifique du département de physiologie animale et système d'élevage. hal-02758638

HAL Id: hal-02758638

<https://hal.inrae.fr/hal-02758638>

Submitted on 4 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.

PONTS DISULFURES DANS LA MICELLE DE CASEINE

Edwige Bouguyon, Eric Chanut*

INRA, Génomique et Physiologie de la Lactation, 78352 Jouy-en-Josase

edwige.bouguyon@jouy.inra.fr

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

Champ Thématique : CT 4

INTRODUCTION

Les caséines sont les protéines prédominantes du lait de la plupart des espèces de mammifères. Elles constituent une famille hétérogène de phosphoprotéines acides (α_S1 , α_S2 , β et κ) synthétisées par la cellule épithéliale mammaire (CEM). Ces protéines sont présentes dans le lait sous forme d'agrégats stables, les micelles de caséines. L'agrégation des caséines en micelle est initiée dans les citernes trans de l'appareil de Golgi de la CEM et se poursuit dans les vésicules de sécrétion pendant leur transport vers la membrane apicale de la cellule.

Malgré de nombreux efforts, l'arrangement relatif des caséines dans la micelle n'a pas été résolu et il reste beaucoup à apprendre sur le rôle individuel des caséines dans le processus d'agrégation. Cette problématique est importante car il est reconnu que la structure de ces complexes supramoléculaires conditionne les propriétés technologiques du lait. Un des objectifs de l'équipe est de comprendre les principes qui gouvernent l'élaboration de la micelle de caséine et le transport de ces protéines dans la voie de sécrétion de la CEM.

Sachant que la formation des ponts disulfures, qui a lieu dans le réticulum endoplasmique, est une des toutes premières modifications post-traductionnelles des protéines et que celle-ci peut donc être considéré comme une étape primaire d'interaction entre caséines, nous avons entrepris d'étudier la prévalence de ce type d'interaction dans la micelle de caséine.

MATERIEL ET METHODES

Après repos à température ambiante du lait fraîchement recueilli, une fraction est collectée sous la crème. Ce lait "écrémé" est ensuite incubé en absence ou en présence de dithiothréitol (DTT) et fractionné par centrifugation à 13 000 g. Les protéines du culot (caséines) et du surnageant sont analysées par SDS-PAGE en conditions non-réductrice ou réductrices ($\pm \beta$ -mercaptoéthanol). Les caséines contenues dans les bandes surnuméraires obtenues après incubation des laits en l'absence de DTT et analyse SDS-PAGE en l'absence de β -mercaptoéthanol, ont été identifiées

par "Western blot", spectroscopie de masse ou SDS-PAGE après réduction des ponts disulfures.

RESULTATS

L'analyse systématique de la séquence primaire de la caséine κ des mammifères a révélée que des résidus cystéine sont excessivement bien conservés. Une cystéine est retrouvée en position 9, 10 ou 11 de la protéine mature dans l'ensemble des espèces disponibles dans les banques de données. Chez les ruminants, une seconde cystéine est retrouvée en position 88, à proximité du site de clivage par la chymosine. Ces deux cystéines encadrent la partie la plus hydrophobe de la protéine.

Il est connu que le lait de vache contient des homomultimères de caséine κ dont la formation fait intervenir des ponts disulfures. Nos analyses démontrent que des ponts disulfures existent entre les molécules de caséine κ dans toutes les espèces que nous avons étudié (vache, chèvre, brebis, lapin, rat, souris), suggérant que cette dimérisation pourrait jouer un rôle important dans la fonction de cette caséine et dans la structuration de la micelle. Cependant, nous avons aussi observé des dimères de caséine α_S2 dans le lait de vache. Il faut noter que des résidus cystéine existent aussi dans d'autres caséines, notamment chez les rongeurs (rat, souris). Nous avons observé que, dans le lait de ces animaux, ces caséines existent aussi sous formes multimériques, notamment des homodimères, impliquant des ponts disulfures. Cependant, des hétérodimères ont aussi été identifiés. Ces résultats sont à mettre en relation avec l'observation que, chez ces derniers animaux, les micelles de caséines sont particulièrement stables et facilement sédimentables à partir des laits.

DISCUSSION/CONCLUSION

Ces résultats démontrent que toute caséine est susceptible de s'associer à ses congénères par interaction covalente du moment qu'elle possède une cystéine et suggèrent que les interactions entre caséines débutent très tôt dans la voie de sécrétion, dès le compartiment de synthèse.