

Modifications post-traductionnelles et transport des protéines du lait dans la voie de sécrétion

Eric Chanat

Génomique et Physiologie de la Lactation, INRA, 78352 Jouy-en-Josas cedex, France.

Pendant la lactation, la cellule épithéliale mammaire synthétise et sécrète d'énormes quantités de protéines et d'autres composés comme des lipides et du lactose. Les voies de transport mises en jeu pour la sécrétion de ces produits ont été décrites en termes généraux, mais leur fonctionnement, en termes de mécanique moléculaire, est mal connu. Pour étudier les processus moléculaires impliqués dans le transport des protéines dans la voie de biosynthèse de la cellule épithéliale mammaire il convient de pouvoir suivre le déplacement de protéines du lait entre les différents compartiments de la voie de sécrétion.

Au cours de leur transport antérograde, les caséines nouvellement synthétisées sont phosphorylées et la caséine kappa est aussi O-glycosylée. Ces modifications post-traductionnelles ont lieu dans l'appareil de Golgi. L'analyse dynamique de la maturation de ces protéines est donc un moyen d'étudier leur transport du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi. Des cas concrets d'utilisation de ce système expérimental seront présentés. Une autre étape clé de la voie de sécrétion est la formation des vésicules de sécrétion à partir du réseau trans-golgien. Dans le but de suivre le transport des protéines du lait à partir de ce compartiment et d'étudier la machinerie moléculaire impliquée dans la formation des vésicules de sécrétion, nous souhaitons pouvoir marquer une protéine du lait précisément dans le réseau trans-golgien de la cellule épithéliale mammaire. Pour identifier un tel "marqueur", et puisque la sulfatation de certaines protéines sécrétoires, une modification post-traductionnelle ubiquitaire chez les métazoaires, a lieu sélectivement dans le réseau trans-golgien, nous avons analysé les protéines sulfatées produites par le tissu mammaire dans plusieurs espèces. Après marquage d'explants de glande mammaire de rat avec du [³⁵S]sulfate et analyse électrophorétique, trois bandes majeures sont retrouvées dans le milieu de sécrétion (Mr. ≈ 25, 27 et 32 000). Les deux bandes de plus faible Mr. se décomposent en plusieurs "spots" acides (pI ≈ 4.0-4.5) après analyse par électrophorèse bidimensionnelle. Ces molécules ont été identifiées par séquence N-terminale à l'alpha-lactalbumin, une protéine exprimée spécifiquement pendant la lactation et responsable de la synthèse du lactose. La dernière protéine sulfatée correspond à la caséine kappa. Nos analyses indiquent que ces protéines sont sulfatées sur leurs résidus carbohydrates. L'existence de ces "marqueurs" de sécrétion sulfatés facilitera grandement l'étude de la biogenèse des vésicules de sécrétion dans la cellule épithéliale mammaire.