



HAL
open science

Différenciation fonctionnelle de l'épithélium sécrétoire mammaire caprin

Felicie Faucon, Emmanuelle Rebours, Jean-Christophe Helbling, Claudia Bevilacqua, Marie-Laure Magniette, Stephane Robin, Patrice Martin

► **To cite this version:**

Felicie Faucon, Emmanuelle Rebours, Jean-Christophe Helbling, Claudia Bevilacqua, Marie-Laure Magniette, et al.. Différenciation fonctionnelle de l'épithélium sécrétoire mammaire caprin. 14. Rencontres Recherches Ruminants, Dec 2007, Paris, France. hal-01197492

HAL Id: hal-01197492

<https://hal.science/hal-01197492>

Submitted on 6 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.

Différenciation fonctionnelle de l'épithélium sécrétoire mammaire caprin

Functional differentiation of the caprine mammary secretory epithelium

FAUCON F. (1, 2), ZALACHAS E. (1, 4), HELBLING J.-C. (1, 4), BEVILACQUA C. (1, 4), MARTIN-MAGNIETTE M.L. (3), ROBIN S. (3), MARTIN P. (1, 4)

(1) Unité Génomique et Physiologie de la Lactation (GPL), Inra, Jouy-en-Josas

(2) Institut de l'Élevage, Paris

(3) Unité Mixte de Recherche 518 du département Mathématiques et Informatique Appliquées (MIA), AgroParisTech, Paris

(4) Plateau d'Instrumentation et de Compétences en Transcriptomique (PICT), Inra, Jouy-en-Josas

INTRODUCTION

Le développement de l'épithélium sécrétoire mammaire et sa différenciation fonctionnelle s'opèrent au cours de la gestation sous l'effet combiné de stéroïdes ovariens, d'hormones peptidiques hypophysaires et de facteurs de croissance (Gilbert, 2006). Si l'effet de ces molécules est relativement bien connu, l'effet de facteurs de différenciation exprimés localement reste, en revanche, assez peu documenté (Henninghausen et Robinson, 1998). Pour progresser dans la connaissance de ces mécanismes, nous avons entrepris d'analyser le transcriptome du tissu mammaire, à différents stades de gestation et en lactation.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. ANIMAUX

Des prélèvements de tissu mammaire ont été effectués, après abattage, sur douze chèvres gestantes (Alpine et Saanen) à 4 stades de gestation (45 jours, G45 ; 70 jours, G70 ; 90 jours, G90 et 110 jours, G110) et sur trois chèvres primipares, à 40 jours de lactation (L40). Les échantillons de tissus prélevés étaient immédiatement lavés dans une solution de PBS 1X avant congélation dans l'azote liquide puis conservation à -80°C.

1.2. ANALYSE DES PROFILS D'EXPRESSION

Les ARN totaux, extraits (*TRIzol Reagent, Invitrogen Life Technologies*) à partir des échantillons de tissu mammaire ont ensuite été traités à la DNase sur colonnes *Cleanup (Qiagen)*. La qualité des ARN a été évaluée à partir des mesures d'absorbance (260, 280 et 230 nm) sur *NanoDrop ND-100 (Nixor Biotech)* et par analyse sur *Bioanalyzer 2100 (kit RNA6000 nano, Agilent Technologies)*. Seuls les ARN dont le *RNA Integrity Number (RIN)* était supérieur à 7 ont été retenus. Après rétro-transcription (10 µg d'ARN totaux) et marquage fluorescent (Cy3 et Cy5, *Amersham Biosciences Europe*) au moyen du kit *Super Script Indirect cDNA Labeling System (Invitrogen Life Technologies)*, la quantité de cibles marquées et purifiées, et l'efficacité des marquages ont été déterminées (absorbances à 260, 550 et 650 nm). Les cibles marquées (380 ng) ont été hybridées par paires sur lames (18) selon un plan expérimental en boucle (Kerr et Churchill, 2001). Les lames utilisées comportent 22 000 sondes géniques bovines, résultant de l'assemblage de 2 collections, dont une commerciale (Operon), d'oligonucléotides (70-mer). Elles ont été produites par le Centre de Ressources Biologiques GADIE (INRA, Jouy-en-Josas). Les données extraites de l'analyse des huit premières lames (scanner, logiciel *Feature Extraction, Agilent Technologies*) et normalisation des signaux (Anapuce) ont été classées hiérarchiquement (fonction HCL, logiciel TMEV).


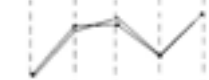


1.3. PCR QUANTITATIVE EN TEMPS REEL

Les systèmes spécifiques des gènes analysés ont été conçus avec le logiciel *PrimerExpress (Applied Biosystems)* et les analyses (*SYBR Green PCR MasterMix*) effectuées sur un appareil SDS 7900 *Applied Biosystems*.

2. RESULTATS

Quatre profils ont été plus particulièrement analysés (tableau 1). Le premier correspond à des gènes présentant un signal plus intense à G70 et L40. Ce profil caractérise la plupart des protéines du lait exceptée la caséine β (profil 2) et la β-lactoglobuline, absente du répertoire. Le profil 3, caractérisé par une forte expression à G70, regroupe une quinzaine de transcrits dont ceux spécifiant la lactoferrine et l'ostéopontine. Le profil 4 correspond à un ensemble de gènes dont l'expression s'accroît sensiblement en lactation. Parmi ceux-ci, on relève un nombre significatif d'enzymes de la lipogenèse. Ces profils ont été validés par PCR quantitative pour les protéines figurant dans le tableau 1.

Tableau 1 : Evolution de la quantité des transcrits au cours du développement et de la différenciation de la glande mammaire

N°	Profils					Gènes associés
	G45	G70	G90	G110	L40	
1						Caséines α _{s1} , α _{s2} , et κ α-lactalbumine
2						Caséine β
3						Lactoferrine, ostéopontine
4						Acétyl-CoA carboxylase, DGAT1, FABP, Adipophiline (ADRP), Stearoyl CoA desaturase (SCD), LPL, FAS, Butyrophiline

3. DISCUSSION

La présence de transcrits spécifiant des protéines du lait à 70 jours de gestation, chez la chèvre, suggère que la cellule épithéliale mammaire a atteint un stade de différenciation suffisant pour synthétiser les constituants du lait. L'expression des gènes spécifiant les caséines et l'α-lactalbumine au cours de la gestation a déjà été rapportée chez la souris (George *et al.*, 2001 ; Kanazawa et Kohmoto, 2002). Par ailleurs, la présence de caséines a été observée dans le tissu mammaire caprin à 70 jours de gestation (Beauvallet *et al.*, manuscrit en préparation).

CONCLUSION

Des expériences (IHC et protéomique) sont actuellement poursuivies pour conforter ces observations. Leurs résultats seront exploités lorsque l'ensemble des lames (18) aura été analysé, pour accéder à une vision globale et intégrée de la dynamique de différenciation de l'épithélium sécrétoire mammaire chez la chèvre, au cours de la gestation.

Gilbert S.F., 2006. *Development Biology*, chap. 17

George S. *et al.*, 2001. *Indian J. Biochem. Biophys.*, 38, 393-398

Hennighausen L., Robinson G., 1998. *Genes Dev.*, 12, 449-55

Kerr M.K., Churchill G.A., 2001. *Biostatistics*, 2, 183-201

Kanazawa T., Kohmoto K., 2002. *J. Histo. Cyto.*, 50, 257-264