

EVALUATION DU ROLE DES GENES R-SPONDIN AU COURS DU DEVELOPPEMENT DE LA GLANDE MAMMAIRE

CHADI Sead¹, BUSCARA Laurine¹, MONTAZER-TORBATI Fatemeh², PECHOUX Christine³, COSTA José¹, AUGUSTE Aurélie², PANNETIER Maëlle², PAILHOX Eric², VILOTTE Jean-Luc¹, LE PROVOST Fabienne¹, CHANAT Eric^{3*}

¹UR339 Génétique biochimique et cytogénétique; ²UMR 1198, ENVA, CNRS, FRE 2857, Biologie du Développement et de la Reproduction; ³UR1196 Génomique et physiologie de la lactation, F-78352 Jouy-en-Josas, France
eric.chanat@jouy.inra.fr

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

Champ Thématique : CT 4

INTRODUCTION

Les *R-spondin* (*RSPO*), une famille de quatre gènes potentiellement impliqués dans différents processus de développement, ont été récemment décrits. Ils codent pour des protéines sécrétées et sont fortement conservés chez les mammifères. La responsabilité de *RSPO1* dans une forme d'inversion sexuelle de type mâle XX chez l'homme ayant été démontré [1], ce gène a été étudié chez les chèvres normales et sexuellement inversés [2]. Des outils étant disponibles (PCR – anticorps – mutants murins) et des séquences *RSPO* étant présentes dans les banques d'EST de glandes mammaires bovines, l'objectif de ce projet a été d'évaluer les rôles potentiels de ces gènes dans le développement de la glande mammaire.

MATERIEL ET METHODES

L'expression des gènes *RSPO* a été déterminée par RT-PCR, à partir d'ARN de glande mammaire à différents stades du développement et de différenciation du tissu, chez la chèvre et la souris. La localisation de la protéine *Rspo1* murine a été déterminée en microscopie électronique (cryo-ultramicrotomie) à l'aide de l'anticorps dirigé contre la protéine humaine [2, 3]. La morphologie globale de la glande mammaire de souris *Rspo1*^{-/-} vs sauvage, a été analysée par la technique de "whole mount".

RESULTATS

Les études d'expression des gènes codant pour les différentes *RSPO* montrent que les quatre pourraient être impliqués dans le développement précoce de la glande mammaire chez la chèvre. Par ailleurs, *RSPO1* semble particulièrement intéressant en ce qui concerne la différenciation du tissu mammaire puisque son expression est fortement augmentée au cours de la seconde moitié de la gestation. Son profil d'expression est très similaire à celui observé pour le gène *WNT4*, connu pour intervenir dans la différenciation de la glande mammaire [4]. En ce qui concerne les trois autres gènes, *RSPO2* et *4* ne sont pas exprimés

dans ce tissu après la naissance. En revanche, *RSPO3* présente un pic d'expression au moment de l'involution en fin de lactation.

Chez la souris, *Rspo2* n'est pas exprimé après la naissance et *Rspo1* présente un profil d'expression similaire à celui observé chez la chèvre. A l'involution, on observe une légère augmentation de l'expression de *Rspo4*, et non pas de *RSPO3* comme chez la chèvre.

L'analyse de la localisation tissulaire de la protéine *Rspo1* chez la souris pendant la gestation et le début de lactation, montre que celle-ci est également distribuée entre le cytoplasme des cellules épithéliales mammaires et un compartiment extracellulaire comprenant leur membrane plasmique ainsi que la lame basale de l'épithélium. En revanche, à mi-lactation, une proportion plus importante de l'antigène est retrouvé en intracellulaire. Corrélativement, on observe une diminution de la quantité de *Rspo1* associé à la lame basale.

Pour aller plus loin dans la compréhension du rôle de *Rspo1* dans la glande mammaire, nous nous sommes procuré des souris invalidées pour ce gène [5]. Environ 10% de ces souris sont fertiles, les autres présentant une inversion sexuelle. Les souris fertiles produisent de petites portées qui meurent dans les 24 heures suivant la naissance. Les analyses en "whole mount" permettent de conclure que cette mortalité est due à un défaut de différenciation du tissu mammaire entraînant une absence de lactation.

DISCUSSION/CONCLUSION

Ces résultats originaux démontrent l'implication du gène *Rspo1* à différentes étapes de la différenciation de la glande mammaire. Des travaux sont en cours pour caractériser plus précisément le phénotype des animaux mutants afin de déterminer le rôle de ce gène dans ce tissu.

REFERENCES

- 1 - Parma et al. (2006) Nat Genet. 38:1304-1309.
- 2 - Kocer et al. (2008) BMC Dev Biol. 8: 36.
- 3 - Kim et al. (2005) Science. 309: 1256-1259.
- 4 - Brisken et al. (2000) Genes Dev. 14: 650-654.
- 5 - Chassot et al. (2008) Hum Mol Genet. 17: 1264-1277.