

## **LOCALISATION MITOCHONDRIALE DU FACTEUR DE FRAGMENTATION DE L' APOPTOSE (DFF40/CAD)**

**Bruno Johnson**, Marie-Noëlle Séguin-Grignon, Valérie Malboeuf, David Bernier et Jacques Bernier, INRS-Institut Armand Frappier, Laval, Québec, Canada

L'étape finale de l'apoptose est la fragmentation en 200pb de l'ADN, un processus qui marque un point de non-retour pour la cellule à éliminer et permet de réduire le risque de transfert de gènes mutés vers les cellules avoisinantes. Le DFF40 est majoritairement responsable de cette fragmentation internucléosomale, mais sa localisation intracellulaire du DFF40 est controversée. Bien que plusieurs études aient démontré sa localisation nucléaire, l'existence d'une fraction cytoplasmique a été révélée dans des neuroblastomes et des lymphomes. Notre hypothèse est que des modifications post-traductionnelles seraient impliquées dans la localisation et l'activité du DFF40. Nos objectifs sont d'identifier le site de localisation extra-nucléaire de l'enzyme et les mécanismes régulant sa translocation. L'analyse de la séquence d'acides aminés du DFF40 a révélé la présence de sites potentiels de compétition entre phosphorylation et O-glycosylation. Ces modifications ont été confirmées par immunobuvardage puis des analyses de fractionnement cellulaire ont permis de révéler la présence de DFF40 O-glycosylé dans la fraction membranaire. Le logiciel Mitoprot II a par la suite révélé la présence d'un site potentiel de localisation mitochondrial en N-terminal. La purification de mitochondries nous a permis de déterminer par immunobuvardage, puis par microscopie confocale et électronique sa localisation mitochondriale. De plus, l'induction d'apoptose par de la staurosporine ou du tributylétain induit une translocation mitochondriale du DFF40. Nos travaux sont les premiers à confirmer l'O-glycosylation du DFF40 et sa localisation dans la mitochondrie.