A14

Régulation du Gène de la Connexine 26 dans l'Épididyme

C. Adam, D. G. Cyr;
INRS-Institut Armand-Frappier; Université du Québec, Laval, QC, Canada

Les Connexines (Cxs) sont des protéines qui forment des canaux transmembranaires entre deux cellules adjacentes, leur permettant de communiquer par la diffusion directe d'ions et de petites molécules (<1kDa). Notre laboratoire a déjà reporté la présence de Cxs au sein de l'épithélium épididymaire : les transcrits des Cx30.3, 31.1 et 32 sont présents au sein de l'épididyme de rat adulte, alors que Cx26 est exprimée uniquement chez les jeunes animaux, quand l'épithélium est indifférencié. Les niveaux de Cx26 sont indétectables à partir du jour 35, ce qui lui suggère un rôle dans la différenciation de l'épithélium. Il n'y a aucune information sur la régulation de Cx26 dans l'épididyme. L'objectif de cette étude était d'identifier les mécanismes qui régulent l'expression du gène de Cx26 dans l'épididyme, par la caractérisation de son promoteur. Une expérience de RLM-RACE a été réalisée et l'amplification de l'extrémité 5' de l'ADNc indique la présence d'un seul site d'initiation de la transcription (sit). Une analyse de séquence a révélée des sites de liaison pour les facteurs de transcription SP1 et AP2. Pour examiner la régulation du gène de Cx26, un fragment de 1,7kb du promoteur a été amplifié et cloné dans un vecteur contenant un gène reporteur de luciférase. Plusieurs construits ont été générés par délétion et tranfectés dans une lignée cellulaire d'épididyme de rat (RCE). Les plus hauts niveaux d'activité luciférase sont obtenus avec deux construits (-402 à +133 et -283 à +133) par rapport au sit). Un de ces construis (-283 à +133) a été analysé par délétions successives afin de cibler la région importante impliquée dans la régulation de Cx26. Une diminution majeure de l'activité luciférase a été observée avec la délétion d'un site AP2. Des diminutions ont été également été obtenues avec la délétion d'un site SP1/AP2 et d'un site SP1. Des expériences de mutations dirigées sur les sites de fixation de SP1 et AP2 confirment les essais luciférase. Ces résultats suggèrent que la transactivation de Cx26 est régulée par AP2 et SP1. D'autres facteurs comme la méthylation pourraient être impliqués. L'élucidation de ces mécanismes permettra une meilleure compréhension de la régulation de Cx26 mais également des processus impliqués dans la différenciation de l'épithélium de l'épididyme. Supporté par CRSNG.