

## **O5.1**

### **Régulation post-traductionnelle du facteur de fragmentation de l'ADN (DFF) lors de l'apoptose.**

Bruno Johnson, David Bernier et Jacques Bernier.

*INRS-LAF*

La fragmentation de l'ADN représente un point de non-retour pour la cellule à éliminer et permet de réduire les risques de transfert de gènes mutés aux phagocytes. Le facteur de fragmentation de l'ADN (DFF) est majoritairement responsable de la fragmentation internucléosomale de l'ADN et est formé de l'endonucléase DFF40/CAD et de son inhibiteur, le DFF45/ICAD. Le contrôle de l'activité du DFF40 et de sa localisation est mal compris. Notre laboratoire a démontré qu'une déficience en CD45, une tyrosine phosphatase, provoquait l'accumulation cytoplasmique du DFF40 et l'absence de fragmentation de l'ADN lors de l'apoptose des lymphocytes T. Notre hypothèse est que des modifications post-traductionnelles du DFF40 et du DFF45 sont impliquées dans la régulation de l'activité et de la localisation du DFF. Nos objectifs sont d'identifier les modifications régulant le DFF et de déterminer leur impact sur la fragmentation de l'ADN. Les cellules Jurkat ont été transfectées avec le plasmide PCMV6-entry codant ou non pour la protéine DFF40 lié à FLAG ou GFP. La présence de sites *O*-glycosylés a été déterminée par immunobuvardage, après avoir isolé le DFF40 ou DFF45 par immunoprécipitation. Les résultats obtenus jusqu'à présent démontrent que le DFF40 est *O*-glycosylé et que cette modification favorise la translocation de la protéine vers la membrane cytoplasmique. Par mutagenèse dirigée, les résidus S172 et S245 ont été identifiés comme pouvant être glycosylés. Nos résultats indiquent que la protéine se lierait à la vimentine *O*-glycosylée, qui quitte le cytosquelette pour s'accumuler également dans la fraction membranaire. Notre projet de recherche est le premier à souligner l'importance des modifications post-traductionnelles dans la régulation de la fragmentation de l'ADN, de même qu'à identifier l'interaction entre le DFF et la vimentine. Nos résultats pourraient expliquer pourquoi les cellules surexprimant la vimentine mutée aux sites de clivage par les caspases ne présentent pas de fragmentation de l'ADN lors de l'apoptose, permettant de mieux comprendre l'importance de la réorganisation du cytosquelette lors de l'apoptose nucléaire.