

L'utéroglobine.

par M. ATGER, F. FRIDLANSKY, J. F. SAVOURET, H. LOOSFELT, E. MILGROM

*Groupe de Recherches sur la Biochimie Endocrinienne et la Reproduction (INSERM U 135)
Faculté de Médecine de Bicêtre, Université Paris-Sud.
94270 Le Kremlin Bicêtre, France.*

Summary. *Uteroglobin.*

Uteroglobin has been studied under two aspects :

- 1) as a model of specific interaction between a protein and a steroid hormone : crystals were obtained and analyzed by X-ray diffraction ;
- 2) as a marker of progesterone action in the endometrium : messenger RNA was translated, purified and transcribed into complementary DNA.

L'utéroglobine est une protéine de la sécrétion utérine de la lapine (Beier, 1968 ; Krishnan and Daniel, 1967). Elle apparaît au début de la gestation, atteint un maximum au 5^e-6^e jour et disparaît vers le 12^e jour. L'utéroglobine est également sécrétée par l'utérus de lapines pseudogestantes ou traitées par la progestérone. Elle a la propriété de lier spécifiquement la progestérone et la 5 α pregnanedione (Fridlansky et Milgrom, 1976). L'étude de cette protéine présente un triple intérêt : modèle pour la compréhension de l'interaction spécifique stéroïde-protéine, marqueur de l'action hormonale de la progestérone, protéine spécifique maternelle entrant en contact avec le blastocyste.

1. — *Etude de l'interaction utéroglobine-progestérone.*

L'utéroglobine est une protéine de structure relativement simple : deux sous-unités identiques de 70 acides aminés chacune. Sa structure primaire est connue. Elle constitue donc un excellent modèle pour tenter d'avoir une image tridimensionnelle de l'interaction spécifique entre une protéine et une hormone stéroïde. Dans ce but il est nécessaire d'obtenir des cristaux de la protéine et d'en étudier la diffraction aux rayons X.

En collaboration avec le Dr Mornon et son groupe (laboratoire de Cristallographie-Paris VI), différentes formes cristallines ont été obtenues (Mornon *et al.*, 1978, 1979). Sur certaines ont été effectuées des mesures de diffraction permettant de prévoir une résolution d'environ 1,6 Å. Des substitutions isomorphes par métaux lourds ont été effectuées. Un modèle de la protéine est en cours d'élaboration. Des tentatives sont faites pour obtenir des cristaux exploitables de complexes progestérone-utéroglobine.

2. — L'utéroglobine marqueur de l'action hormonale de la progesté- rone.

L'endomètre de la lapine est un organe-cible classique de l'action de la progesté-
rone. Pour essayer d'établir le mécanisme d'action de cette hormone il est nécessaire
de préciser les diverses étapes du métabolisme des acides nucléiques et des protéines où
elle intervient.

L'ARN messager de l'utéroglobine (Atger et Milgrom, 1977) a été traduit dans les
conditions suivantes. Des polysomes ont été préparés à partir d'animaux au 5^e jour de
la gestation, l'ARN a été extrait et chromatographié sur poly U Sepharose. L'ARN à
poly A a été traduit dans un système de germe de blé et les peptides résultants précipi-
tés par un antisérum spécifique de l'utéroglobine. Par analyse sur gel de polyacryla-
mide, le peptide synthétisé s'est avéré être un précurseur de PM ~ 10 000 (sous-unité
de la protéine stable : PM ~ 8 000). La préutéroglobine comporte une extension
N-terminale de 21 acides aminés (Atger *et al.*, 1979) dont la séquence a été établie en
collaboration avec le Dr J. C. Mercier (INRA, Jouy-en-Josas). Ce « signal peptide »
est coupé au moment du passage transmembranaire de la protéine.

L'ARN messager a été ensuite purifié par deux centrifugations successives sur
gradient de saccharose. Le produit final était dépourvu de toute contamination par
l'ARN ribosomique et environ 90 p. 100 des peptides synthétisés en sa présence pou-
vaient être précipités par un anticorps antiutéroglobine. La taille de cet ARN messager
a été déterminée d'une part par sédimentation en gradient de saccharose, d'autre part
par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de 99 p. 100 de formamide.
Par les deux techniques le mARN de l'utéroglobine a été trouvé très légèrement plus
petit que le mARN de la globine de lapin. Son coefficient de sédimentation est donc
d'environ 8,5 S (200 000 de poids moléculaire). Comportant environ 600 nucléotides,
cet ARN messager est deux fois plus grand que ce qui est nécessaire pour coder les
91 acides aminés de la préutéroglobine.

L'ARN messager purifié a été transcrit par la transcriptase reverse en ADN
complémentaire spécifique. Des mesures précises de l'induction de l'ARN messager par
la progesté-
rone sont ainsi devenues possibles. Parmi les résultats les plus intéressants
figure le fait que l'augmentation de l'utéroglobine (dosages radioimmunologiques)
induite par la progesté-
rone est de beaucoup plus importante que l'augmentation de
l'ARN messager. Il existe donc une double régulation par la progesté-
rone du taux de
cette protéine : une modulation du taux de l'ARN messager (au niveau transcrip-
tionnel ?) et une étape post-transcriptionnelle. La cinétique de ces effets hormonaux, les
diverses modalités des effets synergiques et antagonistes entre la progesté-
rone et les
œstrogènes sont en cours d'étude.

Par ailleurs un ADN complémentaire double brin a été synthétisé et cloné dans le
plasmide pBR 322 (M. Atger, M. Perricaudet, P. Tiollais et E. Milgrom, résultats non
publiés). Il devient ainsi possible d'aborder l'étude du gène chromosomique de l'uté-
roglobine et de la régulation de sa transcription.

3. — L'utéroglobine et le blastocyste.

La présence de l'utéroglobine dans la lumière utérine vers la période de l'implan-
tation suggère que cette protéine pourrait jouer un rôle dans cette fonction ou dans le
développement du blastocyste. Un effet stimulateur sur la croissance de celui-ci a été

proposé (El-Banna and Daniel, 1972a, b), mais ces expériences ont été par la suite fortement critiquées.

L'utéroglobine pourrait jouer un rôle dans le transport de la progestérone vers le blastocyste. Elle pourrait également jouer un rôle inverse. Les concentrations élevées de progestérone nécessaires au niveau de l'utérus pour l'évolution normale de la grossesse sont peut-être inhibitrices pour le développement du blastocyste, l'utéroglobine pourrait servir à séquestrer localement l'hormone.

Présenté au Colloque D. G. R. S. T. de Port Bail,
27 février-1^{er} mars 1979.
Accepté en août 1979.

Références

- ATGER M., MILGROM E., 1977. A progesterone-induced messenger RNA. Translation, purification and preliminary characterization of uteroglobin mRNA. *J. Biol. Chem.*, **252**, 5412-5418.
- ATGER M., MERCIER J. C., HAZE G., FRIDLANSKY F., MILGROM E., 1979. Amino-terminal sequences of uteroglobin and its precursor. *Biochem. J.* **177**, 985-988.
- BEIER H. M., 1968. Uteroglobin : A hormone-sensitive endometrial protein involved in blastocyst development. *Biochim. biophys. Acta*, **160**, 289-291.
- EL-BANNA A. A., DANIEL J. C., Jr., 1972a. Stimulation of rabbit blastocysts *in vitro* by progesterone and uterine proteins in combination. *Fert. Steril.*, **23**, 101-104.
- EL-BANNA A. A., DANIEL J. C. Jr., 1972b. The effect of protein fractions from rabbit uterine fluids on embryo growth and uptake of nucleic acid and protein precursors. *Fert. Steril.*, **23**, 105-114.
- FRIDLANSKY F., MILGROM E., 1976. Interaction of uteroglobin with progesterone, 5 α pregnane-3,20-dione and estrogens. *Endocrinology*, **99**, 1244-1251.
- KRISHNAN R. S., DANIEL J. C. Jr., 1967. « Blastokinine » : Inducer and regulator of blastocyst development in the rabbit uterus. *Science*, **158**, 490-492.
- MORNON J. P., FRIDLANSKY F., SURCOUF E., BALLY R., MILGROM E., 1978. X-Ray analysis of a progesterone-binding protein (uteroglobin) : Preliminary results. *J. mol. Biol.*, **121**, 237-239.
- MORNON J. P., FRIDLANSKY F., BALLY R., MILGROM E., 1979. Characterization of two new crystal forms of uteroglobin. *J. mol. Biol.*, **127**, 237-239.
-