

Régulation par le 1,25 (OH)₂D₃ des ARNm codant pour la CaBPi dans le tube digestif du rat,
par Christine PERRET, C. DESPLAN et Monique THOMASSET. *INSERM U 120, 44, chemin de
Ronde, 78110 Le Vésinet, France.*

Chez le rat la « calcium-binding protein » intestinale ou CaBPi est une protéine cytosolique de PM 9.000 qui représente 2 % des protéines solubles de la muqueuse duodénale. Sa concentration est contrôlée par le métabolite hormonal de la vitamine D, la 1,25-dihydroxyvitamine D₃ (1,25-(OH)₂D₃) (Thomasset *et al.*, 1979, 1982). Environ 10 % des ARNm duodénaux codent pour la CaBP en système acellulaire (Thomasset *et al.*, 1981, 1983). L'ADNc de l'ARNm de la CaBP a été cloné dans pBR 322 (Desplan *et al.*, 1983).

A la suite de ces investigations, dans le but d'élucider les mécanismes moléculaires de régulation de la biosynthèse de la CaBPi, l'étude de la régulation par le 1,25(OH)₂D₃ des ARNm de la CaBPi le long du tube digestif (de l'œsophage au cæcum) est rapportée chez le rat.

Le taux des ARNm de la CaBPi est mesuré par hybridation à ADN marqué au ³²P issu du clone contenant la plus longue insertion (375 paires de bases). L'efficacité traductionnelle des ARNm isolés chez le rat est évaluée dans un lysat de réticulocytes de lapin en présence de ³⁵S-méthionine. Les produits de traduction sont immunoprécipités avec les anticorps spécifiques dirigés contre la CaBP intestinale de rat, quantifiés et analysés par autoradiographie après électrophorèse sur gel de polyacrylamide en condition dénaturante. La concentration *in vivo* de la CaBPi est mesurée par radioimmunos dosage.

Nous avons étudié les ARNm spécifiques chez les rats supplémentés en vitamine D, carencés en vitamine D et carencés en vitamine D après administration de 1,25 (OH)₂D₃. Tout au long du tube digestif, le taux des ARNm spécifiques (%) varie parallèlement à la concentration de la CaBPi (µg/mg). Ces taux sont maximum dans le duodénum (10, 20). Elle est plus faible au niveau du jéjunum (J1 : 2,5, 5 ; J3 : 2,3, 0,5) de l'iléon (1,6 ; 0,1) et du cæcum (3,6 ; 2,3). Après 5 semaines de carence en vitamine D le taux et l'activité des ARNm ainsi que la concentration cytosolique de la CaBPi chutent sans être nuls. Une injection unique de 1,25 (OH)₂D₃ entraîne en 3 heures une augmentation des ARNm qui précède l'augmentation de la CaBPi *in vivo*. Les résultats exposés ici sont la moyenne de 5 valeurs.

La comparaison du taux d'ARNm de la CaBPi et de leur efficacité traductionnelle permet de discuter du niveau transcriptionnel et/ou posttranscriptionnel de la régulation de la biosynthèse de la CaBP.

La spécificité de la sonde ainsi que la distribution tissulaire sélective des ARNm codant pour la CaBP de PM 9.000 seront aussi discutées. L'étude approfondie de l'expression du gène de la CaBPi et de sa régulation par différents facteurs hormonaux et ioniques dans des lignées cellulaires continues est envisagée puisque le clonage de fragments génomiques contenant le gène de la CaBPi vient d'être réalisé.

- Desplan C., Thomasset M., Moukhtar M., 1983. Synthesis, molecular cloning and restriction analysis of DNA complementary to vitamin D-dependent calcium-binding protein mRNA from rat duodenum. *J. biol. Chem.*, **258**, 2762-2765.
- Thomasset M., Cuisinier-Gleizes P., Mathieu H., 1979. 1,25-dihydroxycholecalciferol dynamics of the stimulation of duodenal calcium-binding protein, calcium transport and bone calcium mobilization in vitamin D and calcium-deficient rats. *FEBS Letters*, **107**, 91-94.
- Thomasset M., Desplan C., Moukhtar M., Mathieu H., 1981a. Primary translation product of mRNA coding for rat duodenal vitamin D-dependent calcium binding protein. *FEBS Letters*, **134**, 178-182.
- Thomasset M., Parkes O., Cuisinier-Gleizes P., 1982. Rat calcium-binding proteins : distribution, development and vitamin D-dependence. *Am. J. Physiol.*, **243**, E483-E488.
- Thomasset M., Desplan C., Parkes O., 1983. Rat vitamin D-dependent calcium-binding proteins : specificity of mRNAs coding for 7,500 Mr D-CaBP from duodenum and 28,000 Mr D-CaBP from kidney and cerebellum. *Eur. J. Biochem.*, **129**, 519-524.