

Reconstitution des protéines de la membrane de la bordure en brosse rénale, par Maryse BOUDOUARD, Jean GIUDICELLI et Pierre SUDAKA. *Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine de Nice, 06034 Nice Cedex.*

Les cellules de la bordure en brosse du tubule proximal rénal ont pour fonction la réabsorption des nutriments d'origine plasmatique, filtrés par le glomérule, au même titre que les cellules de l'épithélium intestinal sont spécialisées dans l'absorption des nutriments d'origine alimentaire. De plus ces deux types de cellules présentent une très grande similitude tant morphologique que fonctionnelle. La structure et l'équipement enzymatique des membranes plasmiques de ces cellules ont été très étudiés (1), de même que les phénomènes de transport (2). Des expériences de reconstitution de ces membranes ont été entreprises dans deux buts : 1) parvenir à une meilleure connaissance de l'architecture membranaire, 2) mieux comprendre les mécanismes de transport des solutés. Dans ce dernier cas, si l'incorporation d'une entité moléculaire responsable d'un phénomène de transport peut être mise en évidence, rien n'est connu sur l'organisation structurale de tels systèmes reconstitués.

Nous avons défini un système de reconstitution des protéines intrinsèques de la membrane des bordures en brosse de rein de cheval dans des vésicules artificielles de phosphatidylcholine, utilisant un extrait détergent de vésicules membranaires. Le rendement d'incorporation des protéines est de 20 %. Le caractère vésiculaire de ces protéoliposomes a été montré par analyse sur gradient de sucrose et par microscopie électronique. Le mode d'intégration des protéines membranaires dans les protéoliposomes a été étudié : des cinétiques de solubilisation par la papaine des hydrolases membranaires effectuées en parallèle sur des vésicules de bordures en brosse et sur des protéoliposomes sont pratiquement identiques. Ce parallélisme permet de conclure que la partie hydrophile des hydrolases présente au site actif de la papaine une accessibilité voisine dans les vésicules membranaires et les protéoliposomes, ce qui est en faveur d'une incorporation correcte des hydrolases dans la couche phospholipidique des protéoliposomes.

La validité de ce système du point de vue fonctionnel a été mise en évidence par des études de transport. Nous avons étudié le phénomène d'accumulation dans l'espace intravésiculaire d'un amino-acide : la L-alanine dans des conditions d'échange à l'équilibre. La cinétique d'entrée de la L-alanine en présence de NaCl est beaucoup plus rapide que celle mesurée en présence de KCl. Le niveau de L-alanine correspondant à un équilibre entre le milieu extérieur et l'espace intravésiculaire est atteint au bout d'une minute tandis que dans un milieu contenant du KCl, cette valeur n'est atteinte qu'au bout de 3 h d'incubation. Ces résultats montrent que les propriétés fonctionnelles de transport sont préservées et donc que l'entité moléculaire impliquée dans ce phénomène conserve dans les protéoliposomes une architecture et une orientation similaires à celles des membranes natives.

Ce système de reconstitution des protéines de la bordure en brosse rénale est particulièrement rapide et simple, il permet d'obtenir des protéoliposomes ayant des propriétés structurales et fonctionnelles semblables à celles des vésicules membranaires natives. De plus ce système semble particulièrement approprié à des études de transport et pourrait constituer une étape préliminaire dans la purification et l'identification d'un transporteur.

(1) Kenny A. J., Maroux S., 1982. Topology of microvillar membrane hydrolases of kidney and intestine. *Physiol. Rev.*, **62**, 91-128.

(2) Hopfer U., 1978. Transport in isolated plasma membranes. *Am. J. Physiol.*, **234**, F89-F96.