

25

UN EVENEMENT MARQUEUR DE LA DIFFERENCIATION MUSCULAIRE : LA TRANSITION DE L'ENOLASE EMBRYONNAIRE $\alpha\alpha$ VERS L'ENOLASE $\beta\beta$ SPECIFIQUE DU MUSCLE. ETUDE A L'AIDE DES SONDES cDNAs.

Lucas M.¹, Lamandé N.¹, Mazo A.M.¹, Montarras D.², Pinset C.², Gros F.¹, Legault-Demare L.¹, Lazar M.¹,
¹Collège de France, ²Institut Pasteur, Paris.

Chez les vertébrés supérieurs l'énolase, enzyme de la glycolyse, est exprimée sous la forme des dimères $\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$ et $\alpha\gamma$, $\alpha\beta$. L'énolase $\alpha\alpha$, exprimée dans l'embryon précoce, demeure la seule forme présente dans les tissus adultes à l'exception des tissus nerveux et musculaire. Au cours du développement on observe une transition vers les formes $\gamma\gamma$ dans les neurones et $\beta\beta$ dans les fibres musculaires de type II. Nous étudions les mécanismes moléculaires impliqués dans l'expression différentielle des gènes énoïase à l'aide de sondes ADN complémentaires. La présente analyse concerne l'expression des gènes α et β au cours de la différenciation musculaire *in vivo* et en culture.

Dans le muscle squelettique de rongeurs la transition vers la forme $\beta\beta$ est essentiellement post-natale. L'accroissement de l'activité totale énoïase observé est dû à une augmentation importante du niveau de l'énolase $\beta\beta$, celui de l'énolase $\alpha\alpha$ tendant vers une valeur négligeable. L'analyse en "Northern blot" des niveaux des APNs β et α durant cette période montre que l'expression différentielle de ces transcripts est impliquée dans la régulation de la transition isozymique énoïase au cours de la différenciation.

L'utilisation de cultures de lignées myogéniques a permis de montrer que le messager β est déjà présent dans les myoblastes prolifératifs. De plus, ce messager est indétectable dans les fibroblastes de souris C3H10T1/2 mais la conversion de ces cellules en myoblastes par traitement à l'azacytidine ou par transfection avec le gène MyoD₁ s'accompagne de l'expression de l'ARN β . L'expression initiale du gène β pourrait donc coïncider avec les premières étapes du programme myogénique. Le système des isozymes de l'énolase se révélerait ainsi particulièrement utile pour l'analyse des phases précoces de la myogenèse.

26

MISE EN EVIDENCE ET CARACTERISATION DES RECEPTEURS DE IGF-I ET DE IGF-II SUR DEUX SOUS-CLONES DE LA LIGNEE CELLULAIRE MYOBLASTIQUE C2 DE SOURIS.

Domeyrc A., Hurc C., *Pinset C., *Montarras D. Barenton B. INRA-ENSA, Montpellier ; *Institut Pasteur, Paris

Les myoblastes de souris de la lignée C2 se différencient spontanément en myotubes sous l'influence du changement du type de milieu de culture, en absence d'insuline, d'impregnation corticostéroïdienne ou de sérum de veau foetal. Cette lignée, qui se comporte de façon identique à la lignée parentale, isolée par Yaffé et Saxel (1977), a été désignée comme "permissive"(PER) en relation avec ses caractéristiques de différenciation. Pinset *et al.* (1988) ont pu isoler un variant cellulaire, appelé "inductible" (IND), qui est incapable de se différencier spontanément comme les précédentes. Cette capacité est totalement restaurée, en présence de fortes concentrations d'insuline ($1,6 \cdot 10^{-6}$ M) ou de faibles concentrations d'IGF-I ($2,5 \cdot 10^{-8}$ M). Les objectifs de ce travail étaient donc de déterminer si l'inductibilité de la différenciation pouvait s'expliquer par une réceptivité différente aux IGFs. Par déplacements compétitifs des ligands marqués, nous avons évalué les caractéristiques de la liaison de IGF-I et IGF-II sur les préparations membranaires de chacun des sous-clones cultivé en présence ou en absence de dexaméthasone ($1 \cdot 10^{-8}$ M Dex). Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

	IGF I		Site 1		IGF II		Site 2	
	Ka 10 ⁸ M ⁻¹	n 10 ⁻¹⁴ mole/mg	Ka 10 ⁸ M ⁻¹	n 10 ⁻¹⁴ mole/mg	Ka 10 ⁸ M ⁻¹	n 10 ⁻¹⁴ mole/mg	Ka 10 ⁸ M ⁻¹	n 10 ⁻¹⁴ mole/mg
PER Dex+	7.9	5.14	7.9	30.7	-	-	-	-
PER Dex-	7.2	6.54	1.5	10.5	-	-	-	-
IND Dex+	15.5	13.20	39.5	9.6	136.0	5.65		
IND Dex-	10.7	20.40	48.0	9.2	186.0	6.68		

En conclusion, l'affinité de IGF-I pour les récepteurs membranaires des IND est légèrement plus élevée que pour les PER et le nombre de site de liaison est augmenté d'environ 5 fois. Sur les cellules IND, il apparaît un site de haute affinité (site 2) pour IGF-II qui n'est pas mesuré sur les cellules PER. L'affinité du site de faible affinité (site 1) pour IGF-II est légèrement plus élevée sur les IND que sur les Per, en revanche le nombre de site diminue. La Dex. ne modifie pas les caractéristiques de la liaison de IGF-I et IGF-II sur les deux sous-clones.

Références : Yaffé et Saxel (1977). Nature, 270:725-727 ; Pinset *et al.* (1988). Différenciation, 38:28-34