

## 41

LA N-GLYCOSYLATION: MAROUFUR PRECOCE DE LA DIFFERENCIATION ENTEROCYTAIRE DES CELLULES HT-29.

Ogier-Denis F., Bauvy C., Aubery M., Codoqno P.  
INSERM U.180, 45 rue des Saints Pères 75006 Paris  
Sapin C., Iruqan G.  
INSERM U.178, 16 avenue Paul Vaillant Couturier, 94800 Villejuif

Les cellules HT-29, dérivées d'un adénocarcinome humain d'origine colique et cultivées en présence de glucose (HT-29 Glc<sup>+</sup>) demeurent indifférenciées alors que les mêmes cellules, cultivées en absence de glucose (HT-29 Glc<sup>-</sup>) expriment après confluence cellulaire une différenciation entérocytaire typique. Cette étude réalisée après confluence cellulaire, a permis de mettre en évidence différentes altérations dans le métabolisme des N-glycannes des cellules HT-29 Glc<sup>+</sup>, qui ne sont pas observées dans les cellules HT-29 Glc<sup>-</sup>.

1-Après 10 min de marquage métabolique, l'incorporation de D-(2-<sup>3</sup>H) mannose est fortement réduite dans les cellules HT-29 Glc<sup>+</sup>.

2-Une accumulation des espèces oligosaccharidiques de type oligomannosidique est détectée après 24 h de marquage métabolique des cellules HT-29 Glc<sup>+</sup> par le D-(2-<sup>3</sup>H) mannose

3-Parmi ces espèces oligosaccharidiques, les structures Man<sub>9-8</sub>GlcNAc<sub>2</sub> représentent 60% de l'ensemble des chaînes oligomannosidiques présentes

De plus le modèle HT-29 permet d'étudier les événements biochimiques précoces, qui se mettent en place avant l'acquisition de la différenciation des cellules HT-29 Glc<sup>-</sup>. En effet en phase exponentielle de croissance les cellules HT-29 Glc<sup>-</sup> et HT-29 Glc<sup>+</sup> sont phénotypiquement indifférenciées malgré leur devenir différent après confluence. Les altérations décrites précédemment dans les cellules HT-29 Glc<sup>+</sup> confluentes sont présentes dans ces cellules en phase exponentielle de croissance et absentes dans les cellules HT-29 Glc<sup>-</sup> exponentielles.

## 42

CHARACTERISATION D'ELEMENTS CIS ET TRANS IMPLIQUES DANS L'EXPRESSION HEPATIQUE DU GENE ALPHA-FOETOPROTEINE CHEZ LE RAT.

Danan, J.L., Bakkali, L., Poiret, M., José, M., Foiret, D. et Poliard, A.  
Laboratoire d'Enzymologie, C.N.R.S., 91198 Gif-sur-Yvette, France

Après la naissance, la transcription du gène AFP dans le foie décroît fortement pour atteindre des niveaux quasi indétectables chez l'adulte. Afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans l'expression de ce gène nous avons recherché la présence d'éléments régulateurs dans la région 5' extragénique du gène AFP de rat.

Des expériences d'expression transitoire après transfection de plasmides contenant le gène CAT ont permis de montrer que :

1) la région promoteur (-330 à -10) est suffisante pour obtenir une expression spécifique dans les cellules hépatiques et est impliquée dans la régulation négative exercée par les glucocorticoides sur la transcription du gène AFP.

2) Plusieurs éléments régulateurs positifs sont présents entre -2 et -7 kb. L'un d'entre eux, localisé à -2,4 kb, présente toutes les caractéristiques d'un "enhancer" qui exprime spécifiquement son activité dans des cellules hépatiques.

Des protéines ayant une forte affinité pour la région promoteur du gène AFP et pour cet élément régulateur ont été détectées en utilisant les méthodes de retardement de migration sur gel et les expériences d'empreinte à la DNase I et à l'exonucléase III.

Nous avons montré que la région promoteur du gène AFP est reconnue par le facteur ubiquitaire Nuclear Factor I et par un facteur hépato-spécifique qui reconnaît aussi le promoteur du gène albumine de rat. Des expériences de compétition *in vivo* indiquent que ce facteur est un facteur positif nécessaire au fonctionnement de ces promoteurs.

D'autre part nous avons montré que deux régions de l'élément régulateur sont des cibles pour plusieurs protéines nucléaires dont l'identification est en cours.