

78

## MODIFICATIONS DU CYTOSQUELETTE DE CELLULES EPITHELIALES HUMAINES (HBL-100) AU COURS DE LA PROGRESSION TUMORALE.

Declofre F., Cassingena R., Estrade S., Martin M.  
 Institut de Recherches Scientifiques sur le Cancer (UPR 6) 94802 Villejuif Cédex, France.

Des altérations du cytosquelette concernant en particulier les microfilaments (actine F) et les microtubules (tubuline) sont fréquemment observées dans des cellules transformées. Les cellules HBL-100 sont des cellules épithéliales humaines qui ont intégré dans leur génome du DNA de virus SV40 et qui évoluent en culture d'un état non tumorigène aux passages précoces (~ 30e passage) vers un état tumorigène aux passages tardifs (~ 70e passage). Une lignée de cellules tumorales (T12) a été obtenue à partir d'une tumeur induite chez la souris athymique par injection de cellules HBL-100 tardives. La surinfection des cellules HBL-100 aux passages précoces par le virus Ki-MSV, porteur de l'oncogène v-Ki-ras entraîne très rapidement leur transformation néoplasique. L'état de l'actine F et de la tubuline a été étudié en immunofluorescence dans les cellules HBL-100 au cours de leur progression tumorale, dans les cellules tumorales T12 et dans les cellules HBL-100 surinfectées par le virus Ki-MSV. Bien que porteuses d'une information génétique SV40, les cellules HBL-100 aux passages précoces (33e p.) sont non tumorigènes et présentent des fibres normales d'actine F. Au fur et à mesure du passage des cellules en culture, l'actine devient de plus en plus fragmentée. Au 67e passage, l'actine est totalement fragmentée comme dans les cellules tumorales T12. La surinfection des cellules HBL-100 précoces par le virus Ki-MSV entraîne une désorganisation importante des microfilaments : peu de fibres d'actine F, actine fragmentée, amas d'actine localisés à la périphérie des cellules. L'étude concomitante des microtubules montre un réseau peu étendu, fortement contracté autour du noyau dans les cellules HBL-100 non tumorigènes (33e p.). Au 74e passage, lorsque les cellules sont tumorigènes, le réseau de microtubules est plus développé, plus étalé vers la périphérie de la cellule. Cet aspect se retrouve dans les cellules tumorales T12 et dans les cellules HBL-100 précoces surinfectées par le virus Ki-MSV. Ainsi, l'acquisition d'un pouvoir tumorigène par les cellules épithéliales humaines HBL-100 s'accompagne d'une fragmentation importante de l'actine des microfilaments et d'une extension concomitante du réseau de microtubules.

79

MISE EN EVIDENCE D'UNE ACTIVITE DE TYPE CASEINE KINASE-II DANS LE NOYAU DES OVOCYTES DE XENOPE, PHOSPHORYLANT IN VITRO UNE ISOFORME BASIQUE DE L' $\alpha$ -TUBULINE.

Thibier, C., Jessus, C. et Ozon, R.

Lab. Physiol. Reprod., UA-CNRS 555, Université Paris VI, 4 Place Jussieu 75252 Paris Cédex 05.

L'ovocyte de Xénope est un très bon modèle d'étude de la régulation des mécanismes de polymérisation/dépolymérisation de la tubuline au cours du cycle cellulaire. Dans les ovocytes bloqués en prophase, les microtubules s'organisent d'une part autour de l'enveloppe nucléaire et d'autre part à un niveau cortical sous la membrane plasmique. Au cours de la maturation méiotique (transition interphase/métaphase induite par la progestérone), un vaste réseau microtubulaire apparaît dans le cytoplasme, à l'endroit du mélange nucléoplasme-cytoplasme. Il conduit à la formation du premier puis du second fuseau de métaphase. L'aptitude de l'ovocyte à induire la formation de microtubules est également changée au cours de la maturation méiotique. Différents facteurs connus pour induire la polymérisation de la tubuline provoquent l'apparition d'asters de microtubules dans le cytoplasme des ovocytes en métaphase, mais sont incapables d'induire de tels asters dans les ovocytes en prophase. Lorsque l'on induit la maturation chez des ovocytes énucléés, le réseau microtubulaire géant ne se forme pas et les sites de nucléation microtubulaires ne sont plus inductibles. Le contenu nucléaire contrôle donc la polymérisation de la tubuline pendant la transition prophase-métaphase.

Nous avons caractérisé une activité kinase nucléaire *in vitro* la tubuline purifiée à partir d'ovocytes. Cette phosphorylation a lieu de manière préférentielle sur l' $\alpha$ -tubuline (résidu sérines). L'activité kinase nucléaire est activée par la spermine, inhibée par l'héparine, utilise le GTP ou l'ATP comme donneur de phosphate, et phosphoryle la caséine. Ces résultats indiquent que cette activité pourrait être de type caséine kinase II.

Nous avons montré par l'analyse de gels bidimensionnels que l' $\alpha$ -tubuline d'ovocyte est composée de 6 isoformes et la  $\beta$ -tubuline de 5 isoformes. La plus abondante des isoformes d' $\alpha$ -tubuline est l'espèce la plus basique de toutes les isoformes. C'est elle qui est phosphorylée majoritairement parmi toutes les isoformes de la tubuline. Ce résultat diffère de ceux obtenus par différentes équipes sur de la tubuline d'origine nerveuse et montrant que la phosphorylation, *in vivo* comme *in vitro*, ne se fait que sur la  $\beta$ -tubuline. D'après nos résultats, nous pouvons émettre l'hypothèse selon laquelle les modifications microtubulaires survenant au moment de la rupture de l'enveloppe nucléaire de l'ovocyte pourraient être contrôlées par l'apparition dans le cytoplasme de l'activité tubuline kinase nucléaire.