

Cg-TIMP, un inhibiteur de metalloproteinase isolé chez *Crassostrea gigas* ; étude de son rôle dans la réparation des lésions et dans les mécanismes de défense.

J. M. Escoubas , C. Montagnani C., F. Leroux , J. de Lorgeril , F. Berthe et E. Bachère

Nous avons isolé, chez *Crassostrea gigas*, un ADN complémentaire (*Cg*-TIMP) codant une protéine fortement homologue aux inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinase (TIMPs) de vertébrés. Chez les vertébrés, les TIMPs sont des protéines multi-fonctionnelles qui jouent un rôle clé dans le métabolisme de la matrice extracellulaire. A ce titre, elles interviennent, chez les vertébrés, dans le contrôle de processus aussi bien physiologiques (développement embryonnaire, réparation de lésions, angiogénèse) que pathologiques (inflammation, cancer).

L'ADN complémentaire isolé chez *C. gigas* code une protéine de 221 résidus qui présente une organisation similaire à celle observée chez les vertébrés, à savoir un peptide signal et la présence de 12 cystéines constituant la signature des TIMPs de vertébrés. Nous avons montré, par Northern blot et hybridation *in situ*, que *Cg*-TIMP n'est exprimé que dans les hémocytes de l'huître. Nous avons également observé que les ARNm de *Cg*-TIMP sont fortement accumulés dans les hémocytes d'huîtres soumises à une lésion de la coquille ou à une infection par des *Vibrio*. Au vu de ces résultats, nous proposons que *Cg*-TIMP soit impliqué dans les mécanismes de défense de *C. gigas* et puisse donc être utilisé comme marqueur de la réponse immunitaire dans l'étude des mortalités estivales de l'huître creuse.

Cg-TIMP, un inhibiteur de metalloproteinase isolé chez *Crassostrea gigas* : étude de son rôle dans la réparation des lésions et dans les mécanismes de défense

- Fonctions et structure des Inhibiteurs Tissulaires de MétalloProteinases (TIMPs) de vertébrés.
- Homologies de séquence entre les TIMPs de vertébrés et la séquence du TIMP de *Crassostrea gigas* (Cg-TIMP).
- Étude de l'expression de Cg-TIMP suite à des lésions de la coquille et à des infections bactériennes.

Fonctions des TIMPs chez les Vertébrés

Les TIMPs sont exprimés par un grand nombre de types cellulaires et sont présents dans la plus part des tissus et des fluides corporels. Ils sont principalement impliqués dans la régulation de l'activité des Metalloproteinase de la Matrice (MMPs).

Rôle clé dans le renouvellement de la matrice extracellulaire

Processus physiologiques :

- développement embryonnaire
- morphogenèse
- réparation des lésions

Processus pathologiques :

- développement de tumeurs
- arthrite

Caractéristiques structurales des TIMPs de vertébrés

Représentation schématique dérivée de l'analyse de 28 séquences en acides aminés

- Peptide signal (de 23 à 29 aa)
- Protéines matures (de 181 à 195 aa) commencent par la séquence C-x-C
- 12 résidus cystéine dans des régions conservées de la molécule, formant 6 ponts disulfure
- 35 aa conservés parmi les 28 séquences analysées (19,5% d'identité).

Comparaison de Cg-TIMP aux TIMPs de Vertébrés

Vertébrés

181-195 aa

Crassostrea

199 aa

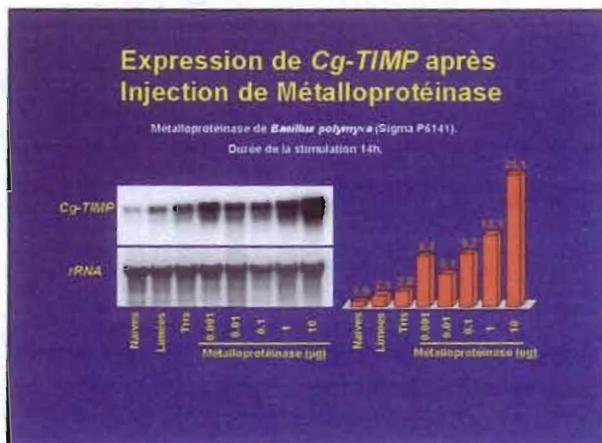
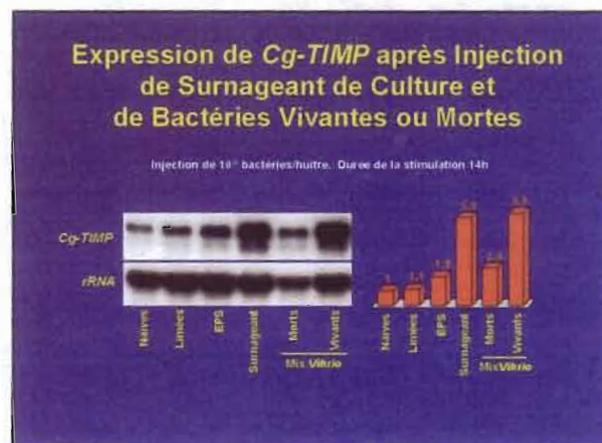
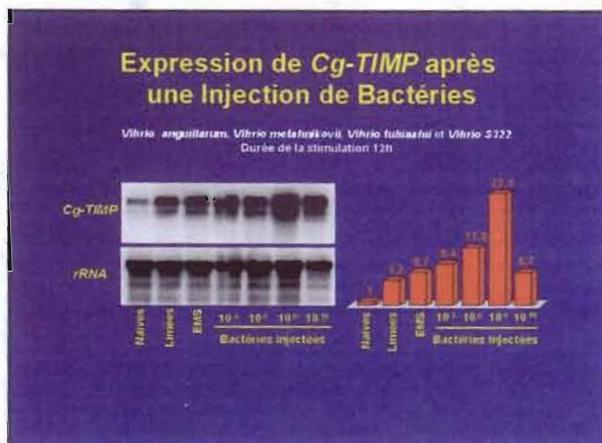
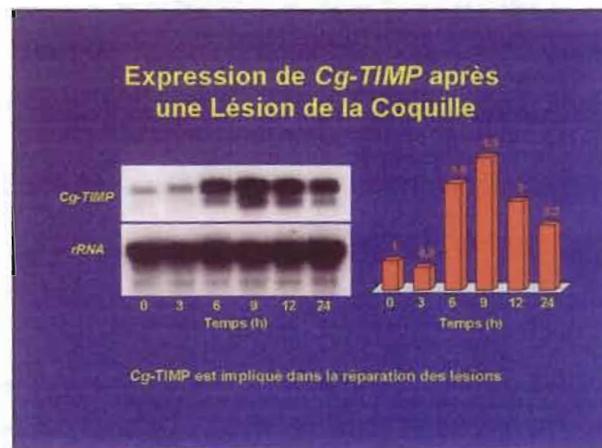
- 30% identité et 45% homologie entre Cg-TIMP et certains TIMPs de vertébrés (18)
- 25 des 35 aa conservés dans les TIMPs de vertébrés sont retrouvés dans Cg-TIMP.

Localisation de l'expression de Cg-TIMP par Northern Blot

Membrane colorée

Sonde Cg-TIMP

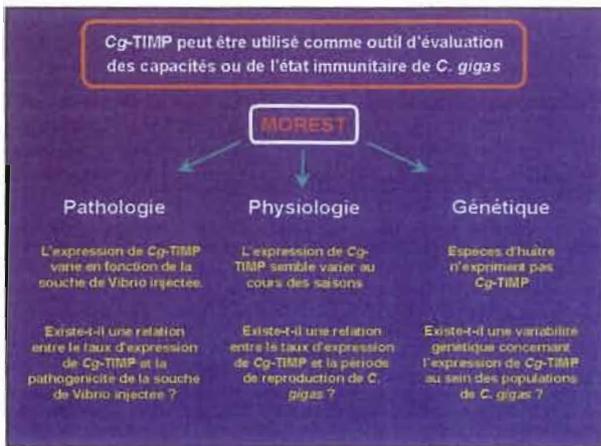
- Muscle adducteur le
- Manteau (externe)
- Manteau (interne)
- Coeur
- Branchies
- Pâpeur labiaux
- Glande digestive
- Excrétoire
- Hémocytome
- M. V. (b)



Conclusions

- Cg-TIMP est homologue au TIMPs de vertébrés.

- Cg-TIMP n'est produit qu'au niveau des hémocytes, cellules jouant un rôle clé dans les mécanismes de défense.
- L'expression de *Cg-TIMP* est induite par une lésion de la coquille. *Cg-TIMP* serait impliqué dans les mécanismes de réparation des lésions.
- L'expression de *Cg-TIMP* est induite par l'injection :
 - de *Vibrio* vivant
 - de produits de sécrétion de *Vibrio*
 - de métalloprotéinase*Cg-TIMP* serait impliqué dans les mécanismes de défense.



Montagnani, C. De Lorgeril, J. Bachère, E. Escoubas, J.-M.

Régulation et Effecteurs de la Réponse Immunitaire

D.R.I.M. Montpellier

Leroux, F. Berthe, F.

Laboratoire de Génétique et Pathologie

La Tremblade

