

Composition de la fraction protéique de la membrane du globule gras et résistance aux mammites chez les caprins

Protein composition of the milk fat globule membrane and mastitis resistance in dairy goats

CEBO C. (1), CAILLAT H. (2), BOUVIER F. (3), MARTIN P. (1), RUPP R. (2)

(1)INRA, UMRI1313 unité génétique animale et biologie intégrative, F-78350 Jouy-en-Josas, France

(2)INRA, UR631 station d'amélioration génétique des animaux, F-31426 Castanet-Tolosan, France

(3) INRA, UE332 domaine de Bourges, F-18390 Osmoy, France

INTRODUCTION

La numération cellulaire du lait (comptage de cellules somatiques ou CCS), mesurée en routine à l'échelle individuelle dans le cadre du contrôle laitier, est classiquement utilisée comme facteur de diagnostic de l'état sanitaire de la mamelle. L'analyse génétique de données de production dans l'espèce caprine (Clément *et al.*, 2008) a montré le caractère héritable de la numération cellulaire du lait ($h^2 = 0,20$ en race Alpine), ainsi qu'une corrélation génétique négative ($rg = -0,20$) entre cette numération et le taux butyreux. La matière grasse laitière (MG), sécrétée sous la forme de globules gras, est constituée d'un noyau de triglycérides entouré d'une membrane complexe dérivant de la cellule épithéliale mammaire et appelée « Milk Fat Globule Membrane » ou MFGM. Etant donné le rôle des protéines de la MFGM et notamment de MUC-1, dans la résistance aux infections (Patton, 1999), il nous a semblé intéressant de comparer la composition protéique de la MFGM dans le lait des individus issus de la sélection divergente (CCS+ vs. CCS-). D'autre part, nous avons également analysé le polymorphisme génétique de MUC-1 chez les chèvres CCS+ et CCS-. En effet, le gène spécifiant la protéine MUC-1 contient un domaine répété (VNTR, *Variable Number Tandem Repeat*) qui code pour une séquence de vingt résidus d'acides aminés comportant des sites de O-glycosylation. Ce VNTR est responsable du polymorphisme décrit pour cette protéine (Sacchi *et al.*, 2004). Il pourrait jouer un rôle dans la résistance aux infections par la variation du nombre de chaînes O-glycanniques (Costa *et al.*, 2008).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. ANIMAUX

Dans le but de valider la pertinence du caractère CCS comme critère de sélection dans la population caprine française, deux lignées de chèvres à numérations cellulaires respectivement élevées (CCS+) et faibles (CCS-) sont en cours de production à l'UE332 de l'INRA de Bourges (unité caprine, domaine de Galle, F-18250 AVORD). Des prélèvements de lait (traite du matin) ont été réalisés sur des laits frais individuels issus de primipares Alpine en début de lactation (quatre animaux CCS+ et six animaux CCS-).

1.2. ANALYSE DE LA COMPOSITION PROTEIQUE DE LA MFGM

Les protéines de la MFGM ont été extraites de la MG comme décrit précédemment (Fortunato *et al.*, 2003) à partir du lait issu de quatre chèvres CCS+ et de quatre chèvres CCS-. Les protéines ont été analysées par SDS-PAGE 6 et 10 %, colorées au bleu de Coomassie (qui permet de révéler les protéines totales), ou séparées par SDS-PAGE 6 % et colorées au réactif de SCHIFF (révélation des glycoprotéines totales). Des lectines reconnaissant des structures glycosylées particulières (O-GlcNAc, acides sialiques liés en ($\alpha 2,3$)) ont été également utilisées afin d'étudier l'impact de la sélection divergente basée sur le comptage de cellules somatiques (CSS+ et CSS-) sur la glycosylation des protéines majeures de la

MFGM.

1.3. ANALYSE DU POLYMORPHISME GENETIQUE DE MUC-1

Pour évaluer la taille du gène MUC-1, l'ADN génomique a été extrait du sang de vingt sept chèvres (quatorze CCS+ et treize CCS-) issues de vingt deux pères (une à trois filles par père). Les PCR ont été réalisées selon le protocole décrit par Sacchi *et al.* (avec modifications). La taille du segment du gène MUC-1 amplifié a été évaluée par séparation des produits de PCR sur gel d'agarose 0,7 %. Les données obtenues ont ensuite été analysées en modèle logistique (proc LOGISTIC de SAS (SAS, 2000)) et à l'aide du test de χ^2 .

2. RESULTATS

Les protéines majeures de la MFGM, MUC-1, xanthine oxydase, butyrophiline, lactadhérine et adipophiline (Cebo *et al.*, 2009) semblent exprimées de manière équivalente dans le lait issu de chèvres CCS+ et CCS-. De plus, nous n'avons pas observé de différence quant à la glycosylation des protéines majeures de la MFGM avec les lectines utilisées jusqu'à présent. Ces données semblent exclure une association entre le phénotype CCS et l'expression des protéines de la MFGM chez les caprins. Concernant MUC-1, nous avons observé dans la population Alpine française un polymorphisme déjà mis en évidence dans d'autres populations caprines (Sacchi *et al.*, 2004). Nous avons identifié cinq allèles principaux (1750, 1800, 1875, 1950, et >2000bp). Toutefois, la répartition des fréquences alléliques n'était pas significativement différente chez les chèvres issues de la sélection divergente. A priori, il ne semble donc pas exister de liaison significative entre la taille du gène spécifiant la protéine MUC-1 et l'appartenance à une lignée CCS. Cependant, l'effectif analysé jusqu'à présent est trop faible pour conclure définitivement sur une éventuelle association entre le nombre de VNTR et la numération cellulaire du lait chez les caprins.

CONCLUSIONS

Les études menées jusqu'à présent n'ont pas montré de différence notable en ce qui concerne l'expression des protéines de la MFGM dans le lait de chèvres issues de la sélection divergente sur la numération cellulaire (CCS+ versus CCS-). L'étude de la composition protéique de la MFGM au cours d'une infection expérimentale par *S. aureus* (analyses en cours) permettra peut être de proposer d'éventuels marqueurs biologiques précoces et fiables de l'inflammation de la mamelle dans le lait.

Cebo *et al.*, 2009 *J. Dairy Sci.* (Sous presse)

Clément, V. *et al.* 2008 15èmes Rencontres Recherches Ruminants, 15 : 405-408

Costa, N. *et al.* 2008 *World J. Gastroenterol.* 14(9) : 1411-1414

Fortunato, D. *et al.* 2003 *Proteomics* 3(6) : 897-905

Patton, S. 1999 *J. Dairy Science* 82(6) : 1115-1117

Sacchi, P. *et al.* 2004 *J. Dairy Sci.* 87(9) : 3017-3021

SAS Institute Inc., 2000. *SAS/STAT® User's Guide, Version 8*