



Caractérisation et comparaison de protéines de matrice organique des structures squelettiques de corail rouge de Méditerranée, *Corallium rubrum*



julien@centrescientifique.mc

Julien Debreuil*, Éric Tambutté, Didier Zoccola, Denis Allemand & Sylvie Tambutté**
Centre Scientifique de Monaco (CSM), MC-98000, Principality of Monaco

www.centrescientifique.mc

julien@centrescientifique.mc
stambutte@centrescientifique.mc

Contexte :

Les biominéraux sont formés d'une fraction minérale et d'une fraction organique appelée matrice organique (MO). Cette MO est majoritairement composée de protéines, de lipides, et de polysaccharides.

Les protéines de MO sont supposées avoir un rôle majeur dans le processus de biominéralisation. Elles interviendraient aussi bien au niveau de la micro-architecture que de la macro-architecture des biominéraux formés.

Introduction :

Le corail rouge de Méditerranée *Corallium rubrum* (Linnaeus, 1758), présente la particularité de posséder 2 types de structures biominérales : un axe squelettique et des sclérites (Fig. 1, B, C).

Espèce privilégiée pour l'étude des mécanismes de la biominéralisation, nous avons cherché à caractériser ses protéines de MO afin d'apporter des éléments de réponse à la question :

« Comment une même espèce est-elle capable d'élaborer deux structures squelettiques de même composition calcitique mais de taille et de forme si différentes ? ».

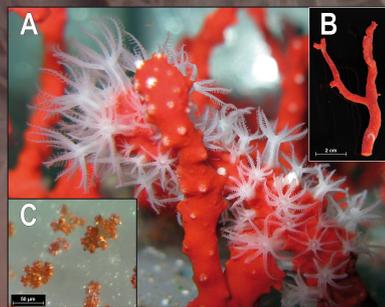


Figure 1. Colonie (A), axe squelettique (B) et sclérites isolés (C) de *C. rubrum*.

Resultats :

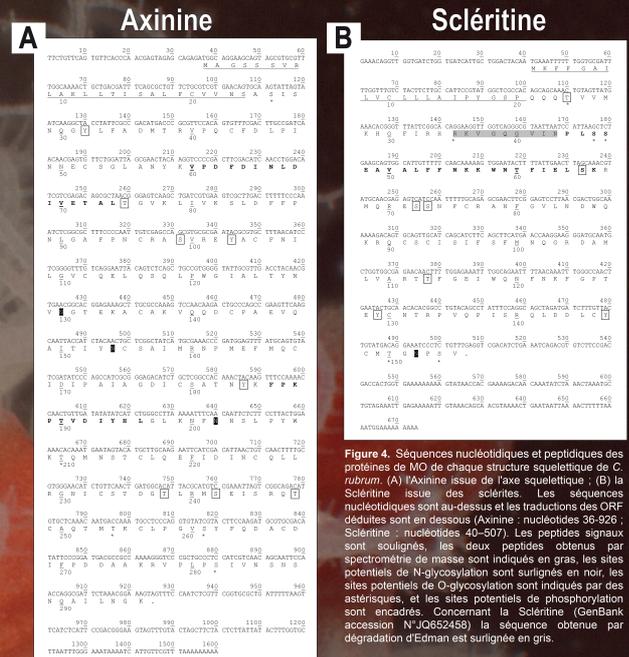


Figure 4. Séquences nucléotidiques et peptidiques des protéines de MO de chaque structure squelettique de *C. rubrum*. (A) l'Axinine issue de l'axe squelettique ; (B) la Sclératine issue des sclérites. Les séquences nucléotidiques sont au-dessus et les traductions des ORF déduites sont en dessous (Axinine : nucléotides 36-926 ; Sclératine : nucléotides 40-507). Les peptides signaux sont soulignés, les deux peptides obtenus par spectrométrie de masse sont indiqués en gras. Les sites potentiels de N-glycosylation sont surlignés en noir, les sites potentiels de O-glycosylation sont indiqués par des astérisques, et les sites potentiels de phosphorylation sont encadrés. Concernant la Sclératine (GenBank accession N°JQ652458) la séquence obtenue par dégradation d'Edman est surlignée en gris.

Resultats :

Tableau 1. Quantification des protéines des extraits de MO d'axe squelettique et de sclérites de *C. rubrum* (exprimé en pourcentage relatif par rapport à la masse sèche initiale du biominéral).

	Axe squelettique	Sclérites
Pourcentage moyen	0.007%	0.008%
Valeur moyenne (µg/mg)	0.066	0.076
	±0.014	±0.016

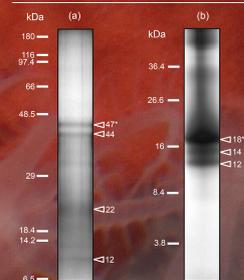


Figure 2. Electrophorèse SDS-PAGE et coloration au nitrate d'argent des extraits de MO de *C. rubrum* (10µg protéines/piste). (a) : axe squelettique (gel 12% poly-acrylamide gel) ; (b) : sclérites (gel 10.5% poly-acrylamide). Les triangles indiquent le poids moléculaire apparent (en kDa) et (*) indique les bandes sélectionnées.

Analyse des gels d'électrophorèse :

- L'axe squelettique et les sclérites présentent des quantités similaires de protéines de MO (Tab. 1).
- Les bandes protéiques majeures (Fig. 2) de MO diffèrent entre les deux structures squelettiques (i.e. 47 et 44 kDa pour l'axe squelettique ; 18, 14 et 12 kDa pour les sclérites).
- Les bandes protéiques sélectionnées pour l'analyse en spectrométrie de masse sont composées de protéines aux propriétés biochimiques bien distinctes (poids moléculaires et acidités relatives).

Analyses in silico des séquences peptidiques :

- L'Axinine** (Fig. 4A) présente :
 - une séquence peptidique de 272 acides aminés,
 - un peptide signal de 24 acides aminés,
 - un poids moléculaire calculé de 30 kDa,
 - un point isoélectrique acide de 4,8,
 - 16 sites potentiels de modifications post-traductionnelles
- La Sclératine** (Fig. 4B) présente :
 - une séquence peptidique de 135 acides aminés,
 - un peptide signal de 20 acides aminés,
 - un poids moléculaire calculé de 17,78 kDa,
 - un point isoélectrique basique de 9,35,
 - 13 sites potentiels de modifications post-traductionnelles

Conclusions et Perspectives :

- Malgré des quantités de protéines comparables, les MO d'axe squelettique et de sclérites présentent des compositions protéiques différentes.
- Les deux protéines identifiées lors de cette étude (Axinine et Sclératine) présentent des caractéristiques biochimiques très différentes (poids moléculaire, acidité relative). Toutes deux sécrétées (TargetP1.1 ; PsortII), elles présentent également de nombreux sites potentiels de modifications post-traductionnelles.
- Nous avons d'ores et déjà entamé la production de manière recombinante de ces deux protéines. Par des expériences de radiocristallisation et de précipitation de CaCO₃, nous obtiendrons des informations sur le rôle de ces protéines dans le processus de biominéralisation chez *C. rubrum*.

Remerciements :

Les auteurs remercient N. Segonds et N. Techer pour leur assistance technique. Ce projet de recherche a été financé par le Gouvernement de la Principauté de Monaco. J. Debreuil a bénéficié d'un financement du Ministère Français de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (Ecole Doctorale Diversité du Vivant N°392, Université Pierre et Marie Curie) ainsi que d'un financement postdoctoral du Centre Scientifique de Monaco.