

## Étude de la biosynthèse des acides gras hautement insaturés

Depuis 1998, l'étude de la biosynthèse des acides gras hautement insaturés (AGHI) et des  $\Delta 6$ - et  $\Delta 5$ -désaturases hépatiques impliquées dans cette voie de biosynthèse a été développée par S. D'Andréa (MCF au laboratoire entre 1998 et 2001) et par H. Guillou (AERC), dont la thèse a pour thème l'« étude de la  $\Delta 6$ -désaturase : substrats, structure et régulation par l'isoforme  $\alpha$  du récepteur activé par les proliférateurs des peroxysomes ».

La  $\Delta 6$ -désaturase catalyse la première étape de la biosynthèse des acides gras polyinsaturés (AGPI) à longue chaîne à partir des deux précurseurs indispensables à 18 carbones: l'acide linoléique (C18:2 n-6) et l'acide  $\alpha$ -linoléique (C18:3 n-3). Cette étape, généralement considérée comme l'étape limitante, participe au contrôle de la disponibilité de dérivés essentiels tels que l'acide arachidonique (C20:4 n-6) et l'acide docosahexaénoïque (C22:6 n-3). En 1999, la  $\Delta 6$ -désaturase a été clonée chez les mammifères. Plus récemment, un cas unique de déficience d'expression de la  $\Delta 6$ -désaturase a été observé chez une enfant. La sévérité des symptômes multiples décrits chez cette patiente a révélé l'importance de la  $\Delta 6$ -désaturase et la nécessité d'une meilleure connaissance de l'enzyme.

Afin de tester la spécificité de substrat de l'enzyme, un modèle cellulaire permettant l'expression de la protéine et l'étude de son activité en cellules de mammifères (cellules COS-7) a été mis au point. Nous avons mis en évidence une remarquable diversité de substrats de la  $\Delta 6$ -désaturase. Tout d'abord, l'hypothèse selon laquelle la même  $\Delta 6$ -désaturase agit à la fois sur les AGPI à 18 et à 24 carbones des séries n-6 et n-3 a été démontrée (D'Andréa *et al.*, 2002). Ensuite, le rôle de la  $\Delta 6$ -désaturase dans la voie de synthèse des acides gras des familles n-7, n-9 et n-10 a été mis en évidence. En particulier, l'activité de la  $\Delta 6$ -désaturase sur l'acide palmitique (C16:0) a été établie (Guillou *et al.*, 2003). La  $\Delta 6$ -désaturase permet la synthèse du C16:1 n-10 à partir du C16:0. Le C16:1 n-10 ou acide sapiénique est l'acide gras majoritaire du sébum humain. Le rôle de la  $\Delta 6$ -désaturase dans la synthèse *de novo* d'un acide gras absent de l'alimentation humaine usuelle renforce l'intérêt de cette observation. Ces résultats ont été synthétisés dans un article de revue qui souligne la surprenante diversité des substrats de la  $\Delta 6$ -désaturase (Guillou *et al.*, 2004).

Nous avons également mené une étude structurale de l'enzyme, en utilisant une  $\Delta 6$ -désaturase de rat recombinante produite dans le modèle cellulaire COS-7. Dans une logique d'étude comparative de la  $\Delta 6$ -désaturase à une désaturase animale connue, nous avons utilisé la  $\Delta 9$ -désaturase (SCD1) de rat comme enzyme de référence. Nos résultats indiquent que la  $\Delta 6$ -désaturase, localisée dans le réticulum endoplasmique, pourrait interagir physiquement avec les partenaires protéiques connus de la  $\Delta 9$ -désaturase : le cytochrome b5 et la NADH cytochrome b5 réductase. Cette observation contraste avec la présence d'une région homologue au cytochrome b5 fusionnée à la  $\Delta 6$ -désaturase et l'hypothèse selon laquelle la  $\Delta 6$ -désaturase pourrait fonctionner différemment de la  $\Delta 9$ -désaturase. Nous avons établi par mutagenèse dirigée l'importance d'un motif de cette région d'homologie au cytochrome b5 de la  $\Delta 6$ -désaturase pour l'activité de cette enzyme (Guillou *et al.*, 2004). Au niveau fonctionnel, le cytochrome b5 pourrait jouer un rôle dans l'activité de la  $\Delta 6$ -désaturase mais il ne semble pas pouvoir se substituer à cette région de la  $\Delta 6$ -désaturase. La  $\Delta 9$ -désaturase co-exprimée avec la  $\Delta 6$ -désaturase réduit l'activité de cette dernière. Ceci suggère que les deux enzymes, bien que très distinctes d'un point de vue structural, pourraient partager les mêmes partenaires protéiques.

De plus, grâce à une collaboration avec l'équipe de Pharmacologie Moléculaire du Laboratoire de Toxicologie de l'INRA de Toulouse, nous avons mis en évidence *in vivo* l'implication du récepteur nucléaire PPAR $\alpha$  dans la régulation de l'expression et de l'activité de la  $\Delta 6$ -désaturase chez la souris (Guillou *et al.*, 2002).

Enfin, nous avons récemment montré que l'activité de la  $\Delta 6$ -désaturase est augmentée, dans l'hépatocyte de rat en culture primaire, après une incubation de 48h en présence d'acide myristique 0,5mM (Jan *et al.*, 2004).

Tous ces éléments permettent une meilleure connaissance des substrats de l'enzyme, de sa structure et de sa régulation.

Sur cette thématique, des études cliniques sur le rôle des désaturases dans le syndrome métabolique (obésité – diabète de type II) ont également été initiées en collaboration avec le CHU de Brest (Pr. Delarue).