

POLYMORPHISME DE LA PHOSPHOGLUCOMUTASE (PGM) DANS L'ESPÈCE BOVINE (1)

M. ANSAY, R. HANSET et J. ESSER-COULON

*Chaire de Génétique, Faculté de Médecine vétérinaire (Cureghem-Bruxelles),
Université de Liège*

RÉSUMÉ

L'hétérogénéité de la phosphoglucomutase (PGM) est décrite dans l'espèce bovine. Par analogie avec les observations faites dans l'espèce humaine, l'existence de trois loci, caractérisées par une expression différente selon les tissus, paraît très probable. Le locus PGM₁ est le siège d'un polymorphisme génétique, déterminé par une paire d'allèles co-dominants. Les trois génotypes correspondants sont symbolisés par PGM₁-AA, PGM₁-AB, PGM₁-BB. La fréquence de l'allèle PGM₁-A est estimée dans quelques races bovines.

INTRODUCTION

La phosphoglucomutase (E. C. 2. 7. 5. 1. ; α -D-glucose-1-6 diphosphate : α -D-glucose-1 phosphate phosphotransférase ; PGM) catalyse la conversion du glucose-1-phosphate en glucose-6-phosphate.

Chez l'Homme, cette enzyme montre, à l'analyse, une très grande hétérogénéité : les causes en sont multiples. Ainsi, trois loci distincts contrôlent la synthèse de trois types de phosphoglucomutase (PGM₁, PGM₂, PGM₃ : variation cistronique) différemment distribués dans les tissus. (SPENCER *et al.*, 1964 ; HOPKINS et HARRIS, 1965 ; HOPKINSON et HARRIS, 1968). En outre, il existe, à chacun de ces loci, une variation allélique. Une troisième cause d'hétérogénéité, non révélée par l'électrophorèse, est due au fait que l'enzyme peut exister sous une forme phosphorylée ou non (YANKEE-LOV *et al.*, 1964). Enfin, la présence pour la PGM₁ surtout, d'isomères de configuration ou « conformers » est une quatrième source d'hétérogénéité (DAWSON et MITCHEL, 1969 ; DAWSON et YEAGER, 1970).

(1) Travail exécuté sous les auspices de l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I. R. S. I. A.).

L'objet de ce travail est de démontrer l'existence d'un polymorphisme de la phosphoglucomutase dans l'espèce bovine. Il révèle, en outre, la présence de deux zones supplémentaires, à activité PGM et à expressivité variable suivant les tissus.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le mode de préparation des extraits musculaires et leucocytaires, les méthodes d'électrophorèse ont été décrits dans une publication antérieure (ANSAY *et al.*, 1971). Les érythrocytes lavés par du NaCl à 0,9 p. 100, sont hémolysés, après addition d'un volume égal d'eau distillée, par congélations et décongélations successives. Ils sont ensuite centrifugés à 100 000 g.

Les gels mixtes d'acrylamide (cyanogène 41 : 5 p. 100) et de gélose (1 p. 100) (URIEL, 1966) se sont révélés favorables à l'étude de cette enzyme.

Selon un mécanisme non encore parfaitement élucidé, le glucose 1-6 diphosphate participe à la réaction catalysée par la phosphoglucomutase.

Le glucose 1-6 diphosphate est habituellement présent à l'état de traces dans le glucose-1-phosphate d'origine commerciale (Sigma ou Boehringer) et il suffit, comme tel, à la révélation d'extraits, tels les extraits musculaires, naturellement riches en PGM.

Cependant, et ceci confirme les données de HOPKINSON et HARRIS (1968), l'addition de glucose-1-6-diphosphate (1,5 μ mole pour 100 μ moles de glucose-1-phosphate) accélère considérablement la réaction et surtout, permet la mise en évidence de bandes plus discrètes, telles celles de la PGM₂ des globules rouges ou de la PGM₃ du placenta.

La révélation du zymogramme se réalise selon une méthode positive dont les modalités ont été déjà décrites (ANSAY *et al.*, 1971). La composition du mélange réactionnel, exprimée en concentration finale, est la suivante :

Gélose, 1 p. 100.

Tris-HCl, pH 7,2, 70 mM.

Nicotineamide adénine dinucléotide phosphate (NADP Sigma), 0,13 mM.

Glucose 1-phosphate disodique (Boehringer), 4 mM.

Glucose 1-6-diphosphate, sel tétracyclohexylammonique (Boehringer), 0,05 mM.

MTT tétrazolium (Sigma), 0,3 r. 1 000 (poids/volume).

Phénazine méthosulfate (PMS) (Sigma), 0,02 p. 1 000 (poids/volume).

Glucose-6-phosphate déhydrogénase (Boehringer), 0,7 UI/ml.

RÉSULTATS

A. — Expression tissulaire

Trois zones d'activité de la phosphoglucomutase apparaissent dans les phérogrammes de tissus bovins. Chacune de ces zones est représentée de façon caractéristique, selon le tissu.

Si la zone la plus lente (PGM₁) est prépondérante dans tous les tissus examinés, elle est la seule à se manifester, avec éventuellement des isozymes de conformation, dans le muscle squelettique ou cardiaque. C'est cette zone qui est le siège de variants génétiques (fig. 1 a, b).

Une deuxième bande (PGM₂) à migration anodique plus rapide et n'ayant pas montré de variants, se révèle dans les zymogrammes de foie, de rein, de globules blancs, de globules rouges et de placenta (fig. 1 c).

Les cotylédons placentaires d'origine foetale ou maternelle montrent une troi-

sième zone d'activité (PGM_3) à déplacement anodique plus rapide encore que PGM_2 (fig. 1 d).

La présence d'isozymes de conformation est caractéristique de la zone PGM_1 musculaire. Ils apparaissent le mieux à pH 8,7 (fig. 1 a) et beaucoup moins bien à pH 6,7 (fig. 1 b).

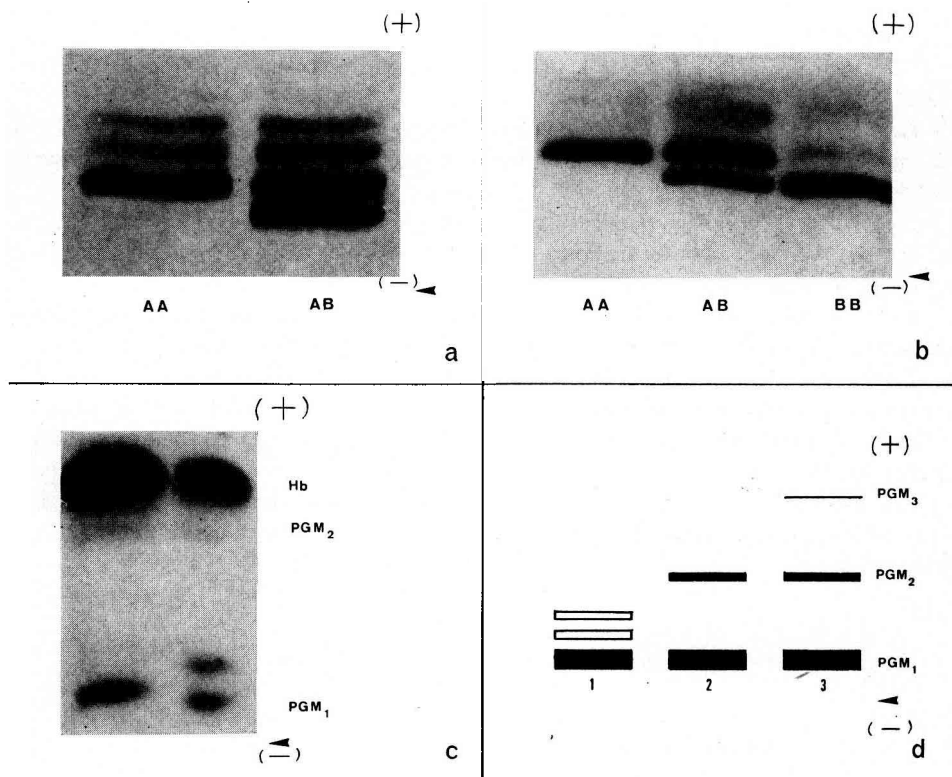


FIG. 1

- Électrophorèse en gel mixte d'acrylamide-gélose selon URIEL (1966), pH 8,75, 500 volts, 45 minutes. Extraits musculaires de phénotype AA et AB. Démonstration des isozymes de conformation.
- Électrophorèse en gel d'amidon (14 p. 100). Tampon de SHOWS et al. (1969), pH 6, 7, 500 volts, 1 heure. Extraits musculaires. Les 3 phénotypes sont démontrés.
- Électrophorèse en gel d'amidon (14 p. 100). Tampon d'URIEL (1966), pH 8,75, 500 volts, 1 heure. Extraits érythrocytaires. Démonstration de 2 phénotypes de la PGM_1 et mise en évidence de la PGM_2 .
- Représentation schématique des formes enzymatiques correspondant au locus PGM_1 et aux deux autres loci supposés :
 - Extrait de muscle. PGM_1 et isozymes de conformation.
 - Extrait de globules blancs. PGM_1 et PGM_2 .
 - Extrait de placenta. PGM_1 , PGM_2 et PGM_3 .

B. — Description des phénotypes (PGM_1)

Les zymogrammes réalisés à partir d'extraits musculaires, leucocytaires ou érythrocytaires de nombreux animaux révèlent l'existence de trois phénotypes.

Ils sont reproduits figure 1 b. Deux phénotypes n'ont qu'une bande : phénotype AA et phénotype BB ; le troisième a deux bandes : phénotype AB.

Dans la figure 1 a, les phénotypes AA et AB sont représentés avec leurs sous-bandes correspondant aux isozymes de conformation.

Le mélange en proportions égales d'extraits caractérisés par la présence d'une bande, lente ou rapide, révèle un zymogramme identique à celui des individus à deux bandes.

C. — Analyse génétique

L'existence de trois phénotypes permet de poser l'hypothèse d'une paire d'allèles (A et B) avec les génotypes AA, BB et AB.

Les deux phénotypes à une bande répondraient, suivant cette hypothèse, aux génotypes AA ou BB selon que cette bande présente une vitesse de migration comparativement rapide ou lente.

Le génotype AB correspondrait au phénotype à 2 bandes. Dans le cas du muscle, quand les isozymes de conformation sont présents, les différences de mobilité affectent le groupe de bandes dans son ensemble.

Un taureau de race de *Moyenne et Haute Belgique* utilisé au Centre d'insémination artificielle de la province de Liège possédait le phénotype AB à deux bandes. Croisé avec 25 vaches de phénotype BB (génotype BB), sa descendance s'est répartie en 2 classes : 14 individus de phénotype AB et 11 individus de phénotype BB (tabl. 1).

Le croisement réciproque (σ BB \times φ AB), a donné les deux mêmes catégories d'individus (tabl. 1).

Les proportions obtenues sont au total, pour ces deux derniers types de croisement, celles que l'on attend du croisement d'un hétérozygote avec des homozygotes (1 : 1).

TABLEAU I

Les phénotypes dans la descendance de différents croisements (PGM₁)

Phénotypes parentaux		Phénotypes des descendants		
σ	φ	AA	AB	BB
AB	BB	—	14	11
BB	AB	—	1	4
BB	BB	—	—	19

Le croisement σ BB \times φ BB n'a donné que des descendants BB (tabl. 1).

Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse de deux allèles co-dominants pour lesquels on peut proposer la symbolisation suivante : PGM₁-A, pour l'allèle déterminant la bande la plus rapide, PGM₁-B, pour l'allèle, plus commun, déterminant la bande lente.

D. — Distribution raciale

La fréquence de l'allèle PGM₁-A, l'allèle le moins fréquent, a été estimée dans quatre races bovines, exploitées en Belgique. Les résultats figurent dans le tableau 2.

La fréquence du gène PGM₁-A est très élevée, dans l'échantillon de vaches *Jersey*. Cette race n'est représentée, en Belgique, que par un nombre restreint d'individus. Dès lors, la fréquence obtenue n'est pas nécessairement représentative de la race *Jersey*, en général.

TABLEAU 2

La fréquence de l'allèle PGM₁-A dans quelques races bovines

Race	Nombre d'animaux testés	Fréquence du gène (%)	Intervalle de confiance 95 %
<i>Moyenne et Haute Belgique</i> .	148	7,4	4,8-11,0
<i>Pie-Noire</i> (Hollandaise) ...	101	5,9	3,1-10,5
<i>Pie-Rouge</i> (MRY)	94	7,4	4,2-12,3
<i>Jersey</i>	27	31,5	19,1-45,0

Pour les trois autres races envisagées, *Moyenne et Haute Belgique*, *Pie Noire*, *Pie Rouge* (MRY), la fréquence du gène est, en moyenne, de 7 p. 100 (intervalle de confiance 95 p. 100 : 5,1-9,2).

DISCUSSION

L'analogie que présente la phosphoglucomutase d'origine bovine avec la phosphoglucomutase humaine est frappante.

Trois loci différents et indépendants y ont été décrits par SPENCER *et al.* (1964) ; HOPKINSON et HARRIS (1965) ; HOPKINSON et HARRIS (1968). Ils diffèrent par l'inégalité de leur expression tissulaire, par leur vitesse de migration électrophorétique et sont tous trois l'objet d'une variation allélique.

La PGM d'origine bovine, présente à l'électrophorèse divers isozymes dont l'expression tissulaire est semblable à celle de la PGM humaine ; l'ordre de migration dans le champ électrophorétique est semblable dans les deux espèces. Cependant, si le locus PGM₁ a pu être sûrement identifié par une variation allélique, il n'en est pas de même pour les deux autres qui jusqu'ici, n'ont pas révélé de polymorphisme.

Chez la souris, SHOWS *et al.* (1969) ont décrit un polymorphisme de la PGM. Les deux zones majeures habituellement présentes sont sous le contrôle de deux loci génétiques PGM₁ et PGM₂.

Le phénotype hétérozygote bovin se manifeste par la présence de deux bandes seulement : cela le différencie de la MOR₁ bovine (ANSAY *et al.*, 1971) qui présentait trois bandes à l'état hétérozygote. Ce fait est, de plus, en accord avec les travaux de JOSHI *et al.* (1967) indiquant que la phosphoglucomutase est constituée d'une seule chaîne polypeptidique.

Reçu pour publication en septembre 1971.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements au docteur J. MARCOURT, directeur du Centre I. A. de la Province de Liège pour sa collaboration dans la récolte du matériel utile à l'analyse génétique.

Nous remercions également MM. F. GROSCLAUDE et J.-J. LAUVERGNE pour leurs suggestions concernant la formulation de nos conclusions.

SUMMARY

POLYMORPHISM OF BOVINE PHOSPHOGLUCOMUTASE (PGM)

The heterogeneity of bovine phosphoglucumutase is described. In analogy with the human species, the existence of three loci appears very likely. Genetic variants occur in locus PGM₁. They define a locus with two co-dominant alleles (suggested symbols : PGM₁-AA, PGM₁-AB, PGM₁-BB). The frequency of the allele PGM₁-A is estimated in four breeds of cattle.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANSAY M., HANSET R., ESSER-COULON J., 1971. La malate déshydrogénase mitochondriale ; variants électrophorétiques de nature héréditaire dans l'espèce bovine. *Ann. Génét. Sé. anim.* (sous presse).
- DAWSON D. M., MITCHELL A., 1969. The isoenzymes of phosphoglucumutase. *Biochemistry*, **8**, 609-614.
- DAWSON D. M., JAEGER S., 1970. Heterogeneity of phosphoglucumutase. *Biochem. Genet.*, **4**, 1-10.
- HARRIS H., 1970. *The principles of human biochemical genetics*. North Holland Publishing Company. Amsterdam-London.
- HOPKINSON D. A., HARRIS H., 1965. Evidence for a second « structural » locus determining human phosphoglucumutase. *Nature*, **208**, 410-412.
- HOPKINSON D. A., HARRIS H., 1968. A third phosphoglucumutase locus in man. *Ann. Hum. Genet.*, **31**, 359-367.
- JOSHI J. G., HOOPER J., KUWAKI T., SAKURADA T., SWANSON J. R., HANDLER P., 1967. Phosphoglucumutase, V, Multiple forms of phosphoglucumutase. *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, **57**, 1482-1489.
- SHOWS T. B., RUDDLE F. H., RODERICK T. H., 1969. Phosphoglucumutase electrophoretic variants in the mouse. *Biochem. Genet.*, **3**, 25-35.
- SPENCER N., HOPKINSON D. A., HARRIS H., 1964. Phosphoglucumutase polymorphism in man. *Nature*, **204**, 742-745.
- URIEL J., 1966. Méthode d'électrophorèse dans des gels d'acrylamide-agarose. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **48**, 969-982.
- YANKEELOV J. A. JR., HORTON H. R., KOSHLAND D. E. JR., 1964. A chromatographic study of phosphoglucumutase : separation of Phospho- and dephospho-enzyme forms. *Biochemistry*, **3**, 349-355.