

# Structure des glycanes des immunoglobulines sIgA du lait de femme

par

Annick PIERCE-CRETEL et Geneviève SPIK\*

*Mots clés*

Immunoglobulines A - Glycanes - Lait de femme.

*Titre abrégé*

Structures des glycanes des sIgA.

*Key words*

Immunoglobulins - Glycans - Human milk.

*Title*

Structure of the glycans of secretory immunoglobulin IgA from human milk.

## Summary

*Secretory IgA immunoglobulins (sIgA) of human milk play an important role in the protection of infant against intestinal infection. In order to determine the biological role of the sIgA carbohydrate moiety, particularly in the inhibition of bacterial adhesion on enterocytes in which are involved cell lectins (adhesins), we have undertaken the study of the primary structure of N-and O-glycosidically linked sIgA glycans. The results we obtained show an amazing heterogeneity of glycan structures, some of which are described.*

---

\* Laboratoire de Chimie Biologique de l'Université des Sciences et Techniques de Lille I et Laboratoire associé au C.N.R.S. n° 217 - 59655 Villeneuve-d'Ascq Cedex.

## INTRODUCTION

Le lait humain représente une source importante d'immunoglobulines IgA de sécrétion (sIgA). Il renferme de 1 à 2 g par litre des deux sous-classes sIgA<sub>1</sub> et sIgA<sub>2</sub> dans les proportions de 1 pour 3. Les sIgA se caractérisent par la présence de deux monomères d'IgA joints par une pièce de jonction et par une pièce de sécrétion qui vient s'insérer entre ces monomères (voir revues générales de Heremans, 1974 de Brandtzaeg, 1981). Les sIgA renferment 12 p.100 de glucides qui se répartissent en deux types de glycannes suivant leur mode de fixation sur la chaîne peptidique. Les glycannes liés N-glycosidiquement sont localisés sur les chaînes lourdes, la pièce de jonction et la pièce de sécrétion, tandis que les glycannes liés O-glycosidiquement le sont uniquement dans la zone charnière des chaînes lourdes de type  $\alpha_1$ . En effet, une délétion de 15 résidus d'acides aminés au niveau de la zone charnière de la chaîne de type  $\alpha_2$  entraîne la perte des sites de glycosylation des glycannes liés O-glycosidiquement.

## METHODES

Les sIgA sont préparées à l'état pur à partir d'un mélange de lait de lactarium (Pierce-Cretel *et al.*, 1981). La zone charnière, constituée essentiellement de résidus de Ser, Thr et Pro est difficilement hydrolysée par des enzymes protéolytiques et peut être isolée en bloc après hydrolyse trypsique et pepsique (Frangione et Wolfenstein-Todel, 1972).

Les glycannes liés à cette zone charnière sont libérés par  $\beta$ -élimination en milieu réducteur (Carlson, 1966). Ils sont ensuite séparés par gel filtration sur colonne de Sephadex G-25, par chromatographie d'échangeurs d'ions sur colonne de Dowex 1  $\times$  2 et par chromatographie sur papier (Pierce-Cretel *et al.*, 1981).

Après hydrolyse trypsique et pepsique, la fraction renfermant les glycannes liés N-glycosidiquement est hydrolysée par la pronase. Le mélange des glycopeptides est séparé en sialoglycopeptides qui

sont ensuite isolés par électrophorèse (Pierce-Cretel *et al.*, 1982) et en asialoglycopeptides qui sont fractionnés par chromatographie sur Concanavaline A et sur lectine de *Lens culinaris* immobilisées.

Les procédés d'étude de la structure des glycanes des sIgA ont été précédemment décrits (Pierce-Cretel *et al.*, 1981 et 1982) (Strecker *et al.*, 1981).

## RESULTATS

L'étude des glycanes liés O-glycosidiquement aux sIgA<sub>1</sub> montre qu'il existe cinq sites de glycosylation qui font intervenir de la N-acétylgalactosamine et des résidus de sérine et de thréonine. Les glycanes possèdent une structure très hétérogène et comportent de 2 à 10 résidus de monosaccharides. Toutes les structures glycaniques dérivent de la substitution du disaccharide Gal ( $\beta$  1-3) GalNAc par des résidus de galactose, de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylneuraminique en nombre variable. La structure des glycanes A à E est donnée dans la fig. 1.

L'étude des glycanes liés N-glycosidiquement révèle également une très grande hétérogénéité structurale. La fraction sialylée renferme un disialoglycopeptide (glycopeptide II) et quatre monosialoglycopeptides (fig. 2). La fraction asialoglycopeptidique est, elle aussi, hétérogène. Elle est constituée de glycanes de type N-acétyllactosaminique biantennés, caractérisés essentiellement par la présence d'un résidu de GlcNAc ( $\beta$  1-4) lié au Man ( $\alpha$  1-4). L'asialoglycopeptide A fucosylé décrit dans la fig. 3 est le glycopeptide majeur. Les autres asialoglycopeptides dérivent de la structure de l'asialoglycopeptide A par l'absence, soit du résidu de Gal ( $\beta$  1-4), soit du chaînon Gal ( $\beta$  1-4) GlcNAc ( $\beta$  1-2) liés toujours sur le Man ( $\alpha$  1-3). La fraction asialoglycopeptidique renferme, d'autre part, des structures plus complexes (B, C et D) qui possèdent de un à trois chaînons de fucosyl-N-acétyllactosamine supplémentaires liés sur une structure de type asialo-N-acétyllactosaminique biantennée (fig. 3).

## DISCUSSION

Les IgA de sécrétion présentent une grande hétérogénéité structurale et la question qui se pose est de savoir s'il existe une relation entre l'hétérogénéité glycanique et la fonction anticorps ? Il semble





- IZHAR (M.), NUCHAMOWITZ (Y.) and MIRELMAN (D.) (1982). — Adherence of *Shigella flexneri* to Guinea Pig intestinal cells is mediated by a mucosal adhesin. *Infect. Immunity*, 35, 1110-1118.
- PIERCE-CRETEL (A.), PAMBLANCO (M.), STRECKER (G.), MONTREUIL (J.) and SPIK (G.) (1981). — Heterogeneity of the glycans O-glycosidically linked to the hinge region of secretory immunoglobulins from human milk. *Eur. J. Biochem.*, 114, 169-178.
- PIERCE-CRETEL (A.), PAMBLANCO (M.), STRECKER (G.), MONTREUIL (J.) and SPIK (G.) (1982). — Primary structure of the N-glycosidically linked sialoglycans of human milk sIgA. *Eur. J. Biochem.*, 125, 383-388.
- PLAUT (A. G.) and KORNFIELD (S. J.) (1981). — Secretory immunity and the bacterial IgA proteases. *Rev. Infect. Dis.*, 3, 521-534.
- STRECKER (G.), PIERCE-CRETEL (A.), FOURNET (B.), SPIK (G.) and MONTREUIL (J.) (1981). — Characterization by gas-liquid chromatography-mass spectrometry of oligosaccharides resulting from the hydrazinolysis-nitrous acid deamination reaction of glycopeptides. *Anal. Biochem.*, 111, 17-26.
-