

**BIOMINÉRALISATION DE LA COQUILLE DE L'ŒUF DE POULE :
CARACTÉRISATION DES PROTÉINES DE LA MATRICE ORGANIQUE IMPLIQUÉES
DANS L'INITIATION DE LA MINÉRALISATION¹**

par Pauline **Marie**

Jean-Claude Blum². – Le dépôt du calcium sous forme de carbonate pour former une coquille protectrice n'est pas l'apanage des oiseaux. Divers animaux élaborent des structures minérales semblables à celle de la coquille de l'œuf, qu'il s'agisse d'invertébrés (mollusques, crustacés) ou de l'exosquelette des coraux. Ce qui fait l'originalité du modèle poule, c'est l'intensité et la rapidité incomparable du processus. L'œuf est formé, après capture du jaune et parcours dans l'oviducte, en à peine plus de 24 heures par dépôts successifs du blanc, de la membrane coquillière et finalement de la coquille dans l'utérus (fin de son parcours) où il séjourne environ 19 heures. Relativement court, ce laps de temps suffit à l'élaboration d'une coquille de 6 grammes, soit 5 grammes de carbonate de calcium cristallisés sous forme de calcite. Les 2 grammes de calcium nécessaires sont d'origine alimentaire, mais avec la participation du squelette grâce à un emprunt relais transitoire suivi d'une reconstitution rapide.

En période active de ponte quotidienne, l'expulsion d'un œuf enclenche l'ovulation et la formation de l'œuf suivant, de sorte qu'il est possible de suivre son développement et de faire des prélèvements, en ce qui concerne la coquille à un stade précis de la calcification. C'est ce qu'a fait Pauline Marie en distinguant 3 stades : l'initiation (6 à 10 heures après ovulation), la croissance (10 à 22 h. après ovulation) pendant laquelle le dépôt, très rapide, structure la coquille en colonnes de calcite et le stade terminal (22 à 24 h. après ovulation). Les échantillons de coquille en formation ont été analysés grâce à la collaboration avec une équipe espagnole spécialisée dans l'étude de la structure cristallographique. L'examen microscopique montre que la minéralisation débute par l'accumulation de disques aplatis de carbonate de calcium amorphe au niveau des cônes mamillaires de la membrane coquillière. À ce niveau, apparaissent également des petits cristaux de calcite. Le caractère amorphe du dépôt primitif est attesté par la faible diffraction des rayons X et l'examen au microscope électronique. En même temps, la spectroscopie infrarouge et la microscopie électronique de transmission à haute résolution confirment l'apparition de calcite à l'état naissant. Le carbonate amorphe présent autour des noyaux mamillaires se dissout progressivement pour être transformé en grand cristaux de calcite. Dans ce milieu acellulaire, le fluide utérin joue le rôle d'interface : saturé en ions calcium et carbonate, il assurerait un apport constant de carbonate de calcium amorphe. Placé en avant du front de minéralisation, ce carbonate amorphe serait le précurseur transitoire du dépôt de calcite. Pendant la phase de croissance rapide, la coalescence des cristaux de calcite déforme leur structure primitive et contribue à l'organisation colonnaire qui assure la solidité de la coquille. Pour la première fois, l'intervention du carbonate de calcium amorphe est mise en évidence au cours de la biominéralisation de la coquille de l'œuf, ce qui rapproche ce processus de celui observé chez les invertébrés où le dépôt de carbonate amorphe précède la transformation en calcite.

¹ Thèse de Doctorat de l'Université de Tours soutenue le 20 mai 2015.

² Membre de l'Académie d'Agriculture de France.

La coquille comprend 95 p. cent de carbonate de calcium, 1, 5 p. cent d'eau et 3, 5 p. cent de constituants organiques, pour l'essentiel des protéines, des protéoglycanes et des polysaccharides. La présence de protéines autour et dans la coquille à toutes les étapes de sa formation (transporteurs d'ions Ca et carbonate, noyaux mamillaires, fluide utérin) a incité Pauline Marie à recherché leur rôle dans la biocalcification. Elle a réalisé une importante étude du protéome de la coquille et du fluide utérin aux différents stades de calcification indiqués plus haut (initiation, croissance, phase terminale) en utilisant toutes les méthodes classiques de séparation, d'identification et d'évaluation quantitative des protéines. En éliminant les redondances existantes par une analyse bioinformatique, P. Marie a pu établir deux listes cohérentes des constituants de la matrice organique composées de 550 protéines pour le fluide utérin et de 675 protéines pour la coquille, 94 protéines étant identifiées pour la première fois dans le fluide utérin et 24 dans la coquille. Les variations d'abondance des protéines au cours de la calcification laissent supposer un rôle spécifique de certaines d'entre elles. Leur étude fonctionnelle implique 77 protéines susceptibles d'intervenir dans le processus de minéralisation, directement ou indirectement d'une façon complexe. L'analyse prenant en compte les résultats obtenus et les données de la bibliographie permet d'identifier 3 groupes fonctionnels :

- 15 protéines (albumine, lysozyme, ovotransferrine, ...), qui sont surabondantes au moment de l'initiation, peuvent fixer le calcium et modifier *in vitro* les cristaux de calcite.
- 10 protéines ont une influence indirecte : protéines chaperonnes liant les protéines actives, protéases et inhibiteurs de protéases, kinases.
- 20 protéines ont une activité antimicrobienne et participent à la protection des constituants de l'œuf et du futur embryon

Au total, la thèse de Pauline Marie est une contribution importante à l'analyse des mécanismes qui assurent la biominéralisation dans un système vivant acellulaire. Le dépôt progressif faisant intervenir le carbonate amorphe avant cristallisation en calcite est un résultat acquis. Le rôle des protéines de la matrice est mis en évidence. Mais le processus apparaît complexe. Il faudra sans doute de nouvelles et nombreuses recherches pour comprendre exactement son déroulement et l'implication des facteurs responsables. La thèse de P. Marie n'en constitue pas moins un point de départ essentiel à toute nouvelle investigation et, de ce fait, on peut considérer que c'est une thèse de très bonne qualité.