

**Les nouvelles de ce numéro ont été préparées par :**  
**Michel Aigle**<sup>(1)</sup>  
**Jean-Claude Brouet**<sup>(2)</sup>  
**Elisabeth Bursaux**  
**Erick Denamur**<sup>(3)</sup>  
**Jean-Philippe Deslys**<sup>(4)</sup>  
**Dominique Dormont**<sup>(4)</sup>  
**Jean-Claude Dreyfus**  
**Jean-Pierre Grünfeld**  
**Axel Kahn**  
**Corinne Lasmézas**<sup>(4)</sup>  
**Yves Lévy**<sup>(2)</sup>  
**Vincent Lotteau**  
**Marc Peschanski**  
**Jacques Rochette**<sup>(5)</sup>  
**Christian de Rouffignac**<sup>(6)</sup>  
**Thierry Soussi**<sup>(7)</sup>

## SOMMAIRE DES NOUVELLES BRÈVES

L'acidification des forêts : animaux en péril (p. 721).

Amylose systémique héréditaire à prédominance rénale (p. 721).

Entrée sélective des protéines dans la voie de sécrétion (p. 725).

Les cytochromes P450 (CYP) (p. 725).

Le diabète insipide néphrogénique autosomique récessif est dû à des mutations du gène de l'aquaporine 2 (p. 727).

Succès de la lutte biologique contre les marées noires (p. 731).

Les épidermolyses bulleuses jonctionnelles (p. 731).

Nef provoque l'endocytose du CD4 (p. 732).

La vie des précurseurs lymphoïdes B, mais non celle des précurseurs T, est prolongée par Bcl-2 (p. 732).

Des aires corticales sont différenciées avant la mise en place des connexions afférentes (p. 733).

Thromboses veineuses, protéine C et facteur V (p. 733).

Le taxol ralentit la progression de la polykystose rénale congénitale (p. 735).

Des mutations dans les gènes de Fas et du ligand de Fas causent, chez la souris, un syndrome lymphoprolifératif généralisé (p. 735).

*lin-14* et *lin-4* de *C. elegans*, sens et anti-sens (p. 737).

Un facteur de régénération des îlots de Langerhans (p. 737).

Un déficit en cytochrome b5 (p. 741).

*Hox 11* contrôle la genèse de la rate (p. 741).

Les effets différentiels des apolipoprotéines E3 et E4 sur la croissance des neurites *in vitro* (p. 743).

Le gène callipyge du mouton (p. 743).

Mécanisme transcriptionnel de la régulation par les stérols (p. 746).

Protéinose alvéolaire congénitale et déficit en apoprotéine B du surfactant (p. 746).

Syndrome de l'X fragile et activité de liaison à l'ARN (p. 747).

Rôle physiologique de l'hormone hypercalcémianté paraneoplasique dans le développement du squelette (p. 747).

Anomalies immunitaires des souris sans chaîne  $\gamma$  des récepteurs Fc des Ig (p. 747).

Le gène de la paralysie périodique hypokaliémique est localisé sur le bras long du chromosome 1 (p. 748).

La souris qui synthétise des anticorps humains (p. 748).

## Calnexine : un chaperon moléculaire transmembranaire

(1) Cnrs-Biotechnologie, Laboratoire de génétique, avenue des Facultés, 33405 Talence Cedex, France.

(2) Laboratoire d'immunopathologie, Institut d'hématologie, Hôpital Saint-Louis, 1 avenue Claude-Vellefaux, 75475 Paris Cedex 10, France.

(3) Inserm U. 120, 48 boulevard Serrurier, 75019 Paris, France.

(4) Laboratoire de neuropathologie expérimentale et neurovirologie, CEJ/CRSSA, DSV/DPTE, BP 6, 92265 Fontenay-aux-Roses Cedex, France.

(5) Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

(6) Département de biologie cellulaire et moléculaire, Centre d'Études de Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

(7) Inserm U. 301, 27, rue Juliette-Dodu, 75010 Paris, France.

Dans les cellules eucaryotes, les protéines synthétisées sur des polysomes liés aux membranes du réticulum endoplasmique (RE) possèdent très généralement une séquence signal hydrophobe qui s'associe à un complexe nucléoprotéique appelé SRP (*signal recognition particule*). Ce contact ralentit la vitesse d'élongation de la chaîne polypeptidique jusqu'à ce que le SRP se lie à son récepteur (SR), sur la face cytoplasmique de

la membrane du RE. La séquence signal est alors libérée, l'élongation reprend et la protéine naissante s'insère dans la membrane (*m/s* n° 1, vol. 4, p. 57). Une fois «transloquées», les protéines, non retenues dans le RE, sont exportées vers l'appareil de Golgi. Pour sortir du RE, elles doivent acquérir une structure tridimensionnelle conforme aux contrôles de qualité qui régissent l'export vers l'appareil de Golgi. Ce

repliement est plus ou moins rapide selon les protéines et s'effectue souvent grâce à l'aide de protéines chaperons. Parmi elles se trouverait la calnexine, une phosphoprotéine membranaire qui lie le calcium dans le RE et s'associe à des glycoprotéines transmembranaires multimériques. L'association de la calnexine avec la machinerie de translocation protéique, beaucoup plus stable qu'avec d'autres complexes, pourrait permettre à la calnexine d'interagir rapidement et transitoirement avec les polypeptides en cours de synthèse.

Dans les cellules d'hépatome humain HepG2, par exemple, les glycoprotéines nouvellement synthétisées s'associent individuellement à la calnexine préexistante, une caractéristique non partagée par les protéines non glycosylées ou déglycosylées [1]. Cela ne signifie pas pour autant que la calnexine se lie directement aux oligosaccharides, ou que ceux-ci apportent des informations sur l'état conformationnel de la protéine. L'importance des N-glycosylations dans le repliement et le transport des protéines est largement documentée et la mutagenèse des sites de glycosylation provoque souvent des repliements aberrants, l'agrégation et l'inhibition du transport des polypeptides et leur association avec BiP (*binding immunoglobulin protein*). Les glycosylations pourraient diminuer le risque d'agrégation des protéines, inhiber ainsi leur association avec BiP et favoriser leur liaison à la calnexine. Les glycoprotéines, partiellement bien structurées, seraient reconnues par la calnexine et la vitesse de dissociation des deux partenaires serait fonction de la rapidité avec laquelle les glycoprotéines adoptent une conformation leur permettant d'être transportées. Dans les cellules HepG2, les glycoprotéines nouvellement synthétisées s'associeraient aux chaperons moléculaires membranaires, dont la calnexine est le principal représentant, et les protéines non glycosylées seraient prises en charge par les chaperons solubles, comme BiP.

Une démonstration directe du rôle

de la calnexine dans l'assemblage des complexes multimériques vient d'être apportée par l'étude des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Le CMH-I présente les peptides antigéniques aux lymphocytes T cytotoxiques et est composé d'une chaîne lourde, transmembranaire et glycosylée, associée à une chaîne légère, soluble, la  $\beta$ 2-microglobuline ( $\beta$ 2-m). L'assemblage a lieu rapidement dans le RE et la structure de l'hétérodimère est stabilisée par la fixation des peptides, d'origine cytosolique, « transloqués » par des transporteurs spécifiques [2, 3]. Chez la souris, en l'absence de transporteurs fonctionnels, les complexes sont dépourvus de peptides et transportés très lentement vers l'appareil de Golgi. Des molécules du CMH-I, vides de peptides, peuvent aussi être produites après transfection des ADNc dans les cellules de drosophile qui ne possèdent pas ce système de translocation peptidique à travers la membrane du RE [4]. A la différence de ce qui est observé dans les cellules de souris, le CMH-I exprimé par les cellules de drosophile est rapidement transporté vers l'appareil de Golgi. Il existe donc, dans les cellules de mammifères, un mécanisme de rétention des molécules du CMH-I non associées à des peptides, qui est absent ou non fonctionnel dans les cellules d'insectes. C'est à la calnexine que vient d'être imputée cette originalité [5]. L'introduction de la calnexine dans les cellules d'insectes (par transfection des ADNc) modifie le transport du CMH-I vide qui devient semblable au transport du CMH-I vide des cellules de souris déficientes en transporteurs peptidiques. En outre, la calnexine abroge le transport des chaînes lourdes non complexées aux chaînes légères et les protège de la dégradation. Dans le RE, la calnexine retiendrait à la fois ces chaînes lourdes et les hétérodimères vides, constitués d'une chaîne lourde, partiellement conformée, associée à la  $\beta$ 2-m. Le relargage de la chaîne lourde aurait lieu lors de l'acquisition d'une conformation

permettant le transport, un phénomène très largement dépendant de la fixation des peptides endogènes et de la  $\beta$ 2-m. A ce stade, l'approvisionnement en peptides de forte affinité dans le RE est limitant, et les différents allèles de CMH-I exprimés par une cellule entrent probablement en compétition pour capter les peptides disponibles. Ainsi, en partie grâce à la calnexine, seuls les complexes CMH-I associés à des peptides endogènes peuvent atteindre la surface cellulaire. Cela évite que des molécules incomplètement assemblées atteignent la surface et s'associent à des peptides exogènes, ce qui pourrait provoquer la destruction de cellules normales par les lymphocytes cytotoxiques.

L'assemblage et le transport des molécules du CMH-II (présentatrices des peptides exogènes aux lymphocytes T auxiliaires) ont été bien étudiés et comportent aussi une étape d'association à la calnexine [6]. Le CMH-II consiste en deux sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ , associées, à l'intérieur de la cellule, à plusieurs formes de chaîne invariante (Ii). Dans le RE, les complexes  $\alpha\beta I_i$  forment une structure nonamérique par addition successive de trois dimères  $\alpha\beta$  sur un trimère de chaîne invariante [7]. La calnexine s'associe rapidement et individuellement aux sous-unités  $\alpha$ ,  $\beta$  et Ii nouvellement synthétisées et ne se sépare du complexe  $\alpha\beta I_i$  que lorsque que le dernier dimère  $\alpha\beta$  est ajouté pour former la structure nonamérique définitive. La dissociation de la calnexine précède le transport des complexes  $\alpha\beta I_i$  vers l'appareil de Golgi. En l'absence de chaîne invariante, la majorité des complexes n'est pas transportée et s'associe à des chaperons solubles du RE. Il existerait donc un relais de chaperons solubles et membranaires qui stabiliserait des portions différentes des sous-unités du CMH-II jusqu'à leur oligomérisation complète et leur transport.

Le maintien de la calnexine elle-même dans le RE est effectué par son extrémité cytoplasmique qui possède une suite d'acides aminés



chargés semblable aux motifs de rétention identifiés sur d'autres protéines transmembranaires retenues dans le RE. Lorsque ce motif est délété, la calnexine mutante sort du RE et se concentre dans l'appareil de Golgi [8]. Après élimination de toute la région intracytoplasmique, le mutant est détecté non seulement dans l'appareil de Golgi mais aussi en surface et dans les lysosomes. La calnexine s'associe aux sous-unités non complètement assemblées du récepteur de l'antigène, et en particulier à la chaîne CD3ε. CD3ε, exprimée seule, est maintenue dans le RE par un motif de rétention mais, lorsqu'elle est coexprimée avec les formes sauvages et mutantes de la calnexine, sa distribution intracellulaire suit strictement celle de la calnexine. Cela suggère, à nouveau, que la calnexine détermine la localisation intracellulaire des protéines qui lui sont associées et que, dans les conditions normales, elle retient les sous-unités et les multimères incomplets dans le RE.

V.L.

1. Ou WJ, Cameron PH, Thomas DY, Bergerson JJM. Association of folding intermediates of glycoproteins with calnexin during protein maturation. *Nature* 1993; 364: 771-6.
2. Townsend A, Ohlen C, Bastin J, Ljunggren HG, Foster L, Kärre K. Association of class I major histocompatibility heavy and light chain induced by viral peptide. *Nature* 1989; 340: 443-8.
3. Bahram S. Transporteurs de peptides et présentation de l'antigène. *médecine/sciences* 1993; 9: 1204-13.
4. Jackson MR, Song ES, Yang Y, Peterson PA. Empty and peptide-containing conformers of class I major histocompatibility complex molecules expressed in *Drosophila melanogaster* cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 12117-21.
5. Jackson MR, Cohen-Doyle MF, Peterson PA, Williams DB. Regulation of MHC class I transport by the molecular chaperon, calnexin (p88, IP90). *Science* 1994; 263: 384-7.
6. Anderson KS, Cresswell P. A role for calnexin (IP90) in the assembly of class II MHC molecules. *EMBO J* 1994; 13: 675-82.
7. Viville S, Rabourdin-Combe C. La chaîne invariante: son rôle et sa fonction dans la réponse immunitaire spécifique. *médecine/sciences* 1994; 10: 163-70.
8. Rajagopalan S, Xu Y, Brenner MB. Retention of unassembled components of integral membrane proteins by calnexin. *Science* 1994; 263: 387-90.

m/s n° 6-7 vol. 10, juin-juillet 94

### ■■■ L'acidification des forêts: animaux en péril. ■■■

En Hollande, 80 % des forêts (2 500 km<sup>2</sup>) sont composées de conifères et d'arbres à feuilles caduques qui poussent sur des sols pauvres et acides. Dans ces forêts, les mésanges charbonnières, et autres passereaux forestiers, pondent de plus en plus fréquemment des œufs dont la coquille est fine et poreuse. L'éclosion des œufs est rare parce qu'ils ne sont plus protégés de la dessiccation ou parce que la coquille se brise trop facilement. Pendant la période de ponte, la demande en calcium est considérable pour assurer la fabrication des coquilles d'œufs et la mésange ne dispose que d'une réserve calcique très limitée. L'apport de calcium pourrait faire défaut dans certaines régions et, en comparant le contenu stomacal des oiseaux vivant dans les forêts à sols pauvres et riches, la source de calcium manquante a pu être identifiée. Il s'agit de la coquille d'escargot. Alors qu'ils sont en nombre constant dans les régions à sols riches, les escargots disparaissent progressivement des sols pauvres. Eux aussi ont besoin d'une grande quantité de calcium pour se reproduire et croître. En plus de la nourriture habituelle, ils s'approvisionnent en calcium par ingestion de fragments rocheux et par absorption à travers la peau. Le déclin des populations d'escargots est lié à la disparition du calcium des sols pauvres, une conséquence directe de l'augmentation des dépôts acides dans les forêts nordiques. Dans les régions fortement peuplées, comme la Hollande, le problème pourrait être provisoirement réglé par un apport supplémentaire de calcium (coquille d'œuf de poule...). Mais dans les régions les plus reculées, les dépôts acides et la carence en calcium continueront de décimer les populations d'oiseaux sauvages et cela n'est qu'une des consé-

quences dramatiques de l'acidification des sols qui perturbe l'écosystème forestier.

[Graveland J, et al. *Nature* 1994; 368: 446-8.]

### ■■■ Amylose systémique héréditaire à prédominance rénale. ■■■

Dans une famille canadienne d'origine britannique, Vigushin et al. [1] (Londres, GB et Winnipeg, Canada) ont identifié une amylose dont les fibrilles contiennent de façon prédominante de l'apolipoprotéine AI (apoAI). Il s'agit de la troisième famille rapportée chez laquelle l'amylose dérive de l'apoAI. Le plasma contient un variant d'apoAI portant une charge positive supplémentaire. L'atteinte rénale est particulière: le dépôt amyloïde semble prédominer dans l'interstitium et non dans les glomérules; la protéinurie est peu abondante et l'évolution de l'insuffisance rénale est lente. La maladie se transmet selon le mode autosomique dominant. Le séquençage du gène de l'apoAI a mis en évidence, chez les sujets hétérozygotes atteints, une mutation ponctuelle touchant le codon 26, dans l'exon 3. Il en résulte la substitution d'une arginine à une glycine, en position 26, dans la protéine. Fait surprenant, le variant Arg 60 de l'apoAI peut entraîner une amylose avec ou sans neuropathie. Le variant Arg 60 a été également observé dans une amylose sans neuropathie (*m/s* n° 9, vol. 8, p. 999). Dans d'autres cas d'amylose familiale à prédominance rénale, des fibrilles amyloïdes de composition différente ont été identifiées, dérivées du lysozyme ou de la chaîne α du fibrinogène [2].

[1. Vigushin DM, et al. *Quart J Med* 1994; 87: 149-54.]

[2. Tomoyuki U, et al. *J Clin Invest* 1994; 93: 731-6.]