

Les nouvelles de ce numéro ont été préparées par :

Emmanuel Brouillet ⁽¹⁾
Elisabeth Bursaux
Luisa Dandolo ⁽²⁾
Erick Denamur ⁽³⁾
Serge Desnoyers ⁽⁴⁾
William Earnshaw ⁽⁵⁾
Simone Gilgenkrantz
Shah Girish ⁽⁴⁾
Jean-Pierre Grünfeld
Philippe Hantraye ⁽¹⁾
Axel Kahn
Scott Kaufmann ⁽⁶⁾
Dominique Labie ⁽⁷⁾
Stéphane Palfi ⁽¹⁾
Christine Petit ⁽⁸⁾
Guy G. Poirier ⁽⁴⁾
Christian de Rouffignac ⁽⁹⁾
Hubert Vaudry ⁽¹⁰⁾
Françoise Wendling ⁽¹¹⁾
William Vainchenker ⁽¹¹⁾

(1) Cnrs Ura 1285, service hospitalier Frédéric-Joliot, hôpital d'Orsay, 4, place du Général-Leclerc, 91406 Orsay, France.
 (2) Inserm U.257, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
 (3) Inserm U.120, hôpital Robert-Debré, 28, boulevard Sérurier, 75019 Paris, France.
 (4) Unité Santé et Environnement, centre de recherche du CHUL, université Laval, Sainte-Foy, Québec G1V 4G2, Canada.
 (5) The Johns Hopkins university school of medicine, Baltimore, Maryland 21205, USA.
 (6) Division of oncology research, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota 55905, USA.
 (7) Inserm U.129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
 (8) Cnrs Ura 1968, unité de génétique moléculaire humaine, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.
 (9) CEA, département de biologie cellulaire et moléculaire, centre d'études de Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.
 (10) Inserm U.413, université de Rouen, place Émile-Blondel, 76821 Mont-Saint-Aignan Cedex, France.
 (11) Inserm U.362, Institut Gustave-Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France.

SOMMAIRE DES NOUVELLES BRÈVES

Remplacer un gène par un autre : une approche expérimentale de la signification biologique des familles multigéniques (p. 1486).

Polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) : à propos du cœur et du rein (p. 1488).

Et si l'expérience de Jenner pouvait aider à lutter contre le SIDA ? (p. 1491).

L'absence d'un nouveau type de modification post-traductionnelle d'un acide aminé pourrait être la cause du déficit multiple en sulfatases (p. 1494).

Progestérone : du stéroïde sexuel à la neurohormone (p. 1495).

L'énurésie nocturne, qui préoccupait déjà les Égyptiens puisqu'on la retrouve mentionnée dans le papyrus d'Ebers, serait-elle génétique ? (p. 1495).

Les microsattellites ont-ils tendance à s'allonger au cours de l'évolution ? (p. 1495).

Transgénèse dans l'hypertension artérielle (p. 1496).

La mutation d'un coactivateur de la réponse transcriptionnelle à l'AMPc serait responsable d'un syndrome héréditaire de retard mental (p. 1496).

Les antigènes Kidd et Colton sont démasqués ! (p. 1497).

Une mutation de l'ADN mitochondrial, facteur de risque de la maladie d'Alzheimer (p. 1497).

On cherchait depuis longtemps le gène capable de faire fusionner les segments de chromosome ; une équipe japonaise semble l'avoir trouvé et propose de le baptiser « transline » (p. 1498).

Paludisme et G6PD en Afrique, l'évolution vers un équilibre (p. 1498).

Certaines dysplasies épiphysaires multiples (MED) sont des formes alléliques de la pseudoachondroplasie (PSACH) (p. 1499).

L'incidence de la néphropathie diabétique a-t-elle diminué dans le diabète insulino-dépendant (DID) ? (p. 1499).

Insomnie familiale fatale : transmission expérimentale (p. 1499).

Les signes cliniques de la maladie de Machado-Joseph (MJD) sont étroitement corrélés à la taille de l'amplification des triplets CAG (p. 1500).

De nouveaux gènes candidats pour le syndrome de Di George grâce au clonage d'un point de cassure chromosomique ? (p. 1500).

Le *Plasmodium falciparum* a besoin de fer labile (p. 1501).

Rôle de Ras et des tyrosine kinases dans l'activation de Raf-1 (p. 1501).

Les protéases de l'apoptose (p. 1502).

Empreinte parentale des gènes H19 et Igf2

Le concept d'empreinte parentale provient de la constatation que, chez les mammifères, l'union d'un gamète mâle et d'un gamète femelle est toujours nécessaire pour obtenir un individu viable : androgenèse et gynogenèse n'aboutissent pas. Les génotypes paternel et maternel, malgré leur constitution génique identique, ne fonctionnent donc pas de façon équivalente mais complémentaire.

L'empreinte parentale résulte d'un processus épigénétique qui conduit à l'expression différentielle des deux allèles parentaux d'un gène [1, 2]. Les mécanismes qui président à l'inactivation préférentielle d'un allèle sont encore mal connus ; le seul candidat actuel est la méthylation de l'ADN (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 216). Dans le génome de la souris, la région dans laquelle se trouvent les

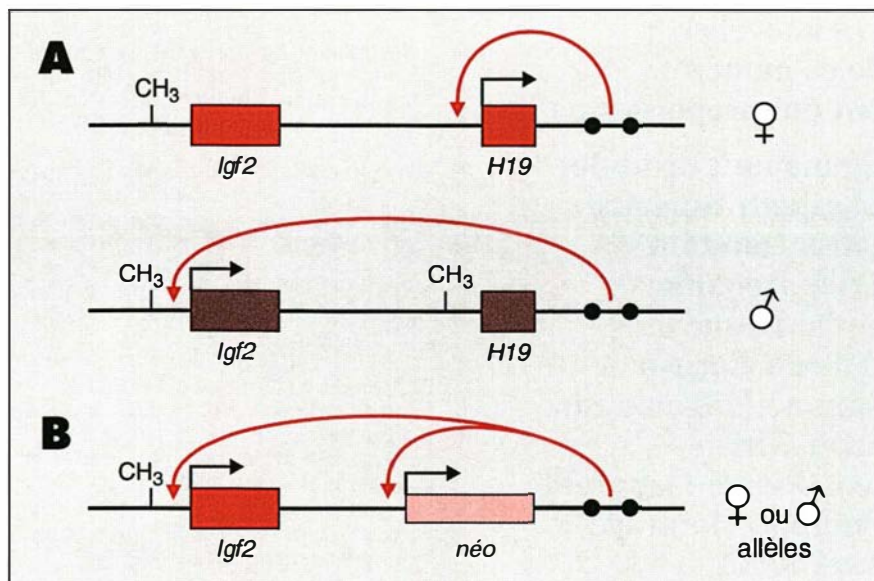
S
E
T
T
E
N
O
M
I

gènes *H19* et *Igf2* (*insulin-like growth factor-2*) est soumise à l’empreinte parentale. Les gènes *H19* et *Igf2* sont distants de 90 kb et soumis à une empreinte parentale opposée : *H19* est exprimé à partir de l’allèle maternel et *Igf2* à partir de l’allèle paternel. Le gène *H19*, dont la fonction est encore inconnue, comporte cinq exons et l’analyse de l’ADNc correspondant révèle la présence de cadres de lecture ouverts (ORF, *open reading frames*). Ces ORF ne sont cependant pas conservés entre l’homme et la souris, suggérant que le produit de ce gène pourrait être un ARN fonctionnel et non une protéine [3]. L’ARN murin est très fortement exprimé dans de nombreux tissus embryonnaires, en particulier dans le foie, l’intestin et le muscle. Après la naissance, son expression est détectée essentiellement dans le muscle squelettique [4].

Les profils d’expression des deux gènes *H19* et *Igf2* étant très similaires, un modèle de régulation coordonnée a été proposé par Tilghman (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 216) [5] : les promoteurs des deux gènes seraient en compétition pour le même *enhancer*, une séquence présente en 3’ du gène *H19*. Lorsque le promoteur de l’allèle maternel *H19* est en conformation ouverte, le *enhancer* serait utilisé pour permettre l’expression de ce gène et le gène *Igf2* adjacent ne serait pas exprimé ; en revanche, sur le chromosome paternel, le promoteur *H19* étant en conformation fermée, le *enhancer* serait alors disponible pour l’expression du gène *Igf2*. Cette séquence serait ainsi capable de régler l’expression différentielle des deux gènes (*m/s* n° 2, vol. 10, p. 216) (figure 1).

Le travail récemment publié par Leighton *et al.* [6] apporte des données nouvelles sur le mécanisme de l’empreinte parentale en montrant, grâce à l’étude de souris portant une mutation nulle du gène *H19*, que l’expression monoallélique des gènes *H19* et *Igf2* est liée.

Le vecteur utilisé pour cette recombinaison homologique comporte une délétion couvrant le gène *H19* lui-même (3 kb) et 10 kb de séquences flanquantes situées en 5’. Cette délétion de 13 kb est remplacée par le gène de résistance au G418, *neo^r*.



La transmission paternelle de la délétion (femelle sauvage x mâle muté) ne présente aucun phénotype particulier, puisque l’allèle paternel est normalement silencieux. Cependant, le gène *neo^r* échappe à l’empreinte et est exprimé à partir de cet allèle paternel. Ce résultat implique que la séquence déléetée comporte des signaux d’empreinte parentale.

La transmission maternelle de la délétion (femelle mutée x mâle sauvage) permet, malgré l’absence d’un ARN *H19* fonctionnel, d’obtenir des animaux viables et fertiles. Ces animaux présentent, cependant, un phénotype d’accroissement de taille de 30 % par rapport à une souris normale.

Dans le but d’étudier la régulation des gènes adjacents, un croisement a été réalisé permettant de distinguer, par polymorphisme, l’origine mater-

nelle ou paternelle d’un allèle à partir de femelles hétérozygotes pour la mutation *H19* et de mâles C57Bl/6 portant un chromosome 7 provenant de *Mus castaneus*. L’analyse de la descendance montre une expression biallélique du gène *Igf2* dans tous les tissus analysés. La délétion maternelle du gène *H19* et de ses séquences flanquantes en 5’ entraîne donc une augmentation des transcrits *Igf2*. Ainsi, lorsque le promoteur de *H19* est déléeté, le *enhancer* commun serait utilisé pour le gène *Igf2*, comme le suggère le modèle proposé par Tilghman.

Afin de confirmer le rôle du gène *Igf2* dans le phénotype d’augmentation de la taille des animaux, un croisement de femelles hétérozygotes *H19* +/- avec des mâles hétérozygotes *Igf2*-/+ a été réalisé dans le but d’obtenir des animaux portant un allèle

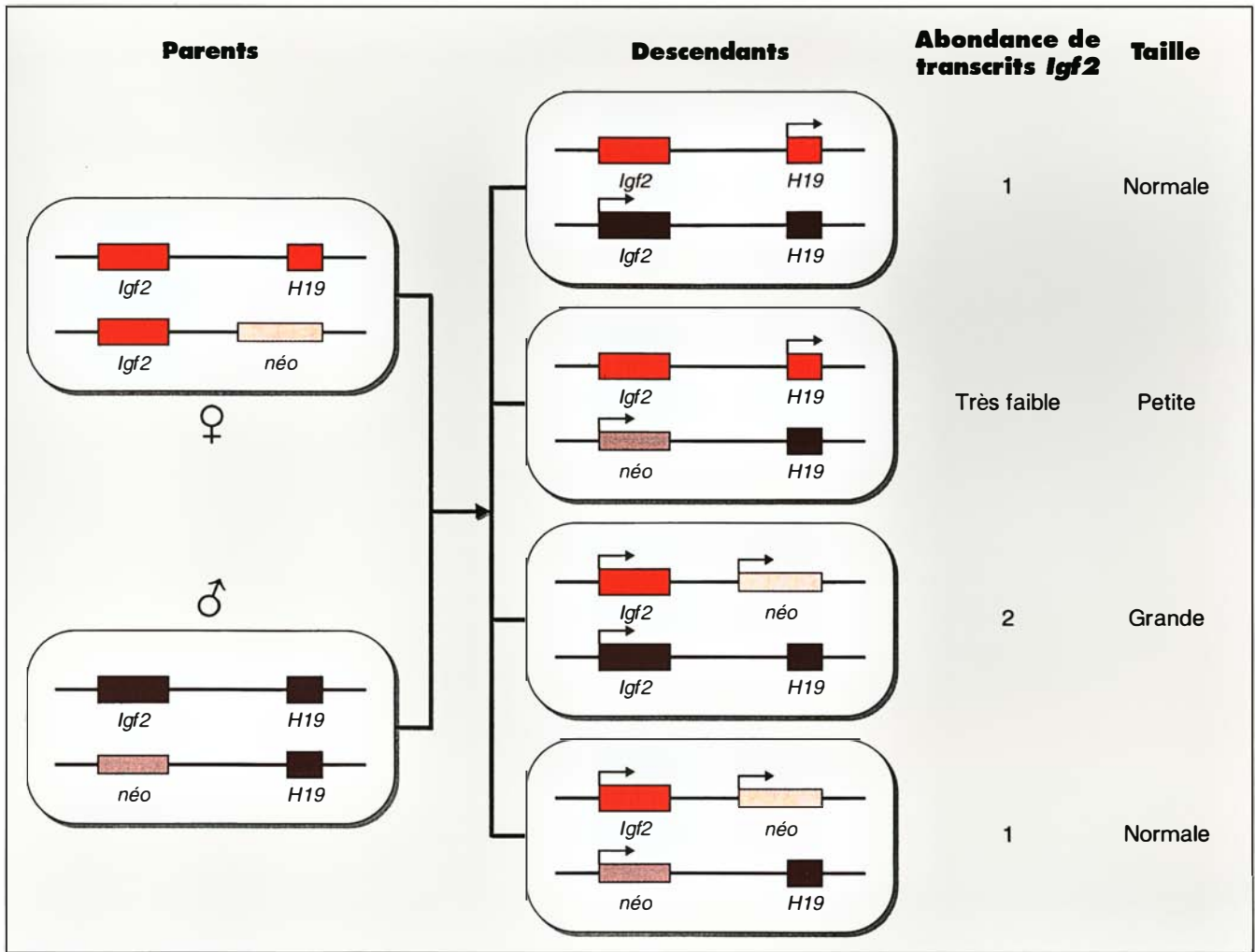


Figure 2. **Croisement entre femelles hétérozygotes pour la délétion de H19 et mâles hétérozygotes pour la délétion de *Igf2*.** Les gènes des allèles maternels sont représentés en rouge, les gènes des allèles paternels en bistre. L'activité transcriptionnelle des allèles est schématisée chez les descendants par une flèche à angle droit (gènes actifs), les gènes sans flèche sont inactifs. L'abondance des transcrits *Igf2*, reflète du nombre d'allèles actifs (0, 1 ou 2), et l'effet en résultant sur la taille sont indiqués.

H19 muté maternel et un allèle *Igf2* muté paternel*. L'analyse des descendants montre clairement que l'expression bi-allélique du gène *Igf2* est seule responsable du phénotype de taille accrue des animaux chez lesquels la région *H19* a été délétée. En effet, alors que l'on retrouve la

grande taille des descendants *H19*^{-/+}; *Igf2*^{+/+}, la petite taille des descendants *H19*^{+/+}; *Igf2*^{+/-}, les souris *H19*^{+/-}; *Igf2*^{+/-} sont de taille strictement normale, comme le résume la figure 2. En effet, en l'absence d'*H19* maternel, les deux allèles d'*Igf2* sont exprimés; en l'absence de l'allèle paternel d'*Igf2*, il existe un important déficit en ce facteur de croissance qui est compensé, chez les animaux doubles hétérozygotes, par

la réexpression de l'allèle maternel d'*Igf2* (figure 2).

En conclusion, l'étude des souris portant une mutation nulle du gène *H19* montre que la région délétée est impliquée dans le mécanisme de l'empreinte parentale puisque le gène *néo*, mis à la place de *H19*, est exprimé à partir des deux allèles parentaux. L'altération de l'empreinte pourrait être liée à une séquence spécifique ou à la modification de la

* La mutation de l'allèle paternel du gène *Igf2* produit des animaux viables mais de taille réduite [7].

structure de la chromatine induite par la délétion de la séquence de 13 kb. Il est difficile à ce stade de déterminer les rôles respectifs de la région flanquante (10 kb) et du gène *H19* lui-même. Il serait nécessaire pour cela de réaliser une mutation nulle du gène seul, respectant les régions flanquantes.

L'expression biallélique du gène adjacent *Igf2* suggère que l'empreinte parentale est un mécanisme de régulation de l'expression qui toucherait un locus plutôt qu'un gène individuel. Cette hypothèse semble se vérifier également pour une autre région chromosomique soumise à l'empreinte parentale, comprenant les gènes responsables des syndromes de Prader-Willi et d'Angelman et localisés en 15q11-13 chez l'homme (*m/s* n° 9, vol. 7, p. 974 ; n° 2, vol. 9, p. 232) [8].

L.D.

1. Babinet C. L'empreinte génomique parentale. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 65-70.
2. Dreyfus JC. Un point sur les « empreintes génomiques ». *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 1006-10.
3. Pachnis V, Brannan CI, Tilghman SM. The structure and expression of a novel gene activated in early mouse embryogenesis. *EMBO J* 1988 ; 7 : 673-81.
4. Poirier F, Chan CTJ, Timmons PM, Robertson EJ, Evans MJ, Rigby PWJ. The murine *H19* gene is activated during embryonic stem cell differentiation *in vitro* and at the time of implantation in the developing embryo. *Development* 1991 ; 113 : 1105-14.
5. Bartolomei M, Webber AL, Brunkow ME, Tilghman SM. Epigenetic mechanisms underlying the imprinting of the mouse *H19* gene. *Genes Dev* 1993 ; 7 : 1663-73.
6. Leighton PA, Ingram RS, Eggenschwiler J, Efstratiadis A, Tilghman SM. Disruption of imprinting caused by deletion of the *H19* gene region in mice. *Nature* 1995 ; 375 : 34-9.
7. De Chiara TM, Efstratiadis A, Robertson EJ. A growth deficiency phenotype in heterozygous mice carrying an insulin-like growth factor II gene disrupted by gene targeting. *Nature* 1990 ; 345 : 78-80.
8. Buiting K, Saitoh S, Gross S, Dittich B, Schwartz S, Nicholls RD, Horsthemke B. Inherited microdeletions in the Angelman and Prader-Willi syndromes define an imprinting center on human chromosome 15. *Nature Genet* 1995 ; 9 : 395-400.

■■■■ Remplacer un gène par un autre: une approche expérimentale de la signification biologique des familles multigéniques. Au cours de l'évolution, de nombreux gènes se sont dupliqués un certain nombre de fois, donnant naissance à des familles multigéniques dont tous les membres conservent de fortes analogies. La signification fonctionnelle de ces familles multigéniques est encore souvent peu claire. Dans certains cas, l'absence totale d'effet de l'inactivation homozygote d'un membre de ces familles plaide en faveur d'une redondance fonctionnelle complète. Dans d'autres cas, il n'en est rien. Par exemple, il existe une famille de gènes de développement de type *Engrailed* (*En*) chez la souris, reliée au gène *engrailed* de segmentation de la drosophile. L'inactivation des gènes de souris *En-1* et *En-2* conduit à des phénotypes tout à fait différents : mortalité néonatale associée à une aplasie de la région moyenne du cerveau postérieur pour *En-1* et animaux viables et fertiles ayant une hypoplasie cérébelleuse dans le cas de *En-2*. La plus grande sévérité de la mutation *En-1* est probablement due à ce que le gène correspondant est exprimé dès le stade de l'embryon à 1 somite alors que l'expression de *En-2* débute ultérieurement, au stade 5 somites ; de plus, ces deux gènes exprimés dans la région moyenne du cerveau postérieur n'ont pas exactement le même territoire d'expression. Cependant, il était aussi possible de se demander si les différences de structure des protéines *En-1* et *En-2* ne jouaient pas un rôle dans les phénotypes associés aux déficits correspondants : en effet, les protéines *En-1* et *En-2* n'ont que 55 % d'identité en termes d'acides aminés. Cette question a été résolue de manière très élégante par le laboratoire de AL Joyner (New York, USA) [1]. En effet, Hanks *et al* ont

réalisé une recombinaison homologue du gène *En-1* de telle sorte que ce gène soit remplacé par *En-2*, placé sous le contrôle des séquences régulatrices endogènes du locus *En-1*. En d'autres termes, les animaux ainsi obtenus n'expriment que la protéine *En-2* selon la cinétique caractéristique du gène *En-1*, puis du gène *En-2*. Les animaux naissent parfaitement normaux, indiquant que *En-1* et *En-2* sont fonctionnellement équivalentes. La réponse est donc ici parfaitement claire : la duplication génique a abouti à placer des gènes codant pour des protéines fonctionnellement redondantes sous le contrôle de régions régulatrices différentes, assurant une expression différenciée dans le temps et l'espace. En réalité, une telle réponse pourra probablement être apportée dans bon nombre de cas où la nécessité de faire face à une complexification croissante au cours de l'évolution amène à exprimer la même fonction biologique dans des contextes différents. Les solutions pour obtenir ce résultat sont multiples : duplication génique et création d'isoformes ; gènes à promoteurs multiples ; gènes à promoteur unique dont les régions régulatrices modulaires se sont enrichies d'éléments spécifiques d'un groupe de cellules particulières à un moment donné du développement. A la lumière de ces résultats et des commentaires qu'ils suscitent, le lecteur pourra alimenter sa réflexion sur la source maximale d'originalité, entre le bricolage insensé de la nature et de l'évolution qui n'aboutit en fait que lorsqu'il donne sens, et l'inventivité des hommes se donnant les moyens de connaître la réalité et les conséquences de ce bricolage.

[1. Hanks M, *et al.* *Science* 1995 ; 269 : 679-82.]