

■■■ **Comment rendre un récepteur réceptif ?** La connaissance ultime de la relation structure-activité d'un récepteur membranaire constitue un préambule important pour l'élaboration de ligands, agonistes et antagonistes. La mise au point d'une panoplie d'outils pharmacologiques bloquants ou activateurs des récepteurs adrénergiques et muscariniques a permis une avancée importante dans l'étude des domaines de liaison impliqués dans la reconnaissance de leur ligand respectif. Cette situation est, en revanche, différente pour les récepteurs peptidiques. Dans le cas du récepteur de l'angiotensine II, membre de la famille des récepteurs couplés aux protéines G, l'étude de la relation structure-fonction a largement profité du clonage du récepteur dans neuf espèces différentes. La séquence des acides aminés est très conservée chez les mammifères, mais on observe des différences importantes entre récepteurs de mammifères et récepteurs d'amphibiens et d'oiseaux; il vient d'être montré que treize acides aminés localisés au niveau des domaines transmembranaires du récepteur de mammifère et non conservés chez les amphibiens semblent nécessaires à la reconnaissance d'un antagoniste non peptidique, le Losartan. Des expériences antérieures de mutations dirigées d'acides aminés spécifiques ou de domaines impliqués dans le site de liaison du récepteur avaient entraîné la perte de l'activité du récepteur (perte de fonction). Par mutagenèse dirigée, l'équipe de K. Catt et K. Sandberg a substitué les treize acides aminés non conservés du récepteur de rat dans le récepteur de xénope qui ne reconnaît pas le Losartan [1]. Le récepteur amphibien mutant obtenu lie la substance avec la même affinité que le récepteur de rat. Cette expérience décrit, pour la première fois, la reconstitution par mutagenèse dirigée d'un site de liaison actif se traduisant par un « gain de fonction ». En outre, elle démontre l'implication directe

des acides aminés mutés dans l'interaction du récepteur avec le ligand. Cette stratégie constitue une voie d'approche élégante et déterminante pour définir la relation structure-activité d'un récepteur et les sites exacts de reconnaissance d'un antagoniste non peptidique. Elle facilitera probablement les études de modélisation moléculaire et l'élaboration de médicaments non peptidiques pour l'utilisation thérapeutique.

[1. Ji S, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9240-4.]

■■■ **BRCA1, différenciation et développement.** Un travail récent [1] a analysé de façon exhaustive l'expression du gène murin de sensibilité au cancer du sein et de l'ovaire, *Brcal*, durant le développement de l'embryon de souris, la puberté, la grossesse ainsi qu'au cours du traitement par œstrogènes administré à des souris ovariectomisées. Des clones d'ADNc ont été isolés en utilisant le gène *BRCA1* comme sonde. La séquence murine révèle 72 % d'identité pour les acides nucléiques et 50 % pour les acides aminés. En utilisant de l'ADNc de souris correspondant à l'exon 11 humain, un ARNm est détecté dont la longueur est équivalente à celle de l'ARNm humain. Des sondes d'ARN sens et antisens ont été marquées à la digoxigénine, et utilisées pour des hybridations *in situ* sur coupes congelées d'embryons de souris à différentes étapes du développement embryonnaire: 9,5 jours, 10,5 jours *post coitum*, 13-14 jours et 19-20 jours. De diffuse chez l'embryon de moins de 10 jours, la fluorescence acquiert progressivement une spécificité tissulaire: foie, poumon, glande salivaire, thymus, bourgeon dentaire, intestin, épithélium nasal, épithélium neuroblastique germinal de l'œil sont les tissus les plus marqués. Il s'agit de tissus où se produisent

simultanément prolifération intense et différenciation cellulaire. Pendant la puberté et chez la souris gestante, l'expression de *Brcal* dans la glande mammaire est associée aux structures dans lesquelles des cellules peu différenciées se divisent rapidement et donnent naissance aux ramifications épithéliales différenciées des canaux galactophores. Chez la souris ovariectomisée, l'expression du gène dépend de l'administration combinée de 17 β -œstradiol et de progestérone. L'ARNm de *Brcal* dans la glande mammaire est alors quatre ou cinq fois plus élevé. Est-ce à dire que *Brcal* est sous dépendance hormonale? On sait que *Brcal* s'exprime dans des tissus qui ne le sont pas. En fait, il s'agit non pas d'une régulation directe de *Brcal*, mais d'une réponse à la prolifération des tissus hormono-dépendants. Il est toutefois intéressant de noter que la quantité d'ARNm dans la glande mammaire de la souris après gestation est plus élevée que chez la souris du même âge n'ayant pas eu de gestation. On pourrait se demander si la fréquence diminuée du cancer du sein chez les femmes ayant entrepris tôt dans leur vie leur première grossesse ne serait pas liée à la production de *BRCA1*. Il faudrait toutefois des études moléculaires du gène associées à des études épidémiologiques pour en avoir confirmation.

[1. Marquis ST, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 17-26.]

■■■ **Transduction du signal d'activation du spermatozoïde par une galactosyltransférase transmembranaire.** La β -1,4-galactosyltransférase (GalTase) est normalement localisée au niveau de l'appareil de Golgi, où elle constitue un récepteur pour des glycoprotéines. Cependant, une isoforme de l'enzyme contenant une extension peptidique de la région intracytoplasmique de 13 acides aminés est par-

■■■ BRÈVES ■■■

tiellement localisée à la membrane plasmique. Cette isoforme est seule trouvée dans les spermatozoïdes mûrs où elle joue le rôle de l'un des récepteurs de la glycoprotéine ZP3 du manteau de l'ovocyte (membrane pellucide). Gong *et al.* de Houston (TX, USA) montrent maintenant que le domaine transmembranaire de la GalTase de spermatozoïdes de souris lie une protéine G hétérotrimérique de type $G_{i\alpha}$ et l'active après liaison à son ligand ZP3 [1]. Chez des souris transgéniques synthétisant une quantité augmentée de GalTase, l'activation de la protéine G provoquée par la rencontre des spermatozoïdes du ligand ZP3 de l'ovocyte est augmentée. Les phénomènes d'induction acromosomique induits par la fixation du spermatozoïde à la glycoprotéine ZP3 pourraient donc être relayés par cette enzyme GalTase, un type inhabituel de récepteur lié aux protéines G. Ces récepteurs, dans leur immense majorité, appartiennent à la superfamille des molécules à sept passages transmembranaires [2]. Ainsi, la GalTase s'ajouterait au petit nombre des molécules à un seul passage transmembranaire dont on a proposé qu'elles pouvaient activer des protéines G hétéro-trimériques. Dans ces cas, la phosphorylation de résidus sérine et thréonine pourrait être en cause. L'extension de 13 acides aminés caractérisant la forme longue de la GalTase associée à la membrane plasmique contient également de tels résidus phosphorylés en réponse à la liaison du ligand, ce qui pourrait constituer le mécanisme responsable de l'activation de la protéine $G_{i\alpha}$.

[1. Gong X, *et al.* *Science* 1995 ; 269: 1718-21.]

[2. Bockaert J. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 382-94.]

■■■ **L'utilisation d'anticorps recombinants pour l'exploration du système nerveux.**

Les immunoglobulines recombinantes peuvent être exprimées et sécrétées de façon très efficace par des cellules de mammi-fères non lymphoïdes et en particulier par les cellules du système nerveux central [1]. Cette observation a été mise à profit pour développer une stratégie permettant de perturber la fonction d'un antigène d'intérêt dans le système nerveux de souris [2]. Cela a été réalisé dans des expériences de transgénèse utilisant des séquences régulatrices transcriptionnelles appropriées pour diriger l'expression ectopique d'anticorps monoclonaux recombinants dans des cellules cibles d'intérêt. Ainsi, l'expression locale d'un anticorps dirigé contre un neuro-peptide, la substance P (SP), a permis d'inactiver le peptide endogène dans l'environnement extracellulaire du système nerveux des souris exprimant le transgène. Ces souris exprimant des anticorps recombinants anti-SP sous le contrôle transcriptionnel du promoteur d'un gène fortement exprimé dans le système nerveux central (gène *vgf*, codant pour une protéine induite *in vitro* par le *nerve growth factor*, NGF, dans les cellules PC12) présentent une forte sécrétion d'anticorps principalement au niveau du cerveau. Cette sécrétion est modulée au cours du développement, le taux sérique d'anticorps anti-SP étant élevé dès la naissance avec un maximum après trois semaines. Ces anticorps sont capables d'abolir certaines actions biologiques dues au SP endogène, telles que l'activité locomotrice, le comportement explorateur, l'inflammation neurogénique, montrant ainsi l'effet neutralisant puissant des anticorps recombinants sur le peptide endogène. Ces effets sont observés sans variation significative de SP endogène dans les zones ciblées par l'anticorps, ce qui confirme le fait que l'anticorps agit par compétition avec la liaison du peptide à son

récepteur et non par un effet sur la concentration du peptide.

L'approche expérimentale des «neuroanticorps» constitue un outil privilégié pour poursuivre une étude fonctionnelle et du développement au niveau du système nerveux. En particulier, elle permet de moduler de façon sélective l'activité de voies de transmission neuronales spécifiques. Parmi les nombreuses méthodes utilisées pour inhiber la fonction de gènes dans les cellules de mammifères, l'invalidation du gène par recombinaison homologue, l'utilisation d'ARN antisens ou l'expression de mutants dominants négatifs sont des techniques complémentaires très prometteuses mais ayant leurs propres limites. L'expression ectopique d'anticorps neutralisants, dans un compartiment cellulaire spécifique (cytosol ou noyau) ou l'espace extracellulaire de tous tissus, constitue une nouvelle alternative pour l'étude des nombreux systèmes biologiques, et en particulier le système nerveux central.

[1. Piccioli P, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 511-5.]

[2. Piccioli P, *et al. Neuron* 1995 ; 15 : 373-84.]

■■■ **Endogamie, soleil... et xeroderma pigmentosum.**

Le *xeroderma pigmentosum* (XP) est une maladie autosomique récessive se révélant par la fréquence des cancers de la peau après exposition au soleil [1]. Un défaut variable du système de réparation de l'ADN a permis d'identifier huit groupes de complémentations différents du gène XP déficient. La mise au point d'un modèle animal a été réalisée chez la souris, simultanément par trois groupes, en Amérique [2], au Japon [3] et en Hollande [4]. Utilisant des groupes de complémentations A ou C, la démarche expérimentale a été la même, fondée sur une analogie de séquence à 78 % entre gène humain et gène murin, et les résultats sont similaires à quelques détails près. Par la technique de recombinaison

homologue dans des cellules embryonnaires ES, les auteurs ont établi des lignées de souris déficientes (mutant *xpc^{ml}* ou *xpa⁻*), puis ont comparé les animaux porteurs de l'allèle sauvage, les hétérozygotes +/- et les homozygotes pour le mutant; cela a été fait dans tous les cas *in vivo* chez l'animal et *in vitro* sur des cultures de fibroblastes. Malgré un léger déficit noté dans un cas, il ne semble y avoir ni létalité embryonnaire, ni anomalie physique à la naissance; les souris se développent normalement, sont bien portantes et fertiles. *In vitro*, après une phase de prolifération normale, on constate une hypersensibilité des fibroblastes aux UV, comparable à celle de malades présentant un phénotype clinique typique. *In vivo*, dans tous les cas, l'exposition aux UV induit en quelques semaines des lésions d'hyperplasie de l'épiderme et de kératose grave, puis le développement de carcinomes à cellules squameuses, fréquemment aussi de kératites et ulcérations de la cornée. De façon constante, aucune lésion n'est observée chez les animaux hétérozygotes dont la réaction est identique à celle des animaux porteurs de l'allèle sauvage. D'un travail à l'autre, la sensibilité à un carcinogène chimique est signalée comme significativement différente ou non; l'interprétation en est cependant difficile: l'agent est différent, le groupe de complémentations n'est pas le même. Outre l'intérêt d'un modèle animal, ces observations sont à rapprocher de l'épidémiologie très particulière de XP, maladie retrouvée avec une fréquence et une gravité spectaculaires dans les populations où se retrouvent à la fois endogamie et exposition solaire, en Afrique du Nord par exemple.

[1. Sarasin A. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 951-2.]

[2. Sands AT, *et al. Nature* 1995 ; 377 : 162-5.]

[3. Nakane H, *et al. Nature* 1995 ; 377 : 165-8.]

[4. de Vries A, *et al. Nature* 1995 ; 377 : 169-73.]