

■■■ **Une isoforme de l'adaptateur Grb2 déclenche l'apoptose.** Les récepteurs à activité de tyrosine kinase sont, directement (par exemple le récepteur de l'EGF), ou indirectement (par exemple le récepteur de l'insuline), couplés au facteur d'échange Sos (*Son of seven-less*) par des adaptateurs dont Grb2 est le mieux connu. Grb2 interagit avec le site phosphorylé sur une tyrosine d'un récepteur membranaire par son domaine SH2, et avec la protéine Sos par son domaine SH3, stimulant la fonction d'échange de la protéine Sos et aboutissant donc à l'activation de la protéine Ras-ADP en Ras-ATP (*m/s n°5, vol. 8, p. 471*). Les adaptateurs Nck et Shc sont moins bien connus [1]. I. Fath *et al.*, du laboratoire de B. Tocqué (Rhône-Poulenc Rorer, Vitry-sur-Seine, France) viennent d'isoler, à partir d'une banque d'ADNc de placenta humain, une isoforme de Grb2 qu'ils ont dénommée Grb3.3, différant de l'isoforme normale par l'absence du domaine SH2. De ce fait, Grb3.3 est incapable de se fixer au récepteur phosphorylé, mais peut toujours interagir avec le facteur d'échange Sos. Lorsque la protéine Grb3.3 est plus abondante que l'isoforme Grb2, elle inhibe la transmission du signal par l'EGF. Mieux même, bloquant le signal mitogénique, elle induit, dans des cellules en culture, une apoptose rapide. Dans les tissus adultes, Grb3.3 ne représente qu'environ le dixième de la quantité de Grb2. Cependant, ces deux isoformes sont à peu près en concentration équimoléculaire dans le thymus de jeunes rats, au moment où celui-ci est le siège d'une apoptose massive liée à la sélection négative des clones auto-réactifs [2]. Il est fortement probable que Grb2 et Grb3.3 sont issus de l'épissage alternatif d'un transcrit commun. Un tel phénomène, où deux isoformes résultant d'un épissage alternatif ont des effets opposés sur l'apoptose, a déjà été observé en ce qui concerne les produits du gène *bclx*, un gène de la même famille que *bcl2*.

L'isoforme Bclx-1 bloque l'apoptose alors que Bclx-s l'induit [3]. Ainsi, ce phénomène essentiel de la vie cellulaire qu'est la décision de proliférer ou de se suicider pourrait-il être contrôlé à plusieurs niveaux par l'équilibre entre des isoformes aux effets opposés, équilibre dépendant lui-même du stade de développement, voire de certaines situations physiologiques ou pathologiques.

[1. Chardin P. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 709-12.]

[2. Fath I, *et al. Science* 1994 ; 264 : 971-4.]

[3. Boise LH, *et al. Cell* 1993 ; 74 : 597-607.]

■■■ **La « diffusion diffuse » éclaire les mouvements intramoléculaires des protéines.** L'analyse cristallographique par la diffraction des rayons X repose sur l'interprétation des taches de Bragg qui indiquent les positions moyennes des atomes dans le réseau cristallin. Toutefois, les atomes sont susceptibles de se déplacer autour de leur position moyenne. Il en résulte que les taches de diffraction peuvent s'accompagner de halos et taches diffuses qui sont la marque de ces déplacements. On distingue trois classes de diffusion diffuse : a) des halos entourant chaque point du diagramme de Bragg, qui résultent de déplacements des atomes, corrélés sur des distances relativement grandes, b) une diffusion diffuse localisée le long des plans du réseau réciproque*, qui résulte des déplacements anisotropiques des

atomes, corrélés sur de courtes distances (quelques atomes), c) des taches de bruit de fond très diffuses et de faible intensité. Dans le cas des protéines, l'analyse de cette « diffusion diffuse » est d'un intérêt primordial car on sait que les déplacements atomiques intramoléculaires déterminent, au moins en partie, les propriétés fonctionnelles de ces macromolécules. Quatre équipes (1 CEA, 2 CNRS et 1 universitaire) se sont associées pour examiner ce phénomène sur les diagrammes de diffraction de rayons X obtenus à partir de cristaux de lysozyme. Il ressort de cette étude que les images de la diffusion de type c) obtenues à partir de deux méthodes différentes de simulation par ordinateur des déplacements des atomes (une analyse en « modes normaux de vibration » et une simulation par la dynamique moléculaire) reproduisent avec une bonne fidélité la diffusion obtenue expérimentalement, tant au niveau de la position moyenne des anneaux de diffusion que du détail des taches de diffusion diffuse, et cela pour des orientations variables du cristal par rapport au faisceau X incident. La mise en œuvre de plusieurs protocoles de simulation a permis de retrouver dans chaque cas la même image générale du diagramme de diffraction, avec cependant de légères variations par rapport à l'image expérimentale. Outre le fait de souligner l'importance de l'analyse de la diffusion diffuse pour valider la qualité d'une simulation, ce travail démontre que la diffusion diffuse qui marque les diagrammes de Bragg des cristaux de lysozyme résulte principalement de mouvements intramoléculaires corrélés entre les atomes d'une protéine, distribués sur la protéine entière. Il permet d'envisager l'utilisation de la diffusion diffuse comme source d'informations sur les modes de déplacement possibles dans une protéine, qu'ils soient ou non d'origine vibrationnelle, sur les relations entre atomes et sur la nature des différents modes dyna-

* réseau réciproque : réseau cristallin déduit des diagrammes de diffraction et situé dans le même espace « réciproque » qu'eux. Dans cet espace, les distances sont inverses des distances entre atomes du réseau cristallin réel, d'où son nom.

miques que l'on peut rencontrer dans ce type de molécule. Les déplacements intramoléculaires corrélés pourraient constituer des moyens de transmission interne d'information dans une protéine, responsables de phénomènes tels que l'allostérie.

[Faure P, *et al. Nature Struct Biol* 1994 ; 1 : 124-9.]

■■■ **Infertilité masculine liée à une anomalie de la protéine 4.1.** La protéine 4.1 érythrocytaire participe à la liaison de la bicouche lipidique au squelette membranaire [1]. Elle est codée par un seul gène, et ses nombreuses isoformes sont engendrées par épissage alternatif. Le gène a deux codons d'initiation, donnant naissance à deux isoformes majeures de 135 et 80 kDa. Comme la majorité des protéines de la membrane érythrocytaire, cette protéine est ubiquitaire. Dans le globule rouge, c'est l'isoforme de 80 kDa qui participe au complexe spectrine-actine. Chez un malade présentant une elliptocytose, on avait mis à jour une mutation homozygote du gène de la 4.1 faisant disparaître le codon d'initiation aval. Or ce malade présentait aussi une azoospermie, ce qui a suscité l'étude de la protéine 4.1 dans les spermatozoïdes [2]. Dans les spermatozoïdes des hommes fertiles, la protéine 4.1 est essentiellement présente dans la tête (acrosome) ; chez les tératospermiques, dont les spermatozoïdes avaient de graves anomalies de la tête, la protéine 4.1, révélée par immunofluorescence, se trouvait dans la queue des spermatozoïdes. De plus, les isoformes trouvées normalement dans le spermatozoïde (82 kDa essentiellement mais aussi quelques composants mineurs de 90, 56 et 45 kDa) étaient absentes dans les spermatozoïdes à la morphologie anormale, remplacées par l'isoforme de 135 kDa. Cette isoforme, normalement présente dans les spermatozoïdes et spermatides, fait place à

l'isoforme 82 kDa au cours de la différenciation. Cette dernière contribue, seule, à la stabilisation des membranes du spermatozoïde. L'anomalie décelée dans cette étude a été retrouvée chez quatre sur neuf des sujets tératospermiques étudiés. Le défaut d'expression de l'isoforme 82 kDa pourrait donc être la cause de nombreuses infertilités masculines.

[1. Delaunay J, Dhermy D. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 562-70.]

[2. Rousseaux-Prévost, *et al. Lancet* 1994 ; 343 : 764-5.]

■■■ **La myélinisation des axones en l'absence de la glycoprotéine associée à la myéline (MAG).** Des expériences effectuées sur des systèmes *in vitro* ont conduit à l'hypothèse que la protéine MAG, une molécule de la grande famille des immunoglobulines, était impliquée dans la formation de la gaine de myéline. Afin de tester le rôle de MAG dans la myélinisation, des chercheurs des universités de Toronto et de McGill (Canada) ont créé, à l'aide de la recombinaison homologique dans des cellules souches embryonnaires, des souris qui sont totalement déficientes pour l'expression de la protéine MAG. Contre toute attente, les analyses microscopiques montrent que la formation de la gaine de myéline chez les souris mutantes n'est nullement affectée par l'absence de la protéine MAG. Cependant, la membrane périaxonale a tendance à se détacher de la gaine de la myéline. Les souris mutantes pour ce gène MAG sont viables et ne présentent que de légers handicaps de la motricité fine. La conclusion de cette étude est que la protéine MAG n'est pas essentielle à la formation de la myéline mais que cette molécule pourrait agir comme une colle pour le maintien de la région périaxonale.

[Li C, *et al. Nature* 1994 ; 369 : 747-50.]

■■■ **Comment la transcription de l'ARN est-elle inhibée pendant les premiers stades de la division cellulaire de l'embryon ?** Chez de nombreuses espèces animales, les tout premiers stades embryonnaires se caractérisent par une succession rapide de cycles cellulaires au cours desquels on ne note aucune activité de transcription. Chez le xénope, par exemple, cette période se prolonge sur douze cycles avant l'apparition d'une transition abrupte (MBT : *mid blastula transition*) marquée par l'activation de la transcription de l'ADN et un allongement du cycle cellulaire. On pense que cette transition pourrait résulter de la levée d'une inhibition, sous l'influence de l'accumulation progressive de l'ADN qui tamponnerait les effets d'un agent inhibiteur. Cet inhibiteur pourrait être la grande réserve d'histones présente dans l'ovocyte. Chez la drosophile, en revanche, on penche plutôt pour une action répressive liée à la fréquence élevée des mitoses. En fait, malgré l'accumulation d'observations en faveur d'une « titration » de certains facteurs au moment de la phase de transition abrupte, on ne connaît toujours pas la nature des mécanismes de cette répression. L'assemblage de la chromatine pourrait-il être mis en cause ? L'équipe de M. Méchali (Institut J. Monod, Paris), en collaboration avec une équipe du CEA, vient d'analyser les relations entre l'assemblage des complexes de transcription et l'assemblage de la chromatine afin de voir si une compétition entre ces deux mécanismes pourrait rendre compte de la répression de l'activité des gènes durant les premiers stades embryonnaires. La *TATA-box-binding protein* (TBP) est l'un des acteurs centraux impliqués dans l'initiation de la transcription. Dans des œufs fécondés de xénope, la seule addition de TBP suffit d'abord à stimuler plus de cent fois la transcription d'un gène rapporteur dépendant du promoteur du gène *c-myc*, avant que ne

se manifeste la répression de la transcription dont la cinétique est corrélée à la cinétique d'assemblage de la chromatine du plasmide. La « titration » des protéines chromatiniennes, par injection d'ADN compétiteur, prévient cette répression. En revanche, ni l'arrêt du cycle cellulaire, ni l'inhibition de la réplication de l'ADN, n'empêchent l'induction de la transcription par le facteur TBP, ou le phénomène de répression, contrairement à ce que laissaient entendre certaines observations antérieures. Il semble donc que, dans les œufs fécondés, le facteur TBP soit limitant pour déclencher l'activation des gènes pendant les premiers stades de développement. Par ailleurs, l'assemblage de la chromatine contribue à interdire la transcription de l'ADN pendant toute la période des cycles cellulaires courts qui précède la phase de transition vers les cycles plus longs.

[Prioleau MN, *et al. Cell* 1994 ; 77 : 1-20.]

■■■ Une région pseudo-autosomique sur le bras long des chromosomes sexuels créée par recombinaison inégale ? Si le matériel génétique féminin est parfaitement représenté en double exemplaire, la caractéristique du génome masculin est d'être au contraire hétérogamétique. Or, tous les chromosomes homologues subissent un appariement au cours de la méiose, appariement qui semble essentiel à l'accomplissement complet de celle-ci et qui permet d'assurer un certain nombre (une soixantaine en moyenne par méiose) d'échanges chromosomiques, qui viennent d'ailleurs compliquer le diagnostic prénatal et le conseil en génétique moléculaire. Au cours de la méiose masculine, l'appariement entre les deux chromosomes qui ne sont pas homologues, les chromosomes sexuels X et Y, ne peut se faire que

sur une région privilégiée d'homologies d'environ 2,5 mégabases, située à l'extrémité des bras courts de l'X et de l'Y, appelée région pseudo-autosomique. Il existe cependant une seconde région d'homologies entre les chromosomes X et Y située à l'opposé de la première, au niveau des télomères des bras longs de ces deux chromosomes. Des travaux antérieurs avaient montré que les séquences de cette région pseudo-autosomique du bras long étaient présentes à l'origine sur le chromosome X et que l'échange était de survenue relativement récente dans l'évolution de l'homme. Kvaloy *et al.* [1] ont étudié la structure et l'organisation de cette séquence. La région d'homologie atteint 320 kb. A la limite de la zone d'homologie, les auteurs ont mis en évidence une séquence de type LINE (*long interspersed repetitive nucleotide element*), séquence répétée, communément rencontrée dans le génome humain, présente à la fois sur les chromosomes X et Y. Sur 789 paires de bases, 27 bases divergentes et 3 insertions/délétions permettent de différencier la séquence LINE de l'X de celle de l'Y. Ce résultat suggère que l'événement ayant donné lieu à cette seconde région pseudo-autosomique est le fruit d'une recombinaison inégale entre deux séquences LINE localisées dans des régions distinctes des deux chromosomes. Les auteurs rappellent cependant que, si des échanges ont effectivement lieu dans cette région du bras long des chromosomes sexuels, ils ne peuvent pourtant pas se substituer à ceux qui se produisent sur le bras court. La délétion isolée de la région pseudo-autosomique du bras court du chromosome X est en effet à l'origine d'un arrêt de la spermatogenèse au stade spermatocyte, entraînant une stérilité masculine.

[1. Kvaloy K, *et al. Hum Mol Genet* 1994 ; 3 : 771-8.]

■■■ Des femmes de tête. Une étude fort intéressante est publiée ce mois-ci dans les vénérables *Proceedings* de l'Académie des sciences américaine concernant la taille du cerveau des femelles. On savait la taille du cerveau corrélée au poids corporel, à la durée de la gestation, au nombre d'individus par portée, mais, malgré de nombreuses études, on n'avait jamais mis en évidence de corrélation entre comportement et taille du cerveau. C'est chose faite aujourd'hui : le soin des enfants donne la grosse tête ! Chez les mammifères terrestres et carnivores, existent trois formes générales de soin parental : dans le premier cas de figure, la mère élève seule les petits (*hyène *Hyaena hyaena*, lynx...* ; elle est solitaire, construit son nid, défend sa portée contre les prédateurs, trouve la nourriture pour tous et éduque les petits jusqu'à l'âge de l'indépendance ; ces tâches occupent à plein temps 80 % de son existence. Dans le deuxième cas (système biparental), la femelle a l'aide d'un mâle pour chercher la nourriture et défendre les petits (*renard...*) ; dans le troisième cas (système communautaire), cette aide est apportée par le groupe qui vit en communauté (*loups, lions, etc.*). Dans les espèces carnivores chez lesquelles la femelle s'occupe exclusivement des petits, la taille du cerveau est statistiquement supérieure à celle des femelles vivant dans un système biparental ou communautaire, une fois éliminé l'effet du poids corporel ($p < 0,002$). En revanche, la taille relative du cerveau chez les mâles est indépendante du fait qu'il s'occupe ou non des enfants : la taille du cerveau s'accroît avec la taille de la bête et ces traits masculins sont liés aux performances et à la sélection sexuelles... et non pas au soin des enfants !

[Gittleman JL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 5495-7.]