

■■■ Identification du gène suppresseur de tumeur en cause dans la maladie de von Hippel-Lindau.

La maladie de von Hippel-Lindau est un syndrome familial à hérédité dominante, qui prédispose à une variété de tumeurs, dont les plus fréquentes sont des hémangioblastomes du système nerveux et de la rétine, des phéochromocytomes et des cancers du rein. Sa fréquence est voisine de 1 pour 36 000 et elle abaisse la durée de vie moyenne à 49 ans. Le gène se comporte comme un suppresseur de tumeur. Toute une série d'auteurs (cités en [1]) ont contribué à fixer sa localisation en 3p25-p26 ; on a en outre obtenu une couverture de la région par des YAC et des cosmides organisés en *contigs* [2]. Ces progrès et l'obtention de clones d'ADN ont conduit à l'identification du gène de la maladie, aboutissement de six ans d'efforts, par un consortium (30 auteurs, dont un groupe du CEPH) [1]. La base de départ fut fournie par trois délétions portées par trois malades différents. Il fut ainsi possible, dans la zone correspondant à la plus petite délétion, de caractériser un gène qui répondait aux critères souhaités. On trouva tout d'abord des transcrits du gène, présents dans tous les tissus, avec deux ARNm de 6,0 et 6,5 kb. L'ADNc obtenu à partir des transcrits correspond à un seul gène et est conservé chez les mammifères, la drosophile et l'oursin. Surtout, l'analyse en *Southern blot* de l'ADN de 221 malades a montré des anomalies de taille d'un fragment *ECOR1* chez 28 d'entre eux. L'amplification des bandes provenant de ces sujets anormaux a permis de démontrer la présence de délétions dans 18 cas. Une analyse par SSCP (*single strand conformational polymorphism*) pratiquée chez des malades sans délétion grossière a décelé plusieurs exemples de délétion ou d'insertion de quelques nucléotides. De telles anomalies ont également été mises en évidence dans des cultures de cellules provenant de cancers du rein sporadiques, montrant que le même gène est en cause dans ces cas. La phase ouverte de lecture déduite de

la séquence du gène ne compte que 284 acides aminés, et le message de 6 kb doit donc contenir une longue région 3' non traduite. La protéine ne montre pas d'homologie notable avec d'autres déjà connues. Elle comporte cependant huit copies d'un pentamère acide répété cinq fois en tandem, semblable à un pentamère répété d'une protéine de membrane de *Trypanosoma brucei* [3]. Cette protéine appartient à une classe récemment décrite de protéines fixées à la membrane par des glycanes, et qui fonctionneraient dans la transduction du signal et le ciblage intracellulaire [4]. Des études complémentaires seront indispensables pour juger du rôle fonctionnel de la protéine.

- [1. Latif F, *et al. Science* 1993 ; 260 : 1317-20.]
- [2. Latif F, *et al. Cancer Res* 1993 ; 53 : 861-7.]
- [3. Mowatt MR, *et al. Mol Cell Biol* 1989 ; 9 : 1332-5.]
- [4. Davis S, *et al. Science* 1991 ; 253 : 59-63.]

■■■ Une duplication fossile entre les régions centromériques de deux chromosomes chez la levure.

Les duplications sont un des processus centraux de l'évolution, mais leur mécanisme et les facteurs sélectifs déterminant leur évolution demeurent mal compris. Une des conséquences importantes du séquençage des génomes est de mettre en évidence de tels événements par une analyse moléculaire directe. L'équipe de P. Thuriaux (CEA, Saclay, France), en collaboration avec P. Slonimski (Cnrs, Gif-sur-Yvette, France) vient de découvrir une duplication fossile entre les régions centromériques de deux chromosomes chez la levure, le III (dont la séquence complète a été récemment établie dans le cadre d'un projet européen) et le XIV. Elle affecte au moins 10 % du chromo-

some III et concerne un minimum de huit gènes ou éléments génétiques, dont l'ordre et (à une exception près) l'orientation transcriptionnelle sont strictement conservés entre les deux chromosomes. Il semble bien qu'il ne s'agisse pas d'un cas isolé. Le génome de levure, bien que très petit (0,5 % du génome humain) pourrait donc être plus redondant qu'on ne l'admet généralement. Très approximativement, cette duplication pourrait dater de 50 millions d'années. La comparaison des deux régions donne une idée de ce qui s'est passé depuis. La présence sur le chromosome III de plusieurs gènes absents de la région correspondante du chromosome XIV implique des insertions ou délétions de gènes entiers. En outre, l'alignement des deux régions indique une inversion péricentrique. Enfin, des substitutions de bases ou d'autres micromutations se sont accumulées à l'intérieur des séquences codantes. Dans un cas, un des deux gènes a été inactivé en pseudogène. Pour d'autres paires de gènes, certaines mutations semblent avoir favorisé une spécialisation fonctionnelle des deux produits. Un exemple frappant est celui de la citrate synthétase dont un des gènes code pour une forme mitochondriale participant au cycle de Krebs, alors que l'autre a une localisation peroxisomale et participe à la dégradation des acides gras. Cette localisation différentielle semble due à un petit nombre de mutations aminotermiales. La valeur sélective de ces événements n'est peut-être pas à chercher seulement du côté des gènes eux-mêmes, car des duplications centromériques affectent nécessairement l'émergence de nouveaux chromosomes. Or, l'évolution des levures est caractérisée par des changements fréquents du nombre de leurs chromosomes, bien que la taille de leur génome soit remarquablement constante. C'est aussi le cas des mammifères, alors que les amphibiens ont une évolution caryotypique lente. Ces observations divisent les généticiens selon leur conception « gradualiste », « saltatoire » ou encore « neutraliste » (minimisant l'impact de la sélection)

de l'évolution. Outre son intérêt comme modèle réduit du génome humain en physiologie cellulaire, l'analyse du génome de levure pourrait donc éclairer les débats en cours sur les bases moléculaires de l'évolution.

[Lalo D, *et al. CR Acad Sci Ser III* 1993 ; 316 : 367-73.]

■■■ **Glomérulonéphrite spontanée avec « croissants » chez la souris.**

Les glomérulonéphrites rapidement progressives observées chez l'homme sont caractérisées par une prolifération cellulaire dans l'espace de Bowman ; ces cellules sont constituées des cellules de la capsule de Bowman et surtout de monocytes-macrophages quand cette capsule est rompue ; cette prolifération cellulaire forme des croissants qui rapidement étouffent les capillaires glomérulaires. Kinjoh, Kyogoku et Good (universités de Tohoku, Japon et de Floride du Sud, USA) ont obtenu une souche de souris qui développent spontanément une telle glomérulonéphrite ; cette souche dérive de souris hybrides F1 (BXSB × MRL/l), par accouplements successifs frère × sœur, en sélectionnant les animaux qui ont la plus grande fréquence de croissants [1]. La sélection s'est étendue sur plus de 20 générations pendant plus de six ans. L'incidence de la glomérulonéphrite est de 58 % chez les femelles et de 34 % chez les mâles. Environ 50 % des animaux ont une protéinurie croissante dès l'âge de trois mois. La mortalité spontanée est élevée. Il y a peu de dépôts immuns dans les glomérules, seulement quelques dépôts granuleux fins et peu spécifiques d'IgG, d'IgM et de C3. Ces souris ont également des lésions de vascularite nécrosante systémique touchant surtout la rate, l'ovaire, l'utérus, le cœur et l'estomac, mais, fait remarquable, épargnant le rein. Des anticorps circulants anti-ADN sont mis en évidence mais à des taux inférieurs à ceux détectés chez les souris MRL/l. Ces souris développent

également une hyperplasie lymphoïde des ganglions et de la rate, en rapport avec l'expression du gène *lpr* qui provient des souris MRL/l. Rappelons que la mutation *lpr* (*lymphoproliferative disorder*) porte sur le gène de la protéine Fas, impliquée dans la transmission d'un signal d'apoptose [2]. La maladie observée chez ces souris ressemble à la polyartérite microscopique [3] ; on attend de savoir si des anticorps dirigés contre le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles sont présents dans le sérum de ces souris.

[1. Kinjoh K, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 3413-7.]

[2. Kahn A, Briand P. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 663-5.]

[3. Lesavre P, *et al. médecine/sciences* 1992 ; 8 : 827-37.]

■■■ **Des souris sans prions sont résistantes à la tremblante.**

L'an dernier *m/s* a relaté (*n° 6, vol. 8, p. 604*) l'obtention de souris chez lesquelles le gène codant pour les prions (Prnp) avait été inactivé, de sorte qu'aucune protéine prion n'était détectable. Ces souris avaient, de façon imprévue, une viabilité et un développement entièrement normaux. On devait donc s'attendre à la mise en œuvre d'expériences d'inoculation de ces souris à l'aide d'agents de la tremblante (scrapie), équivalent animal de la maladie humaine de Creutzfeldt-Jakob. C'est chose faite désormais, grâce au travail [1] de la même équipe suisse (Büeler *et al.*, Zurich). Deux groupes de 57 souris chacun, Prnp⁰⁰ et témoin Prnp⁺⁺ ont été inoculés par voie intracérébrale avec un isolat de prions de souris ; des souris ont été sacrifiées à intervalles déterminés et d'autres suivies cliniquement. Toutes les souris témoins ont présenté des symptômes à 158 ± 11 jours et sont mortes après 171 ± 11 jours ; des témoins d'une autre souche sont morts à 153 ± 7 jours. Au contraire, au bout de 13 mois, 23 des 25 souris Prnp⁰⁰ étaient indemnes, les deux autres

ayant succombé à des affections intercurrentes. Une protection clinique totale s'étendait donc sur les souris dépourvues de prions vis-à-vis de l'infection exogène. Cette protection était confirmée par l'intégrité anatomique et l'absence de pouvoir infectant du cerveau de ces souris. Même les hétérozygotes Prnp^{0/+} possédaient une protection relative : ils avaient un début clinique entre 253 et 322 jours, mais étaient encore tous vivants à 322 jours ; on a donc l'impression que la résistance est fonction inverse de la quantité de prions présente. Lorsque, selon un protocole proposé par l'équipe de Prusiner [2], on introduisait un transgène Prp de hamster dans la souche Prnp⁰⁰, les souris devenaient sensibles aux prions de hamster mais non de souris, confirmant l'effet de barrière interspécifique. Ces expériences démontrent que la présence de Prnp de l'espèce en cause est nécessaire pour la susceptibilité à la tremblante, et que la dose de prions présente dans l'organisme est capitale pour la résistance à l'infection. Deux types de conclusions pratiques pourraient, à terme, en découler : puisqu'on peut obtenir des souches de souris réfractaires à la tremblante, on devrait parvenir, par la même méthode, à faire naître des ovins et des bovins qui le seraient aussi. Surtout en thérapeutique humaine, s'il suffit réellement de diminuer le taux de prions endogènes pour réduire la susceptibilité à la maladie, on pourrait imaginer traiter une maladie de Creutzfeldt-Jakob par des oligonucléotides antisens adaptés au gène des prions humains, si, naturellement, le problème récurrent de leur biodisponibilité était réglé. Reste, d'un point de vue finaliste, une question à laquelle l'avenir répondra peut-être : quel est l'avantage de posséder un gène et une protéine de prion, qui ne paraît pas nécessaire à un développement normal, mais dont la présence permet l'apparition d'une maladie mortelle ? [1. Büeler H, *et al. Cell* 1993 ; 73 : 1339-47.] [2. Scott M, *et al. Cell* 1989 ; 59 : 847-57.]

S
E
V
E
R
E
B