

Mécanisme de l'exclusion allélique de production des immunoglobulines

Le phénomène par lequel chaque cellule lymphocytaire B synthétise des immunoglobulines produites par un seul des deux allèles est dénommé « exclusion allélique ». L'autre allèle, non exprimé, soit est non réarrangé (c'est-à-dire en configuration « germinale »), soit a subi un réarrangement abortif. Les mécanismes responsables de l'inhibition du réarrangement de l'allèle encore en configuration germinale lorsque l'autre allèle a subi un réarrangement « productif » étaient jusqu'alors inconnus. Des expériences de création de

souris transgéniques pour un transgène d'immunoglobuline réarrangé, humain ou de souris, avaient démontré que la sécrétion par les lymphocytes B de la souris transgénique de l'immunoglobuline codée par le transgène n'inhibait pas le réarrangement des gènes homologues endogènes [1]. Cependant, ces expériences aboutissaient à la synthèse, sous le contrôle du transgène, de la forme sécrétée des immunoglobulines. Or, il existe deux types de transcrits des gènes d'immunoglobulines, l'un traduit en une

protéine sécrétée et l'autre en une protéine membranaire. La *figure 1* montre le mécanisme de production de ces deux types de transcrits. Quand le premier signal de polyadénylation, situé dans le sixième exon, est utilisé et commande l'addition d'acides adényliques à l'extrémité 3' de cet exon, l'épissage aboutit à un message codant pour la forme sécrétée de l'immunoglobuline. Quand, en revanche, c'est le second signal de polyadénylation qui est utilisé (dans l'exon 8, *figure 1*), la maturation du transcrit primitif aboutit

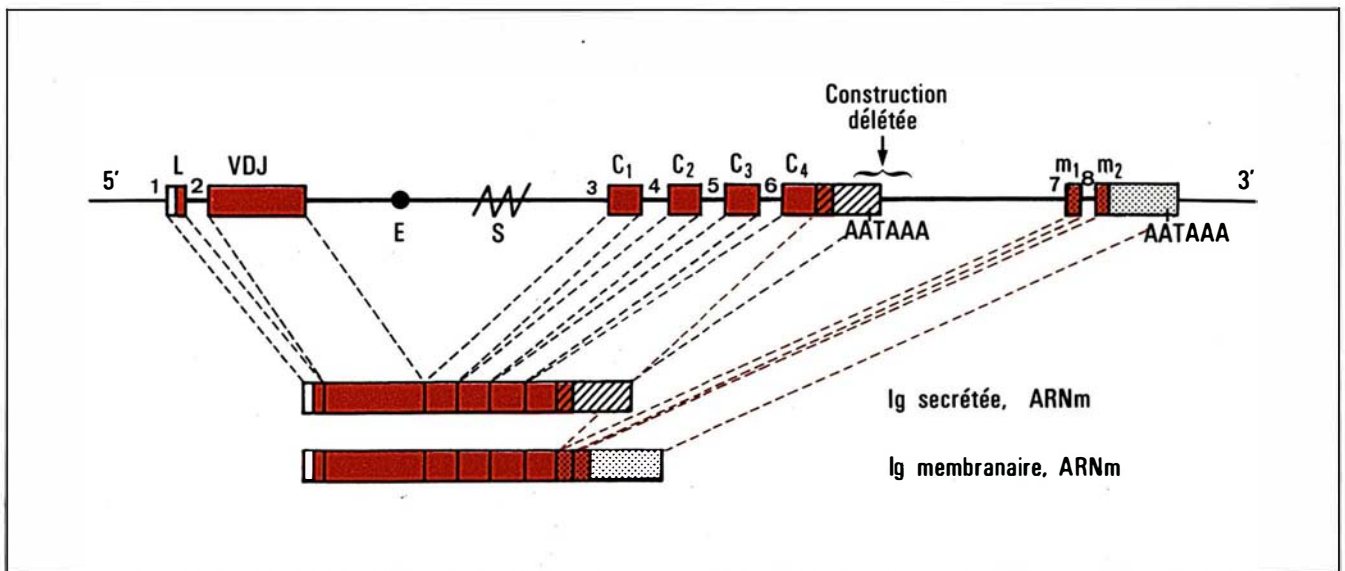


Figure 1. **Gène réarrangé de chaîne lourde μ d'immunoglobuline.** L : exon codant pour la séquence « leader » ; VDJ : exon codant pour la partie variable, issu du réarrangement des segments V, D et J ; E : « enhancer » ; S : zone de « switch », c'est-à-dire de recombinaison avec les segments codant pour les parties constantes des chaînes γ , α , δ , etc. ; C1 à C4 : exons codant pour les régions communes de la partie constante ; m1 et m2 : exons codant pour l'extrémité C-terminale de la forme membranaire ; AATAAA : signal de polyadénylation. Les exons sont représentés par des rectangles blancs (non codants) et rouges (codants). Les segments hachurés montrent les régions spécifiques des transcrits sécrétés et les segments pointillés les régions spécifiques des transcrits membranaires. Les lignes discontinues noires montrent le schéma de maturation des messages de la forme sécrétée, les lignes discontinues rouges correspondent à la maturation des messages de la forme membranaire.

■■■ BRÈVES ■■■

tit à l'excision de la partie 3' de l'exon 6 avec l'intron adjacent et à l'épissage entre la partie 5' de l'exon 6 et l'exon 7. L'ARN messager issu de cette maturation code pour la forme membranaire. Les deux types d'immunoglobulines diffèrent par leurs extrémités C-terminales. La question posée par P. Leder et son équipe était donc de savoir si le signal de l'exclusion allélique ne résidait pas en l'expression d'une forme membranaire des immunoglobulines. Ces auteurs ont donc créé des lignées de souris transgéniques pour un gène réarrangé de chaîne lourde d'immunoglobuline μ comportant une délétion du premier signal de polyadénylation et des régions adjacentes, destinée à orienter la maturation des transcrites vers la seule production de la forme membranaire de l'immunoglobuline [2]. Deux lignées furent ainsi caractérisées, l'une produisant très activement et l'autre très faiblement l'immunoglobuline membranaire. Dans le premier cas, la production de chaîne lourde humaine était détectée dans des cellules n'exprimant pas (ou de façon très faible) le gène murin endogène. Dans la seconde lignée, possédant le transgène humain faiblement exprimé, la synthèse d'IgM-murine était normale, indiquant que le transgène humain réarrangé ne bloque pas, en lui-même, le réarrangement productif des gènes endogènes. Le signal de l'exclusion allélique semble donc résider dans la production de chaînes d'immunoglobuline membranaire, le mécanisme de cet effet demeurant complètement inconnu.

A.K.

1. Yamamura KI, Kudo A, Ebihara T, et al. Cell-type specific and regulated expression of a human γ 1 heavy-chain immunoglobulin gene in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 2152-8.

2. Nussenzweig MC, Shaw AC, Sinn E, et al. Allelic exclusion in transgenic mice that express the membrane form of immunoglobulin μ . *Science* 1987 ; 236 : 816-9.

m/s n° 8 vol. 3, octobre 87

■■■ Il y a encore du chemin à faire avant de parvenir à un vaccin efficace contre le paludisme ! La vaccination de la souris par des peptides (produits par génie génétique ou par synthèse) dérivés d'un élément répétitif de la protéine « circumsporozoïte » de *Plasmodium berghei* (*m/s* n° 5, vol. 2, p. 282), donne une bonne réponse humorale... mais une très faible protection parasitaire. La vaccination par des préparations de sporozoïtes inactivés, au contraire, confère une bonne protection, alors que la réponse humorale est plutôt inférieure à celle produite par les vaccins synthétiques. La protection anti-palustre est, dans le second type de vaccination testé, à médiation cellulaire prédominante. [Egan, et al. *Science* 1987 ; 236 : 453-6.]

■■■ Serons-nous envahis par les « bouses de vaches » ? La question n'est pas aussi frivole qu'il y paraît et a fait l'objet d'un article récent dans la revue *Nature*. Le coupable est un antiparasitaire extrêmement puissant, l'ivermectine, qui fait merveille dans le traitement et la prévention de la plupart des parasitoses du bétail et a commencé à être largement utilisé. Ce produit est également un insecticide puissant qui, excrété dans les fèces des animaux, bloque leur infestation par des larves d'insecte qui jouent un rôle essentiel dans leur dégradation et résorption. En fait, alors qu'une bouse de vache d'un animal non traité disparaît d'une prairie en moins de 100 jours, celle d'un animal recevant l'antiparasitaire persiste, peu modifiée, dans ce même délai. On imagine sans peine, si le produit était administré à tous les animaux et si une résistance spontanée des insectes ne se développait pas, que

nos vertes prairies pourraient ainsi être transformées en terrains fanageux, recouverts de façon permanente d'un enduit excrémental. Le progrès !...

[Wall R, Strong L. *Nature* 1987 ; 327 : 418-21.]

■■■ Les plantes monocotylédones (comprenant notamment les céréales) peuvent, elles aussi, être infectées par la bactérie du sol *Agrobacterium tumefaciens*, alors que l'on considérait que seules les dicotylédones (tabac, pommes de terre, tomates...) avaient cette propriété. Cette observation a d'importantes implications biotechnologiques. On sait, en effet (*m/s* n° 4, vol. 2, p. 223-224) que cette bactérie, et surtout son plasmide associé, sont très utilisés pour créer des plantes transgéniques. La méthode consiste à infecter une zone lésée d'une plante dicotylédone par *Agrobacterium tumefaciens* contenant un plasmide Ti recombiné ; ce dernier s'intègre alors dans le génome de la plante. Le mécanisme de l'intégration nécessite la stimulation de gènes plasmidiques (gènes *vir*) par des substances libérées par la plante « blessée ». L'observation d'une équipe allemande est que, dans certains cas au moins, il suffit de déposer au niveau de la blessure d'une plante monocotylédone la bactérie avec des substances libérées au niveau de la blessure d'une plante dicotylédone pour induire une infection et une intégration plasmidique tout à fait efficaces. L'importance agroalimentaire des monocotylédones est telle que la nouvelle qu'elles pourront peut-être se prêter aisément aux manipulations génétiques destinées à en améliorer certaines propriétés est probablement essentielle.

[Schäffer W, et al. *Nature* 1987 ; 327 : 529-32.]

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ L'infection de certains tissus par le virus HIV pourrait être une conséquence de la variabilité génétique virale. Chez un même malade, deux types de virus ont été isolés, l'un du tissu cérébral et l'autre du liquide céphalo-rachidien. Seul le premier type était, in vitro, infectieux pour des cellules monocytaires-macrophagiques, alors que les deux types pouvaient se répliquer dans des lymphocytes. De plus, seul le virus isolé du liquide céphalo-rachidien pouvait infecter des cellules gliales en culture. Il apparaît donc que la variabilité génétique d'un virus donné chez un même malade peut expliquer l'émergence de types nouveaux dont le tropisme cellulaire est altéré. Ce mécanisme pourrait intervenir dans la survenue des atteintes cérébrales qui est maintenant un problème majeur chez les malades atteints du SIDA.

[Koyanagi Y, *et al. Science* 1987 ; 236 : 819-22.]

■■■ La nature du toxique responsable des maladies neurodégénératives de l'île de Guam vient probablement d'être élucidée. Il s'agit d'une plante, *Cycas circinalis* (*false sago*, faux sagou) dont la graine a été utilisée de façon massive par les indigènes Chamorros pendant l'occupation japonaise, puis progressivement abandonnée. L'agent actif semble être un analogue d'acide aminé, la β -N-méthylamino-L-alanine (β MAA) : en effet celui-ci, administré à des macaques, reproduit en quelques semaines un syndrome neurologique comparable à un début de sclérose latérale amyotrophique. On peut remarquer que ce β MAA, qui possède des propriétés excitatrices, est voisin par sa structure et ses effets du β OAA (β -N-oxalylamino-L-alanine) de la gesse chiche, qui

serait la cause du lathyrisme (*m/s n° 2, vol. 3, p. 116*) [Spencer PS, *et al. Science* 1987 ; 237 : 517-22.]

■■■ La « perte d'hétérozygotie » est-elle constante au cours du cancer ? Après la tumeur de Wilms, le rétinoblastome, les tumeurs coliques (Gilles Thomas, communication personnelle), les neurinomes de l'acoustique... voici les carcinomes rénaux communs dans lesquels Zbar *et al.* viennent de trouver des pertes d'allèles du bras court du chromosome 3 dans 11 cas sur 11. La technique utilisée est toujours la même : elle consiste à démontrer que l'un des deux allèles (différenciés grâce à un polymorphisme de restriction) détectés dans les tissus sains d'un malade a disparu au niveau de la tumeur. Nous avons maintes fois insisté dans ces colonnes sur le fait que la cancérogénèse était un processus comportant de multiples étapes, parmi lesquelles la coopération d'oncogènes est la mieux caractérisée. Il se pourrait que la perte d'allèles portant une information antiproliférative (codant pour un « anti-oncogène » ?), spécifiquement antinomique de l'activation d'un oncogène ou d'une classe d'oncogènes, fit partie de ce processus conduisant à la tumorigénicité cellulaire.

[Zbar B, *et al. Nature* 1987 ; 327 : 721-4.]

■■■ Il est maintenant possible de cloner des fragments d'ADN de plusieurs centaines de kilobases ! Jusqu'à présent le clonage d'ADN ne pouvait être effectué qu'avec des fragments inférieurs à 40 kilobases de bases (kpb), ce qui demeurait fort insuffisant pour posséder rapidement toute la complexité de certains gènes immenses (celui du facteur VIII fait environ 200 kpb et celui de la myopathie de Duchenne, plus de

2 000 kpb). D.T. Burke *et al.* viennent de montrer que de plus grands fragments pouvaient être clonés sous la forme de chromosomes artificiels dans la levure. Après digestion partielle, l'ADN à cloner est lié aux bras d'un plasmide contenant les signaux nécessaires pour constituer un centromère, des télomères, une origine de réplication ARS (*autonomous replication sequence*) et des marqueurs de sélection. Après transfert dans la levure, ces fragments se comportent effectivement comme des chromosomes artificiels.

[Burke DT, *et al. Science* 1987 ; 236 : 806-12.]

■■■ La protéine déficiente dans la granulomatose chronique (CGD) est bien un composant du complexe cytochrome b leucocytaire ! Cela avait été initialement suspecté par Segal [1], mais la séquence déduite de l'analyse d'un clone d'ADN complémentaire du probable messager du gène CGD (*voir m/s n° 9, vol. 3, p. 521*) ne ressemblait pas du tout à celle d'un cytochrome. En fait, deux équipes ont récemment montré [2, 3] que le cytochrome b leucocytaire existe sous la forme d'un complexe entre une protéine glycosylée de 90 kDa et une protéine non glycosylée de 22 kDa qui pourrait correspondre à la molécule de type cytochrome, fixée à la membrane cellulaire grâce à la protéine de 90 kDa. La forme déglycosylée de la grande protéine a un poids moléculaire de 50 000, ce qui correspond bien aux 486 acides aminés codés par le messager CGD. De plus, un anticorps dirigé contre un peptide synthétique correspondant à une partie de la séquence déduite de la protéine CGD reconnaît la sous-unité glycosylée de 90 kDa (ou déglycosylée de 50 kDa) du complexe cytochrome b [4, 5].

Les deux sous-unités du complexe sont absentes dans les granulocytes de malades atteints de granulomatose chronique. On peut donc faire l'hypothèse que la granulomatose chronique, liée au chromosome X, est due à l'absence de l'élément de 90 kDa du complexe cytochrome b leucocytaire, du moins sous une forme fonctionnelle ; le déficit en la molécule de 22 kDa pourrait être secondaire, dû par exemple à l'instabilité de la molécule ayant perdu son ancrage à la paroi.

[1. Segal AW, *et al. N Engl J Med* 1983 ; 308 : 245-51.]

[2. Parkos CA, *et al. J Clin Invest* 1987 (sous presse).]

[3. Segal AW, *Nature* 1987 ; 326 : 88-91.]

[4. Dinaver MC, *et al. Nature* 1987 ; 327 : 717-20.]

[5. Orkin SH. *Trends in Genetics* 1987 ; 3 : 149-51.]

■■■ Il existe au cours du vieillissement des phénomènes de réactivation du chromosome X inactivé. Wareham *et al.*, de Cardiff en Grande-Bretagne [1], ont analysé une souris hétérozygote pour une translocation X ;16 (translocation Searle). L'X transloqué possédait l'allèle muté *spf* [2] de l'enzyme ornithine transcarbamylase (OTC), alors que l'X normal possédait l'allèle normal de l'enzyme. L'inactivation de l'X transloqué sur un autosome entraînerait l'inactivation des gènes autosomiques, ce qui serait probablement létal, et est donc « contre-sélectionné ». Cette souris inactivait par conséquent le chromosome X normal dans toutes les cellules et était ainsi totalement déficiente en OTC. Une coloration histochemique spécifique de l'OTC active a permis aux auteurs de démontrer qu'au cours du vieillissement un nombre croissant de cellules (demeurant cependant très mino-

ritaires) devenaient positives pour cette enzyme, indiquant une réactivation du chromosome X normal. On pense que, normalement, ce sont des phénomènes de méthylation qui maintiennent inactivé un chromosome X sur deux dans les cellules femelles. Une réactivation au cours du vieillissement pourrait, par conséquent, signifier que les systèmes enzymatiques responsables de la persistance de cette méthylation sont altérés dans certaines cellules, comme peut-être d'autres macromolécules. Les perturbations de l'expression des gènes résultant de ce type d'anomalie pourraient constituer l'un des processus de base du vieillissement.

[1. Waheram KA, *et al. Nature* 1987 ; 327 : 725-7.]

[2. Cavard C, *et al. médecine/sciences* 1987 ; 3 : 38-40.]

■■■ Les Pygmées ne sont pas déficients en hormone de croissance. Or, cette hormone agit par l'intermédiaire de la sécrétion de deux facteurs de croissance de 70 acides aminés, homologues de la proinsuline et dénommés, pour cette raison, IGF (*insulin-like growth factors*) I et II. L'IGF I (appelé également somatomédine C) est actif après la naissance, l'IGF II semble n'agir que sur le fœtus. Dans les populations témoins, le taux d'IGF I sérique s'élève fortement pendant l'adolescence avant de retomber. Chez les Pygmées, l'élévation est nulle pour les garçons, très faible pour les filles, alors que l'activité est normale dans l'enfance. C'est donc à un défaut de stimulation supplémentaire de l'IGF I au cours de l'adolescence qu'il faut attribuer, chez les Pygmées, l'absence d'accélération de la croissance pendant la même période, responsable de la petite taille des adultes.

[Merimee TJ, *et al. N Engl J Med* 1987 ; 316 : 906-11.]

■■■ La régulation de l'expression de l'oncogène *c-fos* est très proche de celle de *c-myc*, associant des mécanismes transcriptionnels (initiation de la transcription et élongation) et post-transcriptionnels (stabilité du message). Dans un récent article paru dans *Nucleic Acids Research*, Philippe For *et al.* dans le laboratoire de Philippe Jeanteur et Jean-Marie Blanchard ont décrit, en détail, les différents niveaux de contrôle de ce gène lorsque des fibroblastes sont stimulés à proliférer. L'addition de sérum de veau fœtal (contenant les différents facteurs de croissance) à des fibroblastes quiescents de hamster provoque, même en présence d'inhibiteurs de la synthèse protéique, une stimulation de l'initiation de la transcription et un blocage de l'allongement des transcrits, situé avant le deuxième exon. L'accumulation de messagers est habituellement brève car, d'une part, l'ARN *c-fos* est très instable et d'autre part la transcription cesse rapidement. En revanche, en présence d'inhibiteurs de la synthèse protéique, le message est stabilisé et la transcription n'est pas réprimée. Il semble donc que la diminution de la concentration du message après stimulation implique, d'une part, un répresseur transcriptionnel et, d'autre part, un facteur activant la dégradation de l'ARN, tous deux étant des protéines labiles disparaissant rapidement des cellules dont la synthèse protéique a été inhibée. La cible du facteur de dégradation de l'ARN serait, comme cela a maintenant été montré pour de nombreux oncogènes ou facteurs de croissances, une séquence riche en résidus adényliques et uridyliques (A et U), située dans l'extension 3' non codante du message.

[Fort P, *et al. Nucleic Acid Res* 1987 ; 15 : 5657-67.]