

Les ribozymes peuvent aussi cliver l'ADN

Le mieux étudié des ribozymes, c'est-à-dire des molécules d'ARN douées d'une activité enzymatique, est dérivé de l'intron ribosomique de *Tetrahymena thermophila* qui est capable de cliver des brins d'ARN (*m/s*, suppl. au n° 7, vol. 3, p. 30). Toute une stratégie a été développée à partir de la possible utilisation de ces ribozymes pour détruire des molécules d'ARN messenger, inhibant ainsi l'expression d'un gène, ou d'ARN viral, par exemple celui des virus HIV (*m/s*, n° 8, vol. 4, p. 522). La faisabilité théorique de cette approche a été démontrée, notamment en ce qui concerne l'ARN viral [1], mais il est apparu que l'efficacité de la réaction dans des conditions intracellulaires laissait encore beaucoup à désirer et semblait en tout cas insuffisant pour en espérer actuellement de très importants effets biologiques.

D. Herschlag et TR. Cech (Boulder, CO, USA) viennent d'étendre le champ des réactions chimiques auxquelles pouvaient participer les ribozymes en démontrant qu'ils étaient également actifs sur de l'ADN monobrin, clivé il est vrai moins efficacement qu'un brin identique d'ARN [2]. DL. Robertson et GF. Joyce, de la Scripps Clinic (La Jolla, CA, USA) ont obtenu les mêmes résultats, publiés d'ailleurs dans le même numéro de *Nature*, et les ont même développés par une série d'expériences tout à fait remarquables [3].

Le principe de leur approche, schématisé dans la figure 1, a été de mettre au point un « crible » permettant de sélectionner des molécules de ribozyme modifiées particulièrement actives sur le clivage d'ADN monobrin. La cible ADN s'hybride à une séquence guide en 5' du ribozyme et est prolongée, du côté de son extrémité 3', par une séquence riche en acides adényliques et thymidyliques : la réaction ribozymatique comporte

l'attaque, par l'hydroxyle de la guanosine en 3' du ribozyme, du pont phosphodiester situé entre la région de la cible hybridée au ribozyme et la région simple brin (figure 1). Cette réaction entraîne une transestérification et la formation d'une molécule hybride entre le ribozyme

et, à son extrémité 3', la partie simple brin de la cible ADN. Une amorce complémentaire d'une courte séquence située à cheval sur cette jonction ribozyme/ADN ne s'hybridera alors qu'aux molécules ayant subi la réaction décrite ; cette amorce pourra être allongée par une trans-

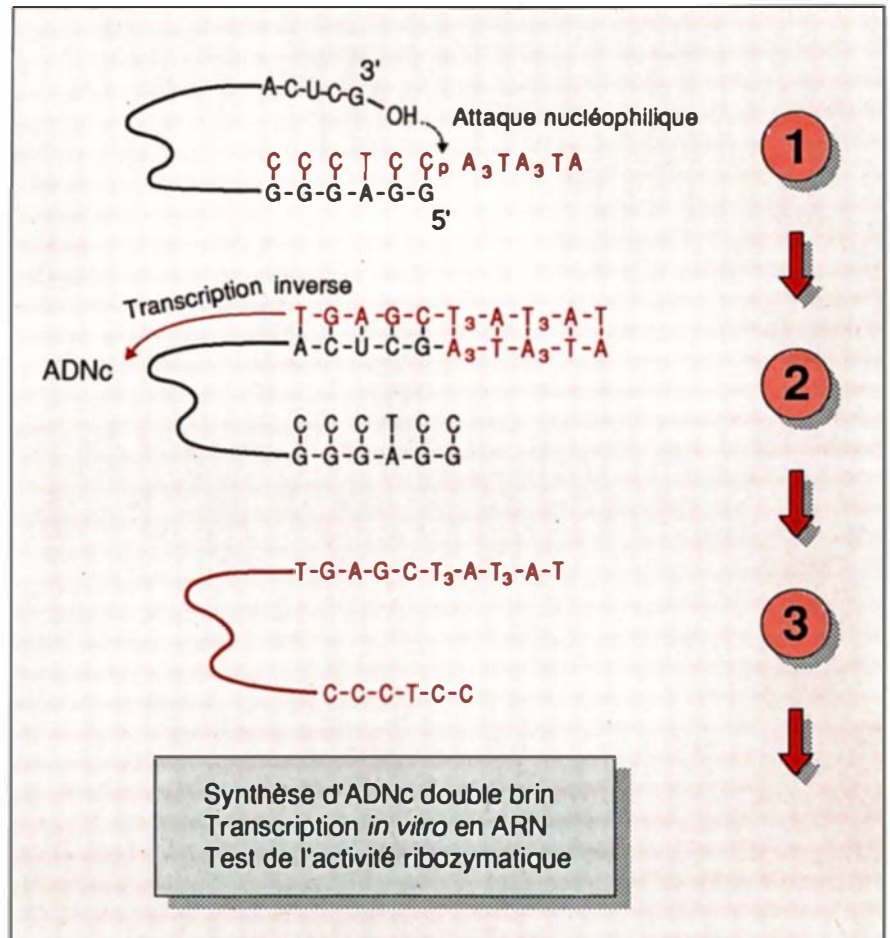


Figure 1. **Sélection in vitro de ribozymes actifs sur l'ADN.** En noir : ARN ; en rouge : ADN. **Étape 1.** Le ribozyme attaque une cible ADN hybridée à la séquence guide. **Étape 2.** Une amorce ne s'hybride qu'aux produits de la réaction 1. Elle est allongée par la transcriptase inverse. **Étape 3.** L'ADNc monobrin est converti en ADNc double brin et transcrit en ARN ribozymatique dont l'activité peut être étudiée.

criptase inverse qui recopiera l'ARN ribozymatique en ADN complémentaire. Si le milieu de réaction contient une très grande variété de molécules de ribozyme ayant subi des mutations diverses, les molécules actives sur l'ADN seront seules recopiées en ADNc. Cette méthode permettra donc de sélectionner des mutants dont l'activité de clivage/liaison sur l'ADN monobrin est particulièrement élevée. L'ADNc monobrin sera ensuite transformé en ADNc double brin, puis retranscrit en ARN dont l'activité ribozymatique pourra être aisément étudiée. Un variant du ribozyme de *Tetrahymena thermophila* dont l'activité catalytique anti-ADN monobrin est très augmentée a ainsi été isolé, et d'autres molécules sont actuellement plus finement analysées par la même méthode.

Ces résultats ont deux implications importantes, l'une pratique et l'autre théorique. Sur le plan pratique, s'il est possible d'améliorer encore les constantes cinétiques de la réaction, les ribozymes pourraient constituer dans l'avenir des endonucléases spécifiques de séquence, c'est-à-dire capables de couper tout ADN monobrin en un site déterminé. Sur le plan théorique, une telle activité endonucléolytique d'un ribozyme intronique suggère qu'il pourrait être l'ancêtre des endonucléases codées par certains introns de groupe 1 présents dans des gènes mitochondriaux de champignon. Ces activités, anciennement ribozymatiques et actuellement enzymatiques, font des introns de cette famille des éléments mobiles pouvant être excisés et réintégrés en d'autres sites du génome (*m/s*, n° 5, vol. 6, p. 487).

A.K.

1. Sarver N, Cantin EM, Changs PS, et al. Ribozymes as potential anti-HIV 1 therapeutic agents. *Science* 1990 ; 247 : 1222-5.

2. Herschlag D, Cech TR. DNA cleavage catalyzed by the ribozyme from tetrahymena. *Nature* 1990 ; 344 : 405.

3. Robertson DL, Joyce GF. Selection *in vitro* of an RNA enzyme that specifically cleaves single-stranded DNA. *Nature* 1990 ; 344 : 467-8.

■■■ Avoir faim... ou un cancer du sein... tel pourrait être résumé le dilemme de souris C3H/OU infectées par le virus de la tumeur mammaire MMTV (*mouse mammary tumor viruses*). Des équipes américaine de Floride (Saint-Petersbourg) et japonaise de Tokyo viennent en effet de montrer que la réduction de 40 % du nombre de calories ingérées par des souris contenant le provirus MMTV dans leur génome prévenait pratiquement la survenue de tumeur mammaire. Les tumeurs surviennent en revanche à 35-40 semaines de vie chez les animaux soumis à un régime « à volonté », qu'il soit riche en glucides ou en graisses [1].

Chez les animaux carencés, le poids diminue, la concentration de prolactine circulante est divisée par 4, les messages transcrits à partir du provirus MMTV et des oncogènes cellulaires *int-1*, *int-2* et *ras* sont bien plus faiblement exprimés que chez les souris au régime *ad libitum*. Il se pourrait que la diminution de la transcription du provirus limitât les risques de réinsertion provirale en d'autres sites du génome, avant tout à proximité d'oncogènes cellulaires au premier rang desquels se trouve *int-1* codant pour un analogue des FGF (*fibroblast growth factor*). C'est en effet une telle activation insertionnelle qui est mise en cause dans la cancérogenèse due à MMTV. Les mécanismes de la carence énergétique sur l'expression de MMTV sont inconnus. La diminution de la sécrétion de prolactine pourrait intervenir, directement ou indirectement.

Il n'est naturellement pas question de « prétendre » que les faits rapportés ici ont une contrepartie chez la femme. Ces résultats ont néanmoins l'intérêt d'attirer l'attention sur les possibles interférences entre cancer et alimentation, déjà évoquées par d'autres auteurs [2].

[1. Chen RF, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 2385-9.]

[2. Corcos D, et al. *Oncogènes* 1987 ; 1 : 193-9.]

■■■ Le virus d'Epstein-Barr est tumorigène pour les lymphocytes B transplantés à la souris immunodéprimée SCID. Il est possible d'utiliser les souris immunodéficientes SCID (*severe combined immunodeficiency*) pour analyser le comportement des cellules sanguines humaines auxquelles ces animaux sont tolérants. Pour une raison inconnue, il n'y a pas non plus de réaction du greffon contre l'hôte, comme si les cellules immunitaires humaines étaient devenues anergiques aux protéines de souris. Ainsi que nous l'avons récemment rapporté (*m/s*, n° 4, vol. 6, p. 400), l'infection des cellules T cytotoxiques humaines par des rétrovirus xénotropes murins pourrait expliquer leur non-réactivité.

Alors que des lymphocytes d'amygdales humaines indemnes d'infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV) provoquent chez la souris SCID une reconstitution immunologique partielle sans développement de tumeur, une équipe californienne de La Jolla (USA) vient de montrer qu'une infection ultérieure des animaux greffés par EBV entraîne en 3 à 5 semaines l'apparition de lymphomes de type immunoblastique développés aux dépens des cellules B. Les cellules tumorales contiennent de l'ADN et expriment des marqueurs viraux. Elles semblent d'origine polyclonale et ne possèdent pas de réarrangement des gènes *c-myc* et *bcl-2* si fréquents dans les lymphomes humains.

Avant de conclure à la valeur de ces lymphomes en tant que modèle du potentiel transformant d'EBV chez l'homme, bien manifesté par les tumeurs de Burkitt ou les cancers du nasopharynx [2], il faudra évaluer en quelle mesure la possible co-infection des cellules B humaines par EBV et des rétrovirus murins n'explique pas la remarquable agressivité des lésions obtenues.

[1. Canon MJ, et al. *J Clin Invest* 1990 ; 85 : 1333-7.]

[2. Kaplan JC, Szajnert MJ. *médecine/sciences* 1985 ; 5 : 17-23.]