

■■■ **BRCA2 n'est pas très conservé chez les mammifères.**

Les deux principaux gènes de susceptibilité au cancer du sein, *BRCA1* et *BRCA2*, sont tenus pour responsables de la majeure partie des cas familiaux survenant chez des femmes jeunes (*m/s n° 11, vol. 10, p. 1172* et *n° 3, vol. 12, p. 427*) et d'environ 5 % de la totalité des cancers du sein dans les populations occidentales. Les mutations de *BRCA1* s'observent dans les familles où surviennent à la fois des cancers du sein et de l'ovaire, tandis que les mutations de *BRCA2* comportent un risque faible de cancer de l'ovaire, mais un risque plus élevé de cancer du sein chez l'homme. *BRCA1* code pour une protéine n'ayant aucune similitude avec les protéines déjà connues qui contiennent un domaine à doigt de zinc dans la région amino-terminale. La présence d'un motif de type granine fut évoquée – suggérant une localisation extracellulaire (*m/s n° 6-7, vol. 12, p. 812*) –, puis réfutée, les travaux les plus récents montrant qu'il s'agit selon toute probabilité d'une phospho-protéine nucléaire (*m/s n° 11, vol. 12, p. 1271*). La comparaison entre *BRCA1* et *BRCA2* s'avère d'autant plus intéressante qu'il existe, comme nous l'allons voir, des raisons de penser que leurs transcrits seraient co-exprimés. Comme *BRCA1*, *BRCA2*, localisé en 13q12, code pour une protéine n'ayant pas de similitude avec des protéines déjà connues, dont une grande partie est codée par un long exon (exon 11) d'environ 5 kb. Le gène homologue de la souris, *Brca2*, vient d'être isolé [1]. Il est localisé sur le chromosome 5 murin dans une région synténique de 13q12 qui porte aussi les gènes *Gus* (codant pour le complexe β glucuronidase) et *Ftl1* et *3* (codant pour les tyrosine-kinases *FMS-like 1* et *3*). La comparaison avec le gène humain montre que les protéines déduites n'ont que 72,6 % d'identité. La région qui était supposée avoir une fonction granine dans la

protéine humaine n'est conservée ni chez la souris ni chez d'autres mammifères tels que le singe rhésus et le chien. Quant aux profils d'expression de *Brca2*, ils furent étudiés par une technique semi-quantitative avec un nombre d'amplifications choisi, permettant une estimation de l'abondance des transcrits pour les ADNc de chacun des tissus embryonnaires et adultes étudiés, en utilisant les gènes de la caséine α et du récepteur de la laminine comme témoins. Comme le gène humain *BRCA2*, *Brca2* est exprimé dans le cerveau, le testicule et, en quantité moindre, dans l'œil, l'iléon, l'appendice, l'épididyme et l'ovaire. L'expression dans la glande mammaire est induite par la gestation. Le gène *Brca1*, étudié dans les mêmes conditions, a un profil d'expression tout à fait comparable. En revanche, les profils d'expression des gènes de la famille des chromogranines, qui se ressemblent entre eux, diffèrent nettement de ceux de *Brca1* et de *Brca2*. Voici donc qui remet définitivement en cause l'hypothèse d'un motif granine dans *Brca2*. Mais l'aspect superposable des profils d'expression spatio-temporelle de *Brca1* et de *Brca2* évoque une interaction fonctionnelle et il importe désormais de savoir s'il existe des éléments régulateurs communs aux deux gènes.

[1. Connor F, et al. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 291-300.]

■■■ **Cancer du côlon, phénotype mutateur et apoptose.**

Nos lecteurs savent que de nombreux cancers du côlon sont caractérisés par un phénotype mutateur entraînant l'instabilité de séquence de type microsatellite (*m/s n° 11, vol. 12, p. 1268*). Dans les formes familiales de cancers du côlon non polyposiques (syndrome de Lynch), ce phénotype est lié à des mutations de gènes codant pour des enzymes de répara-

tion des mésappariements (*m/s n° 11, vol. 10, p. 1178*). Le phénotype mutateur entraîne fréquemment des mutations des gènes du récepteur du TGF β (*m/s n° 8, vol. 11, p. 1176*) ou, plus rarement, de l'IGF-II (*m/s n° 2, vol. 13, p. 275*). Une équipe californienne montre maintenant que le gène *BAX*, codant pour une molécule pro-apoptotique, est également la cible de ce phénotype mutateur. En effet, plus de 50 % des adénocarcinomes coliques à phénotype mutateur examinés possèdent au moins un allèle *BAX* avec une mutation au niveau d'une répétition de 8 G. Parfois, les deux allèles sont même modifiés [1]. On sait que, tardivement au cours de la progression tumorale, l'anti-oncogène *P53* est très fréquemment muté dans les cancers coliques. L'une des cibles de la protéine p53 est le gène *BAX*. Par conséquent, une inactivation de *P53* ou de *BAX* pourrait avoir, en partie, les mêmes conséquences, c'est-à-dire une diminution de la mort par apoptose des cellules cancéreuses.

[1. Rampino N, et al. *Science* 1997; 275 : 967-9.]

■■■ **Quand Myc perd encore un peu plus de son mystère.**

Il a été récemment rapporté dans ces colonnes (*m/s n° 1, vol. 13, p. 129*) que l'un des gènes cibles de l'oncogène *c-myc* était celui de la *cdc25*, une phosphatase responsable de la déphosphorylation de *cdk2/cycline E* notamment, provoquant ainsi l'apparition de l'activité kinasique de ce complexe et la mise en route du cycle cellulaire. Si les cibles de *c-Myc* commencent ainsi à mieux se définir, la voie par laquelle la transcription du gène *c-Myc* est activée sous l'effet des facteurs de croissance reste encore une énigme. Le traitement des cellules Ba/F3 murines par l'interleukine 3 (IL-3) induit la synthèse d'ADN mais aussi

le maintien de la viabilité de ces cellules en bloquant les phénomènes apoptotiques qui se manifestent lors du retrait de la cytokine. L'oncogène *Myc* paraît être impliqué dans ce maintien de la viabilité cellulaire mais dans certaines conditions puisque sa surexpression en absence de facteurs de stimulation induit l'apoptose (*m/s* n° 6, vol. 8, p. 586). Dans un tout récent travail, l'équipe de Masabumi Shibuya (Tokyo, Japon) a démontré que l'activation de *c-Myc* trouve l'une de ses sources (il ne semble pas aux auteurs que ce soit la seule) dans la fixation de la protéine Shc au récepteur activé de l'IL-3 dans les cellules Ba/F3 [1]. Shc est une protéine à rôle adaptateur: par son domaine PTB, elle reconnaît la tyrosine phosphorylée de la chaîne β du récepteur; par sa tyrosine 317 (elle-même phosphorylée dans l'opération) elle fixe la protéine Grb2, enclenchant ainsi la voie de transmission du signal Ras-Raf-Map kinases. M. Shibuya et ses collaborateurs ont alors constaté que le traitement des Ba/F3 par l'IL-3 induit non seulement la phosphorylation de la tyrosine 317, mais aussi celle de deux tyrosines adjacentes, 239 et 240. Cette activation de Shc paraît être un chaînon de la voie conduisant au maintien de la viabilité car l'expression dans les Ba/F3 d'un mutant dominant négatif de Shc aboutit à l'apoptose. Ils ont alors étudié la survenue de l'apoptose dans des Ba/F3 exprimant des protéines Shc dans lesquelles les tyrosines (Y) 239/240 et 317 ont été mutées en phénylalanine (F). Après retrait de l'IL-3, ou en conditions de culture à faible concentration de sérum, les cellules exprimant le mutant Y239/240F vivent moins longtemps que celles exprimant la forme normale ou le mutant Y317F. L'induction de *c-Myc* sous l'effet de l'IL-3 est alors nettement réduite avec les mutants Y239/240F mais pas affectée par la mutation Y317F. Cela suggère fortement que l'activation de *c-Myc*, si elle découle de la phosphorylation sur tyrosine de Shc, ne relève pas

des mêmes tyrosines que celles qui activent la voie Ras. Comme la forme mutée Y239/240F de Shc ne peut plus empêcher l'apoptose contrairement à la forme Y317F qui, elle, est incapable de stimuler la voie Ras-Raf-MapK, les auteurs concluent que les deux voies Shc vers *Myc* ou Shc vers Ras contribuent à différentes fonctions cellulaires. Cependant ces observations soulèvent quelques difficultés. Il a en effet été démontré que l'activation de la transcription de *c-Myc* dépendait de la région de la chaîne β du récepteur de l'IL-3 proche de la membrane alors que la phosphorylation de Shc dépend de sa partie terminale [2], ce qui définit manifestement des voies d'activation de *c-Myc* respectivement indépendante et dépendante de Shc. Il est donc clair que si la connaissance de la voie *Myc* paraît s'entrouvrir sous nos pas, longue encore est la route vers l'élucidation de l'activation et du rôle cellulaire de *c-Myc* bien que, comme cela a été souligné précédemment [1], *c-Myc* ait été l'un des premiers oncogènes à avoir été reconnu.

[1. Gotoh N, *et al. EMBO J* 1996; 15: 6197-204.]

[2. Sato N, *et al. EMBO J* 1993; 12: 4181-9.]

■■■■ **Les singulières relations entre la protéine Hox11 et les protéine phosphatases.** L'homéogène *Hox11* est localisé en dehors des trois locus regroupant, chez les vertébrés, la plupart des gènes *Hox*. L'inactivation des deux allèles de *Hox11* chez la souris entraîne une asplénie (absence de rate) (*m/s* n° 6/7, vol. 10, p. 741). Chez l'homme, le gène *HOX11* est réarrangé dans un type de leucémie T humaine. De fait, *HOX11* peut être considéré comme un oncogène car son expression ciblée par transgénèse dans le thymus de souris entraîne l'apparition de tumeurs. Kawabe *et*

al. (Saint-Louis, MO, USA) démontrent que la protéine HOX11 pourrait agir non par la liaison à l'ADN grâce à son motif homéo, mais par l'interaction de son extrémité carboxy-terminale avec les protéines phosphatases PP2A et PP1 [1]. Cette interaction semble inactiver les protéine phosphatases ainsi complexées, ce qui permettrait de franchir un point de contrôle du cycle cellulaire situé en phase G2 du cycle, avant le début de la mitose (phase M). Ainsi, l'injection de la protéine Hox11 dans des œufs de xénope arrêtés en phase G2 leur permet de progresser vers la phase M. On peut observer que Hox11 n'est pas la seule protéine oncogénique qui puisse interagir avec des protéine phosphatases. La même observation a été faite pour l'antigène t du virus SV40, petit et moyen T de polyome, protéine E4 d'adénovirus et EBNA2 du virus d'Epstein Barr. De même, des inhibiteurs de protéine phosphatases de type acide okadaïque et calyculine A sont des promoteurs de tumeur qui permettent de stimuler des cellules bloquées en G2. Par conséquent, des protéines à homéo-boîtes, telles que Hox11, pourraient agir, indépendamment de leur rôle éventuel de facteur transcriptionnel, comme des modulateurs de l'activité protéine-phosphatasique qui contrôle elle-même certaines phases du cycle cellulaire, notamment le passage de G2 en M.

[1. Kawabe T, *et al. Nature* 1997; 385: 454-8.]

■■■■ **Du besoin de mourir pour bien naître.** La mort cellulaire programmée, l'apoptose, est régulièrement présente dans nos colonnes. Elle semble importante lors du développement, en particulier pour le système immunitaire et le système nerveux. A l'origine de la dissection moléculaire de ce phénomène, rappelons l'homologie entre le gène *ced-3* de *Caenorhabditis elegans* et

celui de l'enzyme de conversion de l'interleukine 1 β (ICE) chez l'homme. Au cours des deux dernières années, une dizaine de protéases liées à l'apoptose ont été caractérisées. Elles présentent toutes une cystéine essentielle à leur activité, et clivent leurs substrats après un aspartate, d'où le nom générique proposé récemment de caspases [1]. Ces enzymes sont fréquemment exprimées dans les mêmes cellules, soulevant la question du sens d'une telle redondance. Parmi les caspases, CPP32/yama/apopainé, ou maintenant caspase-3, est la plus proche chez les mammifères de la protéase CED-3, tant en terme de séquence protéique qu'au regard de leurs spécificités de substrats. De nombreux articles ont rapporté l'activation de CPP32 lors de l'apoptose induite par différents procédés (anticorps anti-Fas, dexaméthasone, céramide C2, staurosporine, irradiation par des UV ou des rayons gamma) dans de multiples tissus et lignées cellulaires. CPP32 est ainsi considérée comme la protéase effectrice finale de la cascade d'apoptose [2]. Cela devait conduire à produire par recombinaison homologue une souris mutante *CPP32*^{-/-}, un travail maintenant réalisé par la même équipe qui inactiva un an plus tôt le gène de ICE [3, 4]. Le phénotype de ces souris n'est pas viable; les homozygotes pour la délétion sont beaucoup plus petits que leurs congénères normaux ou hétérozygotes, et meurent au stade embryonnaire ou ne survivent pas plus de 3 semaines après la naissance. Leur système immunitaire semble normal. En particulier, les thymocytes synthétisent normalement les différents marqueurs de leur maturation (CD4, CD8, CD25, CD69). De plus, ils sont sensibles à tous les inducteurs d'apoptose, contrairement aux cellules du mutant *ICE*^{-/-} qui n'étaient plus sensibles à l'apoptose induite par le ligand de Fas [3]. Les auteurs suggèrent un phénomène de compensation par deux pro-

téases proches, les caspases 6 (Mch2) et 7 (Mch3, ICE-LAP3, CMH-1), qui sont exprimées dans les mêmes cellules. En effet, l'activité de clivage de la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) est identique chez les mutants et les témoins. Cœur, poumon, rein, foie, rate et testicules sont également normaux. En revanche, le système nerveux est profondément affecté, avec une énorme augmentation du nombre de cellules, quelle que soit la structure observée. Dans le cortex cérébral, il s'agit de cellules mûres formant des masses ectopiques rappelant celles observées chez l'homme dans les hétérotypies périvertriculaires, et formant parfois l'ébauche de structures surnuméraires (double cortex, seconde corne d'Amon, etc.). Le cervelet des souris mutantes présente une couche germinale qui reste visible et active au delà du 16^e jour postnatal, avec profusion de cellules des grains le long de la surface des hémisphères. Contrairement aux souris normales, les auteurs n'observent pas d'images d'apoptose telles que des amas de cellules picnotiques entre les jours embryonnaires 12 et 17. Ces anomalies sont proches de celles rapportées pour la mutation *ced-3* de *Caenorhabditis elegans*. Mais comment expliquer l'absence de compensation de la mutation par les caspases 6 et/ou 7, pourtant largement synthétisées dans le système nerveux? Ce travail met en relief (terme particulièrement approprié à la vue de la surface du cortex cérébral des souris mutantes) l'importance de l'apoptose dans le développement harmonieux du système nerveux et, de façon plus inattendue, la spécificité fonctionnelle de chaque caspase.

[1. Alnemri ES, *et al. Cell* 1996; 87: 171.]

[2. Fraser A, Evans G. *Cell* 1996; 85: 781-4.]

[3. Kuida K, *et al. Science* 1995; 267: 2000-3.]

[4. Kuida K, *et al. Nature* 1996; 384: 368-72.]

GÉNÉTIQUE DE LA FERTILITÉ MASCULINE COLLIOURE, FRANCE 4-6 septembre 1997

Jeudi 4 septembre

GENETIC CONTROL OF SPERMATOGENESIS

Genetic of sexual differentiation: C. Sultan (F)

Genetic control of spermatogenesis: N. Hecht (USA)

Mapping of the Y : D. Page (USA)

Epidemiology of oligo and azoospermia : A. Spira (F)

Genetic aspects of flagellar dyskinesia, globozoospermia: C. Gagnon (C)

Urogenital dysgenesis and male infertility : P.N. Schlegel (USA)

Karyotype and oligospermia: A. Chandley (UK)

Heritability of sterility : H. Tournaye (B)

Vendredi 5 septembre

GENETIC OF THE SPERMATOZOOA

DNA packaging : S. Ward (USA)

Detection and characterization of chromosome abnormalities: R. H. Martin (C)

X/Y separation : J.D. Schulman (USA)

Oxydative damages of chromatin : D. Sakkas (S)

SESSION DE POSTERS

TABLE RONDE ÉTHIQUE

McDonough (USA), M. Serres (F), F. Collins (USA), A. Kahn (F)

Samedi 6 septembre

ROLE OF SPERMATOZOOA IN EMBRYOGENESIS

Paternal effects on early embryogenesis : L. Janny (F)

Paternal inheritance of the centrosome : G. Schatten (USA)

Gene imprinting : N. De Groot (IL)

Mitochondrial DNA : J. Cummins (Aus)

Renseignements :

**Hélène Moutaffian, CHU la Grave,
Laboratoire de FIV,
31052 Toulouse Cedex, France
Tél. : 05 61 77 78 58
Fax : 05 61 59 24 83**

■■■■ **Un seul nucléotide en moins ... et adieu le pancréas.** On savait depuis les travaux de l'équipe de Edlund (Umea, Suède) que les souris dont le gène *Pdx1* est invalidé ne développent pas de pancréas [1]. Il s'agit d'un gène à homéoboîte, décrit initialement chez le xénope et impliqué dans la différenciation endodermique au cours du développement duodénal et pancréatique. Il n'a pas fallu bien longtemps pour que l'agénésie pancréatique humaine, une maladie fort rare (8 cas décrits dans le monde) soit rapportée à une mutation de l'analogue humain de ce gène, appelé *IPF1* [2]. Cette affection a été décrite chez un nouveau-né de petit poids chez lequel le diagnostic d'agénésie pancréatique avait été soupçonné devant un diabète et une insuffisance pancréatique exocrine, et confirmé par échographie. Le diagnostic génétique a nécessité l'isolement puis l'étude de l'ADNc d'*IPF1* : les régions codantes des gènes *IPF1* humain et *Pdx1* murin sont très voisines (100 % d'identité dans l'homéodomaine, 86 % dans le reste des séquences). La délétion d'un nucléotide du codon 63 a été trouvée à l'état homozygote chez le proposant et à l'état hétérozygote chez chacun des deux parents. Elle entraîne un décalage du cadre de lecture qui s'interrompt 59 codons en aval, donnant naissance à une protéine tronquée. Ajoutons que les deux familles paternelle et mater-

nelle comportent de nombreux diabétiques, qu'un diabète non insulino-dépendant vient d'être découvert chez le père et que la mère avait une glycosurie pendant sa grossesse. Les deux parents ont la même délétion au codon 63 et des haplotypes voisins qui font envisager que les deux allèles dérivent d'un ancêtre commun. La protéine *IPF1*, *insulin promoter factor*, a deux rôles : (1) celui d'un commutateur de différenciation (*m/s n° 1, vol. 13, p. 116*), indispensable au développement du bourgeon pancréatique ; (2) et d'un transactivateur de la transcription du gène de l'insuline, par l'intermédiaire d'une réaction synergique avec des protéines fixées à des éléments d'ADN appelés boîtes E (de formule consensuelle CANNTG, où N est un nucléotide quelconque) et appartenant à la famille des facteurs b-HLH/LZ *basic loop-helix-loop/leucine zipper*. La protéine tronquée, dépourvue d'homéodomaine et de signal de localisation nucléaire, n'est pas retrouvée dans le noyau et ne peut donc pas régler l'expression des gènes.

[1. Jonsson, *et al. Nature* 1994 ; 371 : 606-9.]

[2. Stoffers DA, *et al. Nature Genet* 1997 ; 15 : 106-10.]



INSTITUT COCHIN DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE
XIV^e JOURNÉE JEAN-CLAUDE DREYFUS
DE GÉNÉTIQUE ET DE PATHOLOGIE MOLÉCULAIRES
RÉCEPTEURS et MALADIES
RECEPTORS and DISEASES

Vendredi 19 septembre 1997

Grand Amphithéâtre de la Faculté de Médecine Cochin Port-Royal
 24, rue du Faubourg-St-Jacques - 75014 PARIS, France

Renseignements et Inscriptions : APEMM CONGRÈS (Axel KAHN)
 Faculté de Médecine COCHIN - 24, rue du Faubourg-St-Jacques - 75014 PARIS

Téléphone et Télécopie : 01 44 41 24 41

Réunion interface Inserm/Génétique
 Institut Pasteur
23-24 mai 1997

Organisateurs : M. Fellous, B. Grandchamp,
 A. Nicolas, C. Stoll, G. Thomas

Vendredi 23 mai

- Analyse fonctionnelle du génome de la levure
- Variabilités phénotypiques dans les maladies génétiques

Samedi 24 mai

- Phénotypes et diversité génétique
- Pathologies plurifactorielles

Information et inscriptions :

Secrétariat de la SFG

Immunogénétique humaine, Institut Pasteur,
 25, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris
 Cedex 15, France

VIIIth INTERNATIONAL SYMPOSIUM
 ON LUMINESCENCE SPECTROMETRY
 IN BIOMEDICAL AND ENVIRONMENTAL
 ANALYSIS-DETECTION TECHNIQUES
 AND APPLICATIONS
 IN CHROMATOGRAPHY
 AND CAPILLARY ELECTROPHORESIS
 LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
 (CANARY ISLANDS)

Espagne

26-29 mai 1998

organisé par l'Université de Las Palmas de G.C. (Espagne)
 en collaboration avec l'Université de Ghent (Belgique),
 l'Université de Tokyo (Japon)
 et la Complutense Université de Madrid (Espagne)

Dr José Juan Santana Rodríguez, Symposium Chairman,
 University of Las Palmas de G.C., Department of Chemistry
 Faculty of Marine Sciences
 35017 Las Palmas de G.C. (Canary Islands), Spain
 Fax: +34 (9) 28 45 29 22; Tel.: +34 (9) 28 45 29 15/45 29 00
 E-mail: josejuan.santana@quimica.ulpgc.es

Cours de génétique
 de la souris
 du 8 septembre
 au 3 octobre 1997

Organisé par l'Institut Pasteur
 et l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Clôture des inscriptions
 1^{er} juin 1997

Inscriptions :

Service des enseignements
 et des stages, Institut Pasteur,
 25, rue du Docteur-Roux,
 75724 Paris Cedex 15, France