

■■■ La conquête du monde par les super-moustiques. Le moustique *Culex pipiens* résiste aux organo-phosphorés grâce à une augmentation de l'activité enzymatique d'estérase non spécifiques. Il existe deux *loci* codant pour deux formes isoenzymatiques, les estérase A et B. L'hyperproduction des estérase chez les moustiques soumis aux insecticides organo-phosphorés est due à une amplification de ces gènes A et B. Une équipe de Montpellier vient d'étudier les gènes amplifiés de l'estérase B dans des moustiques venant d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du Nord [1]. Il semble n'exister qu'un seul *locus* B comportant plusieurs allèles. Les fragments amplifiés responsables de l'hyperexpression d'estérase B sont issus de ce *locus*. Les auteurs ont étudié les fragments géniques contenant les gènes amplifiés des estérase B1 et B2. Les fragments portant les copies B2 se révèlent identiques, dans toutes les populations de moustiques testées, au niveau de la séquence codante aussi bien que des séquences flanquantes. En revanche, les séquences flanquantes des gènes amplifiés codant pour d'autres isoenzymes, par exemple l'estérase B1, sont très polymorphiques. Ces résultats suggèrent que l'avantage sélectif conféré par la résistance aux organo-phosphorés a permis à un individu possédant une amplification du gène B2 de se répandre dans le monde entier, probablement par l'intermédiaire des voyages internationaux maritimes et aériens. L'utilisation intensive d'insecticides organo-phosphorés n'a guère débuté que durant les années 1960. Il a donc suffi d'une trentaine d'années aux moustiques sélectionnés par l'homme pour conquérir la planète. Ces résultats montrent l'extraordinaire rapidité avec laquelle peuvent être modifiés des équilibres écologiques dès lors que des avantages sélectifs sont conférés à des cellules ou à des organismes vivants : insectes résistant aux insecticides, *Plasmodium* résistant à la nivaquine, bactéries résistant aux antibiotiques... [1. Raymond M, *et al. Nature* 1991 ; 350 : 151-3.]

Une mutation du cotransporteur Na⁺/glucose provoque la malabsorption du glucose et du galactose

Le glucose est absorbé par les cellules épithéliales de l'intestin grêle et des tubules rénaux proximaux par un système de cotransport avec le sodium, système entraîné par un gradient de Na⁺. Le galactose, mais non le fructose ni le xylose, en est également tributaire. Le gène de ce cotransporteur a pu être caractérisé. Il est situé sur la partie distale du bras long du chromosome 22. En 1989, une équipe de Los Angeles (CA, USA), qui en avait déjà cloné l'ADNc du lapin deux ans auparavant, a réussi à isoler un clone humain à partir d'une banque d'ADNc d'intestin [1]. La sonde s'hybride à trois messagers humains de 2,2 ; 2,6 et 4,8 kb, dont la différence de taille tient à une longueur variable de la portion 3' non codante. L'ADNc code pour une protéine de 664 acides aminés dont la séquence fait prévoir 12 régions transmembranaires et deux zones fortement hydrophiles (acides aminés 408-420 et 567-631) (*figure 1*), avec deux sites possibles de glycosylation. Le rôle de cette protéine est authentifié par l'injection du message à des ovocytes de xénope, qui multiplie par un facteur de 70 la prise de glucose dépendant de Na⁺ et sensible à la phlorizine. La séquence de la protéine humaine compte 94 % d'homologie avec celle du lapin. Si on la compare à d'autres séquences connues, la seule similitude trouvée est avec le cotransporteur Na⁺/proline d'*E. coli* (28 % d'identité plus 25 % de substitutions conservatrices). On peut donc penser qu'un ancêtre de cotransporteurs à sodium était déjà

présent avant la divergence procaryotes-eucaryotes.

Les auteurs ont pensé qu'une anomalie de ce gène pourrait être responsable d'une maladie rare, à transmission récessive autosomique, la malabsorption du glucose et du galactose. Cette affection a été décrite en 1962 par deux équipes, une française et une suédoise (in [2]). Elle est caractérisée cliniquement par une diarrhée sévère dès la première semaine de vie, conduisant à une déshydratation et à la mort si elle n'est pas reconnue, et si lactose et saccharose ne sont pas éliminés du régime, remplacés par du fructose. Au contraire, si ce régime, assez difficile à suivre, peut être maintenu, les sujets pourront mener une vie normale. La lésion biochimique est limitée à l'intestin et au rein : la pénétration du glucose est, par exemple, normale dans les hématies. La mauvaise absorption du glucose et du galactose peut être vérifiée *in vitro* sur biopsie intestinale.

Tout récemment, l'équipe qui avait cloné le gène, à laquelle se sont joints des chercheurs de Mayence (Allemagne), a démontré qu'une mutation du cotransporteur pouvait être responsable du syndrome de malabsorption. Deux sœurs d'origine syrienne, issues de parents consanguins, avaient présenté les symptômes de la maladie, jugulés par le régime approprié. A partir de biopsies intestinales, on a préparé de l'ARN message puis de l'ADNc par transcription inverse. La partie codante, entièrement séquencée, révéla une seule mutation ponctuelle ; un changement

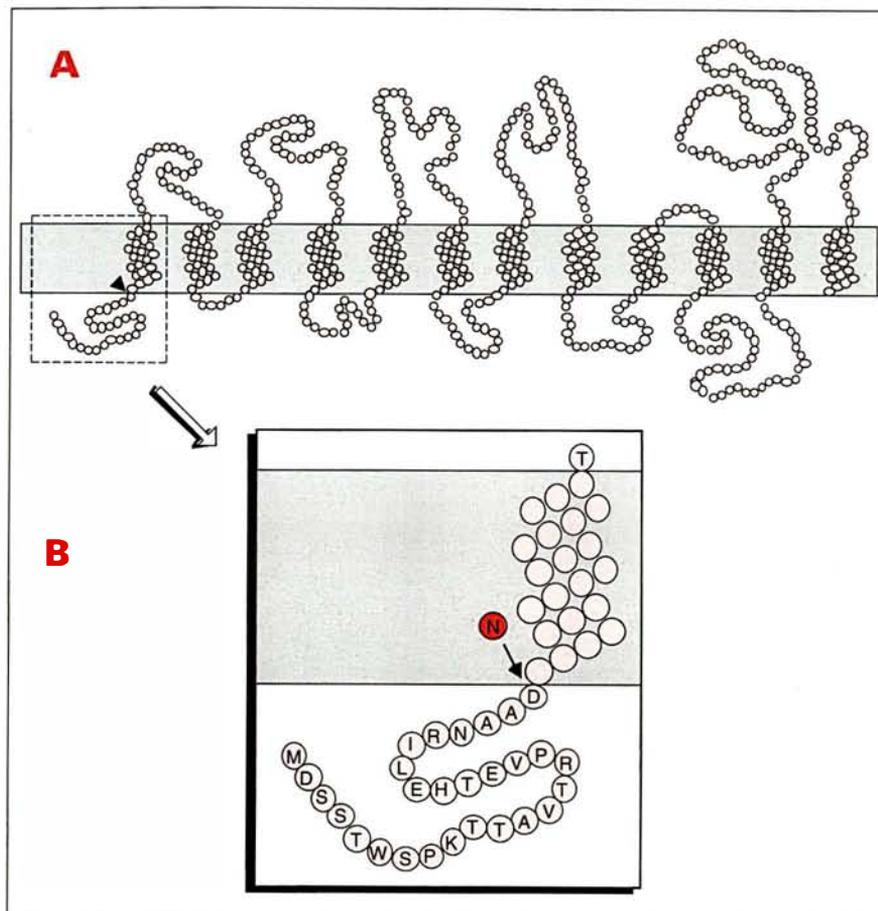


Figure 1. **A) Schéma probable de la molécule du cotransporteur Na^+ /glucose. En foncé les zones transmembranaires. (B) Détails de la séquence des 28 premiers acides aminés montrant la position de la mutation. (D'après [3] modifié.)**

G → A sur le nucléotide 92 entraînait le remplacement d'un aspartate par une asparagine sur l'acide aminé 28. La mutation supprime un site de restriction pour EcoRV, rendant le criblage facile. Les parents furent caractérisés comme hétérozygotes, et aucun mutant même hétérozygote ne fut détecté sur 20 témoins.

Une mutation aspartate-asparagine ne saurait certes démontrer à elle seule que le cotransporteur a été rendu inactif. Aussi les auteurs ont-ils préparé, par mutagenèse dirigée, à partir d'un clone normal, un clone porteur de la mutation. Le messenger obtenu par transcription des clones normal et muté a été injecté à des ovocytes de xénope. Le messenger mutant, contrairement au messenger normal, n'a provoqué aucune aug-

mentation de la prise d' α -méthyl-D-glucopyranoside, substrat spécifique du cotransporteur. La mutation Asp → Asn a donc suffi pour inactiver totalement le cotransporteur. La figure 1 montre la position de l'acide aminé 28, à la charnière de la région amino-terminale et du premier segment transmembranaire. La fonction de cet aspartate, encore hypothétique, pourrait être de stabiliser la structure tertiaire de cette région de la molécule.

Les auteurs pensent que le cotransporteur Na^+ /glucose est le premier exemple d'une protéine de transport pour laquelle un défaut moléculaire spécifique est responsable d'une maladie génétique.

J.C.D.

1. Hediger MA, Turk E, Wright EM. Homology of the human intestinal Na^+ /glucose and *Escherichia coli* Na^+ /proline cotransporters. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 5748-52.
2. Desjeux JF. Congenital selective Na^+ , D-glucose cotransport defects. In : Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *Metabolic basis of inherited disease*. New York : McGraw-Hill, 1989 : 2463-78.
3. Turk E, Abel B, Mundlos S, Dyer J, Wright EM. Glucose/galactose malabsorption caused by a defect in the Na^+ /glucose cotransporter. *Nature* 1991 ; 350 : 354-6.

■■■ BRÈVE ■■■

■■■ Transplantation intrathymique : après les îlots pancréatiques, les glomérules rénaux. Remuzzi *et al.* [1] (Institut Mario Negri, Bergame, Italie) ont injecté des glomérules de rats *Brown-Norway* (< 2 % de contamination par des tubes rénaux) dans le thymus de six rats *Lewis* incompatibles, prétraités par de la ciclosporine pendant deux jours et par de la dexaméthasone le jour de l'injection. Dix jours plus tard, les rats *Lewis* ont subi la transplantation d'un rein de rat *Brown-Norway* (dont ils avaient reçu antérieurement les glomérules du rein opposé). Les deux reins propres des rats receveurs ont également été enlevés. Sans aucune autre immunosuppression, le rein des six animaux ainsi traités fonctionne au-delà de 70 jours. Au contraire, les rats ayant reçu une injection intrathymique de la solution de Krebs-Ringer deviennent rapidement anuriques et meurent six à huit jours après la transplantation rénale. De même, l'injection intrathymique de glomérules provenant d'un rat *Sprague-Dawley* n'induit pas de tolérance prolongée d'un rein prélevé chez un rat *Brown-Norway* et greffé à un rat *Lewis*. Ainsi, le résultat est assez comparable à celui obtenu avec l'injection intrathymique d'îlots de cellules pancréatiques (voir *m/s* n° 10, vol. 6, p. 1014). L'injection intrathymique semble induire une tolérance spécifique du donneur (et probablement spécifique d'organe, voire même de certains constituants de l'organe).

[1. Remuzzi G, *et al.* *Lancet* 1991 ; 337 : 750-2.]