

Les nouvelles de ce numéro ont été préparées par :
Pascale Briand
Jean-Pierre Bonvalet (1)
Jean-Claude Dreyfus
Nicolette Farman (1)
Jean-Pierre Grünfeld
Axel Kahn
Dominique Labie (2)
Marc Lombes (1)
Thierry Lacaze-Masmonteil (3)
Claude Matuchansky
Marie-Edith Oblin (1)
Hubert Vaudry (4)

(1) Inserm U. 246, U.E.R. Xavier Bichat, 16, rue Henri-Huchard, 75018 Paris, France.
 (2) Institut Cochin de Génétique Moléculaire, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
 (3) Institut Cochin de Génétique Moléculaire, Inserm U. 129, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
 (4) Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire, CNRS URA 650, unité affiliée à l'Inserm, université de Rouen, 76134 Mont-Saint-Aignan, France.

SOMMAIRE DES NOUVELLES BRÈVES

Correction de la mutation drépanocytaire par recombinaison homologue (p. 735).

Diabète insulino-dépendants obtenus par infection de souris transgéniques exprimant, dans le pancréas, un des antigènes du virus infectant (p. 738).

Le produit du gène *bcr* est une protéine GAP active sur un membre de la famille Ras (p. 739).

Clonage de l'ADNc du récepteur de l'angiotensine II (p. 739).

Le facteur vasorelaxant d'origine endothéliale (EDRF) atténue l'effet vasoconstricteur de l'angiotensine II sur l'artériole pré-glomérulaire (p. 739).

A quoi sert la protéine de Tamm-Horsfall ? (p. 741).

Ciblage de l'expression d'une estérase virale pour étudier le rôle de l'acétylation des acides sialiques au cours du développement précoce et de la différenciation (p. 743).

Hépatocarcinogenèse chez les souris exprimant un transgène *HBx* (p. 743).

La protéine de liaison du FK 506 n'est pas l'inhibiteur protéique 2 de la protéine kinase C (p. 743).

Effet de l'IGF1 (*insulin-like growth factor 1*) dans le nanisme de Laron par insensibilité à l'hormone de croissance (p. 745).

La mélanostatine, un nouveau neuropeptide régulateur de l'activité hypophysaire (p. 745).

L'acide ursodésoxycholique dans la cirrhose biliaire primitive : affirmation d'un acquis thérapeutique (p. 747).

Pourquoi les souris femelles se contentent d'un seul chromosome X (p. 750).

Le type plaquettaire de la maladie de von Willebrand (p. 750).

Inhibiteurs mixtes de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et de l'enképhalinase (p. 751).

Perspectives actuelles du traitement de la maladie de Gaucher par remplacement enzymatique (p. 752).

L'atrophie musculaire spinale et bulbaire liée à l'X associée à des mutations du récepteur des androgènes (p. 752).

Le monoxyde d'azote diminue l'adhérence des leucocytes à l'endothélium vasculaire (p. 753).

Maladies des « yeux de poisson », HDL - cholestérol et activité lecithine - cholestérol acyl-transférase (LCAT) (p. 754).

Une prédisposition génétique à la maladie de Creutzfeldt-Jakob iatrogène ? (p. 754).

Essai de traitement de la maladie d'Alzheimer par le chélateur desferrioxamine (p. 754).

Le rôle du proto-oncogène *c-myb* précisé par recombinaison homologue

Le proto-oncogène *c-myb* est l'équivalent cellulaire de l'oncogène viral *v-myb* du virus de la myéloblastose aviaire AMV. Le virus E26, qui induit des leucémies des lignées myéloïdes et érythroïdes, contient également *v-myb* associé à *v-ets*. Au cours du développement, *c-myb* est exprimé très précocement, notamment au niveau des cellules ES (*embryonic stem cells*). Les transcrits *c-myb* sont particulièrement abondants dans les orga-

nes hématopoïétiques mais sont également détectés dans une grande diversité d'autres tissus, par exemple le cerveau, le côlon, etc. La protéine Myb est localisée dans le noyau et a toutes les caractéristiques d'un facteur transcriptionnel reconnaissant des cibles spécifiques d'ADN. Plusieurs équipes associées de Cincinnati, dans l'Ohio, aux États-Unis [1], viennent de préciser les fonctions du gène *c-myb* par recombinaison homo-

1. Mucenski ML, McLain K, Kier AB, et al. A functional *c-myb* gene is required for normal murine fetal hepatic hematopoiesis. *Cell* 1991 ; 65 : 677-89.
 2. Lemarchandel V, Montagutelli X. La recombinaison homologue, de nouvelles perspectives pour la transgénèse. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 18-29.
 3. Dieterlen-Lievre F. The origin of haematopoietic stem cells in the avian embryo : an experimental approach. *J Embryol Exp Morphol* 1975 ; 33 : 607-19.

logue [2]. Pour ce faire, le gène *néo* a été intégré au milieu du sixième exon de *c-myb*. Le vecteur utilisé pour cette recombinaison contenait le gène *néo* entouré de 8 kb de séquence *c-myb* en 5' et de 1,65 kb en 3'. Après électroporation des cellules ES et sélection pour la résistance à l'antibiotique G 418 (conférée par le gène *néo*), un test PCR, confirmé par une analyse en *Southern blot*, devait révéler que 1/40 des clones résistants avaient subi un événement de recombinaison homologue. Il s'agit là d'une proportion très remarquablement élevée, dépassant largement les chiffres habituellement publiés qui sont plutôt de l'ordre de 1 événement de recombinaison homologue sur 200 à 1 000 événements de recombinaison au hasard. Il se peut que l'activité transcriptionnelle du gène *c-myb* dans les cellules ES, améliorant son accessibilité par modification de la conformation chromatiniennne locale, soit à l'origine de cette très grande fré-

quence de la recombinaison homologue dans ce cas. Les souris parentales chimères et leurs descendants hétérozygotes sont tout à fait normaux. En revanche, les souris homozygotes pour l'interruption inactivatrice du gène *c-myb* ne se développent pas au-delà du quinzième jour. Jusqu'à ce stade, le développement est strictement normal, avec, notamment, une érythroïèse embryonnaire normale au niveau de la membrane vitelline (*yolk sac*). En revanche, l'hématopoïèse ne s'établit pas au niveau du foie fœtal qui, chez le fœtus, est le site majeur de production des cellules du sang. Ces résultats indiquent que la présence de *c-myb* n'est pas indispensable au développement précoce de l'embryon ni à la différenciation ultérieure de structures dans lesquelles il est exprimé. En revanche, *c-myb* est absolument requis pour l'établissement de l'hématopoïèse fœtale au niveau du foie. Puisqu'il semble

(quoique des données dérivées de l'étude de chimères caille-poulet n'aillent pas dans ce sens [3]) que les cellules souches hématopoïétiques de la membrane vitelline soient les précurseurs des cellules responsables de l'hématopoïèse hépatique fœtale, ce résultat indique que les micro-environnements de la membrane vitelline et du foie fœtal imposent aux cellules souches hématopoïétiques un phénotype différent, et par conséquent des exigences spécifiques quant à l'expression de gènes de régulation. La similitude entre le phénotype des mutants homozygotes pour l'interruption du gène *c-myb* et les souris *W/steel* (*m/s* n° 10, vol. 6, p. 1016) est frappante et peut suggérer que *c-myb* contrôle, d'une manière ou d'une autre, l'expression du gène *c-kit* (impliqué dans la mutation W) codant pour un récepteur dont le ligand est le produit du gène *steel*.

A.K.

■■■ BRÈVE ■■■

■■■ Correction de la mutation drépanocytaire par recombinaison homologue. La recombinaison homologue est habituellement utilisée pour inactiver des gènes au sein desquels on insère des fragments d'ADN qui interrompent la continuité. Cette même méthode est, cependant, potentiellement utilisable pour remplacer un fragment d'ADN muté par son équivalent normal. Des études antérieures avaient montré la faisabilité de cette approche en restaurant la fonctionnalité d'un gène HGPRT (hypoxanthine-guanine-phosphoribosyl-transférase) partiellement délété [1, 2]. En revanche, un essai de correction d'une délétion partielle du gène codant pour une molécule de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (gène *Eα*), siège également d'une délétion partielle, avait abouti à l'obtention d'une lignée de souris transgéniques ayant accumulé plusieurs mutations ponctuelles au niveau du gène *Eα* corrigé pour la délétion. Dans ce dernier cas, la méthode utilisée était la micro-injection dans des œufs de souris et non le transfert par électroporation

dans des cellules ES (*embryonic stem cells*) [3]. L'équipe de O. Smithies (Seattle, WA, USA) et de P. W. Popovitch (San Diego, CA, USA) [4] vient maintenant de démontrer qu'il était possible de corriger la mutation β^s responsable de la drépanocytose. La globine β^s diffère de la globine β^A par la mutation $\beta^s\text{Glu} \rightarrow \text{Val}$. Cette expérience a été pratiquée en utilisant des cellules hybrides, dérivées de cellules murines érythroleucémiques et ne contenant plus que le simple chromosome humain n° 11 sur lequel est localisé le locus β . Après électroporation et sélection pour la résistance au G 418 (due à la présence du gène *néo* placé dans la construction de telle sorte qu'il s'intègre en amont du promoteur du gène β -globine), les événements de recombinaison homologue furent sélectionnés par PCR. La fréquence de l'événement de recombinaison homologue était rare (un clone sur 9 700 clones résistants au G 418). Les deux résultats intéressants concernant l'expression du gène β -globine humaine au niveau de ce clone sont que, d'une part,

comme attendu, la mutation drépanocytaire était corrigée et que, d'autre part, malgré l'insertion du gène *néo* utilisé comme marqueur de sélection en amont du gène, la régulation de ce dernier ne semblait pas perturbée. Ces résultats sont intéressants car ils démontrent qu'un événement de recombinaison homologue peut corriger une mutation ponctuelle sans induire, artéfactuellement, d'autres mutations dans le gène ainsi recombiné. L'utilisation dans un but de thérapie génique somatique de cellules corrigées *ex vivo* par ce moyen peut théoriquement s'envisager et aurait, naturellement, tous les avantages par rapport à des méthodes utilisant l'intégration au hasard, avec son cortège d'incertitudes quant à l'effet éventuel sur des gènes proches du site d'intégration.

[1. Doetschman T, *et al.* *Nature* 1987 ; 330 : 576-8.]

[2. Thompson S, *et al.* *Cell* 1989 ; 56 : 313-21.]

[3. Brinster RL, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 7087-91.]

[4. Sheseli EG, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 4294-8.]