

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 β^s Glu \rightarrow Val. Cette expérience a été pratiquée en utilisant des cellules hybrides, dérivées de cellules murines érythrocytaires 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.]