

Les nouvelles de ce numéro ont été préparées par :

- Brigitte Amiranoff** ⁽¹⁾
Elisabeth Bursaux
Bernard Calvino ⁽²⁾
Philippe Froguel ⁽³⁾
Simone Gilgenkrantz
Axel Kahn
Dominique Labie ⁽¹⁾
Virginie Lacronique ⁽¹⁾
Alexandre Mignon ⁽¹⁾
Marc Nicolino ⁽¹⁾
Christian de Rouffignac ⁽⁴⁾
Juan Ruiz ⁽⁵⁾
Hubert Vaudry ⁽⁶⁾

(1) Inserm U. 129, CHU Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France.
 (2) Inserm U. 421, IM3, Faculté de Médecine, 8, rue du Général-Sarraill, 94010 Créteil Cedex, France.
 (3) Cnrs EP 10, Institut Pasteur de Lille, 1, rue Calmette, BP 245, 59019 Lille Cedex, France.
 (4) CEA, Centre d'Études de Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.
 (5) Division d'endocrinologie et du métabolisme, département de médecine interne, BH 19, CHUV, 1011 Lausanne, Suisse.
 (6) Inserm U. 413, Institut fédératif de recherches multidisciplinaires sur les peptides, université de Rouen, 76821 Mont-Saint-Aignan Cedex, France

SOMMAIRE DES NOUVELLES BRÈVES

Thérapie génique de l'hypercholestérolémie familiale : les premiers essais ne sont pas vraiment une réussite (p. 59).

Le signal érythropoïétine n'est essentiel qu'au niveau de la différenciation terminale (p. 107).

GATA-1, facteur de transcription des lignées érythroïdes, s'oppose aussi à l'apoptose (p. 107).

Les leçons à tirer d'une étude de la fréquence d'une mutation du gène *BRCA1* dans la population juive ashkénase (p. 110).

Trouble de l'absorption intestinale de la vitamine B12: un *locus* sur le chromosome 10 (p. 110).

Clonage du gène *EXT-1* impliqué dans la maladie des exostoses multiples (p. 111).

La protéine anormale dans l'hypophosphatémie liée à l'X serait proche des endopeptidases (p. 111).

Du nouveau dans les cardiomyopathies dilatées familiales (p. 112).

Un modèle animal pour la trisomie 21 (p. 112).

Spécificité des mutations de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (p. 113).

Obésité et cerveau: de nouveaux indices! (p. 117).

La mort subite inexpliquée du nourrisson a-t-elle trouvé un début d'explication? (p. 118).

Le récepteur Ctl4 des co-activateurs B7 est un inhibiteur de l'activation (p. 119).

La singulière splendeur de TFIIIA (p. 119).

Drame et incertitudes sur les essais cliniques de l'interleukine 12 (p. 120).

Une souche de VIH atténuée transmise par un donneur de sang (p. 120).

Économisez votre énergie: sautez! (p. 120).

Un motif précis met transitoirement l'annexine humaine sous les verrous (p. 121).

La protéine CFTR est aussi une ATPase qui règle le volume des cellules intestinales (p. 121).

Comment se parlent les batraciens (p. 122).

Invalidation du récepteur AT₂ de l'angiotensine: premières informations sur les fonctions d'un récepteur énigmatique (p. 122).

Le protozoaire, fabrique de protéines humaines: encore une idée farfelue? (p. 123).

Les YAC chez des souris transgéniques: outils pour l'étude de la régulation au cours du développement

Les mutations non pathologiques, se traduisant au niveau phénotypique par une production de l'hémoglobine fœtale continuée au-delà des premiers mois de la vie, ont toujours été étudiées comme des modèles susceptibles d'élucider le mécanisme normal d'expression séquentielle des différentes hémoglobines au cours du développement. Presque toutes les

mutations sous-jacentes à ces persistances héréditaires d'hémoglobine fœtale (HPHF pour *hereditary persistence of fetal hemoglobin*) se divisent schématiquement en deux groupes : les formes $\delta\beta^0$ où il y a délétion des gènes δ - et β -globine, de longueur variable, et les formes non délétionnelles $\delta\beta^+$ présentant une mutation dans la région promotrice de l'un

des gènes γ -globine. Les expériences d'expression en lignées cellulaires ou chez des souris transgéniques n'ont jusqu'à présent permis de des hypothèses concernant les mécanismes en cause (*m/s n° 7, vol. 7, p. 740*). Les délétions pourraient toucher ou non une zone critique pour la commutation normale du stade adulte au stade fœtal, ou opérer un rapproche-

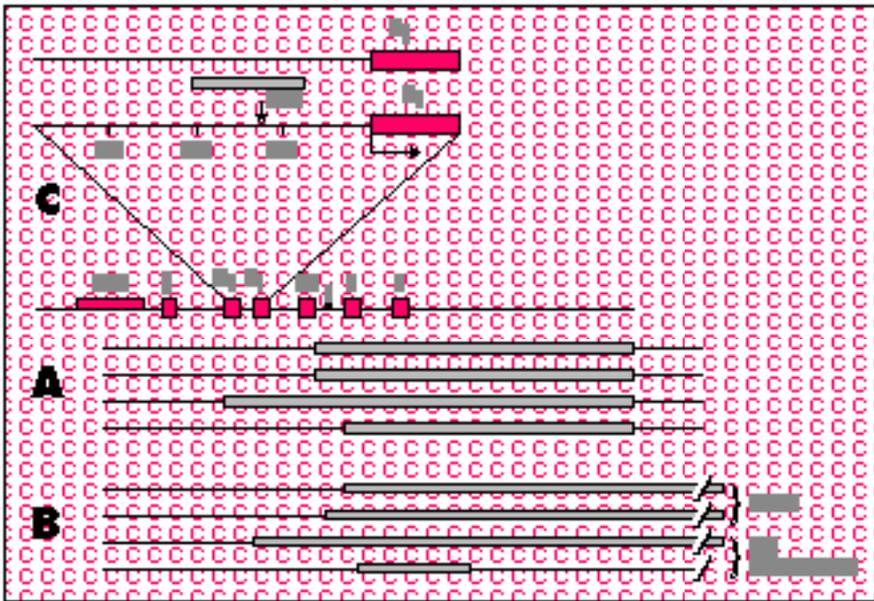


Figure 1. **Mutations des loci globine étudiés.** On a représenté sur la figure les différents mutants clonés dans un YAC dont l'expression a été étudiée chez des souris transgéniques. L'ensemble du locus β -globine est représenté, avec les gènes de structure successivement exprimés au cours du développement, le pseudogène $\psi\beta$, la zone de régulation LCR, et le point X dont on avait fait l'hypothèse qu'il serait impliqué dans la commutation du stade fœtal au stade adulte car le phénotype est variable selon qu'il est inclus ou non dans une délétion. **A.** Étendue des délétions spontanément produites dans le YAC au cours des manipulations. Le fragment étudié chez des souris transgéniques est donc amputé d'une portion 3' variable du locus β -globine. **B.** Parmi d'autres, quatre modèles naturels de délétion, identifiés par une production anormale d'HbF, avec ou sans anémie (syndrome clinique d'HPFH ou de β -thalassémie). L'extrémité 5' de ces délétions est très comparable à celles des délétions qui se sont produites dans les YAC. **C.** Représentation amplifiée de la zone promotrice des gènes γ -globine. Des mutations induisant une synthèse anormale de chaîne γ -globine ont été trouvées en amont des deux gènes γ - et $A\gamma$ -globine dans une région correspondant à la zone grisée; la mutation étudiée ici, $-117A\gamma$, est indiquée par une flèche.

ment anormal entre les gènes fœtaux et une séquence activatrice. Quant aux formes non délétionnelles, l'hypothèse est que la mutation augmente, ou inhibe, la fixation d'un facteur transactivateur [1]. La limite de ces expériences a été l'utilisation de constructions, fonctionnelles, mais éliminant peut-être des séquences régulatrices, et ne respectant pas les distances et la structure chromatiniennne native. L'insertion chez des souris transgéniques d'un chromosome artificiel de levure (YAC pour *yeast artificial chromosome*) comportant la totalité du locus β -globine et la démonstration d'une régula-

tion d'expression correcte au cours du développement répondaient à ces difficultés [2, 3] (*m/s n° 11, vol. 9, p. 1282*). Une étape supplémentaire vient d'être franchie par l'équipe de Stamatoyannopoulos à Seattle (WA, USA) qui a utilisé cet abord pour étudier chez des souris transgéniques l'expression de mutants s'exprimant *in vivo* par une HPFH [4]. Le mutant utilisé a été une HPFH non délétionnelle dite de type grec, dénommé $-117 A\gamma^m$ YAC, car la mutation siège 117 pb en amont du gène de globine fœtale $A\gamma$ et qu'un marquage (m) en permet le suivi. Le phénotype observé chez la souris reproduit dans ce

cas le phénotype naturel d'HPFH avec commutation vers le stade adulte retardée et très graduelle, présence persistante de la chaîne $A\gamma$ chez l'adulte au taux d'environ 8% de l'hémoglobine humaine. Plutôt qu'une activation du promoteur $A\gamma$, ce résultat suggère l'existence normale, au cours du développement, d'un répresseur partiellement inhibé par la mutation. Au cours des manipulations, par ailleurs, quatre différents YAC ont été produits qui présentent des délétions de la partie 3' du locus β -globine très comparables à des mutants délétionnels spontanés. Leur expression par des souris transgéniques a montré qu'en discordance avec le phénotype naturel, aucune surexpression des gènes fœtaux à la période adulte n'est observée. Ce fait est mieux compatible avec la juxtaposition, créée *in vivo* par la délétion, d'une séquence *enhancer* et des gènes γ qu'avec l'existence d'un segment de séquence précis en 3' du locus β -globine qui serait responsable de la commutation. Peut-on à partir de là déduire le mécanisme normal de régulation des gènes fœtaux γ -globine : extinction autonome comme celle du gène ϵ -globine, ou régulation compétitive comme celle du gène β -globine ? L'ensemble des résultats expérimentaux est plutôt en faveur d'une régulation autonome des gènes γ -globine

D.L.

1. Labie D, Krishnamoorthy R. Activation des gènes de l'hémoglobine au cours du développement. *médecine/sciences* 1988 ; 4 : 427-34.
2. Peterson KR, Zitnik G, Huxley C, Lowrey CH, Gnirke A, Leppig KA, Papayannopoulou T, Stamatoyannopoulos G. Use of yeast artificial chromosome (YACs) for studying control of gene expression: correct regulation of the genes of a human β -globin locus YAC following transfer to mouse erythroleukemia cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 11207-11.
3. Gaensler KM, Kitamura M, Kan YW. Germ-line transmission and developmental regulation of a 150-kb yeast artificial chromosome containing the human β -globin locus in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 11381-5.
4. Peterson KR, Li QL, Clegg CH, Furukawa T, Navas PA, Norton EJ, Kimbrough TG, Stamatoyannopoulos G. Use of yeast artificial chromosomes (YACs) in studies of mammalian development: production of β -globin locus YAC mice carrying human globin developmental mutants. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 5655-9.