



## LEXIQUE

*Les connaissances en génétique progressent très rapidement : c'est une évidence. Un même mot peut recouvrir beaucoup plus que par le passé, même récent ; les connotations s'amplifient et/ou prennent des orientations nouvelles. C'est pourquoi la Société Française de Génétique souhaite offrir aux lecteurs de médecine/sciences, sous forme d'un Lexique, une série de monographies discutant les notions et les concepts utilisés couramment en génétique. Nous espérons que ces textes pourront fixer les idées, dissiper les malentendus et, pourquoi pas, susciter les réactions de nos lecteurs, avec lesquels nous serons heureux d'engager le débat.*

On appelle suppression génétique la correction du phénotype d'une mutation donnée par une seconde mutation autre que l'inversion pure et simple de la mutation d'origine. Cette suppression peut être extragénique (c'est à celle-ci que s'intéresse principalement cet article), intragénique (mutation secondaire intervenant dans le même gène) ou provenir d'une modification du dosage de gène, par exemple lorsque le gène suppresseur est introduit par transformation avec un vecteur épisomique à nombre élevé de copies. Par ailleurs, la correction d'un phénotype muté par remaniement chromosomique (effet de position) ou par amplification chromosomique du gène muté sont formellement interprétables comme une suppression. On tentera de montrer ici comment l'étude des supresseurs a accompagné le développement de la génétique, d'abord dans le cadre de la théorie chromosomique de l'hérédité, en passant ensuite par le rôle-clé des supresseurs dans la théorie moderne du gène et le déchiffrement du code génétique et, enfin, ces dernières années, par un regain d'intérêt pour la suppression en ce qu'elle peut révéler des interactions structu-

relles et fonctionnelles opérant *in vivo* dans la cellule. Cet article reflète, inévitablement, les biais personnels de l'auteur quant à la génétique microbienne et tout particulièrement celle de la levure.

### De la génétique classique à la génétique moléculaire

Les premiers cas caractérisés de supresseurs extragéniques remontent à l'étude des mutants de pigmentation de l'œil chez la drosophile par l'école de Morgan et notamment par Sturtevant qui a le premier formulé, dans les années 1920, les notions de suppression et de létalité synthétique (image en creux de la suppression génétique) à peu près au sens où nous les entendons aujourd'hui. L'étude de ce phénomène visait alors surtout à expliquer des anomalies de ségrégation afin de consolider la théorie chromosomique de l'hérédité, mais les travaux de Beadle et Ephrussi sur les bases biochimiques des mutants de pigmentation permettent déjà de poser la question des mécanismes cellulaires de la suppression extragénique de ces mutants. Quant à la suppression intragénique, qui implique l'idée du gène comme une structure linéaire porteuse d'information génétique, sa démonstration expérimentale demandait un pouvoir de résolution dans les cartographies génétiques qui n'a été réellement atteint que par la génétique microbienne des années 1950. A cette époque, la théorie moléculaire du gène comme séquence polynucléotidique porteuse d'information (« un gène, une enzyme ») avait aussi rendu possible une interprétation moléculaire de la suppression [1-3]. Les supresseurs (et tout particulièrement les supresseurs informationnels de mutations non-sens) ont été par ailleurs d'une grande importance pratique dans le développement de la génétique des bactériophages et des micro-organismes modèles

## Suppression

comme *Escherichia coli* et les levures [2, 4, 5]. En l'absence des techniques moléculaires actuelles, c'était en effet par le biais des allèles non-sens qu'on pouvait identifier les gènes codant pour une protéine et obtenir des mutants nuls, correspondant à ce qu'on appelle des mutants *knock-out* dans le jargon si élégant de la génétique contemporaine.

Le développement des techniques moléculaires a entraîné un nouvel intérêt pour les mutants supresseurs, et une prise de conscience que ceux-ci peuvent être un outil puissant pour mettre en évidence les interactions fonctionnelles ou structurales intervenant dans le fonctionnement de la cellule. Cela suppose des criblages de sélection efficaces, et donc que l'on dispose de mutants viables ayant un phénotype tel qu'il soit possible d'isoler facilement des supresseurs. En génétique microbienne, cette condition est facilement remplie, du moins chez les organismes dans lesquels les outils génétiques sont bien développés. Chez les organismes supérieurs modèles comme *Drosophila melanogaster*, *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans* ou *Mus musculus*, le développement des techniques d'inactivation de gène ou de mutagenèse par transposon a également produit de nombreux mutants hypomorphes plus ou moins fortement affectés à la croissance ou au développement, qui permettent à leur tour la sélection de supresseurs par mutagenèse ou par surdosage génétique. Il faut toutefois éviter les interprétations mécaniques en ce domaine et ne pas voir dans toute suppression la preuve d'une interaction fonctionnelle ou structurale directe.

### Suppression et étude fonctionnelle *in vivo*: le cas de la kinase dépendante des cyclines p34<sup>cdc2/cdc28</sup> de levure

Une des fonctions biologiques dont l'étude a largement fait appel à la sup-

pression génétique est le contrôle de la division cellulaire tel qu'il est exercé par la protéine-kinase dépendante des cyclines p34<sup>cdc2</sup> chez les levures et chez l'ensemble des eucaryotes. Cette enzyme très conservée, qui appartient à la famille des kinases dépendantes des cyclines (CD-kinases), détermine le passage des cellules par la phase répllicative (S) puis mitotique (M) au cours de leur progression dans le cycle de division cellulaire. Une grande partie de nos connaissances dans ce domaine dérive d'études génétiques sur les levures *S. pombe* et *S. cerevisiae* [6, 7]. Chez les levures, l'entrée en mitose dépend plus généralement d'un ensemble de facteurs déterminant la dégradation des cyclines associées à la CD-kinase, ainsi qu'à un

ensemble de contrôles transcriptionnels ou post-transcriptionnels – au niveau notamment du trafic nucléocytoplasmique – que je n'examinerai pas ici (voir [6, 7]). Cependant, l'étude génétique, fondée principalement sur la suppression extragénique, a dégagé les principaux éléments limitants de ce contrôle chez *S. pombe* (figure 1). L'activité de la CD-kinase p34<sup>cdc2</sup> est déterminée par son association avec une cycline de type B, p56<sup>cdc13</sup>, mais aussi par son association avec la protéine p13<sup>suc1</sup> et, enfin, par l'état de phosphorylation de la CD-kinase sur au moins deux résidus très conservés, Tyr15 et Thr167 (le rôle d'une probable phosphorylation de la Thr14 est controversé). La phosphorylation inhibitrice de Tyr15 dépend des

kinases p107<sup>wee1</sup> (elle-même inhibée par une autre kinase, p<sup>nim1</sup>) et p<sup>mik1</sup> d'une part, et de la phosphatase p80<sup>cdc25</sup> de l'autre. La phosphorylation activatrice de Thr167 est déterminée par une kinase activatrice (ou CAK pour *CDkinase-activating kinase*). Chez *S. pombe*, celle-ci serait une autre CD-kinase dont la sous-unité catalytique est codée par le gène *mcs6*, et dont la cycline régulatrice serait le produit du gène *mcs2* [8-10]. Cependant, une kinase d'un tout autre type active *in vivo* la CD-kinase de *S. cerevisiae* [11]. Les effets suppresseurs (identifiés par mutagenèse, par dosage de gène à partir d'un plasmide multicopie ou par transformation hétérospécifique (voir Tableau I) dans le cas de la kinase dépendante des cyclines p34<sup>cdc2</sup> chez *S. pombe* (voir [6] pour les travaux parallèles chez *S. cerevisiae*) illustrent bien la variété des gènes identifiables par suppression génétique et la pertinence physiologique de ce criblage, puisque la plupart des partenaires régulateurs de p34<sup>cdc2</sup> ont été identifiés par cette approche.

### Transformation hétérospécifique et suppression

Le clonage de gènes fondé sur la correction d'un mutant par transformation génétique avec des banques de gènes ou d'ADNc ne provenant pas de l'espèce d'origine a donné une actualité nouvelle à la distinction classique entre complémentation (voir le lexique de B. Daignan-Fornier à paraître dans *m/s* n° 10, vol. 14, octobre 98) et suppression génétique. La complémentation correspond bien entendu à la situation simple lors de laquelle le mutant récessif, est confronté à un allèle « sauvage » (souvent introduit sous forme d'ADNc) du même gène. Bien que certains puristes prohibent ce terme dans le cas d'un clonage hétérospécifique, il semble légitime de parler de complémentation dès lors que le gène cloné correspond clairement au gène muté dans l'espèce d'origine, c'est-à-dire qu'il s'agit bien de gènes orthologues, selon la terminologie de Fitch et Margoliash [12]. Cependant, le clonage par transformation, surtout lorsqu'on emploie des vecteurs à fort nombre de copies, peut aussi relever de la sup-

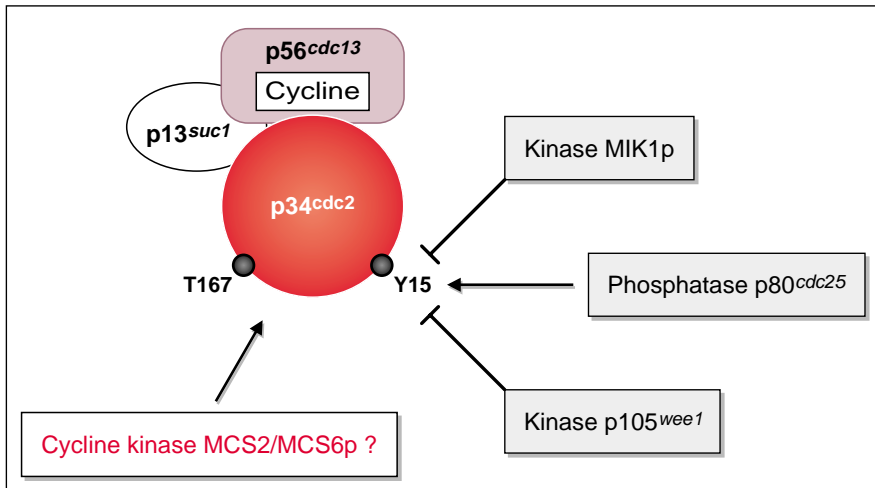


Figure 1. **Contrôle de l'activité kinase cycline-dépendante p34<sup>cdc2</sup> déterminant l'entrée en mitose de la levure *S. pombe*.** La kinase p34<sup>cdc2/cdc28</sup> (codée par le gène *cdc2* chez *S. pombe* et par *cdc28* chez *S. cerevisiae*) est l'élément central du complexe multiprotéique contrôlant la division cellulaire chez l'ensemble des eucaryotes. Le système décrit ici pour la levure de fission *S. pombe* reprend les principales composantes de ce complexe et des protéines intervenant dans la régulation de son activité, dans la mesure où ils ont été identifiés ou caractérisés par un effet de suppression génétique exercé ou subi par une forme allélique du gène *cdc2* (voir Tableau I). Le déclenchement de la mitose au cours du cycle cellulaire de *S. pombe* est déterminé par l'association activatrice de p34<sup>cdc2</sup> avec la cycline mitotique p56<sup>cdc13</sup>. L'activité du complexe kinase/cycline est modulée par la protéine protéine p13<sup>suc1</sup>, qui est également associée à p34<sup>cdc2</sup> et agit essentiellement comme un inhibiteur. Enfin, un jeu complexe de kinases et de phosphatases module l'activité du complexe cycline/kinase selon l'état de phosphorylation d'au moins deux résidus très conservés de la kinase, Tyr15 et Thr167. La phosphorylation de Tyr15 est inhibitrice et fait intervenir deux kinases (p105<sup>wee1</sup> et Mik1p) ainsi qu'une phosphatase antagoniste, p80<sup>cdc25</sup>. La phosphorylation de Thr167 est activatrice et pourrait faire intervenir une autre kinase cycline dépendante, *mcs2/mcs6p* [8, 9]. Ce système régulateur est conservé chez l'ensemble des eucaryotes, quoiqu'avec des variantes significatives, et notamment chez la levure *S. cerevisiae* [6, 11].

Tableau I		
RÉSEAUX DE SUPPRESSION IMPLIQUANT LES DIFFÉRENTES FORMES ALLÉLIQUES DU GÈNE <i>cdc2</i> CHEZ <i>S. pombe</i> [7-10]		
Allèle <i>cdc2</i>	Phénotype	Effet suppresseur
<i>cdc2<sup>+</sup></i> <i>cdc13<sup>-</sup></i>	sauvage	Supprime en multicopie certains mutants
<i>cdc2<sup>ts</sup></i>	pas de mitose à 37 °C	Suppression hétérosécificque par ADNc humain Suppression multicopie par l'allèle sauvage de <i>suc1</i> Suppression extragénique par certains allèles mutants de <i>suc1</i>
<i>cdc2<sup>cs</sup></i>	pas de mitose à 25 °C	Suppression multicopie par <i>cdc13<sup>+</sup></i> Suppression extragénique par certains allèles <i>cdc13</i>
<i>cdc2<sup>w</sup></i>	entrée précoce en mitose (viable)	Supprime le phénotype ts de <i>cdc25<sup>-</sup></i>
<i>cdc2<sup>w</sup> wee1-50</i>	catastrophe mitotique (léthal)	Suppression extragénique par des mutants de <i>mcs2</i> et <i>mcs6</i>

pression génétique, c'est-à-dire que l'on clone des gènes codant pour une fonction distincte de la fonction déficiente dans le mutant de départ (ce problème se pose d'ailleurs également dans le cas du clonage par transformation homospécifique). Dans le cas déjà mentionné de la CD-kinase p34<sup>cdc2</sup> (figure 1), la transformation hétérosécificque de mutants *cdc2<sup>-</sup>* chez *S. pombe* (et *cdc28<sup>-</sup>* chez *S. cerevisiae*) a permis de cloner trois ADNc humains différents, codant pour trois CD-kinases distinctes, dont chacune est capable, par surexpression dans la levure, de corriger le défaut initial de la CD-kinase de levure. Il est probable que ces CD-kinases assurent collectivement les fonctions dévolues à la seule kinase p34<sup>cdc2</sup> chez la levure. On a donc bien ici recrutement hétérosécificque de fonction avec analogie structurale, même si le rôle exact joué par ces trois kinases dans la régulation de la division cellulaire des cellules humaines reste assez obscur. On peut, cependant, avoir aussi un clonage par recrutement hétéro-

spécifique de fonction, sans analogie structurale entre la protéine mutée et la protéine hétérologue dont elle corrige le défaut. Par exemple, les ADNc codant pour les canaux K<sup>+</sup> de l'arabette *Arabidopsis thaliana* ont été isolés à partir de levures inactivées pour un transporteur cationique dont la structure est sans rapport avec celle des ADNc végétaux clonés [13]. Enfin, la suppression peut résulter d'une situation plus subtile au cours de laquelle la correction opère non pas sur le phénotype primaire du mutant corrigé, mais sur une conséquence secondaire qui se trouve être la plus limitante pour la croissance. Ainsi, les mutants déficients dans l'ARN polymérase III de levure sont supprimés par la surexpression homospécifique de gènes intervenant dans la maturation des ARN ribosomiques, une situation plutôt surprenante puisque l'ARN polymérase III n'a pas *a priori* d'effet sur cette maturation. Un réexamen des mutants supprimés indique qu'ils diminuent effectivement la vitesse de maturation des ARNr (probablement

parce qu'un transcrit produit par cette polymérase intervient dans cette maturation) et que ce processus est donc bien un facteur limitant pour la croissance des mutants [14].

### Typologie des suppresseurs

On s'accorde généralement à classer les suppresseurs en trois grands groupes selon leur mode d'action [1-3]. Les suppresseurs informationnels (parmi lesquels les suppresseurs de non-sens), interviennent dans la machinerie de synthèse protéique (ou de synthèse des ARN) de manière à assurer la synthèse d'un produit fonctionnel à partir du transcrit primaire de l'allèle muté. La suppression par interaction structurale ne modifie pas l'expression traductionnelle de la mutation initiale mais en corrige les effets par une action sur la conformation spatiale de la chaîne polypeptidique ou de l'ARN mutés, ou du complexe multiprotéique auxquels ils appartiennent. Enfin, une troisième catégorie de suppresseurs agit par compensation fonctionnelle, c'est-à-dire que le produit muté reste non fonctionnel alors que ses conséquences sur la croissance cellulaire (ou sur tout autre phénotype) peuvent être partiellement annulées par un changement dans le métabolisme cellulaire ou par le recrutement d'une protéine (ou d'un ARN) se substituant à la fonction mutée.

La spécificité du suppresseur par rapport aux mutations qu'il supprime donne une première idée de son mode d'action. Ainsi, les suppresseurs informationnels ont une forte spécificité d'allèle (puisque leur suppression dépend en première ligne de la nature du triplet muté) et une spécificité de gène faible ou nulle. Les suppresseurs résultant d'une interaction structurale ont généralement une forte spécificité d'allèle et de gène, alors que la suppression par compensation fonctionnelle est en principe spécifique d'un (ou de quelques) gène(s), sur un défaut métabolique donné, mais pas de l'allèle considéré. D'autres critères intéressants sont l'existence ou non d'un phénotype propre au suppresseur indépendamment de la mutation supprimée, l'ori-

gine du supprimeur (suppression mutationnelle ou dosage de gènes). Enfin, la dominance/récessivité du mutant supprimeur offre également une indication intéressante : on s'attend généralement à ce qu'un supprimeur résulte d'un gain de fonction, et donc soit au moins partiellement dominant. Inversement, la récessivité d'un supprimeur est un premier indice que celui-ci résulte d'une perte de fonction.

### Suppression informationnelle

Les supprimeurs de non-sens sont les mieux caractérisés des supprimeurs « informationnels », c'est-à-dire ceux qui modifient la spécificité du code génétique de sorte que la mutation de départ soit traduite différemment et restitue un phénotype « pseudo-sauvage ». Dans l'immense majorité des cas, ils sont dus à une substitution de base dans l'anticodon d'un ARNt, convertissant celui-ci en anticodon complémentaire d'un codon terminateur et permettant donc la « lecture » du codon non-sens [2, 4]. Un mécanisme de suppression similaire (plus rare et moins efficace car introduisant davantage d'ambiguïté dans la traduction) s'applique aux supprimeurs extragéniques de déphasage [15] ou, plus exceptionnellement, de mutations faux-sens [16]. Par ailleurs, certaines mutations affectant des protéines ribosomiques [2] ou des facteurs d'élongation introduisent une ambiguïté traductionnelle conduisant à des effets supprimeurs. C'est, en particulier, le cas d'une forme mutée d'un facteur d'élongation traductionnel à hérédité « invasive » chez *S. cerevisiae* qui semble bien relever d'un effet prion [17]. Enfin, des mutations non-sens de l'ADN bactérien ou mitochondrial [18] peuvent être corrigées par des mutants supprimeurs intervenant dans l'ARN ribosomique, ce qui suggère fortement une participation directe de celui-ci dans la fidélité de la traduction.

Les supprimeurs informationnels, dans la mesure où ils affectent la spécificité du décodage génétique, ont joué un rôle important dans le déchiffrement du code génétique dans les années 1950-1960. Qu'on pense ici à l'utilisation des supprimeurs intragén-

iques de mutants de déphasage du phage T4 [19] pour démontrer *in vivo* l'organisation du code génétique en triplets, et à celle des supprimeurs extragéniques d'allèles non-sens pour valider des concepts-clés de la théorie du code génétique comme celui des ARNt « adaptateurs » et de la « base flottante » [20]. Ces supprimeurs restent d'actualité pour étudier les bases moléculaires de l'ambiguïté traductionnelle. On peut, par ailleurs, ranger parmi les supprimeurs informationnels certaines mutations nucléaires connues pour affecter l'expression des génomes cytoplasmiques (mitochondriaux et chloroplastiques), et tout particulièrement les mutants isolés chez la levure en tant que supprimeurs nucléaires restaurant l'expression de mutations mitochondriales (la situation réciproque existe également). L'étude de ces supprimeurs est en passe de renouveler profondément notre compréhension du contrôle nucléaire des génomes cytoplasmiques dans la cellule eucaryote [18].

### Suppression par interaction structurale

#### • Suppression intragénique

La notion de suppression par interaction structurale est fondée au départ sur l'observation que des mutations faux-sens peuvent être partiellement corrigées par une seconde mutation intragénique, séparable de la première par recombinaison génétique [3]. Cette approche n'est pas limitée aux protéines puisque, dans le cas des ARNt, on peut inactiver des mutations supprimeurs de non-sens affectant l'anticodon (*voir plus haut*, suppression informationnelle) par des mutations secondaires intervenant ailleurs dans l'ARNt, elles-mêmes susceptibles d'être affectées par une troisième mutation du même gène restaurant partiellement le phénotype de suppression non-sens initial. On connaît même des cas où une quatrième mutation intragénique a pu derechef inactiver ce phénotype [21, 22]. L'interprétation de ces supprimeurs est que la combinaison des deux mutations restaure une structure spatiale compatible avec le fonctionnement de la protéine ou de l'ARN muté. Les sites impliqués peuvent être

très proches sur la séquence primaire, ce qui correspondrait à une situation relativement banale de redistribution locale des charges ou des interactions hydrophobes dans le polypeptide. Dans le cas d'acides aminés éloignés sur la séquence polypeptidique primaire, il y a vraisemblablement une proximité spatiale qui peut en principe renseigner sur le repliement de la protéine, bien que l'observation d'une suppression intragénique ne suffise manifestement pas à démontrer que les acides aminés impliqués sont en contact topologique.

#### • Suppression extragénique

Par analogie avec les cas de suppression intragénique, discutés plus haut, une mutation en un site donné d'une protéine hétéromultimérique ou d'un complexe multiprotéique peut également faire l'objet d'une suppression extragénique due à un changement de structure compensatoire dans une autre sous-unité de l'édifice. Cela peut faire intervenir des effets allostériques à plus longue distance et n'implique donc pas nécessairement une proximité topologique entre l'acide aminé muté dans le polypeptide de départ et celui muté dans le polypeptide codé par le gène supprimeur. Cette approche a d'abord été utilisée pour étudier les interactions structurales entre les différentes protéines de l'enveloppe des bactériophages [23], puis étendue à plusieurs grands complexes multiprotéiques cellulaires, en particulier chez la levure [24]. L'étude récente des complexes de transcription de l'ARN polymérase II chez la levure fournit ainsi un exemple assez remarquable de suppression par interaction structurale, puisqu'il a conduit à découvrir une forme insoupçonnée du complexe transcriptionnel, l'holo-ARN polymérase II. Son point de départ est l'isolement de mutants thermosensibles dans le domaine carboxy-terminal phosphorylé (CTD) de la grande sous-unité. Ces mutations sont corrigées par des supprimeurs extragéniques définissant plusieurs gènes *SRB* (*suppressors of RNA polymerase B*) [25]. L'étude biochimique des protéines correspondantes montre qu'elles définissent une nouvelle forme de polymérase, l'holo-polymérase II formée

par l'association plus ou moins transitoire de la polymérase proprement dite et de plusieurs des protéines SRB qui, semble-t-il, jouent un rôle capital dans la mise en place des complexes de transcription de classe II.

L'association des polypeptides codés par le gène muté et par le gène supprimeur au sein d'une même protéine hétéromultimérique ou d'un même complexe multiprotéique peut également conduire à des effets de suppression par dosage de gène. L'existence d'une suppression multicopie (où il n'y a pas introduction d'une nouvelle mutation, mais simplement expression accrue d'un gène donné) n'est pas en soi une preuve que les protéines correspondantes soient topologiquement associées, mais fournit néanmoins un premier indice que tel pourrait être le cas. Pour en rester au cas de la kinase p34<sup>cdc2</sup> de levure (figure 1), la suppression multicopie des mutants *cdc2* de *S. pombe* (*cdc28* chez *S. cerevisiae*) par des gènes de cyclines est un des arguments forts indiquant que l'activation de cette kinase dépend de la formation d'un complexe avec ces mêmes cyclines. La spécificité d'allèle de cette suppression, selon que le mutant supprimé est arrêté dans la phase G1 ou G2 du cycle, étaye en outre l'idée de deux groupes de cyclines distinctes chez *S. cerevisiae* selon la phase du cycle [6, 7].

Une modification compensatoire de la structure de la protéine ou de l'ARN peut bien entendu aussi refléter une modification enzymatique post-traductionnelle de la protéine ou de l'ARN déficient dans le mutant initial. Nombre de kinases et de phosphatases ont été ainsi identifiées ou caractérisées fonctionnellement par le biais de mutants supprimeurs extragéniques intervenant dans la protéine soumise à phosphorylation. Par exemple, le rôle de la phosphatase p80<sup>cdc25</sup> dans l'activation de la kinase dépendante des cyclines contrôlant la division cellulaire a été mis en évidence par l'observation que des mutants régulateurs de cette kinase supprime des mutants déficients dans cette phosphatase (voir figure 1). De même, l'identification d'« antisupprimeurs » et d'« allosupprimeurs » extragéniques affectant l'efficacité des sup-

primeurs de non-sens [26] a permis d'identifier certaines des enzymes intervenant dans la modification post-transcriptionnelle des ARNs et de suggérer un rôle biologique pour certaines de ces modifications [21, 27].

### Suppression par compensation fonctionnelle ou recrutement de fonction

L'idée d'une suppression par compensation fonctionnelle découle des travaux de Beadle et Ephrussi montrant que la suppression des mutants vermillon de drosophile s'accompagne d'une restauration partielle de la synthèse d'un métabolite nécessaire à la pigmentation des yeux. Avec le concept « un gène, une enzyme » et les progrès considérables faits dans la compréhension des voies métaboliques de biosynthèse qui en ont résulté, le problème du mécanisme moléculaire de la suppression a pu être réellement abordé par l'étude des mutants auxotrophiques de *Neurospora crassa*. R. Davis *et al.* ont ainsi montré que des mutants *pyr3A*, déficients dans la biosynthèse du carbamyl phosphate cytoplasmique (précurseur des pyrimidines par l'intermédiaire d'une transcarbamylation catalysée par l'aspartate transcarbamylase) sont corrigés par une mutation *arg12* partiellement déficiente dans l'activité de l'ornithine transcarbamylase intervenant dans la biosynthèse (mitochondriale) de l'arginine. La suppression résulte ici d'une communication métabolique entre les deux voies de biosynthèse, telle qu'en freinant l'utilisation du carbamyl phosphate par l'ornithine transcarbamylase mutée, on détourne le flux de ce métabolite vers la voie des pyrimidines [1].

Un autre aspect de la suppression par compensation fonctionnelle est le recrutement de fonction, c'est-à-dire la situation où deux protéines (ou deux ARN) appartenant à la même famille fonctionnelle se substituent l'une à l'autre lorsque l'une d'elles est modifiée dans sa spécificité de substrat ou son adressage subcellulaire, ou tout simplement surexprimée. Ce dernier cas peut apparaître par mutation ou, plus généralement, lorsque le gène supprimeur est porté

par un vecteur multicopie ou placé sous le contrôle d'un promoteur fort, une possibilité qu'il faut garder présente à l'esprit sous peine de graves contresens d'interprétation. Nous avons vu plus haut qu'une déficience dans le gène codant pour la CD-kinase p34 de levure, contrôlant la transition G1/S et G2/M lors du cycle cellulaire, peut être corrigée par des ADNc humains codant pour trois CD-kinases différentes, une situation qui correspond vraisemblablement à une diversification des CD-kinases p34<sup>cdc2/cdc28</sup> lorsqu'on passe des levures à l'homme. Du moins, la fonction générale CD-kinase est-elle conservée dans ce cas, alors que le clonage des canaux K<sup>+</sup> végétaux chez l'arabette *A. thaliana*, dont nous avons déjà parlé plus haut, a été réalisé par correction fonctionnelle de mutants de levures inactivés pour un transporteur cationique dont la structure est sans rapport avec celles codées par les ADNc végétaux clonés [13].

### Les « pièges » de la suppression

Comme toute méthode d'étude biologique, la suppression a ses artefacts et ses pièges d'interprétation, auxquels il a déjà été fait allusion dans le cours de cet article. Le premier de ces pièges est de ne pas reconnaître la présence d'un supprimeur quand il existe, une situation qui est liée au polymorphisme génétique intrinsèque de tout organisme vivant, qui fait que le degré d'expression d'un phénotype donné peut sensiblement varier lors de croisements génétiques. On a ainsi observé que plusieurs souches de laboratoire de *S. cerevisiae*, supposées être génétiquement proches, diffèrent par un allèle du gène *SSD1* (un gène non essentiel de fonction inconnue) dont la forme fonctionnelle (*SSD1-v*) a un effet supprimeur sur les mutants thermosensibles d'un grand nombre de gènes, sans que les bases moléculaires de cette suppression soient connues [5]. Il serait étonnant que cette situation soit limitée au cas de la levure. La parade habituelle consiste bien entendu à utiliser des stocks génétiques aussi isogènes que possible, mais on ne peut ignorer la possibilité

d'une sélection spontanée de supprimeurs à partir de souches ou de races de laboratoire qui sont elles-mêmes généralement porteuses de mutations plus ou moins délétères (même si elles sont maintenues à l'état hétérozygote). Le problème est encore plus important dans le cas de cultures de cellules qu'on ne peut maintenir que par amplification végétative. Inversement, la présence d'un allèle donné sur un vecteur épisomique (plutôt que comme un mutant chromosomique) est en soi un facteur important de variation génétique, puisque des variations même réduites du nombre de copies du gène peuvent introduire des changements phénotypiques qui peuvent être pris à tort pour une suppression.

Le danger principal est cependant d'expliquer de façon mécanique l'existence d'une suppression en termes d'interaction structurale ou fonctionnelle directe entre les produits du mutant supprimé et de son supprimeur. La variété même des mécanismes physiologiques conduisant à une suppression génétique doit mettre en garde contre les interprétations hâtives. Cela est notamment vrai pour les situations où le gène supprimeur est porté par un vecteur à haut nombre de copie. Rappelons que de tels supprimeurs ne modifient pas la structure de la protéine correspondante, mais qu'ils en favorisent l'accumulation par dosage de gène. Leur effet s'explique donc normalement en termes de loi d'action de masse, où la suppression résulte d'un déplacement des équilibres d'association/dissociation dans l'assemblage de complexes hétéromultimériques ou multiprotéiques, ou d'une cascade d'équilibres métaboliques aboutissant *in fine* à corriger le phénotype de la mutation de départ. Pour la levure, chez laquelle cette méthode de clonage a été utilisée à grande échelle, les nombreux supprimeurs ainsi clonés résultent bien souvent d'effets indirects dont la pertinence physiologique est assez douteuse. On touche ici à la relative non-spécificité de certains criblages génétiques et des contresens d'interprétations auxquels ils peuvent conduire. Cette mise en garde ne se limite pas à la suppression génétique. La létalité synthétique

entre deux mutations, parfois présentée comme un critère d'«interaction» entre deux protéines, pose des problèmes de même nature. Un exemple similaire, dans un autre contexte, est celui de la méthode du double-hybride [28] dont on ne rappellera jamais assez qu'elle montre la capacité de deux protéines à s'associer *in vivo*, ce qui ne veut naturellement pas dire que cette association se réalise effectivement dans la cellule, compte tenu de la flexibilité structurelle des protéines et de leur capacité à s'associer plus ou moins faiblement et de manière non spécifique.

### Conclusions

Les techniques moléculaires ont multiplié depuis vingt ans les possibilités d'obtenir et de caractériser des supprimeurs extragéniques isolés à partir de mutants conditionnels ou hypomorphes. Outre les supprimeurs obtenus par mutagenèse (supprimeurs mutationnels), elles ont permis de nouvelles modalités d'obtention de gènes supprimeurs par transformation homospécifique (liés par exemple à un effet de dose lors de l'introduction du gène supprimeur sur un vecteur multicopie) ou hétérospécifique. Les mécanismes de suppression mis en jeu relèvent le plus souvent de deux grandes catégories, l'interaction structurale compensatoire entre mutations modifiant la structure de deux composantes d'une même protéine ou d'un même complexe multiprotéique, et le recrutement de fonction corrigeant une déficience fonctionnelle donnée par la sur-expression ou l'expression modifiée d'une fonction distincte. Les deux cas sont intéressants pour l'étude *in vivo* de l'agencement structural et fonctionnel des grandes fonctions cellulaires. Les exemples les plus achevés de supprimeurs génétiques proviennent de modèles expérimentaux microbiens et en particulier de la levure, pour laquelle très bonne résolution de la carte génétique de *S. cerevisiae* et surtout le séquençage complet de son génome rend l'identification de gènes ou d'allèles supprimeurs particulièrement aisée. Cependant, le séquençage et la cartographie génomique des autres grands organismes-modèles multicellulaires devraient réactualiser la suppression génétique comme outil d'étude

des principaux organismes-modèles végétaux (arabette) ou animaux (drosophile, nématode, souris) de la biologie cellulaire contemporaine ■

### Pierre Thuriaux

Docteur ès sciences. Service de biochimie et génétique moléculaire, Bâtiment 142, CEA-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

### RÉFÉRENCES

1. Davis, RH. Compartmentation and regulation of fungal metabolism: genetic approaches. *Annu Rev Genet* 1975; 9: 39-65.
2. Gorini L, Beckwith JR. Suppression. *Ann Rev Microbiol* 1966; 20: 401-22.
3. Yanofski C, St Lawrence P. Gene action. *Ann Rev Microbiol* 1960; 14: 311-40.
4. Hawthorne DC, Mortimer RK. Super-suppressors in yeast. *Genetics* 1963; 48: 617-20.
5. Sutton A, Immanuel D, Arndt KT. The SIT4 protein phosphatase functions in late G1 for progression into S phase. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 2133-48.
6. Nasmyth K. At the heart of the budding yeast cell cycle. *Trends Genet* 1996; 12: 405-12.
7. Nurse P. Universal mechanism regulating onset of mitotic phase. *Nature* 1990; 344: 503-8.
8. Buck V, Russell P, Millar JB. Identification of a cdk-activating kinase in fission yeast. *EMBO J* 1995; 14: 6173-83.
9. Damagnez V, Makelä TP, Cottarel G. *Schizosaccharomyces pombe* Mop1-Mcs2 is related to mammalian CAK. *EMBO J* 1995; 14: 6164-72.
10. Molz L, Beach D. Characterization of the fission yeast *mcs2* cyclin and its associated protein kinase activity. *EMBO J* 1993; 12: 1723-32.
11. Thuret JY, Valay JG, Faye G, Mann C. Civ1 (CAK *in vivo*), a novel Cdk-activating kinase. *Cell* 1996; 86: 565-76.
12. Fitch WM, Margoliash E. The usefulness of amino acid and nucleotide sequences in evolutionary studies. *Evol Biol* 1970; 4: 67-109.
13. Sentenac H, Bonneaud N, Minet M, Lacroute F, Salmon JM, Gaymard F, Grignon C. Cloning and expression in yeast of a plant potassium ion transport system. *Science* 1992; 256: 663-5.
14. Hermann-Le Denmat S, Werner M, Sentenac A, Thuriaux P. Suppression of yeast RNA polymerase III mutations by *FHL1*, a gene coding for a fork head protein involved in mRNA processing. *Mol Cell Biol* 1984; 14: 2905-13.

---

## RÉFÉRENCES

15. Culbertson MR, Charnas L, Johnston MT, Fink GR. Frameshift and frameshift suppressors in *S. cerevisiae*. *Genetics* 1977; 86 : 745-64.
16. Gorman J, Gorman J. Genetic analysis of a gene required for the expression of allele-specific missense suppression in *S. cerevisiae*. *Genetics* 1971; 67: 337-52.
17. Chernof YO, Lindquist SL, Ono BI, Inge-Vechtomov SG, Liebman SW. Role of the chaperone protein Hsp104 in propagation of the yeast prion-like factor psi. *Science* 1995 ; 268: 880-4.
18. Fox TD. Genetics of mitochondrial translation. In: Hershey JWB, *et al.*, eds. *Translational control*. New York: Cold Spring Harbor laboratory Press, 1996 : 733-58.
19. Crick FHC. Codon-anticodon pairing: the wobble hypothesis. *J Mol Biol* 1966; 19: 548-55.
20. Crick FHC, Barnett L, Brenner S, Watts-Tobin RJ. General nature of the genetic code for proteins. *Nature* 1961; 192: 1227-32.
21. Janner F, Vögeli G, Fluri R. The antisuppressor strain *sin1* of *S. pombe* lacks the modification isopentenyl-adenosine in tRNA. *J Mol Biol* 1980; 139: 207-19.
21. Abelson JN, Gefter ML, Barnett I, Landy A, Russell RL, Smith JD. Mutant tyrosine transfer ribonucleic acids. *J Mol Biol* 1970; 47: 15-28.
22. Heyer WD, Munz P, Amstutz H, Aebi R, Gysler C, Schuchert P, Szankasi P, Leupold U, Kohli J, Gamulin V, Söll D. Inactivation of nonsense suppressor tRNA genes in *S. pombe*. *J Mol Biol* 1986; 188: 343-53.
23. Jarvik J, Botstein D. Conditional-lethal mutations that suppress genetic defects in morphogenesis by altering structural proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 2738-42.
24. Huffaker TC, Hoyt MA, Botstein D. Genetic analysis of the yeast cytoskeleton. *Ann Rev Genet* 1987; 21: 259-84.
25. Nonet ML, Young RA. Intragenic and extragenic suppressors of mutations in the heptapeptide repeat domain of *S. cerevisiae*. *Genetics* 1989; 123: 715-24.
26. Cox BS. Allosuppressors in yeast. *Genet Res* 1977; 30: 187-205.
27. Grossenbacher AM, Stadelmann B, Heyer WD, Thuriaux P, Kohli J, Smith C, Agris PF, Kuo KC, Gehrke C. Antisuppressor mutations and sulfur carrying nucleosides in transfer RNA of *Schizosaccharomyces pombe*. *J Biol Chem* 1986 ; 261: 16351-5.
28. Fields S, Song O. A novel genetic system to detect protein-protein interactions. *Nature* 1989; 340: 245-6.

---

## TIRÉS À PART

P. Thuriaux.

