

■■■ **Et si une bactérie vieille de 25 millions d'années était revenue à la vie?** C'est ce qu'affirment Raúl Cano et Monica Borucki, deux microbiologistes de l'université de Californie à San Luis Obispo [1]. Ils ont pour cela disséqué une abeille, *Proplebeia dominicana*, qui vivait il y a 25 à 40 millions d'années en République Dominicaine. Ces abeilles sont retrouvées dans de l'ambre, une résine d'arbre, qui leur fournit un environnement protégé à l'abri de l'eau, les préservant ainsi pendant des millions d'années (*m/s* n° 8-9, vol. 9, p. 985). Ces insectes sont particulièrement intéressants car leurs descendants actuels entretiennent des relations symbiotiques au niveau de leur estomac avec une bactérie sporulée, *Bacillus sphaericus*. Les spores représentent l'état de survie de la bactérie quand elle est soumise à différentes agressions. Entouré d'une coque protéique protectrice, le chromosome de la spore se déshydrate; il est saturé par des protéines spécifiques qui changent la structure de l'ADN et le protègent des molécules toxiques comme les radicaux libres [2]. D'où l'idée d'essayer de cultiver des *Bacillus* vieux de plusieurs millions d'années à partir de *P. dominicana*. Après avoir disséqué l'abeille, fait de multiples expériences de contrôle et s'être entourés de conditions drastiques d'asepsie, les auteurs ont mis en culture le contenu de l'estomac et obtenu deux semaines plus tard des colonies bactériennes: l'aspect microscopique ainsi que les caractéristiques enzymatiques et biochimiques de ces bactéries sont très proches des *B. sphaericus* actuels. L'amplification génique *in vitro* (PCR) d'un fragment de 530 paires de bases de l'ADN ribosomique 16S, obtenu à l'aide d'amorces oligonucléotidiques spécifiques de *Bacillus*, a donné des séquences quasiment identiques à partir de l'abdomen de l'abeille et des bactéries, faisant le lien entre les bactéries et l'abeille. En outre, la comparaison de cette séquence à celles déjà existantes (GenBank)

montre que c'est de celle d'un *B. sphaericus* actuel qu'elle est la plus proche. La communauté scientifique reste toutefois sceptique sur la réalité de l'expérience et attend qu'elle soit répétée [2]. Enfin, Norman Pace (de l'université d'Indiana, USA), un microbiologiste spécialiste de la phylogénie de l'ADN ribosomique, fait remarquer que la connaissance d'une séquence ancienne ne permet pas d'avoir des données sur l'évolution des gènes car les deux bactéries, l'ancienne et la moderne, peuvent appartenir à deux souches différentes de *B. sphaericus*. Pour pouvoir estimer des taux d'évolution, il faudrait pouvoir analyser l'ancêtre d'une souche actuelle ou des séquences d'ADN plus longues et plus de gènes [2].

[1. Cano R], Borucki MK. *Science* 1995; 268: 1060-4.]

[2. Fischman J. *Science* 1995; 268: 977.]

■■■ **De nouveaux modulateurs de la fonction de Ras.** L'activation des tyrosine kinases membranaires aboutit à celle de la protéine Ras relayée par le complexe Grb2/Sos. Grb2 est un adaptateur à domaines SH2 et SH3 alors que Sos est un facteur d'échanges catalysant le remplacement du GDP de la protéine Ras par le GTP (*m/s* n° 5, vol. 8, p. 471; n° 10, vol. 8, p. 1097) [1, 2]. Cependant, d'autres facteurs d'échange sont connus, notamment la molécule Ras-GRF (*GDP releasing factor*) détectée uniquement dans les neurones du cerveau. Farnsworth *et al.* (Boston, MA, USA) montrent que ce facteur d'échange neuronal n'est pas sensible à l'activation des tyrosine kinases mais est stimulé par le calcium, un second messenger particulièrement important dans les phénomènes de signalisation neuronale [3]. Une autre équipe dirigée par

Irvine, de Londres et Cambridge en Angleterre [4], vient de montrer que l'inositol 1,3,4,5-tétrakisphosphate [Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub>] pouvait être un autre type de messager modulant l'activité de Ras. L'Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub>, synthétisé à partir de l'inositol 1,4,5-trisphosphate, se lie avec une très grande affinité à une protéine dont l'ADNc vient d'être cloné. Cet ADNc a le potentiel de coder pour une protéine de type GAP (*GTPase activating protein*), active sur les protéines Ras et Rap. Ainsi, l'Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> pourrait agir en stimulant la désactivation de Ras-GTP en Ras-GDP [2]. On peut observer que l'Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> dérivant de l'Ins(1,4,5)P<sub>3</sub> doit voir sa synthèse stimulée par le calcium qui est un activateur de la phospholipase C. Le calcium pourrait ainsi, suivant les tissus, activer Ras par l'intermédiaire de Ras-GRF ou l'inhiber par l'intermédiaire de cette nouvelle protéine GAP dénommée GAP1<sup>IP4BP</sup>.

[1. Chardin P. *médecine/sciences* 1994; 10: 657-64.]

[2. Chardin P. *médecine/sciences* 1994; 10: 709-12.]

[3. Farnsworth CL, *et al.* *Nature* 1995; 376: 524-7.]

[4. Cullen PJ, *et al.* *Nature* 1995; 376: 527-30.]

■■■ **Lumières sur la fonction de molécules non conventionnelles du CMH de classe II.** Les lecteurs de *médecine/sciences* intéressés par l'immunologie et l'évolution rapide des connaissances sur l'apprêtement des épitopes protéiques connaissent bien la chaîne invariante associée aux molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité [1]. Cette chaîne invariante Ii est associée aux chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  des molécules de classe II, empêchant la liaison de peptides antigé-

niques. Dans un compartiment ayant les caractéristiques d'endosomes/lysosomes tardifs et appelé « compartiment des CMH de classe II », la chaîne invariante subit une protéolyse partielle aboutissant à un fragment CLIP (acides aminés 81 à 104 de Ii) qui semble se positionner dans le sillon de l'antigène du dimère  $\alpha/\beta$ , empêchant la fixation de peptides dérivés de protéines intégrées par endocytose [2]. Une importante question était donc de comprendre le mécanisme par lequel le fragment CLIP pouvait, *in fine*, être remplacé par un peptide antigénique. Trois équipes viennent de montrer que ce remplacement est catalysé par des molécules non conventionnelles du CMH de classe II, codées par les gènes *HLA-DMA* et *HLA-DMB* [3-5]. Les protéines DM sont des hétérodimères ressemblant beaucoup au CMH de classe II classique. Cependant, elles ne sont jamais exportées à la membrane [6]. Le mécanisme d'action des dimères DM n'est pas connu; peut-être sont-ils capables de fixer CLIP avec plus d'affinité que le CMH de classe II classique, libérant le sillon du peptide de ces derniers; une autre hypothèse serait que des interactions entre DM et des CMH de classe II soient associées à des modifications conformationnelles expliquant le départ de CLIP et son remplacement par un peptide antigénique. D'un point de vue évolutif, il est intéressant d'observer que des gènes probablement dérivés d'un ancêtre commun codent pour des protéines qui, malgré leur similitude, ont une fonction toute différente.

- [1. Viville S, Rabourdin-Combe C. *médecine/sciences* 1994; 10 : 163-70.]
- [2. Amigorena S. *médecine/sciences* 1995; 11 : 661-8.]
- [3. Sloan VS, *et al.* *Nature* 1995; 375 : 802-6.]
- [4. Denzin LK, Cresswell P. *Cell* 1995; 82 : 155-65.]
- [5. Sherman MA, *et al.* *Immunity* 1995 (sous presse).]
- [6. Pinet V, Eliaou J. *médecine/sciences* 1995; 11 : 747-51.]

■■■ **Une place au soleil pour les peptides cryptiques issus de la prothyrolibérine.** Les neuropeptides sont synthétisés sous forme de précurseurs de haut poids moléculaire qui contiennent une ou plusieurs copies du peptide biologiquement actif, ou parfois plusieurs peptides aux activités biologiques distinctes. Quel que soit le cas de figure, la maturation post-traductionnelle de la protéine précurseur engendre, outre le(s) neuropeptide(s), un ou plusieurs peptide(s) « cryptique(s) » dont la fonction reste énigmatique. Il a été proposé que ces peptides flanquants pourraient jouer un rôle dans le ciblage du précurseur vers la voie de sécrétion réglée et/ou dans le contrôle de la maturation par les prohormone-convertases. Par ailleurs, des études récentes indiquent que de nombreux peptides cryptiques pourraient, soit exercer une activité propre, soit moduler les effets d'autres neuropeptides. Le précurseur de la thyrolibérine (pro-TRH) contient, chez le rat, cinq copies du térapeptide Gln-His-Pro-Gly (QHPG) flanquées de six peptides cryptiques. Des études antérieures, réalisées en collaboration par deux laboratoires français (Inserm U. 413 Rouen et Cnrs 1197 Montpellier), ont montré que le peptide situé entre les 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> copies du QHPG (pré-proTRH[160-169] ou Ps4) potentialise l'effet de la TRH sur la sécrétion de TSH chez le rat [1]. Ces mêmes chercheurs ont montré que le peptide situé entre les 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> copies de QHPG (pré-proTRH[178-199] ou Ps5) inhibe l'effet de la TRH sur la sécrétion de GH [2]. Une étude récente menée par une équipe américaine indique que la transfection de l'ADN complémentaire de la pré-proTRH dans les cellules hypophysaires tumorales AtT-20 inhibe l'expression du gène de la pro-opiomélanocortine et la sécrétion d'ACTH [3]. Cette équipe vient de montrer que le peptide Ps5 est responsable de l'activité inhibitrice de la pro-TRH: Ps5 bloque la sécrétion basale

d'ACTH et l'effet stimulateur de la corticolibérine sur les cellules adénohypophysaires de rat en culture primaire [4]. Ces résultats révèlent que les peptides cryptiques de la proTRH exercent de multiples activités, soit par eux-mêmes, soit en modulant l'action de la TRH sur les cellules hypophysaires. Cet exemple étaye l'hypothèse selon laquelle les peptides cryptiques, issus de la maturation des précurseurs des neuropeptides, peuvent recéler des activités biologiques variées.

- [1. Bulant M, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87 : 4439-43.]
- [2. Roussel JP, *et al.* *CR Acad Sci* 1994; 317 : 270-6.]
- [3. Redei E, *et al.* *Endocrinology* 1995; 136 : 1813-6.]
- [4. Redei E, *et al.* *Endocrinology* 1995; 136 : 3557-63.]

■■■ **Un quatrième acide aminé cible de la phosphorylation chez les vertébrés : l'histidine.** Chez les procaryotes, un système de transmission du signal à deux composantes implique une histidine kinase et la phosphorylation de résidus histidine de protéines. Le paradigme de ce système comporte une histidine kinase sensible à un signal extracellulaire qui induit son auto-phosphorylation sur une histidine; le groupement phosphate est ensuite très rapidement transféré de l'histidine à un résidu aspartyl situé, soit sur une protéine située en aval dans la voie de transmission du signal, soit en un domaine différent de la même protéine. Quoique des histidines phosphorylées aient été repérées chez les eucaryotes et que des activités histidine kinase et histidine phosphatase aient été caractérisées dans des micro-organismes comme la levure, l'implication précise de la phosphorylation de résidus histidine dans une voie donnée de transmission du

signal n'avait jamais été démontrée. Crovello *et al.* (Boston, MA, USA) viennent de mettre en évidence un cycle rapide de phosphorylation-déphosphorylation de résidus histidine au cours de l'activation des plaquettes sanguines humaines par la thrombine [1]. La cible du phénomène est la molécule d'adhérence leucocytaire P-sélectine [2] dont on savait déjà qu'elle était phosphorylée sur des résidus tyrosine, sérine et thréonine lors de l'activation plaquettaire. Les auteurs montrent maintenant que la thrombine induit également une très rapide phosphorylation suivie de déphosphorylation d'une histidine du domaine intracytoplasmique de cette P-sélectine plaquettaire. Ces résultats restent préliminaires en ce qu'on ne sait pas quel est le rôle de cette phosphorylation sur une histidine et si ce phénomène est similaire à celui catalysé par le système à deux composants procaryotiques, ni quel est le receveur du transfert du groupe phosphate initialement lié au résidu histidine par une histidine kinase.

[1. Crovello CS, *et al.* *Cell* 1995 ; 82 : 279-86.]

[2. Durand G. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 1051-6.]

■■■ Un gène de mammifère autosomique ou lié à l'X selon les lignées de souris. Décidément les souris ne respectent rien ! La sacro-sainte loi d'Ohno, qui avait résisté à l'épreuve du temps, vient d'être mise à mal par une espèce de souris de laboratoire [1]. Nous avons tous admis, depuis l'importante monographie de Susumu Ohno [2] publiée en 1967, que le chromosome X des mammifères était un élément immuable, conservant par-devers lui tous ses gènes. Le mécanisme d'inactivation du deuxième X chez les femelles est censé constituer une barrière intangible puisque tout gène s'évadant de l'X pour passer sur un autosome ébranlerait dange-

reusement le mécanisme compensatoire laborieusement établi au cours de la phylogenèse pour maintenir l'équilibre du dosage génique entre les deux sexes. Or, voici qu'un gène, codant pour un canal chlorure, *Cln4*, et localisé chez la souris *Mus spretus* (une espèce sauvage méditerranéenne) sur le chromosome X, tout comme le gène *CLCN4* humain situé entre le gène de l'amélogénine (*AMEL*) et celui de la stéroïde sulfatase (*STS*) en Xp22.3 (*m/s n° 10, vol. 11, p. 1492 et 1494*), a été retrouvé sur le chromosome 7 de la lignée de souris C57BL/6J utilisée en laboratoire. Deux groupes [3, 4] ont simultanément découvert cette première violation de la loi d'Ohno. Bien que ce gène soit situé près de la région pseudo-autosomique (PAR) où les gènes échappent à l'inactivation et ne sont donc pas soumis à la loi d'Ohno, *Cln4* n'en fait pas partie et il est inactivé chez *Mus spretus*. Sur l'X de la lignée de souris C57BL/6J, dans la région où il aurait dû se trouver, on retrouve un petit segment de l'extrémité 5' de *Cln4*, témoin sans doute de la cassure survenue il y a quelques millions d'années, avant la séparation entre *Mus spretus* et *Mus musculus* d'où provient la lignée C57BL/6J. Comme prévu par la loi de Haldane, impliquant que chez les hybrides interspécifiques le mâle F1 hétérogamétique est toujours stérile, les hybrides mâles F1 issus de *Mus spretus* et de C57BL/6J sont stériles avec une atrophie testiculaire probablement due à l'arrêt de la spermatogenèse, la dissociation des bivalents X-Y étant très nettement visible au stade diacynèse de la méiose [5]. En étudiant les régions PAR des différentes espèces de souris, la constatation d'une absence d'homologie fournirait enfin une explication moléculaire à cette vénérable loi de Haldane, énoncée en 1922.

[1. Ellis NA. *Nature Genet* 1995 ; 10 : 373-5.]

[2. Ohno S. *Sex chromosome and sex linked genes*. New York : Springer-Verlag, 1967.]

[3. Rugarli EI, *et al.* *Nature Genet* 1995 ; 10 : 466-71.]

[4. Palmer S, *et al.* *Nature Genet* 1995 ; 10 : 472-6.]

[5. Hale DW, *et al.* *Cytogenet Cell Genet* 1993 ; 63 : 221-34.]

■■■ La protéine Abl, un relais entre les dommages de l'ADN et la machinerie transcriptionnelle activée par le stress. Le gène *c-ABL* est réarrangé avec le gène *BCR* au cours de la translocation 9:22 caractéristique de la leucémie myéloïde chronique (*ms n° 10, vol. 3, p. 625*).

La protéine Abl est une tyrosine kinase qui est normalement localisée au niveau du noyau et de la membrane. La protéine hybride Abl/Bcr semble avoir une activité de tyrosine kinase exacerbée et se localiser presque exclusivement à la membrane plasmique. La fonction précise de la protéine Abl normale n'était jusqu'à présent pas connue. Kharbanda *et al.* (Boston, MA, USA) montrent aujourd'hui que cette protéine pourrait relayer l'activation par les altérations de l'ADN de la machinerie transcriptionnelle sensible au stress [1]. En effet, l'activité de la protéine Abl est stimulée par les radiations ionisantes ainsi que par des agents alkylants endommageant l'ADN, *cis*-platine et mitomycine C. Cette activation de l'activité de tyrosine kinase de *c-Abl* est associée à une activation de la Jun kinase JNK/SAPK (*Jun-kinase/stress-activated protein kinase*) (*m/s n° 3, vol. 11, p. 437*). En revanche, le traitement par les mêmes agents modificateurs de l'ADN de cellules murines totalement déficientes en Abl après recombinaison homologue des allèles *c-ABL* ne répond pas par une activation de cette Jun kinase. La réponse est restaurée par transfection des cellules à l'aide d'un vecteur d'expression de *c-ABL*.

[1. Kharbanda S, *et al.* *Nature* 1995 ; 376 : 785-8.]

■■■ **Non, nous ne vous avons pas tout dit sur le testicule en avril!** (*m/s n° 4, vol. 11*). Mais nous ne vous avons pas caché que le contrôle génétique de la spermatogenèse était encore imparfaitement connu (*m/s n° 4, vol. 11, p. 611*) et que la liste des protéines régulatrices possibles comportait des incertitudes (*m/s n° 4, vol. 11, p. 612*). Les gènes candidats pour AZF, le facteur de l'azoospermie, proposés depuis 1993 et appartenant à la famille des *YRRM* (*Y chromosome RNA recognition motif*) [1], n'avaient pas reçu complète confirmation. Le groupe de Page, qui avait déjà découvert le gène *ZFY* (codant pour une protéine aux doigts de zinc prise quelque temps par erreur pour le facteur de différenciation testiculaire TDF) [2], propose un nouveau gène, le *DAZ* (*deleted in azoospermia*) qui semble être un candidat sérieux pour coder pour l'AZF [3]. Disposant d'une bonne carte physique du chromosome Y, l'équipe a soigneusement recherché les délétions moléculaires de la région euchromatique de l'Y d'hommes atteints d'azoospermie essentielle. Elle a trouvé, chez 12 patients sur 89 testés, des délétions, avec une région, commune à tous les patients, de 500 kilobases sur le bras long de l'Y, mais aucun gène de la famille des *YRRM* n'y a été mis en évidence. En revanche, piégé par *exon trapping*, un nouveau gène présent dans cette région pourrait bien être l'élément essentiel à la spermatogenèse. Ce *DAZ* code pour une protéine se liant à l'ARN qui serait exprimée dans le testicule de l'homme normal. Pour plus de certitude, il faudrait trouver à présent des hommes azoospermiques ayant, non pas une délétion, mais une mutation dans ce gène. Et que deviennent alors les gènes *YRRM*? Ils ont avec *DAZ* des points communs: comme eux, ils se trouvent dans une région riche en séquences répétitives spécifiques du chromosome Y, ils contiennent des répétitions en tandem, leurs protéines se lient très probablement à l'ARN et s'expriment spécifique-

ment dans le testicule. Il n'est donc pas interdit de supposer qu'ils jouent, eux aussi, un rôle dans la spermatogenèse. Enfin, il faut également noter un fait important: si les patients porteurs d'une délétion du gène *DAZ* sont tous azoospermiques, certains ont cependant un début de spermatogenèse avec spermatogonies immatures. Une assistance médicale à la procréation par microinjection ne serait donc pas impossible (avec transmission de la délétion), à condition évidemment qu'existent des précurseurs ayant subi la méiose et qu'ils soient dotés d'un pouvoir fécondant. Récemment, l'équipe de J. Testart (Hôpital Américain, Neuilly-sur-Seine, France) est parvenu à obtenir des grossesses par injection intracytoplasmique de spermatozoïdes [4] et deux enfants nés apparaissant normaux. On sait que l'audace croissante des biologistes de la reproduction dans l'utilisation des gamètes mâles de plus en plus immatures et de plus en plus anormaux en injection intra-ovocytaire soulève actuellement une ardente discussion d'ordre éthique et scientifique. Cette dernière est d'ailleurs alimentée par une récente lettre au journal *Lancet* [5] de biologistes belges qui insistent sur la fréquence des anomalies des chromosomes sexuels chez les embryons issus de telles méthodes de fécondation, probablement transmises par les gamètes mâles anormaux injectés. Pour éviter d'avoir recours à ces gamètes de qualité incertaine, on pourrait aussi faire appel à la greffe de cellules souches de la lignée mâle, selon les résultats de l'équipe de Brinster [6]. Dans ce cas cependant, les enfants ne seraient pas plus les descendants biologiques des pères qu'avec l'insémination artificielle avec sperme de donneurs!

- [1. Ma K, *et al. Cell* 1993; 75: 1287-95.]  
 [2. Page DC, *et al. Nature* 1990; 346: 279-81.]  
 [3. Reijo R, *et al. Nature Genet* 1995; 10: 383-93.]

- [4. Tesarik J, *et al. N Engl J Med* 1995; 333: 525.]  
 [5. Veld PI, *et al. Lancet* 1995; 346: 772.]  
 [6. Brinster RL, Zimmermann JW. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 11298-302.]

■■■ **Transmission de l'ADN mitochondrial: des craquelures dans le goulot d'étranglement?** [1] Les ovocytes contiennent environ 100 000 copies d'ADNmt et l'accumulation des mutations de cet ADN circulaire étant 10 fois plus rapide que celles de l'ADN nucléaire, on pouvait s'attendre à ce que le contenu mitochondrial des ovocytes humains soit hétéroplasmique, c'est-à-dire composé d'un mélange de mitochondries à génome normal et à génome modifié. Comme on ne retrouve pas cette hétéroplasmie dans l'héritage des individus (la plupart des enfants étant homoplasmiques pour l'ADNmt de leur mère), et pour expliquer cette remise à neuf à chaque génération, la théorie du goulot d'étranglement a été proposée: la quantité d'ADNmt maternel transmis serait extrêmement minime, ce qui expliquerait l'homoplasmie retrouvée chez le nouveau-né. Pour connaître le contenu de l'ADNmt des ovocytes humains, une équipe en a étudié plus d'une centaine, surplus de fécondation *in vitro* n'ayant pas été fécondés, en utilisant une technique de PCR quantitative pour rechercher des délétions [2]. La recherche a porté sur une délétion, observée dans certaines encéphalomyopathies mitochondriales, qui a effectivement été retrouvée dans ces ovocytes, mais en très petite quantité: de 0 à 0,1 % de l'ADNmt total. Dans les cas sporadiques de sujets atteints de syndrome de Kearns-Sayre (KSS), d'ophtalmoplégie externe progressive (PEO) ou de syndrome de Pearson (atteinte médullaire et pancréatique) (*m/s n° 6, vol. 8, p. 599 et n° 9 vol. 8, p. 1001*), on sup-

pose que ces réarrangements pathogènes étaient déjà présents dans l'ovocyte et qu'ils ont été transmis à l'enfant [3]. La quantité massive d'ADNmt délété retrouvée chez les malades, qui peut atteindre 80 % de l'ADNmt total, exclut, en effet, l'hypothèse d'une mutation survenue ultérieurement. Les mutations observées dans les ovocytes ont dû se produire pendant l'ovogenèse. Mais ne pourraient-elles pas se produire après, pendant l'état quiescent de l'ovocyte au stade de prophase I qui peut durer 30 à 40 ans ? Car les ovocytes en attente de la ponte ovulaire ont très probablement besoin d'une activité mitochondriale pour maintenir leur viabilité pendant toutes ces années. Cela semble cependant peu probable en raison de la faible activité de réplication durant cette période, mais, comme on le voit, ce travail suscite plus d'interrogations qu'il n'en résout. Il ne remet cependant pas en cause la théorie du goulot d'étranglement contrairement à une récente étude anglaise [4] qui vient de découvrir un segment hypervariable dans l'ADNmt et qui a étudié son mode de transmission. Dans la région de contrôle du brin L, on trouve en effet une chaîne de cytosines de longueur variable en raison d'une transition C → T à la position 16189 retrouvée dans environ 15 % de la population européenne étudiée. Par une méthode densitométrique permettant de quantifier la proportion relative des variants de longueur différente présents chez les individus, on voit que les sujets apparentés par les mères ont reçu des proportions analogues de variants. Dans ces conditions, il faut supposer que le goulot d'étranglement est plus large que prévu, que la mitochondrie serait l'unité d'héritage et qu'elle contiendrait au moins un élément de chacune des longueurs différentes. L'étude de la génétique humaine mitochondriale ne fait que commencer [5].

[1. Poulton J. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 224-6.]

[2. Chen X, *et al. Am J Hum Genet* 1995; 57: 239-47.]

[3. Nelson I, *et al. médecine/sciences* 1989; 5: 472-9.]

[4. Bendall KE, Sykes BC. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 248-56.]

[5. Wallace DC. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 201-23.]

■■■ **Deux nouveaux gènes responsables de certaines formes d'hypertension artérielle familiale.** Le canal épithélial sodique sensible à l'amiloride (*m/s n° 3, vol. 10, p. 365*), un des éléments clés de l'homéostasie du sodium extracellulaire, est lésé dans la maladie de Liddle, de transmission autosomique dominante, où un pseudo-hyperaldostérionisme accompagne une hypertension précoce et sévère. Rossier en a fait récemment état dans nos colonnes (*m/s n° 2, vol. 11, p. 296*). En collaboration avec d'autres groupes, il a pu montrer depuis que non seulement la sous-unité  $\beta$ , mais aussi la sous-unité  $\gamma$  pouvait être mutée [1]. Une autre hypertension génétique rare, le syndrome d'excès apparent en minéralocorticoïdes (AME), caractérisé par une hypertension à rénine basse et avec alcalose hypokaliémique en dépit de taux subnormaux de tous les minéralocorticoïdes connus, a d'abord été considérée comme induite par un minéralocorticoïde inconnu. Toutefois, étant donné que la transformation du cortisol en cortisone inactive était diminuée tandis que la conversion de la cortisone en cortisol était normale, on pouvait supposer un déficit de la 11- $\beta$ -hydroxystéroïde-déshydrogénase (11 $\beta$ HSD) dans cette maladie. Une équipe texane (Dallas) vient de le démontrer [2] en mettant en évidence des mutations dans le gène *HSD11K*. La 11 $\beta$ HSD comporte au moins deux isoenzymes. L'une a été purifiée et son gène cloné à partir de foie de rat. L'autre est présente dans le rein et le placenta; le gène humain, *HSD11K*, vient d'être identifié [3].

Parmi les onze patients provenant de neuf familles atteintes de cette très rare forme d'hypertension, neuf étaient porteurs de mutations dans *HSD11K*. Il a pu être démontré que ces différentes mutations affectaient l'activité enzymatique, permettant au cortisol d'occuper le récepteur rénal minéralocorticoïde, entraînant ainsi une rétention sodée et une hypertension.

[1. Hansson JH, *et al. Nature Genet* 1995; 11: 76-82.]

[2. Mune T, *et al. Nature Genet* 1995; 10: 394-9.]

[3. Argawal AK, *et al. Genomics* 1995 (sous presse).]

■■■ **Des souris sans récepteur de glucocorticoïdes.** L'équipe de Günther Schütz (Heidelberg, Allemagne) [1] a obtenu des souris dont les deux allèles du récepteur des glucocorticoïdes ont été invalidés. Ces souris meurent à la naissance de défaillance respiratoire, en rapport avec une atelectasie pulmonaire. Il est probable que le rôle des glucocorticoïdes dans la différenciation des pneumocytes 2 et dans la sécrétion du surfactant est responsable de ce tableau [1]. Par ailleurs, et comme attendu, l'interruption de l'axe hypophysio-surrénalien s'accompagne d'une augmentation forte de l'ACTH et d'une hyperplasie des cortico-surrénales. De façon tout à fait intéressante, ces animaux n'ont pas de médullo-surrénales et sont complètement déficients en cellules productrices d'adrénaline. Cependant, quelques cellules chromaffines synthétisant de la noradrénaline sont observées. Les glucocorticoïdes sont donc bien indispensables à l'orientation de la différenciation des précurseurs des cellules chromaffines vers des cellules médullosurrénaliennes à adrénaline alors que le NGF induit leur différenciation en neurones sympathiques (*m/s n° 6, vol. 7, p. 620*). En revanche, la différenciation de cellules synthétisant de la nora-

drénaline ne semble pas requérir l'action des glucocorticoïdes. Enfin, là encore comme cela était attendu, l'induction périnatale des enzymes hépatiques de la gluconéogenèse, largement dépendante des glucocorticoïdes, est anormale.

[1. Cole TJ, *et al. Genes Dev* 1995 ; 9 : 1608-21.]

■■■ **L'hydroxyurée, agent cytotoxique ou/et modulateur transcriptionnel?** Réactiver les gènes de la globine fœtale semble, à l'heure actuelle, une bonne voie thérapeutique des hémoglobinopathies majeures. L'hydroxyurée (HU), en raison de sa faible toxicité, est l'agent choisi pour traiter les malades drépanocytaires. Elle est alors utilisée à des doses infra-toxiques et provoque, en modifiant la cinétique de différenciation cellulaire, une augmentation appréciable de l'hémoglobine (Hb) fœtale avec diminution significative du nombre de crises douloureuses. Un résultat différent a récemment été obtenu par l'équipe sino-américaine de Rodgers (NIH, Bethesda, MD, USA) [1]. Des cas de  $\beta$ -thalasémie intermédiaire de type  $\beta^0$  (IVS2 nt 654 C  $\rightarrow$  T), c'est-à-dire avec synthèse persistante quoique insuffisante de chaîne  $\beta$ -globine, ont été traités par l'HU. Le traitement a été prolongé (> 300 jours), mais à dose faible (6 mg/kg/jour) [1]. Les résultats, inattendus, méritent d'être signalés. Sans modification de l'expression des gènes  $\gamma$ -globine, il y a eu augmentation très nette du rapport des chaînes  $\beta/\alpha$ , et donc de l'expression du gène  $\beta$ . On a constaté une augmentation de la concentration en Hb (> 2g/dl), une amélioration des indices hématimétriques, des images cellulaires et de l'état clinique. Ces résultats suggèrent que, à côté de l'effet cytotoxique avec survie sélective des cellules F qu'on observe à forte dose, l'HU aurait sur la transcription des

gènes de globine une action moins spécifique dont la nature reste à déterminer. Cette action pourrait également dépendre de la mutation en cause.

[1. Zeng YT, *et al. Br J Haematol* 1995 ; 90 : 557-63.]

■■■ **La preuve définitive, et attendue, que le gène NF1 est bien un gène suppresseur de tumeur est arrivée.** Dans une récente *mini-synthèse* sur la neurofibromatose de type 1 (NF1) ou maladie de von Recklinghausen, maladie autosomique dominante fréquente, appartenant au groupe des phacomatoses, Isabelle Henry soulignait la grande difficulté de mettre en évidence des mutations ponctuelles dans le gène *NF1* [1]. Des pertes d'allèles avaient bien été observées dans des tumeurs développées par des malades atteints de NF1, comme des neurofibrosarcomes, des phéochromocytomes mais surtout sous forme de délétion importante (perte de la totalité du chromosome 17 ou du bras court où se trouve le gène codant pour la p53). Pourtant, selon la théorie des deux événements de Knudson, la perte de l'hétérozygotie (LOH) devait se retrouver dans les neurofibromes, tumeurs bénignes apparaissant fréquemment dans la NF1 et dont la présence fait partie des critères du diagnostic clinique de la maladie. A partir de vingt-deux neurofibromes provenant de cinq patients atteints de NF1 et non apparentés [2], l'étude de polymorphismes intragéniques, de marqueurs flanquants et de sondes polymorphiques plus éloignées sur le chromosome 17 a permis de prouver l'existence de mutations somatiques avec perte de l'hétérozygotie (LOH) dans huit de ces tumeurs. La LOH n'a pu être mise en évidence que dans les cas où le marqueur était hétérozygote dans le génotype constitutionnel. Les délétions somatiques ont été détectées par comparaison de

l'intensité des signaux des deux allèles tumoraux avec les deux allèles constitutionnels. Le plus petit commun dénominateur à toutes les LOH observées est situé dans le gène *NF1* et la délétion est portée par l'allèle d'origine maternel. On détient donc désormais la certitude que l'inactivation du gène *NF1* est nécessaire et suffisante pour la formation des neurofibromes.

[1. Henry I. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 93-8.]

[2. Colman SD, *et al. Nature Genet* 1995 ; 11 : 90-2.]

■■■ **Un inhibiteur de farnésyl-transférase a un effet anti-tumoral *in vivo*.** La farnésylation des résidus cystéine de l'extrémité carboxyterminale de la protéine Ras est essentielle à son pouvoir transformant (*m/s n° 8-9, vol. 9, p. 996*). Le térapeptide carboxyterminal du précurseur Ras, de formule *consensus* CaaX (C = cystéine; a = acide aminé aliphatique; X = un acide aminé quelconque) est le signal reconnu par l'enzyme qui va farnésyler la cystéine. Des analogues du térapeptide CaaX, notamment des peptidomimétiques, sont des inhibiteurs de la farnésyl-transférase dont l'effet d'inhibition de la prolifération en culture *ex vivo* a déjà été démontré. Une équipe de West Point (PA, USA) [1] démontre maintenant qu'un tel inhibiteur, le L-744,832, est actif sur des souris transgéniques possédant et exprimant un transgène constitué de la séquence codante de l'oncogène *v-Ha-ras* sous le contrôle des séquences régulatrices du rétrovirus de la tumeur mammaire murine MMTV. Des tumeurs mammaires et salivaires se développent constamment chez de tels animaux. Leur traitement par le L-744,832 entraîne une régression totale de ces tumeurs à la dose de 40 mg/kg et par jour. Une récurrence survient à l'arrêt du traitement, mais les tumeurs restent le plus souvent sensibles à sa reprise

aux mêmes doses. Le traitement ne semble entraîner aucun effet secondaire. Ce premier résultat démontrant un effet, *in vivo*, d'un inhibiteur de la farnésyl transférase ouvre certainement la voie à des essais cliniques.

[1. Kohl NE, *et al. Nature Med* 1995 ; 1 : 792-7.]

■■■ **αB cristalline, un autoantigène possible dans la sclérose en plaques.** L'identification des autoantigènes dans les maladies auto-immunes fait l'objet de recherches intenses en vue d'éventuelles immuno-interventions. Un autoantigène potentiel de la sclérose en plaques vient d'être identifié comme une protéine de choc thermique entrant dans la composition de la myéline, l'αB cristalline [1]. Les lymphocytes T périphériques des patients et des donneurs sains répondent identiquement à cette protéine mais celle-ci semble surexprimée par les oligodendrocytes et les astrocytes des patients au niveau des lésions. La maladie ne serait pas reliée à une anomalie de tolérance mais plutôt à la présentation inopportune d'épitopes qui normalement ne sont pas produits en quantité suffisamment importante pour activer le système immunitaire. L'αB cristalline étant une protéine de choc thermique, on peut concevoir que son niveau d'expression varie en fonction du *stress* cellulaire et des cytokines environnantes.

[1. Van Noort JM, *et al. Nature* 1995 ; 375 : 798-801.]

■■■ **Tolérance par délétion périphérique.** L'administration d'un antigène par voie orale peut induire une tolérance périphérique spécifique. Cette tolérance orale dépend

de la dose d'antigène administrée et repose sur une suppression active ou une anergie clonale. Il vient maintenant d'être montré que la tolérance orale peut aussi survenir après délétion des lymphocytes T dans les plaques de Peyer [1]. Cela a été démontré à l'aide de souris transgéniques pour les gènes du récepteur des lymphocytes T spécifiques de l'ovalbumine dont la nourriture est complétée avec l'antigène. La délétion par apoptose des lymphocytes T est dépendante de la dose d'ovalbumine et de la fréquence des prises. A faibles doses les lymphocytes sont activés et produisent du TGFβ (*transforming growth factor*) et des cytokines de type Th2. A fortes doses, les cellules de types Th1 et Th2 sont délétées après une phase initiale d'activation. En revanche, les cellules productrices de TGFβ semblent relativement résistantes à la délétion périphérique, peut-être parce qu'elles représentent une sous-population différente de lymphocytes T auxiliaires. Ce mécanisme d'induction de tolérance orale périphérique est complémentaire de ceux précédemment décrits et ouvre une nouvelle possibilité d'immunorégulation spécifique.

[1. Chen Y, *et al. Nature* 1995 ; 376 : 177-80.]

■■■ **Stress oxydatif, télomères et sénescence.** Des corrélations ont été établies entre la sénescence et, d'une part, les dommages créés par l'oxygène, d'autre part, le raccourcissement des télomères (*m/s n° 7, vol. 8, p. 738*). On sait que les télomères ont tendance à se raccourcir à chaque cycle de division cellulaire ; dans les tissus embryonnaires et cancéreux, ce raccourcissement semble compensé par une synthèse *de novo* de l'ADN télomérique, catalysé par une télomérase. Cette enzyme comporte un composant ARN

qui sert de matrice à la synthèse des répétitions d'ADN télomériques et dont l'ADNc a été récemment cloné chez l'homme et la souris [1, 2]. Un intérêt considérable a été accordé à la télomérase du fait de la modification de son activité au cours de la sénescence et, à l'inverse, de la transformation maligne. Cependant, nul lien n'avait été établi jusqu'à présent entre les effets toxiques de l'oxygène et le raccourcissement des télomères. C'est le mérite d'une équipe allemande de Berlin de montrer maintenant que la culture cellulaire de fibroblastes en condition faiblement hyperoxique s'accompagne d'une réduction de la longueur des télomères associée à une sortie des cellules du cycle cellulaire et à leur sénescence [3]. Le mécanisme semble être ici plus l'induction de cassures monobrin de l'ADN télomérique par les radicaux libres oxygène qu'une inhibition de la télomérase ; en effet, de telles cassures monobrin s'accumulent dans les cellules postmitotiques maintenues en condition hyperoxique. Il se pourrait, par conséquent, que le nombre limite de divisions des cellules diploïdes humaines avant qu'elles n'entrent en sénescence reflète l'action progressive de radicaux oxygène sur la longueur des télomères, la division cellulaire cessant au-delà d'un certain degré de raccourcissement.

[1. Feng J, *et al. Science* 1995 ; 269 : 1236-41.]

[2. Blasco MA, *et al. Science* 1995 ; 269 : 1267-70.]

[3. von Zglimicki T, *et al. Exp Cell Res* 1995 ; 220 : 186-93.]

■■■ **La protéine EBNA1 du virus Epstein-Barr est indétectable par les lymphocytes T cytotoxiques.** Bien que les lymphocytes B infectés par l'EBV expriment la protéine virale EBNA1, la réponse cytotoxique anti-EBNA1 n'a jamais pu être mise en évidence. EBNA1 est une phospho-

protéine contenant une suite répétitive d'acides aminés Gly-Ala. Lorsqu'un épitope immunodominant d'une autre protéine est introduit dans la protéine EBNA1, sa présentation par les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité est abolie. En revanche, lorsque l'épitope est introduit dans EBNA1 préalablement délétée des répétitions Gly-Ala, la présentation peut avoir lieu. L'insertion des répétitions Gly-Ala en amont d'un épitope immunodominant prévient sa présentation. La répétition de ces deux acides aminés interfère donc avec l'apprêtement de l'antigène ou rend les peptides antigéniques inaccessibles aux molécules présentatrices. Comme EBNA1 est une protéine exprimée de façon constitutive au cours de la latence virale, ce mécanisme très sélectif d'échappement à la surveillance immunitaire cytotoxique favoriserait la persistance de l'infection sans perturber outre mesure le système immunitaire restant capable d'éliminer les cellules transformées par le virus [1].

[1. Levitskaya J, *et al. Nature* 1995 ; 375 : 685-8.]

■■■ **Un changement de U en A, un nouveau type « d'édition » détecté dans le messager de l' $\alpha$ -galactosidase.** L' $\alpha$ -galactosidase est l'enzyme déficiente dans la maladie de Fabry. Novo *et al.* (Londres, GB) viennent de montrer que près de la moitié des clones d'ADNc de cette enzyme possédaient à la position 1187 un A à la place d'un T, seul trouvé dans l'ADN. Cette conversion U  $\rightarrow$  A au niveau de l'ARN entraîne le remplacement de la phénylalanine 396 par une tyrosine [1]. Il s'agit probablement là d'un nouveau type « d'édition », dans le sens de correction sur épreuve, telle qu'elle est discutée dans un récent article de *médecine/sciences* [2]. Cependant, il ne s'agit pas ici d'une désamination enzymatique d'adénosine en inosi-

ne, comme l'ont montré Auxilien et Grosjean, d'une cytidine faisant apparaître un U et un codon stop; cela est observé dans l'édition du messager de l'apolipoprotéine B (*m/s n° 10, vol. 5, p. 787*). Le mécanisme de la transversion T  $\rightarrow$  A n'est pas connu, de même que l'on ne sait pas du tout s'il existe vraiment dans la cellule de l' $\alpha$ -galactosidase possédant une tyrosine en position 396 et, dans ce cas, quelles en sont les conséquences fonctionnelles.

[1. Novo FJ, *et al. Nucleic Acids Res* 1995 ; 23 : 2636-40.]

[2. Auxilien S, Grosjean H. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1089-99.]

■■■ **Un nouveau récepteur impliqué dans l'activation des lymphocytes T.** En produisant des anticorps monoclonaux contre les protéines de surface des lymphocytes T activés, Cocks *et al.* ont identifié une nouvelle molécule d'activation précoce appelée SLAM (*stimulatory lymphocyte activation molecule*) [1]. Cette glycoprotéine appartient à la famille des immunoglobulines et est exprimée de façon constitutive par les lymphocytes mémoire, les clones T, les thymocytes immatures et certaines cellules B. SLAM est une molécule de costimulation qui est rapidement induite après activation des lymphocytes T naïfs. En effet, lorsque des anticorps anti-SLAM sont utilisés pour mimer la liaison de SLAM à son ligand, la prolifération et la production de cytokines par les lymphocytes T CD4 est augmentée. En présence d'antigène, cette costimulation se traduit par une production préférentielle d'interféron  $\gamma$ , même par les cellules de type Th2. L'interaction de SLAM avec son ligand naturel pourrait donc favoriser l'expansion des lymphocytes T de manière à déclencher préférentiellement une réponse immune cellulaire. Par ailleurs, en l'absence d'antigène ou d'autres sti-

*muli*, les anticorps anti-SLAM induisent la prolifération des lymphocytes T pré-activés. L'influence de SLAM sur la réponse immunitaire risque d'être complexe, d'autant plus qu'il existe une forme sécrétée de cette molécule d'activation.

[1. Cocks BG, *et al. Nature* 1995 ; 376 : 260-3.]

■■■ **Un goitre congénital associé à un déficit en facteur de transcription.** Les causes des goitres congénitaux sont multiples. Mutations du gène de la thyroglobuline, de la thyroperoxydase, etc. [1]. Dans une famille espagnole, Acebron *et al.* [2] décrivent maintenant l'existence d'un très volumineux goitre associé à une très faible quantité du messager de la thyroglobuline et à une absence quasi totale du facteur de transcription TTF1 et de son messager. TTF1 est un facteur de transcription à *homeobox* qui est requis pour le développement de la thyroïde et du poumon et se fixe sur les régions régulatrices de plusieurs gènes thyroïdiens, particulièrement ceux de la thyroglobuline et de la thyroperoxydase. Dans la famille décrite, l'expression de la thyroperoxydase est normale, voire même légèrement augmentée et il n'existe pas de malformations pulmonaires. Il semble ainsi improbable qu'un déficit génétique primitif de TTF1 soit en cause dans la genèse de ce goitre. Cependant, par un mécanisme indirect à préciser, les déficits en ce facteur de transcription dans les cellules thyroïdiennes pourraient, en effet, expliquer le déficit en thyroglobuline et le goitre si la transcription du gène de la thyroglobuline dépend plus des TTF1 que celui du gène de la thyroperoxydase.

[1. Ledent C, *et al. médecine/sciences* 1995 ; 11 : 215-21.]

[2. Acebron A, *et al. J Clin Invest* 1995 ; 96 : 781-5.]