

Les autoradiogrammes correspondants furent digitalisés puis analysés automatiquement par des algorithmes complexes de comparaison d'empreintes. Ces programmes permirent de comparer tous les clones deux à deux grâce à un superordinateur créé pour l'occasion à l'INRIA par la mise en réseau de tous les mini-ordinateurs de l'Institut. Ainsi, des calculs qui auraient nécessité plusieurs années furent obtenus en quelques jours. De ces comparaisons d'empreintes, nous avons pu déduire des chevauchements entre clones, ces 22 000 clones représentant cinq génomes haploïdes et donc en pratique cinq découpes différentes du génome humain. Ainsi près de 50 % de chaque chromosome furent reconstitués avec des *contigs* (ensemble de clones chevauchants) de cinq YAC en moyenne, 15 à 20 % du génome étant couverts par des contigs de plus de 3 millions de paires de bases. La validité de l'assemblage fut vérifiée en analysant 10 contigs au hasard parmi les 1 000 obtenus. Différentes simulations à partir des résultats obtenus sur ces 22 000 clones montrent que l'analyse de 24 000 clones supplémentaires permettra de lever une carte de 90 % du génome avec des contigs de plus de 5 millions de paires de bases. Ceux-ci seront obtenus dans les mois à venir. Les tronçons de ce premier assemblage seront ensuite positionnés le long du chromosome en utilisant quelques centaines de balises ordonnées de la carte génétique. Les solutions de continuité de cette carte physique primaire (environ 100 « trous ») seront traitées par l'ensemble de la Communauté Internationale. Les derniers trous correspondront aux segments d'ADN réfractaires au clonage.

Parallèlement à cette approche globale, et justement pour vérifier qu'il était possible d'obtenir 100 % d'un chromosome, la carte physique complète du bras long du chromosome 21 (43 millions de paires de bases, 1,2 % du génome) a été réalisée, le bras court, long de quelques millions de paires de bases, n'étant constitué que d'hétérochromatine. Cela fut fait en criblant une banque de YAC de 90 000 clones avec 200 balises du chromosome 21 dont près de la moitié n'étaient pas encore positionnées. Ces balises correspondaient à des sites

amplifiables par PCR (STS = *sequenced tagged sites*) représentant, soit des *loci* polymorphes, soit des gènes connus, soit enfin des sites anonymes. Nous avons obtenu effectivement un continuum de clones chevauchants s'étendant du centromère au télomère du bras long du chromosome 21.

Ce *contig* va accélérer l'identification des gènes de ce chromosome comme ceux responsables du syndrome de Down (trisomie 21), de la sclérose latérale amyotrophique, de l'épilepsie myoclonique. Il permettra également de clarifier le rôle du chromosome 21 dans la maladie d'Alzheimer.

L'ensemble de nos travaux démontre aussi qu'un changement d'échelle de la biologie s'opère peut-être plus tôt que prévu et là où on ne l'attendait pas. Les méthodes et les stratégies employées marquent définitivement la naissance d'une nouvelle branche de la recherche, plus technologique, dans laquelle la productique fait son entrée au service de l'homme malade. Des dizaines de nouvelles mutations pathologiques seront identifiées très rapidement, créant une véritable inflation par rapport aux efforts consentis pour développer des solutions thérapeutiques. Mais il faut espérer que cet afflux stimulera les investissements publics et privés.

Daniel Cohen

■■■■ La protéine β -amyloïde (β -AP) déstabilise la régulation neuronale du calcium intracellulaire. La β -AP est le constituant majeur des plaques séniles observées dans le cerveau de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (voir *m/s* n° 3, vol. 7, p. 294). On soupçonne depuis longtemps que cette protéine joue un rôle dans l'atteinte neuronale, et une activité neurotoxique a été observée sur des neurones en culture, notamment en présence d'acides aminés excitateurs [1] mais les mécanismes n'en sont pas connus. Mattson *et al.* (University of Kentucky, USA) apportent un élément de réponse important en démontrant que la β -AP modifie la régulation des concentrations de calcium intracellulaire dans les neurones [2]. La mise en culture de neurones de cortex humain fœtal en présence de β -AP provoque, après quelques jours, une augmentation de la concentration calcique intracellulaire à près de deux fois le contrôle. Toutes les stimulations qui, normalement, accroissent la concentration calcique intracellulaire sont, par ailleurs, nettement amplifiées (jusqu'à trois fois) en présence de β -AP. Cela est particulièrement net — et important pour les hypothèses concernant l'effet neurotoxique — en ce qui concerne les acides aminés excitateurs tel le glutamate. Or on sait que l'excitotoxicité associée au glutamate est due, en grande partie, à une amplification de l'influx de calcium conduisant à une surcharge calcique intracellulaire (voir *m/s* n° 4, vol. 6, p. 394). Une « hypothèse calcique » du mécanisme de la neurodégénérescence alzheimerienne émerge donc de ces travaux, selon laquelle l'accumulation de β -AP dans l'espace extracellulaire modifierait la régulation calcique. La protéine abaisserait ainsi le seuil de l'excitotoxicité des neurones qui seraient alors susceptibles de dégénérer en présence de concentrations pourtant physiologiques d'acides aminés excitateurs.

[1. Koh JY, *et al.* *Brain Res* 1990 ; 533 : 315-20.]

[2. Mattson MP, *et al.* *J Neurosci* 1992 ; 12 : 376-89.]

1. Bellané-Chantelot C, Lacroix B, Ougen P, *et al.* Mapping the whole human genome by fingerprinting yeast artificial chromosomes. *Cell* 1992 ; 70 : 1059-68.

2. Chumakov H, Rigault P, Guillou S, *et al.* Continuum of overlapping clones spanning the entire human chromosome 21 q. *Nature* 1992 ; 359 : 380-7.