

Le gène de susceptibilité au rétinoblastome

... En se promenant sur le chromosome

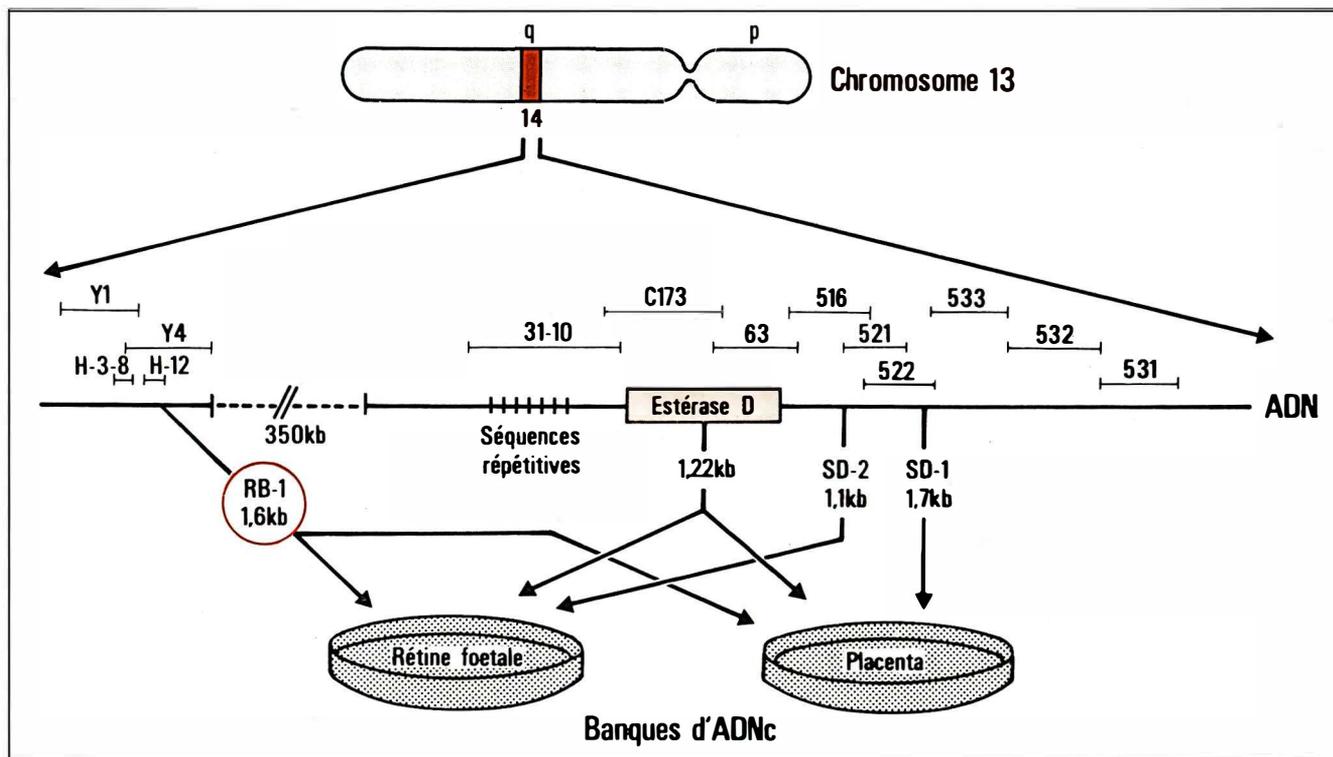


Figure 1. **Schéma de la marche sur le chromosome du gène de l'estérase D vers le gène de susceptibilité au rétinoblastome.** Le détail de la stratégie suivie est donné dans le texte de la nouvelle. Les barres horizontales situées au-dessus du fragment d'ADN représentent les divers clones génomiques isolés et utilisés pour la marche. Les chiffres en kilobases (kb) donnés sous le fragment d'ADN représentent les tailles des clones d'ADNc isolés à l'aide de certains fragments génomiques. Le clone d'ADNc SD-1 a été utilisé pour recueillir des banques génomiques, permettant d'isoler des clones correspondants à toute l'unité transcriptionnelle du gène SD-1.

On sait depuis quelques années que le rétinoblastome est fréquemment associé à une délétion partielle de la bande q14 du chromosome 13, intéressant notamment le gène codant pour l'estérase D. Le rétinoblastome héréditaire est une maladie autosomique dominante frappant 90 % des hétérozygotes pour la lésion de cette bande 13-q14. Au niveau de la tumeur, de nombreuses données indiquent que l'allèle qui n'est pas intéressé par l'anomalie héréditaire est néanmoins modifié, probablement à la suite d'un accident génétique somatique d'une cellule à l'origine du développement tumoral. On a aussi démontré que des anomalies acquises du

même locus pouvaient être responsables des formes non familiales de la maladie. Il y a quelques mois, un groupe de la côte est des États-Unis publiait un article décrivant le clonage du gène de susceptibilité au rétinoblastome [1]. C'est maintenant une équipe californienne qui publie la séquence complète du message, et donc de la protéine, ainsi que la description de l'organisation du gène [2]. La stratégie utilisée par ces derniers chercheurs est une « marche sur le chromosome » (*chromosome walking*). Il s'agit de partir d'un site connu de l'ADN, reconnu par une sonde dont on sait qu'elle s'hybride à des séquences situées à proximité du

locus auquel on désire parvenir. La figure 1 résume les étapes de cette recherche. A l'aide d'une sonde d'ADN complémentaire du message (ADNc, *m/s* n° 9, vol 2, p. 518), le gène codant pour l'estérase D a été cloné et utilisé lui-même pour isoler des clones génomiques correspondant à des séquences s'étendant à gauche et à droite du gène.

A gauche, les clones C-173 et 31-10 ne peuvent pas être utilisés pour poursuivre la marche sur le chromosome. La séquence reconnue par 31-10 est en effet hautement répétée dans le génome et ne permet donc pas d'isoler des séquences uniques localisées en des endroits précis (figure 1).

A droite, les sondes du gène de l'estérase D reconnaissent un clone 63 qui hybride lui-même avec la séquence 516, cette dernière permettant de reconnaître les clones 521 et 522... et ainsi de suite (figure 1). Les clones 521 et 522 correspondent à des séquences transcrites SD-2 et SD-1 dont il est possible d'isoler les ADNc. L'ADNc SD-1 permet d'isoler des clones chevauchants 531, 532 et 533, couvrant le gène inconnu SD-1. Les sondes SD-1 et SD-2 ne détectent pas, en Northern blot (*m/s* n° 9, vol. 2, p. 518) de messagers dans la rétine fœtale, et semblent donc sans relation avec le gène de susceptibilité au rétinoblastome. Les auteurs ne trouvaient ainsi pas le gène qu'ils cherchaient à droite du locus de l'estérase D... et étaient bloqués à gauche par la présence de séquences hautement répétitives. Ils choisirent donc de rechercher une autre « tête de pont » sur le gène, localisée dans la même région mais au-delà des séquences répétitives. Une sonde « H3-8 » (figure 1) appartenant à une banque génomique du chromosome 13 et hybridant avec l'ADN de la bande q14 parut être un bon point de départ. En effet, elle s'hybridait, sur un Southern blot (*m/s* n° 2, vol. 2, p. 104) réalisé après électrophorèse en champ pulsé*, à un même fragment de 500 kilobases que la sonde d'estérase D... mais pas avec les sondes SD-2 et SD-1 (figure 1), ce qui positionnait bien à gauche du locus de l'estérase D les séquences reconnues par H3-8. Le clone génomique Y4 permettait, à proximité immédiate d'H3-8, d'isoler des sous-clones H-12 correspondant à des séquences transcrites dont les ADNc étaient isolés de banques de rétine fœtale et de placenta. La sonde RB-1, correspondant à un ADNc, reconnaît en Northern blot un messager de 4,6 kilobases présent dans tous les tissus, notamment dans la rétine fœtale.

En revanche, cette espèce de messager est soit absente, soit modifiée (plus petite) dans 6 rétinoblastomes étudiés sur 6, alors qu'elle est normale dans d'autres tumeurs

d'origine ectodermique (neuroblastome, médulloblastome). RB-1 semble donc bien contenir un (ou des) exons(s) du gène de susceptibilité au rétinoblastome. Grâce à l'isolement et à la détermination de la séquence nucléotidique d'autres clones d'ADNc, la séquence complète en acides aminés de la protéine codée par le gène peut être déduite. Elle compte 816 résidus (soit un poids moléculaire de 94 000) et ne ressemble à aucune autre protéine connue jusqu'alors. Le seul élément de séquence évocateur d'une possible fonction de cette protéine est constitué de motifs contenant des cystéines et histidines à la manière d'une famille particulière de protéines se liant à l'ADN au niveau de sous-structures en doigts stabilisés par un atome de zinc. Nous reparlerons ultérieurement dans *médecine/sciences* de ces « protéines dactyles ».

On peut faire ainsi l'hypothèse que le gène de susceptibilité au rétinoblastome code pour une protéine se liant à l'ADN, régulant ainsi l'expression d'autres gènes, en l'occurrence ici des oncogènes dont elle diminuerait l'expression. Des délétions (deux cas sur les six étudiés dans [2]) ou d'autres types de mutations réduiraient... voire supprimeraient la synthèse de cette protéine anti-oncogène... provoquant ainsi le développement de cancers (*m/s* n° 8, vol. 2, p. 467).

A.K.

* *Électrophorèse en champ pulsé* : Il s'agit d'une technique particulière de séparation des fragments d'ADN dans laquelle la différence de potentiel est appliquée alternativement dans des directions différentes, faisant ainsi « tourner » les fragments d'ADN. Cela permet de séparer des fragments extrêmement longs, de 100 à plus de 1 000 kb.

1. Friend SH, Bernard R, Rogel JS, et al. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 1986 ; 323 : 643-6.

2. Lee WH, Bookstein R, Hong F, Young LJ, Shew JY, Lee EYHP. Human retinoblastoma susceptibility gene : cloning, identification and sequence. *Science* 1987 ; 235 : 1394-9.

■ ■ ■ BRÈVES ■ ■ ■

■ ■ ■ Les gliomes, qui représentent la moitié environ des tumeurs cérébrales, possèdent des sites récepteurs aux benzodiazépines. Ces sites, dits périphériques, diffèrent de ceux des neurones cérébraux et sont reconnus spécifiquement par certains ligands. Ils peuvent être rendus visibles par l'emploi de ligands radioactifs. Des résultats expérimentaux très prometteurs viennent d'être obtenus chez le rat. Il devrait être possible de les étendre à l'homme en utilisant l'émission de positons ou des isotopes à rayons gamma. L'avantage potentiel par rapport aux techniques actuelles (tomodensitométrie et RMN) est que seules sont marquées les cellules malignes vivantes, à l'exclusion du tissu normal adjacent et des tissus nécrosés. [Starosta-Rubinstein S, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 891-5.]

■ ■ ■ Le mécanisme de la cancérisation associé à une délétion génique peut être la perte d'un antioncogène... comme cela est suggéré par le gène de susceptibilité au rétinoblastome [1, 2]. Ce peut être aussi l'augmentation de la transcription d'un oncogène localisé en bordure de la délétion. Ainsi, dans tous les cas étudiés de leucémies et de lymphomes associés à une délétion du bras long du chromosome 6 (6q-), le gène c-myc (un oncogène codant pour une protéine nucléaire) est situé à une proximité relative de la limite de la délétion et est hyperexprimé. Il semble probable que le remaniement chromosomique créé par la délétion amène c-myc à proximité d'une zone du chromosome où la transcription est active [3]. [1. Friend SH, et al. *Nature* 1986 ; 323 : 643-6.] [2. Lee WH, et al. *Science* 1987 ; 235 : 1394-9.] [3. Barletta C, et al. *Science* 1987 ; 235 : 1064-7.]