

Les récepteurs des neuromédiateurs... ou vers la structure des protéines inconnues

**Les nouvelles
de ce numéro
ont été préparées par :
Jean-Claude Dreyfus
Axel Kahn
Bernard Rueff**

La majorité des stratégies de clonage d'ADNc et de gènes fait appel à quelques caractéristiques de la protéine pour laquelle ils codent : anticorps, éléments de séquence, etc. Dans d'autres cas (illustrés par la démarche de la « génétique inverse »), le point de départ du clonage est la localisation du gène et la possession de mutants. Il est également possible de cloner l'ADNc codant pour des protéines actives dont on ne sait rien, codées par des gènes dont on ne connaît pas la localisation. Il suffit de savoir « ce que fait » cette protéine et de pouvoir le mesurer dans un système hétérologue pour réaliser cela. Le principe de cette approche est le suivant.

Étape 1. Une banque d'ADNc est construite (voir lexique *m/s*, suppl. au n° 7 vol. 3, p. 14) dans un vecteur contenant la séquence promotrice reconnue par certaines ARN-polymérases de phages, très actives (par exemple des phages T3, T7 et SP6). L'ARN utilisé a été purifié à partir du tissu ayant l'activité biologique étudiée la plus forte possible.

Étape 2. La banque est divisée en plusieurs groupes (par exemple de quelques milliers ou dizaines de milliers de clones chacun) dont les ADNc sont transcrits, grâce à l'ARN-polymérase de phage appropriée, en une population d'ARN.

Étape 3. Ces populations d'ARN sont injectées dans des ovocytes de batraciens (xénopes le plus souvent) au niveau desquels on dose l'activité biologique étudiée. Si la population d'ARN injectée contenait l'ARN codant pour la protéine responsable de cette activité, ce dernier a dû être traduit dans l'ovocyte en une protéine qui peut être fonctionnelle.

Étape 4. Le groupe de clones ayant donné un résultat positif est lui-même subdivisé en sous-groupes successifs testés de la même manière. La répétition de la procédure doit permettre d'aboutir au clone codant pour la protéine recherchée. Une telle approche, voisine de la méthode historique employée au début du génie génétique par C. Weissman pour cloner l'ADNc de l'interféron α , a été récemment mise en œuvre pour cloner les ADNc des récepteurs de deux neuromédiateurs, la substance K [1] et la sérotonine [2]. Le test biologique utilisé au niveau des ovocytes après micro-injection des ARN a été, dans les deux cas, l'ouverture d'un canal ionique induit par le neuromédiateur correspondant, et donc un courant de membrane qu'il est aisé de détecter.

Dans son principe, la méthode résumée ci-dessus n'a guère de limitations, que celle d'un système facile à doser dans l'ovocyte, et par conséquent dont il n'existe pas d'équivalent dans cette cellule. Sinon d'autres systèmes cellulaires pourraient être envisagés, dont aucun ne réunit néanmoins les avantages de l'œuf de xénope.

1. Masu Y, Nakayama K, Tamaki H, Harada Y, Motoy K, Nakanishi S. cDNA cloning of bovine substance-K receptor through ovocyte expression system. *Nature* 1987 ; 329 : 836-40.
2. Julius D, Mac Dermott AB, Axel R, Jessell TM. Molecular characterization of a functional cDNA encoding the serotonin 1c receptor. *Science* 1988 ; 241 : 558-64.