

dententes sont très abondantes, ce qui suggère que peu de protéine à KDEL échappe en fait au réticulum endoplasmique et doit être recyclée avec le récepteur. Peut-être ces protéines résidentes forment-elles en réalité un réseau lâche évitant le départ en masse de molécules accompagnant passivement les protéines exportées en transit vers le Golgi.

L. Buonocore et J. K. Rose, de Yale (CT, USA), viennent de mettre à profit la propriété de la séquence KDEL pour démontrer le rôle de la protéine CD4 dans le transport de la glycoprotéine gp120 à la membrane plasmique de lymphocytes T infectés par HIV-1. Des lymphocytes ont été transfectés avec une construction dirigeant la synthèse d'une forme soluble de CD4 à laquelle a été ajouté le peptide KDEL : cette forme modifiée de CD4 est alors séquestrée dans le réticulum endoplasmique, fixant la gp120 virale et empêchant son exportation vers la membrane. De ce fait, la formation de syncytia entre cellules, liée à la présence de gp120 à leur surface, est inhibée et les effets cytopathiques de l'infection virale atténués [3]. Cette approche, du type de ce que Baltimore dénomme une « immunisation intracellulaire », nécessiterait une greffe de moelle avec des cellules génétiquement recombinées, sans certitude que, *in vivo*, cela stopperait bien la progression de la maladie. Elle n'a donc probablement pas un grand avenir dans le traitement du SIDA. Une telle expérience est cependant un très bon exemple de la réalité du système de rétention des protéines résidentes du réticulum endoplasmique et de la faisabilité d'une stratégie consistant à modifier des cellules pour les rendre entièrement ou partiellement résistantes à une infection virale.

A. K.

1. Vaux D, Tooze J, Fuller S. Identification by anti-idiotypic antibodies of an intracellular membrane protein that recognizes a mammalian endoplasmic reticulum retention signal. *Nature* 1990 ; 345 : 465-502.

2. Kelly RB. Cell biology : tracking an elusive receptor. *Nature* 1990 ; 345 : 480-1.

3. Buonocore L, Rose JK. Prevention of HIV-1 glycoprotein transport by soluble CD4 retained in the endoplasmic reticulum. *Nature* 1990 ; 345 : 625-8.

Contrôle de l'activité de la protéine p21^{ras} et de son homologue chez la levure

L'oncogène *c-ras* des mammifères est une G-protéine dont on ignore encore le rôle exact, si ce n'est qu'il est probablement lié au contrôle du cycle mitotique. Chez la levure, en revanche, on sait que le produit du gène *RAS* est couplé à l'activation de l'adénylate cyclase survenant lorsque l'organisme est cultivé en présence de glucose (figure 1). Fonctionnellement, les protéines p21^{ras} des mammifères

et RAS de levure sont interchangeables (*m/s* n° 4, vol. 1, p. 218).

Comme toutes les G-protéines, p21^{ras} et RAS existent sous une forme liée au GDP, inactive, et une forme liée au GTP, active. Les mutations qui « activent » le potentiel oncogénique de p21^{ras}, par exemple celles du codon 12 ou du codon 61, sont associées à l'inhibition de l'activité GTPasique de la protéine qui reste

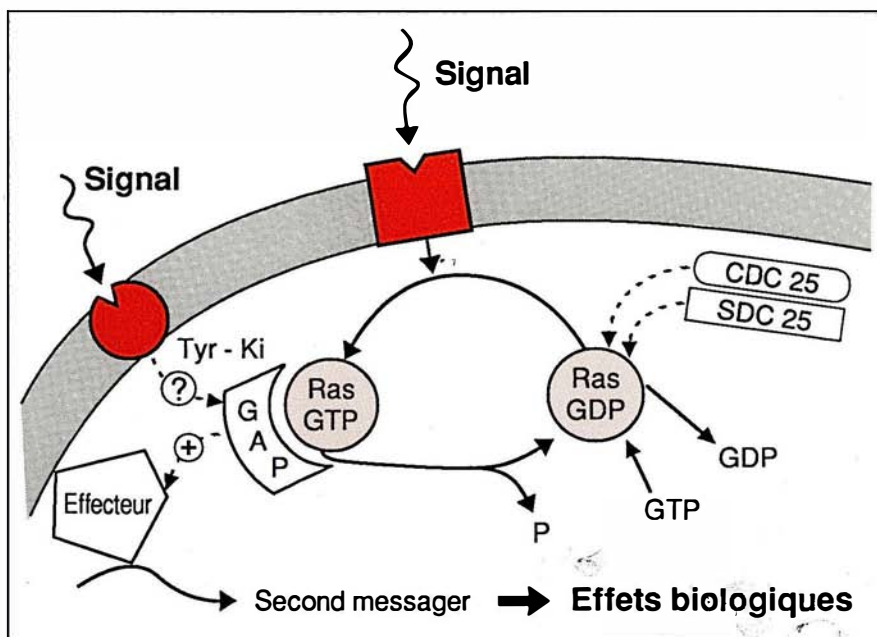


Figure 1. **Régulation hypothétique des protéines Ras.** Sous l'action d'un signal (glucose chez la levure, signal mitogène chez les mammifères), la protéine Ras GDP, inactive, est transformée en Ras GTP, active. Cette réaction nécessite la présence de protéines de libération du GDP, codées par les gènes CDC 25 et SDC 25. La protéine GAP forme un complexe avec Ras GTP dont elle stimule l'activité GTPasique. On ne sait pas si l'activation du système effecteur générateur de seconds messagers est le fait de Ras GTP, de GAP activée... ou du complexe Ras GTP/GAP. Quoi qu'il en soit, le système est normalement, ensuite, désactivé grâce à l'hydrolyse du GTP en GDP. L'activité de GAP pourrait être contrôlée par des tyrosines kinases, par exemple liées à des récepteurs de facteur de croissance.

ainsi en permanence sous sa forme liée au GTP, active.

Physiologiquement, l'activité GTPasique, et donc la désactivation de p21^{ras}, est stimulée par la protéine GAP (*GTPase activation protein*) qui est un substrat de tyrosine kinases (*m/s n° 2, vol. 6, p. 156*).

Chez la levure, existent des mutants qui suggèrent que la réaction inverse de celle catalysée par GAP (c'est-à-dire l'échange du GDP par du GTP qui est phénomène d'activation) est elle-même sous la dépendance d'un gène appelé *CDC 25*. J. Camonis *et al.*, de l'équipe de Michel Jacquet (Orsay, France), ont isolé un gène partiellement homologue à *CDC 25*, appelé *SDC 25*. La transformation de levures mutantes *CDC 25*, qui ne peuvent activer leur adénylate cyclase sous l'effet du glucose, par un fragment 3' du gène *SDC 25* rétablit le couplage et donc l'activation de l'adénylate cyclase [1]. L'effet biochimique de la portion carboxyterminale

de la protéine codée par *SDC 25* vient maintenant d'être directement démontré par J.-B. Créchet *et al.*, de l'équipe de A. Parmeggiani à l'École polytechnique (Palaiseau, France), en collaboration avec le laboratoire de Michel Jacquet [2]. Une protéine contenant les 550 acides aminés carboxyterminaux de cette protéine, produite dans une bactérie, catalyse la dissociation du GDP de la protéine RAS, facilitant ainsi son remplacement par le GTP (*figure 1*). Ce produit de *SDC 25* est également actif sur p21^{ras}, si bien qu'il est concevable qu'existe chez les mammifères un (ou des) équivalent(s) de *SDC 25* contribuant, avec GAP, au contrôle de l'activité biologique des protéines p21^{ras}. Il est à noter que la protéine *CDC 25*, qui a génétiquement été identifiée comme étant nécessaire à l'activation de Ras et qui est partiellement homologue à la protéine *SDC 25*, n'a pas *in vitro* le même effet que cette dernière, restant sans

action sur la libération de GDP. Ce résultat négatif pourrait bien n'être dû qu'à des considérations techniques, plusieurs facteurs de libération du GDP existant dans les cellules mais pouvant n'être pas dans une configuration active après purification ou production par génie génétique dans la bactérie. La réaction d'échange GDP → GTP étant activatrice des protéines Ras, elle est une cible logique pour la recherche d'inhibiteurs qui pourraient avoir une action antiproliférative.

A. K.

1. Camonis J, Kalékine M, Gondré B, Garreau H, Boy-Marcotte E, Jacquet M. Characterization, cloning and sequence analysis of the *CDC 25* gene which controls the cyclic AMP level of *Saccharomyces cerevisiae*. *Embo J* 1986 ; 5 : 375.
2. Crechet JB, Pouillet P, Mistou MY, *et al.* Enhancement of the GDP-GTP exchange of RAS proteins by the carboxyterminal domain of *SDC 25*. *Science* 1990 ; 248 : 866-8.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ Le gène *APP* (*amyloid precursor protein*) est responsable de l'hémorragie cérébrale héréditaire avec amylose de type hollandais. Le peptide amyloïde β qui s'accumule dans les plaques séniles des sujets atteints de la maladie d'Alzheimer est dérivé par clivage anormal d'un précurseur beaucoup plus grand, la protéine *APP* (*amyloid precursor protein*) (*m/s, n° 6, vol. 6, p. 602*). Le gène *APP* est localisé sur le chromosome 21, de même qu'un gène dont l'altération est responsable d'une forme dominante d'amylose vasculaire cérébrale avec hémorragies cérébro-méningées responsables de la mort des sujets atteints. Dans cette affection, dénommée « hémorragie cérébrale héréditaire avec amylose, de type hollandais », il y a une infiltration très importante des leptoméninges, du cortex cérébral et des parois

vasculaires par une substance amyloïde composée du peptide amyloïde β . Des équipes européennes d'Anvers et Gand (Belgique), Leiden (Pays-Bas) et Londres (Angleterre) viennent de montrer que le gène *APP*... et celui de l'amylose cérébrale sus-décrite étaient très proches ou confondus [1] ; cette dernière éventualité a en fait été confirmée par des chercheurs américains et hollandais de New York et Leiden [2]. Ces dernières équipes ont en effet trouvé, chez deux malades non apparentés, une mutation en position 22 de la protéine amyloïde, remplaçant un acide glutamique par une glutamine. Une telle mutation rappelle celle à l'origine de la forme islandaise de l'affection, dans laquelle la cystatine C (un inhibiteur de protéase, tout comme la protéine amyloïde β) est mutée au niveau d'une leucine changée en glu-

tamine. Voici de quoi ajouter à la « saga » du gène *APP* dont on ne sait toujours pas ce qu'il a à voir avec le mécanisme de la maladie d'Alzheimer et qui, cependant, avec ses épisodes multiples, les nombreuses formes de maturation protéolytiques possibles de son produit [3], ses activités antiprotéolytiques [4] et de facteur de croissance, sa production dans les cellules cérébrales, mais aussi les plaquettes sanguines et des lignées de cellules en culture [4], constitue un bien étonnant musée des bizarreries biologiques.

- [1. Van Broeckhoven C, *et al.* *Science* 1990 ; 248 : 1120-2.]
- [2. Levy E, *et al.* *Science* 1990 ; 248 ; 1124-6.]
- [3. Esch FS, *et al.* *Science* 1990 ; 248 : 1122-4.]
- [4. Smith RP, *et al.* *Science* 1990 ; 248 : 1126-8.]

■■■ Les glucocorticoïdes et les minéralocorticoïdes contrôlent l'adénylate cyclase dans des segments spécifiques du néphron. L'insuffisance surrénale s'accompagne d'une altération de la capacité de dilution et de concentration de l'urine, fonctions qui dépendent de la branche ascendante large médullaire de l'anse de Henle (mTAL) et du canal collecteur médullaire (mCT) et qui sont contrôlées par plusieurs hormones dont les effets passent par l'intermédiaire de l'AMP cyclique. Doucet *et al.* [1] ont étudié les conséquences de la surrénalectomie sur l'activité adénylate cyclase (AC) des segments tubulaires isolés par microdissection chez le rat. La surrénalectomie ne modifie pas l'activité basale de l'AC, mais elle diminue la stimulation par la vasopressine, le glucagon et la calcitonine dans la mTAL, alors que seule la réponse à la vasopressine est atténuée dans le mCT. L'administration de glucocorticoïdes à des rats surrénalectomisés restaure la réponse de la mTAL aux trois hormones tandis que celle de minéralocorticoïde rétablit la réponse de l'AC du mCT à la vasopressine. La surrénalectomie altère la fonction de la protéine Gs dans la mTAL ; c'est ainsi que la réponse à la toxine du choléra est diminuée par l'absence d'hormones surrénales. L'analyse est plus difficile dans le mCT, où coexistent deux types cellulaires, les cellules principales sensibles à la vasopressine et les cellules intercalaires sensibles au glucagon et à l'isoproterenol. Dans l'étude de Doucet *et al.*, la préincubation à 37° C a inhibé l'AC des cellules intercalaires et a permis de montrer l'altération de la fonction de la protéine Gs chez les animaux surrénalectomisés. Les mécanismes par lesquels les corticostéroïdes contrôlent les protéines Gs restent inconnus.

[1. Doucet *et al.* Gluco- and mineralocorticoids control adenylate cyclase in specific nephron segments. *Am J Physiol* 1990 ; 258 : F812-20.]

■■■ Caractérisation d'une nouvelle protéine amyloïde. L'amylose familiale de type finlandais ou FAP type IV est une forme autosomique dominante d'amylose observée notamment dans le sud-est de la Finlande, mais aussi aux Pays-Bas, au Danemark et aux États-Unis. Elle se marque par une neuropathie progressive touchant les paires crâniennes et une dystrophie cornéenne « en treillis ». La substance amyloïde s'accumule également dans d'autres tissus de l'organisme. Haltia *et al.* [1] ont caractérisé la protéine de la FAP type IV à partir de dépôts présents dans le rein et d'autres tissus prélevés chez un malade décédé. En gel filtration, deux pics principaux ont été isolés et l'un d'entre eux (fraction c) contient une protéine de poids moléculaire apparent d'environ 12 kDa. Un antisérum dirigé contre la protéine amyloïde réagit avec ce dernier pic en *immunoblot* et avec les dépôts tissulaires amyloïdes, comme le montre l'immunodétection à l'aide de la technique peroxydase-antiperoxydase. L'absorption de l'antisérum avec la sous-unité 12 kDa abolit la fixation. La séquence amino-terminale de la fraction c est identique à la séquence d'acides aminés de la gelsoline (résidus 173 à 187). La gelsoline est une protéine de 90 kDa, située dans le cytoplasme cellulaire, puis sécrétée dans le plasma sous la forme d'une protéine plus volumineuse de 93 kDa. La gelsoline est un facteur dépolymérisant l'actine : le gène codant pour sa synthèse est localisé chez l'homme sur le chromosome 9. Ainsi la protéine amyloïde de la FAP IV dérive d'un produit de dégradation de la gelsoline, commençant en position 173 (alors que dans d'autres amyloses familiales avec polyneuropathie ou FAPs, la substance amyloïde dérive de variantes de la préalbumine ou transthyréline).

[1. Haltia M, *et al.* *Biochem Biophys Res Comm* 1990 ; 167 : 927-32.]

■■■ La résistance aux diurétiques : une nouvelle explication. Le furosémide est un diurétique puissant, lié à 98 % à l'albumine dans le sérum. L'effet natriurétique dépend étroitement de la quantité de furosémide apportée dans la lumière du tube rénal, au niveau de la branche ascendante de l'anse large de l'anse de Henle, là où le diurétique inhibe la réabsorption du NaCl en agissant à la face luminale des cellules. Ainsi le furosémide libre dans le sérum, non lié à l'albumine, joue un rôle essentiel. En cas de syndrome néphrotique où l'albuminurie est abondante et où l'albuminémie est basse, on observe parfois une résistance à l'action du furosémide. D'aucuns avaient suggéré que cela s'expliquait par l'augmentation de l'espace de distribution du furosémide, ce qui abaisserait les concentrations sériques, donc l'apport intratubulaire. En fait cette hypothèse n'a pas été confirmée. Kirchner, Voelker et Brater [1] ont étudié l'hypothèse suivante : l'albumine présente dans le fluide tubulaire en cas de syndrome néphrotique, pourrait lier le furosémide et diminuer les concentrations de furosémide libre, actif aux sites tubulaires. Ils ont effectué des expériences de microperfusion *in vivo* de l'anse de Henle de rat. Ils ont montré que l'addition d'albumine au perfusat atténue l'effet du diurétique : la réabsorption fractionnelle du chlore est de 56 % à l'état basal, elle diminue à 34 % avec le furosémide seul et seulement à 45 % en moyenne, en présence d'albumine et de furosémide. L'addition d'immunoglobuline G n'a pas d'effet. L'albuminurie abondante pourrait donc expliquer en partie la résistance au furosémide ; d'autres facteurs pourraient intervenir, et notamment la réabsorption excessive de NaCl en des sites tubulaires, proximaux et/ou distaux par rapport à l'anse de Henle.

[1. Kirchner KA, Voelker JR, Brater DC. *J Pharmacol Exp Ther* 1990 ; 252 : 1097-101.]