

Délétion site-spécifique de l'ADN mitochondrial sous le contrôle de deux gènes nucléaires

Le génome mitochondrial code pour un tout petit nombre de produits : quelques-unes des sous-unités protéiques des complexes qui assurent la phosphorylation oxydative, les ARN ribosomiques et les ARN de transfert de son propre système de traduction. C'est chez la levure de boulangerie que des mutations de l'ADN mitochondrial ont d'abord été décrites. Ainsi, les mutants *petite colonie* de la levure découverts dès 1949 par Boris Ephrussi ont perdu leur capacité respiratoire et ne peuvent survivre que par la fermentation [1]. Chez les organismes strictement aérobies, les altérations du génome mitochondrial se traduisent souvent par des phénomènes de dégénérescence prenant des aspects très différents selon les organismes. Par exemple, la sénescence et le phénotype des mutants *stopper* des champignons filamenteux se manifestent par un arrêt définitif ou par une succession d'arrêts temporaires de la croissance végétative [2] ; la stérilité mâle à hérédité maternelle des plantes supérieures résulte de la létalité touchant de manière spécifique la lignée cellulaire aboutissant aux grains de pollen [3] ; enfin, plusieurs maladies humaines qui affectent le plus souvent le système neuro-musculaire mais aussi les cellules sanguines se manifestent par des symptomatologies extrêmement variées (voir *m/s* n° 2, vol. 7, p. 172 et [4, 5]).

Chez le champignon *Podospora anserina*, on sait depuis longtemps que le phénomène de sénescence qui limite de manière inéluctable la croissance végétative de cet organisme est dû à des réarrangements de son génome mitochondrial [6]. Plus récemment, une collaboration entre nos laboratoires (M. P. et M.D.-C. : Institut de génétique et de microbiologie, université Paris-Sud, centre d'Orsay,

L. B. : Centre de génétique moléculaire du Cnrs, Gif-sur-Yvette) a permis de mettre en évidence, dans la même espèce, un autre processus dégénératif — appelé « mort prématurée » — qui s'exprime par un arrêt définitif de la croissance du mycélium quelques jours seulement après sa « naissance » : la germination de la spore [7, 8]. Les mycéliums exprimant la mort prématurée sont hétéroplasmiques ; ils contiennent deux types de chromosomes mitochondriaux : un chromosome complet de 94 kb minoritaire et un chromosome déficient, majoritaire, délété de plus d'un tiers de sa longueur. Nous avons déterminé la séquence nucléotidique des bornes de cette délétion et montré qu'elle est identique en taille et en position dans des cultures exprimant la mort prématurée obtenues de manière tout à fait indépendante. Une séquence répétée de quatre paires de bases est présente dans le chromosome sauvage aux bornes de cette délétion. Cette séquence est incluse dans une séquence plus longue imparfaitement répétée de 11 paires de bases avec deux mésappariements.

Le syndrome de mort prématurée est sous le contrôle de deux gènes nucléaires. L'un de ces gènes, pour le moment inconnu, appartient à l'haplotype du type sexuel moins, *mat-* (les haplotypes *mat+* et *mat-* contrôlent la capacité du champignon à participer au processus sexuel). L'autre gène, *ASI-4*, est un allèle mutant du gène *ASI* codant pour la protéine S12 de la petite sous-unité du ribosome cytoplasmique [9]. A l'origine, cette mutation a été criblée pour sa propriété antisuppresseur (augmentation de la fidélité de la traduction). Nous avons montré que chaque fois que ces deux gènes particuliers sont associés dans un même

noyau, il y a expression de la mort prématurée et présence du remaniement de l'ADN mitochondrial.

Par beaucoup d'aspects, la situation observée dans le syndrome de mort prématurée chez *Podospora* s'apparente à celles décrites dans les maladies associées à des délétions de l'ADN mitochondrial chez l'homme : état hétéroplasmique associant un chromosome mitochondrial intact et un chromosome délété, existence de séquences répétées aux bornes de la délétion [4, 5]. De plus, certaines myopathies sont clairement contrôlées par le noyau puisque leur transmission familiale se fait sur le mode autosomal dominant [10].

Ce travail ouvre deux types de perspectives : la compréhension des mécanismes moléculaires responsables de la délétion de l'ADN mitochondrial et la découverte des fonctions des gènes nucléaires impliqués dans ce phénomène.

En ce qui concerne les mécanismes de recombinaison responsables du remaniement de l'ADN mitochondrial, l'observation que l'une des bornes de la délétion coïncide exactement avec une jonction intron-exon est troublante. Elle suggère que l'épissage de l'intron et la genèse de la délétion empruntent des voies communes. Dans ce cas, la délétion ne serait pas le résultat immédiat d'une recombinaison ADN-ADN du chromosome mitochondrial mais ferait intervenir des molécules d'ARN, produits intermédiaires de la réaction d'épissage.

Les deux gènes dont l'association conduit systématiquement à la délétion et à la mort prématurée sont en cours de clonage. Le clonage du gène *ASI* est réalisé à l'aide d'oligonucléotides déduits de séquences peptidiques obtenues à partir de la protéine S12 purifiée. La comparaison de ces

séquences avec une banque de données a montré que la protéine ribosomique S12 de *Podospora* s'apparente à une protéine ribosomique bactérienne. Beaucoup plus inattendue est la similitude frappante entre S12 et une protéine humaine appelée Rig. En effet, l'ensemble des peptides analysés correspond à une séquence de 70 acides aminés dont 45 s'alignent parfaitement avec ceux de la protéine humaine [8]. Le messenger de la protéine Rig est fortement exprimé dans les insulinomes chez le rat, le hamster et l'homme [11]. Cette protéine s'accumule aussi pendant la phase S dans les noyaux d'hépatocytes en culture et de cellules de foie de rat en cours de régénération. Localisée dans le noyau, elle semble jouer un rôle important, direct ou indirect, dans la réplication de l'ADN [12]. La signification de sa ressemblance avec une protéine ribosomique cytoplasmique d'un eucaryote inférieur impliquée dans le phénomène de mort prématurée reste à élucider.

M. P.
M.D.-C.
L. B.

1. Ephrussi B, Hottinger H, Tavlitzki J. Action de l'acriflavine sur les levures : étude génétique du mutant « petite colonie ». *Ann Inst Pasteur* 1949 ; 76 : 419-40.
2. Dujon B, Belcour L. Mitochondrial DNA instabilities and rearrangements in yeasts and fungi. In : Berg DE, Howe MM, eds. *Mobile DNA*, Washington : ASM, 1989 : 861-78.
3. Levings CS III, Brown GG. Molecular biology of plant mitochondria. *Cell* 1989 ; 56 : 171-9.
4. Rötig A, Bonnefont JP, Colonna M, et al. Les remaniements du génome mitochondrial dans les déficits énergétiques de l'enfant. De nouvelles maladies de système. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 459-71.
5. Nelson I, Degail F, Marsac C, Ponsot G, Lestienne P. Des délétions de l'ADN mitochondrial dans le syndrome de Kearns-Sayre et autres myopathies avec ophtalmoplégie externe progressive. *médecine/sciences* 1989 ; 5 : 472-9.
6. Jamet-Vierny C, Begel O, Belcour L. Senescence in *Podospora anserina* : amplification of a mitochondrial DNA sequence. *Cell* 1980 ; 21 : 189-94.
7. Belcour L, Begel O, Picard M. A site-specific deletion in mitochondrial DNA of *Podospora* is under the control of nuclear genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 3579-83.
8. Dequard-Chablat M. Translation, oncogenesis and myopathies. *Trends Genet* 1991 (sous presse).

m/s n° 6, vol. 7, juin-juillet 91

9. Dequard-Chablat M, Coppin-Raynal E, Picard-Bennoun M, Madjar JJ. At least seven ribosomal proteins are involved in the control of translational accuracy in a eucaryotic organism. *J Mol Biol* 1986 ; 190 : 167-75.
10. Zeviani M, Bresolin N, Gellera C, et al. Nucleus-driven multiple large-scale deletions of the human mitochondrial genome : a new autosomal dominant disease. *Am J Hum Genet* 1990 ; 47 : 904-14.
11. Inoue C, Shiga K, Takazawa S, Kitagawa M, Yamamoto H, Okamoto H. Evolutionary conservation of the insulinoma gene *rig* and its possible function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 6659-62.
12. Inoue C, Igarashi K, Kitagawa M, et al. Expression of the insulinoma gene *rig* during liver regeneration and in primary cultured hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1988 ; 150 : 1302-8.

■■■ BRÈVE ■■■

■■■ L'amylose de type finlandais dérive d'un variant de la gelsoline.

L'amylose familiale de type finlandais est caractérisée par une neuropathie progressive touchant les paires crâniennes, une dystrophie cornéenne et une neuropathie sensitivo-motrice distale. La surcharge amyloïde peut également toucher le cœur et les reins. C'est à partir de prélèvements cardiaques et rénaux que C.P.J. Maury (Helsinki, Finlande) [1] a pu mieux préciser la composition de cette variété de substance amyloïde qui dérive de la gelsoline. Une seule substitution d'acide aminé a été mise en évidence, en position 187, l'asparagine remplaçant l'acide aspartique. Des anticorps dirigés contre un peptide synthétique de 12 acides aminés, correspondant au fragment 231-242 de la gelsoline humaine, se fixent de façon spécifique sur ce type de substance amyloïde. La formation de cette substance pourrait résulter d'une protéolyse anormale de la gelsoline et de la transformation des fragments non dégradés en fibrilles amyloïdes. Le gène de la gelsoline est localisé sur le chromosome 9. La gelsoline interagit avec l'actine, peut-être en facilitant la clairance des filaments d'actine libérés dans la circulation en cas de lésion tissulaire ou au cours du vieillissement.

[1. Maury CPJ. *J Clin Invest* 1991 ; 87 : 1195-9.]