

GLOSSAIRE

Paralogue

Deux gènes sont dits « paralogues » s'ils sont issus d'un événement de duplication au sein du génome d'un même individu.

Orthologue

Gènes d'espèces différentes dont les séquences sont homologues, dérivent d'un même gène ancestral et ont divergé à la suite d'un événement de spéciation. Ils peuvent ou non avoir la même fonction

Cosmides

Fragments d'ADN insérés dans des plasmides et ayant des tailles comparables (de 30 à 50 kpb). Ce sont des vecteurs qui sont utilisés pour la construction de banques d'ADN génomique.

Régions parasyténiques

Terme qui fait référence à des régions génomiques dont la divergence est due à des événements de duplication.

Cladogramme

Arbre traduisant les relations de parenté entre des êtres vivants, établi à partir de la méthode cladistique (basée sur la notion d'homologie). Cet arbre exprime ainsi une hypothèse sur les parentés phylogénétiques entre plusieurs taxons (ensemble des organismes reconnus et définis dans chacune des catégories de la classification biologique hiérarchisée).

NOUVELLE

Maladies génétiques et lamines de type A: apport de la biologie structurale

Sophie Zinn-Justin

Laboratoire de structure des protéines, DIEP/DSV, bâtiment 152, CEA Saclay 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.
szinn@cea.fr

► L'enveloppe nucléaire sépare le nucléoplasme du cytoplasme et organise la structure du noyau dans toutes les cellules eucaryotes. Elle est formée de deux membranes concentriques percées de place en place par des pores nucléaires, qui permettent à certaines molécules d'être activement transportées depuis et vers le cytoplasme. La membrane nucléaire externe est en continuité physique avec le réticulum endoplasmique dont elle partage les fonctions. La membrane nucléaire interne est, quant à elle, associée à un réseau de protéines, la lamina nucléaire, qui est interposé entre la membrane et la chromatine [1]. Cette lamina nucléaire est essentiellement composée des lamines, protéines formant des filaments intermédiaires, et elle interagit avec un certain nombre de protéines ancrées à la membrane nucléaire interne (émerine, LAP2, LBR).

La lamina nucléaire fait aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches. Quels sont ses partenaires dans le noyau? Quels rôles jouent l'ensemble de ces protéines dans la résistance mécanique de l'enveloppe nucléaire, l'organisation du noyau et la

régulation du cycle cellulaire? Le rôle de la lamina varie-t-il selon le type cellulaire? L'intérêt des chercheurs a été aiguë par la découverte récente d'un lien entre des mutations de certaines protéines de l'enveloppe nucléaire et des maladies héréditaires. En particulier, il a été montré que la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss (EDMD) est due à des mutations soit du gène codant pour l'émerine [2], soit du gène codant pour des lamines de type A (lamines A et C) [3]. Le gène codant pour des lamines de type A est également muté dans cinq autres pathologies: (1) deux pathologies de type musculaire, la dystrophie musculaire des ceintures de type IB et la cardiomyopathie dilatée [3]; (2) une pathologie du tissu adipeux, la lipodystrophie de type Dunningan [3]; (3) une pathologie affectant le développement osseux, la dysplasie mandibuloacrale [4]; et (4) une pathologie du nerf périphérique, la maladie de Charcot Marie Tooth 2 [5].

Afin de mieux comprendre l'impact des mutations qui provoquent des pathologies héréditaires sur la structure et la fonction des protéines de l'enveloppe nucléaire, notre

groupe s'intéresse à la caractérisation structurale de ces protéines par les approches suivantes: (1) détermination de la structure en solution des protéines dans leurs formes natives et mutées; (2) évaluation de l'impact des mutations sur la stabilité de ces protéines; (3) cartographie des surfaces d'interaction des protéines avec leurs partenaires biologiques; (4) positionnement des mutations par rapport à ces surfaces fonctionnellement importantes; et (5) identification de la structure tridimensionnelle des complexes protéiques auxquels participent des protéines de l'enveloppe nucléaire. Ce travail est mené en étroite collaboration avec des généticiens impliqués dans l'identification des mutations provoquant les différentes pathologies (équipe de Gisèle Bonne, Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris) et des biologistes cellulaires qui observent l'impact de ces mutations sur l'organisation et le fonctionnement des noyaux des cellules (équipes de Jean-Claude Courvalin, Institut Jacques Monod, Paris, France, et d'Howard J. Worman, Columbia University, New York, USA) [6-8]. Récemment, nous avons publié la structure



tridimensionnelle en solution de la région C-terminale des lamines de type A [9]. La détermination de cette structure a été réalisée à partir de données expérimentales (valeurs des distances inter-proton inférieures à 6 Å) obtenues par résonance magnétique nucléaire du proton, de l'azote et du carbone. Des calculs de modélisation moléculaire ont permis d'identifier une famille de structures tridimensionnelles, toutes très proches les unes des autres, et compatibles avec l'ensemble des données expérimentales. Ces structures, qui reflètent la structure de la protéine en solution, présentent un repliement de type immunoglobuline entre les résidus 430 et 545. La majorité des mutations liées à la dystrophie d'Emery-Dreifuss et à d'autres pathologies de type musculaire touchent des résidus du cœur hydrophobe du domaine de type immunoglobuline (Figure 1A). Ces mutations déstabilisent probablement la structure tridimensionnelle de ce domaine, induisant une désorganisation des filaments de lamine et donc une perte globale de la fonc-

tion protéique. Cette déstabilisation a été vérifiée expérimentalement par dichroïsme circulaire sur le mutant Arg453Trp, le plus fréquemment retrouvé chez les patients atteints de laminopathies. En revanche, la majorité des mutations responsables de la lipodystrophie de type Dunnigan, une pathologie des tissus adipeux, est située dans une région du domaine de type immunoglobuline accessible aux solvants et chargée positivement (Figure 1B). Ces mutations ne déstabilisent pas la structure du domaine, mais affectent probablement l'interaction de la lamine avec l'un de ses partenaires biologiques.

Il reste à présent à identifier les surfaces d'interaction de la région C-terminale de la lamine A/C avec ses partenaires biologiques et à déterminer la position relative des mutations responsables des laminopathies par rapport à ces surfaces d'interaction. Il est aujourd'hui proposé que les lamines jouent un rôle dans la réplication de l'ADN, l'organisation de la chromatine, l'arrangement spatial des pores nucléaires et des

protéines ancrées dans la membrane nucléaire, et la croissance du noyau [10, 11]. Dans ce contexte, il a été montré que les lamines interagissent avec l'ADN, certaines protéines de la chromatine, comme des facteurs de transcription, et de la membrane interne, comme l'émerine. Il reste à comprendre comment différentes mutations au sein de la même molécule peuvent provoquer des pathologies spécifiques soit du muscle, soit du tissu adipeux par exemple [9]. On sait que l'expression de certains gènes est contrôlée par l'attachement de la chromatine à des sites particuliers sur la lamina nucléaire [10]. Les conséquences particulières de certaines mutations des lamines de type A pourrait s'expliquer par la perte de ces sites d'attachement sur la lamina nucléaire [11]. La recherche de partenaires de la lamine exprimés seulement dans certains tissus pourrait également permettre de mieux comprendre les fonctions perturbées dans les différentes laminopathies. ♦

Genetic disorders and type A lamins: insights from structural biology

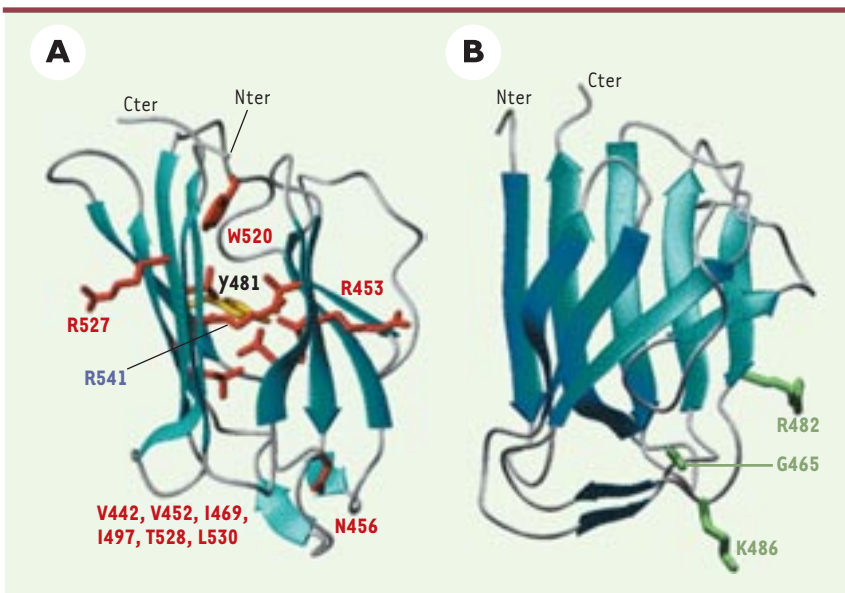


Figure 1. Localisation des mutations responsables de maladies génétiques au sein du domaine de type immunoglobuline des lamines de type A. A. Maladies des muscles cardiaques et squelettiques. **B.** Maladies du tissu adipeux. Les mutations associées à la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss sont en rouge, à la dystrophie musculaire des ceintures de type 1B en jaune (Y481), et à la lipodystrophie de type Dunnigan en vert. Le résidu arginine 541 est muté dans deux pathologies: la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss (Arg541His) et la cardiomyopathie dilatée (Arg541Cys).

RÉFÉRENCES

1. Worman HJ, Courvalin JC. The inner nuclear membrane. *J Membr Biol* 2000; 177: 1-11.
2. Bione S, Maestrini E, Rivella S, et al. Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 1994; 8: 323-7.
3. Bonne G, Muchir A, Helbling-Leclerc A, Massart C, Schwartz K. Clinical and genetical heterogeneity of laminopathies. *Acta Myologica* 2001; 20: 138-44.
4. Novelli G, Muchir A, Sanguolo F, et al. Mandibuloacral Dysplasia Is Caused by a Mutation in LMNA- Encoding Lamin A/C. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 426-31.
5. De Sandre-Giovannoli A, Chaouch M, Kozlov S, et al. Homozygous defects in LMNA, encoding lamin A/C

nuclear-enveloppe proteins, cause autosomal recessive axonal neuropathy in human (Charcot-Marie-Tooth disorder type 2) and mouse. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 726-36.

6. Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, et al. Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nat Genet* 1999; 21: 285-8.

7. Vigouroux C, Auclair M, Dubosclard E, et al. Nuclear envelope disorganization in fibroblasts from lipodystrophic patients with heterozygous R482Q/W mutations in the lamin A/C gene. *J Cell Sci* 2001; 114: 4459-68.

8. Östlund C, Bonne G, Schwartz K, Worman HJ. Properties of lamin A mutants found in Emery-

Dreifuss muscular dystrophy, cardiomyopathy and Dunnigan-type partial lipodystrophy. *J Cell Sci* 2001; 114: 14435-45.

9. Krimm I, Ostlund C, Gilquin B, et al. The Ig-like structure of the C-terminal domain of lamin a/c, mutated in muscular dystrophies cardiomyopathy, and partial lipodystrophy. *Structure (Camb)* 2002; 10: 811-23.

10. Stuurman N, Heins S, Aebi U. Nuclear lamins: their structure, assembly, and interactions. *J Struct Biol* 1998; 122: 42-66.

11. Cohen M, Lee KK, Wilson KL, Gruenbaum Y. Transcriptional repression, apoptosis, human disease and the functional evolution of the nuclear lamina. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 41-7.

NOUVELLE

Vers la rythmologie moléculaire et informatique

Denis Escande

> La cause la plus fréquente de décès dans la population adulte des pays industrialisés demeure la mort subite liée à la maladie coronarienne. Son incidence est de l'ordre de 0,36-1,28 cas annuels pour 1000 habitants [1]. Dans 75-80 % des cas de mort subite d'origine cardiovasculaire, le rythme cardiaque enregistré est la fibrillation ventriculaire, la forme la plus grave des troubles du rythme. Parmi les troubles du rythme chroniques ne mettant pas en jeu le pronostic vital immédiat, la fibrillation auriculaire est de loin la plus fréquente avec une prévalence de 1/1000 dans la population adulte, en augmentation constante du fait du vieillissement de la population dans les pays développés.

La rythmologie a pour champs d'action les anomalies du rythme cardiaque: la rythmologie clinique assure leur diagnostic et leur traitement; la rythmologie expérimentale a pour ambition de comprendre leur genèse et d'identifier de nouvelles voies thérapeutiques. La rythmologie clinique s'appuie sur l'électrocardiographie de surface et endocavitaires. La rythmologie expérimentale dispose d'un continuum de techniques électrophysiologiques depuis l'étage moléculaire (*patch-clamp*), cellulaire (*patch-clamp* et enregistrement des

potentiels d'action) jusqu'à l'étage intégré (électrocardiographie). L'ECG (électrocardiogramme) représente l'intégration spatio-temporelle la plus achevée et la plus complexe du fonctionnement répétitif de protéines-canal dont l'activité unitaire est mesurable et dont la nature moléculaire est de mieux en mieux connue.

Rythmologie et génome

Comme les autres disciplines, la rythmologie a largement bénéficié de la révolution du génome. Les gènes codant pour la plupart des canaux ioniques ont été identifiés par des approches de génétique inverse, ou par analogie de structure de leurs produits. Ces découvertes ont démontré la complexité du transcriptome ionique. Pas moins de soixante-quinze gènes différents codant pour des canaux potassiques ont été recensés dans le génome humain. En parallèle avec le décryptage du génome et l'identification de la localisation chromosomique de nombreux gènes, des maladies génétiques responsables de troubles du rythme ou de la conduction (canalopathies) ont été individualisées et leur gène morbide identifié [2]. Il en est ainsi: (1) du

syndrome du QT long [3] dont on connaît au moins 5 formes génétiques (LQT1-5) et qui est lié à des mutations de gènes codant pour des canaux potassiques (LQT1 et LQT2), le canal sodique cardiaque (LQT3), ou des régulateurs de canaux (LQT4 et LQT5); (2) du syndrome de Brugada [4] responsable de fibrillations ventriculaires idiopathiques et lié à des mutations du gène *SCN5A* codant pour le canal sodique cardiaque; (3) des tachycardies ventriculaires catécholaminergiques [3] liées à des mutations du gène codant pour le canal calcique du réticulum sarcoplasmique; (4) de la forme génétique de la maladie de Lenègre [5] liée à une mutation de *SCN5A*. On peut remarquer que des mutations dans un même gène (*SCN5A*) peuvent donner lieu à des phénotypes rythmologiques très différents. La perte de fonction de *SCN5A* conduit à des troubles de la conduction de l'influx (ce qui n'est pas étonnant étant donné le rôle central du courant sodique dans la conduction), mais aussi à de graves troubles du rythme ventriculaire. On peut rapprocher de cette dernière situation les effets pro-arythmiques paradoxaux des médicaments anti-arythmiques de classe I dont le mode d'action commun est une inhibition du courant sodique. Par ailleurs, il est remarquable de noter que les différents gènes impliqués dans le syndrome du QT long congénital ne produisent pas exactement les mêmes anomalies électrocardiographiques et qu'un

Inserm U.533,
Faculté de Médecine,
1, rue Gaston Veil,
44005 Nantes, France.
denis_escande@nantes.inserm.fr