

L'inactivation des gènes des récepteurs olfactifs peut-elle rendre compte de la diminution des capacités olfactives des primates ?

Le système olfactif a la capacité remarquable de pouvoir établir une discrimination parmi un vaste spectre de molécules odorantes. En 1991, une famille de gènes codant pour des récepteurs olfactifs (OR) à 7 domaines transmembranaires (7TM) et couplés aux protéines G (RCPG) a été identifiée chez le rat [1]. Chez les mammifères, la famille des OR pourrait inclure jusqu'à un millier de gènes (*m/s* 1991, n° 6, p. 616).

La classification selon le pourcentage d'identité protéique (ASI) en familles (>40%) et en sous-familles (>60%) a permis d'identifier 8 familles de récepteurs olfactifs, quatre contenant des séquences de mammifères et quatre autres des séquences de poissons. Au cours de l'évolution, les gènes OR ont été mis en place dans le génome par duplication de gènes en tandem conduisant à la génération d'un grand nombre de régions et gènes paralogues, et permettant ainsi d'accroître la diversité des récepteurs, comme cela a d'abord été montré chez la souris [2] puis chez l'homme [3, 4].

Un grand nombre de gènes OR chez l'homme sont des pseudogènes

L'homme et les primates en général sont considérés comme microsmates, c'est-à-dire que leur capacité olfactive est réduite par rapport à celle des chiens ou des rongeurs. Une partie de cette différence pourrait s'expliquer par des différences au niveau des structures anatomiques impliquées dans la perception olfactive [5]. Des variations dans la taille et la diversité de la famille des gènes OR pourraient également expliquer les différences de perception observées

entre les différentes espèces. Nous avons récemment montré par FISH que les gènes OR chez l'homme étaient répartis dans plus de 25 sites chromosomiques (*m/s* 1998, n° 4, p. 491; n° 5, p. 616) [4]. En utilisant des chromosomes individuels triés par cytométrie en flux, nous avons déterminé que plus de 70% d'entre eux sont des pseudogènes ayant accumulé des mutations délétères telles que des changements de phase de lecture et/ou des codons stop [4]. Cette observation nous a conduits à formuler l'hypothèse selon laquelle la réduction des capacités olfactives observée chez les primates pouvait être due à la réduction du répertoire fonctionnel des gènes OR.

Le gène 912-93 définit une nouvelle famille de récepteurs olfactifs

Les gènes OR sont dépourvus d'intron dans leur partie codante (~1 000 pb) correspondant aux 7 domaines TM1 à TM7. Au cours de notre étude [6], nous avons caractérisé par PCR (entre TM2 et TM7) une séquence appelée 912-93, très divergente de tous les autres gènes caractérisés (~55% d'identité nucléotidique, ou NSI, avec le gène le plus proche) [4]. Au niveau protéique, cette séquence a permis de définir une nouvelle famille OR (appelée famille 9). Une recherche dans les banques de données montre que les quelques récepteurs appartenant à cette famille ont été décrits chez le chien (CfOLF1 et 2, ~50% ASI), chez l'homme (HsOLF1), et chez le poulet (COR4, 55% ASI), les cinq gènes codant pour ces récepteurs étant répartis dans quatre sous-familles OR. Nous avons localisé par PCR ce nouveau gène sur le chromo-

some 11 en utilisant un ensemble d'hybrides somatiques monochromosomiques (chacune des 24 lignées cellulaires ne comportant comme matériel humain qu'un seul chromosome).

Le gène 912-93 est un pseudogène ne comportant qu'une mutation ponctuelle

Nous avons ensuite cloné ce gène en criblant une banque de cosmides spécifique du chromosome 11 [6]. La séquence du gène 912-93 une fois établie, nous avons mis en évidence une mutation non-sens (codon stop) dans la portion correspondant à l'extrémité extracellulaire amino-terminale en position 11. Il s'agit d'une transversion G → T transformant un codon GAA (Glu) en un codon stop TAA; dans d'autres récepteurs le résidu Glu est le plus fréquemment trouvé à cette position (*figure 1A*). Nous avons alors établi la séquence de ce gène autour de la mutation chez 7 individus caucasiens non apparentés, 3 Africains appartenant à différentes ethnies et 2 Asiatiques. Tous les individus testés présentent la mutation, indiquant ainsi que celle-ci est apparue avant l'émergence de ces populations tout en étant relativement récente puisque le gène inactivé, en absence de pression sélective, n'a pas accumulé d'autres mutations.

Le gène 912-93 ne possède pas la mutation chez les autres primates

Le gène orthologue du gène humain a ensuite été cloné par PCR chez les autres hominidés (chimpanzé (PPA), gorille (GGO), orang-outan (PPY) et gibbon (HLA), pour étudier son évolution et l'apparition de la mutation

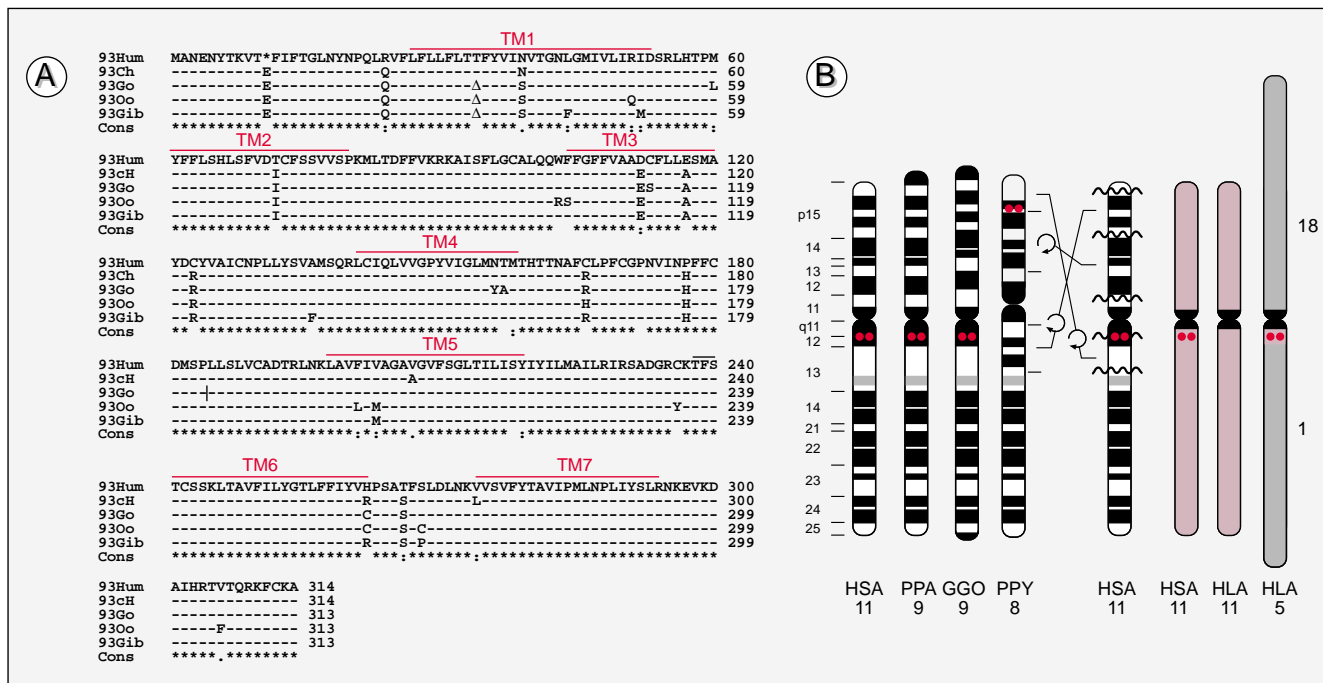


Figure 1. **Prédiction de la séquence protéique du récepteur OR912-93. A. Chez les hominidés.** Les identités d'acides aminés sont indiquées par des tirets (-) et les délétions par un delta (Δ). La mutation non-sens observée chez l'homme en position 11 est indiquée par une astérisque (*) et le changement de cadre de lecture chez le gorille par une barre verticale. Les domaines transmembranaires TM1 à TM 7 sont indiqués. Hum, homme, Ch, chimpanzé, Go, gorille, Oo, orang-outan, Gib, gibbon, Cons, positions conservées. **B. Localisation cytogénétique du gène 912-93.** Chez l'homme (HSA), le gène est situé dans un site unique en 11q11-12 et dans des régions synténiques chez les autres espèces. Chez l'orang-outan (PPY) le chromosome 8 est le résultat de 3 réarrangements de HSA11 (indiqués par des flèches). Chez le gibbon (HLA), le gène est localisé près du centromère de HLA5. Le coloriage par une sonde HSA11 (bistre) démontre que cette région contient du matériel correspondant à HSA11. GGO, gorille, PPA, chimpanzé.

non-sens [6]. Le gène *912-93* est très conservé chez toutes ces espèces (96-98 % NSI, 94-97 % ASI) et ne comporte pas la mutation mais bien le codon GAA (Glu). Cependant, le gène du gorille a acquis une autre mutation (délétion d'une base) conduisant à un changement de cadre de lecture (figure 1A). A l'exception du gorille, ce gène est potentiellement fonctionnel chez les autres hominidés testés. La mutation non-sens est donc apparue après la divergence de la branche humaine de celles du gorille et du chimpanzé, il y a 4 à 5 millions d'années.

Le gène *912-93* est localisé dans des régions synténiques chez les hominidés

Nous avons établi par FISH la localisation cytogénétique de ce gène chez les hominidés (figure 1B). Dans tous les cas il est situé dans un seul site, chromo-

somique et ne présente aucune hybridation croisée avec d'autres gènes *OR* [6]. Des hybridations de type Southern confirment que ce gène a une séquence unique. Chez l'homme (HSA), *912-93* est localisé en 11q11-12, et dans des sites synténiques de 11q11-12 chez les autres espèces (PPA9 chez le chimpanzé, GGO9 chez le gorille et PPY8 chez l'orang-outan). Combinée avec des expériences de coloriage du chromosome 11, cette approche a permis également de décrire près du centromère du chromosome 5 du gibbon (HLA5) une région orthologue de HSA 11.

Conclusions

Nous avons montré qu'une grande partie des gènes *OR* chez l'homme était composée de pseudogènes. Nous montrons ici que ce pool est toujours en augmentation, probablement pour s'acheminer vers un répertoire mini-

mal de gènes *OR* qui pourrait refléter la diminution de la fonction olfactive de l'homme par rapport à celle des chiens ou des rongeurs. En effet on peut faire l'hypothèse que l'olfaction n'étant plus un sens primordial chez l'homme pour sa survie, une diminution de la pression de sélection a conduit progressivement à l'inactivation par mutations d'une grande partie de son répertoire.

Le gène *912-93* est un excellent marqueur pour suivre l'évolution des gènes *OR* puisque sa séquence est unique et n'hybride pas d'autres séquences *OR* aussi bien par les techniques FISH que Southern. De plus la nature unique du récepteur correspondant indique une interaction avec une classe de ligand odorant bien spécifique et pourrait par conséquent constituer un bon modèle pour des études d'expression [7].

D.G.
S.R.

1. Buck L, Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 1991; 65: 175-87.
 2. Sullivan SL, Adamson MC, Ressler KJ, Kozak CA, Buck LB. The chromosomal distribution of mouse odorant receptor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 8848.
 3. Trask B, Friedman C, Martin-Gallardo A, et al. Members of the olfactory receptor gene family

are contained in large blocks of DNA duplicated polymorphically near the ends of human chromosomes. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 13-26.
 4. Rouquier S, Taviaux S, Trask B, Brand-Arpon V, van den Engh G, Demaille J, Giorgi D. Distribution of olfactory receptor genes in the human genome. *Nat Genet* 1998; 18: 1-10.
 5. Issel-Tarver L, Rine J. The evolution of mammalian olfactory receptor genes. *Genetics* 1997; 145: 185-95.

6. Rouquier S, Friedman C, Delettre C, van den Engh G, Blancher A, Crouau-Roy B, Trask B, Giorgi D. A gene recently inactivated in human defines a new olfactory receptor family in mammals. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1337-45.
 7. Zhao H, Ivic L, Otaki J, Hashimoto M, Mikoshiba K, Firestein S. Functional expression of a mammalian odorant receptor. *Science* 1998; 279: 237-42.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **L'origine de l'homme se lit dans le DAZ.** Le gène *DAZ* (*deleted in azoospermia*) porté par le chromosome Y et son analogue autosomique *DAZLI* sont des gènes candidats pour les cas d'infertilité masculine. En particulier, *DAZ* est délété du chromosome Y chez 5 % à 20 % des hommes infertiles [1]. Cependant, la taille des délétions suggère que d'autres gènes sont supprimés. D'autre part, aucune altération du gène *DAZ* seul n'a été mise en évidence. La copie récente du gène autosomique *DAZLI* sur le chromosome Y a permis à une collaboration entre Houston (TX, USA), Myriad Genetics (Salt Lake City, UT, USA) et l'Institut Pasteur de Paris (Inserm U.276) [2] de comparer l'évolution des séquences d'ADN portées par le chromosome Y (*DAZ*) par rapport aux séquences portées par les autosomes (*DAZLI*). Dans un premier temps, les auteurs montrent qu'il y a au moins deux séquences de *DAZ* présentes sur chaque chromosome Y des singes

de l'ancien monde, du chimpanzé et de l'homme. Cependant, ces copies différentes de *DAZ* proviennent d'événements d'amplification indépendants dans chaque lignée de primates. La comparaison de la séquence des introns du gène *DAZLI* et des gènes *DAZ* a permis de déterminer un taux de mutation quatre fois plus important chez le mâle. Cette différence s'explique en partie par les erreurs de réplication au cours des mitoses précédant la production des spermatozoïdes. Ces résultats indiquent une évolution « conduite par le mâle » (*male driven evolution*) qui serait « plus responsable » que la femelle de la variabilité génétique de l'espèce. En parallèle, les auteurs ont étudié les séquences codantes des gènes *DAZLI* et *DAZ*. Cette étude a montré que les exons des gènes *DAZ* humains évoluaient à peu près à la même vitesse que les introns, impliquant une quasi-absence de pression de sélection. Ainsi, les auteurs suggèrent que les gènes *DAZ* pré-

sents sur le chromosome Y ne jouent qu'un rôle très limité dans la spermatogenèse et donc dans l'infertilité masculine. Enfin, la datation de la duplication des deux copies de *DAZ* sur le chromosome Y humain a montré que cet événement moléculaire était assez récent (55 000-200 000 ans). Dans le même temps, les auteurs ont montré que la très grande majorité des hommes dans le monde possédaient les deux copies de *DAZ*. Ainsi, ces résultats impliquent que la très grande majorité des hommes ont un ancêtre commun récent. Ce qui est en accord avec les données génétiques qui ont suggéré une origine africaine récente de toutes les populations humaines, il y a 100-200 000 ans.

[1. Bourgeron T, et al. *Med Sci* 1996; 12 (suppl n°11): I-IX.]

[2. Alunick AI, et al. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1371-7.]

CONFÉRENCES JACQUES MONOD 1998

PLASTICITÉ SYNAPTIQUE, DYNAMIQUE DES ASSEMBLÉES NEURONALES ET FLEXIBILITÉ DES REPRÉSENTATIONS COGNITIVES

AUSSOIS (France) - 30 novembre - 4 décembre 1998

Président :

FREGNAC Yves

CNRS, Institut Alfred-Fessard, Avenue de la Terrasse, F-91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France.

Phone - Téléphone : + 33 1 69 82 34 15 - Fax - Télécopie : + 33 1 69 82 34 27. E-mail - Courrier électronique : fregnac@iaf.cnrs-gif.fr

Conférenciers :

Bachevalier J., Bear M., Berthoz A., Bliss T., Changeux J.-P., Collingridge G., Crepel F., Dehaene S., De Schonen S., Doupe A., Edeline J.-M., Fox K., Frackowiak R., Frégnac Y., Gervais R., Gilbert C., Kew J., Konnerth A., Laroche S., Le Masson G., Markram H., Masson C., O'Keefe J., Polk T., Ramachandran V., Recanzone G., Rolls E., Sagi D., Salin P., Savage-Rumbaugh E.-S., Schultz W., Tanaka K., Vaadia E., Wilson M.