

## Pourquoi la protéine bande 3 est indispensable à la survie des souris

L'échangeur anionique ou protéine bande 3 est la plus abondante des protéines de la membrane du globule rouge. Présent à raison de 1 200 000 copies par cellule, c'est une protéine intégrale qui fait 14 passages transmembranaires; cet échangeur permet d'équilibrer au cours du cycle respiratoire les concentrations de chlorure et de bicarbonate de part et d'autre de la membrane plasmique et de multiplier par 5 la capacité de transport des bicarbonates. Ceux-ci constituent, rappelons-le, le principal système tampon des liquides biologiques (*m/s* 1998, n° 8-9, p. 979). La nature a donné à la bande 3 une deuxième fonction, celle d'ancrer le squelette membranaire, constitué d'un réseau d'actine et de spectrine, à la membrane plasmique. Le nombre très important des points d'attache permet les déformations extrêmes du globule rouge sans perte de membrane. La survie sans bande 3 paraissait inenvisageable... jusqu'à ce que soit décrite une famille de bovins japonais dont les globules rouges étaient totalement dépourvus de bande 3 [1]. Les animaux présentaient à la naissance une sphérocytose très importante et une anémie hémolytique majeure. La plupart survivaient cependant à la période néonatale mais leur croissance était retardée ; on notait une anémie modérée avec une faible hémolyse *in vivo*, une discrète acidose chronique. L'analyse de l'ADNc codant pour la bande 3 révélait une mutation non-sens au codon 646 (la protéine est composée de plus de 900 acides aminés). On n'a pas pu mettre en évidence de protéine tronquée: il est vraisemblable qu'elle ne s'insérait pas dans la membrane et était dégradée. La bande 3 sert de point d'ancrage à de nombreuses protéines de la membrane érythrocytaire et, comme attendu, la plupart des pro-

téines du squelette étaient en quantité très réduite. Le veau puis la vache ne sont pas des animaux d'expérience bien commodes, on fabriqua donc des souris au gène de la bande 3 interrompu par recombinaison homologue [2, 3]. Il fut confirmé que l'absence de protéine bande 3 n'est pas létale mais on nota que 85 % des souriceaux mouraient au cours des 15 premiers jours. On apprend aujourd'hui qu'ils meurent de thromboses extensives touchant tous les organes majeurs; des thrombus sont trouvés dans les grosses veines, mais aussi dans des petites artères du foie, du cœur, de la rate, des

intestins, des reins... [4]. Le caractère ubiquitaire de ces thromboses et infarctus suggère un trouble majeur de la coagulation. Un état d'hypercoagulabilité naît de l'exposition à la surface externe de la membrane érythrocytaire de phosphatidylsérine, un phospholipide normalement cantonné au feuillet interne de la membrane, bien connu pour activer le complexe prothrombinase (*figure 1*). L'asymétrie phospholipidique (phospholipides à choline sur le feuillet externe, aminophospholipides sur le feuillet interne) est le résultat d'un équilibre dynamique, les phospholipides étant échan-

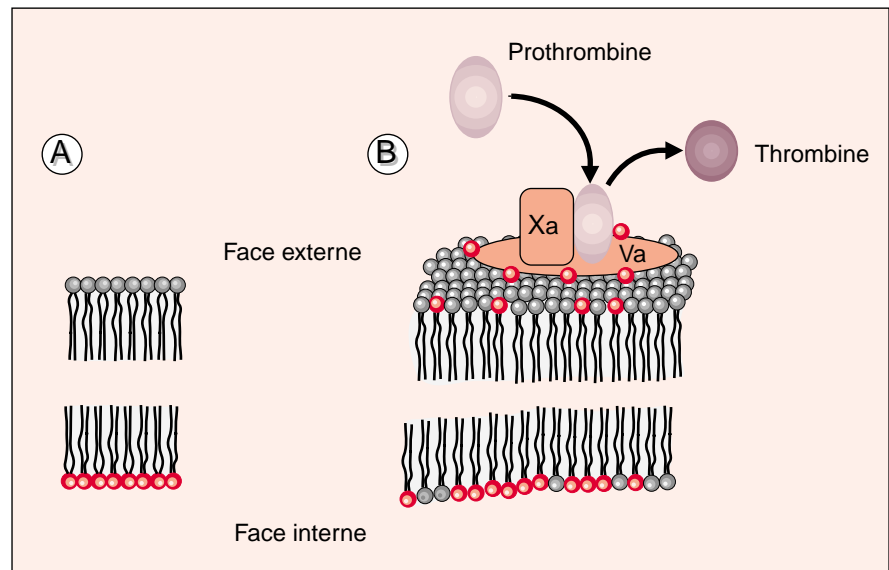


Figure 1. **Surface procoagulante à la face externe de l'érythrocyte bande3<sup>-/-</sup>.** A. Asymétrie normale des phospholipides : les phospholipides à choline (phosphatidylcholine et sphingomyéline, têtes grises) sont situés dans le feuillet membranaire externe, les aminophospholipides (phosphatidylsérine et phosphatidyléthanolamine, têtes rouges) dans le feuillet interne. B. Dans les érythrocytes des souris dont le gène codant pour la protéine bande 3 a été invalidé l'asymétrie des phospholipides n'est plus assurée, fournissant à la face externe de la membrane une surface procoagulante fixant le complexe de la prothrombinase. Xa : facteur X activé ; Va : facteur V activé.

gés en permanence entre les deux feuillettes par des processus actifs. Ces processus semblent altérés dans les globules rouges dépourvus de protéine bande 3, ce que les auteurs attribuent à un rôle de *flippase* de la bande 3. Cette situation est fréquemment rencontrée dans les érythropathies; elle a été décrite d'abord dans la drépanocytose : les érythrocytes en faucilles irréversibles ont de la phosphatidylsérine sur le feuillet externe de leur membrane, présentant une surface hypercoagulante responsable en partie des crises vaso-occlusives [5]. Elle existe aussi dans les thalassémies, certaines sphérocytoses dues à un défaut de spectrine... La perte d'asymétrie phospholipidique des membranes des souris dépourvues de bande 3 a sans doute une origine complexe à rechercher en partie dans les interactions entre les protéines membranaires intégrales et les phospholipides qui sont modulées par la rotation et les changements de conformation des protéines lors des échanges ioniques. On conçoit que la protéine bande 3 qui est en énorme concentration dans la membrane et dont la vitesse de rotation est extrêmement élevée puisse jouer un rôle majeur dans ces processus.

#### E.B.

1. Inaba M, Yawata A, Koshino I, *et al.* Defective anion transport and marked spherocytosis with membrane instability caused by hereditary total deficiency of red cell band 3 in cattle due to a nonsense mutation. *J Clin Invest* 1996; 97: 1804-17.
2. Peters LL, Shivdasani RA, Liu SC, *et al.* Anion exchanger 1 (band 3) is required to prevent erythrocyte membrane surface loss but not to form the membrane skeleton. *Cell* 1996; 86: 917-27.
3. Southgate CD, Chishti AH, Mitchell B, Yi SJ, Palek J. Targeted disruption of the murine erythrocyte band 3 gene results in spherocytosis and severe haemolytic anaemia despite a normal membrane skeleton. *Nat Genet* 1996; 14: 227-30.
4. Hassoun, H, Wang Y, Vassiladis J, *et al.* Targeted inactivation of murine band 3 (AE1) gene produces a hypercoagulable state causing widespread thrombosis *in vivo*. *Blood* 1998; 92: 1785-92.
5. Zwaal RFA, Schroit AJ. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood* 1997; 89: 1121-32.

## Cent cinquantième de la SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE

Journée Claude Bernard  
**20 novembre 1998**

Grand amphithéâtre du Collège de France  
11, place Marcelin-Berthelot – 75005 Paris

*La Biologie, l'Homme et l'Éthique à l'aube du XXI<sup>e</sup> siècle*

- 8 h 30** Accueil des participants – Introduction par **Jacques PICARD**,  
*Président de la Société de Biologie*
- 9 h 00** **François JACOB**, *Prix Nobel, Membre de l'Institut*  
Génétique et politique
- 9 h 40** **Roger NORDMANN**, *Membre de l'Académie Nationale de Médecine*  
150 ans de la Société de Biologie
- 10 h 15** **Axel KAHN**, *Membre de l'Institut*  
De la fonction glycogénique du foie à la régulation des gènes par le glucose
- 11 h 00** **Bernard JEANRENAUD**, *Professeur à l'Université de Genève*  
De Claude Bernard aux relations entre l'hypothalamus et la périphérie et à leurs altérations dans l'obésité
- 11 h 40** **Charles LEBLOND**, *Professeur à l'Université McGill, Montréal*  
L'équilibre entre la synthèse et la lyse
- 12 h 30** **LUNCH**
- 14 h 00** **Christian DE DUVE**, *Prix Nobel, Membre de l'Académie Royale de Médecine*  
Réflexion sur l'origine et l'évolution de la vie
- 14 h 30** **Jacques DUMONT**, *Membre de l'Académie Royale de Médecine, Professeur à l'Université Libre de Bruxelles*  
Transduction des signaux et pathologie thyroïdienne : l'environnement et la génétique
- 15 h 10** **Jacques RUFFIÉ**, *Membre de l'Institut*  
Les défis de la science au début du troisième millénaire
- 15 h 50** **Nicole LE DOUARIN**, *Membre de l'Institut*  
Problèmes éthiques liés aux progrès de la biologie du développement
- 16 h 30** **Georges DAVID**, *Membre de l'Académie Nationale de Médecine*  
Les nouvelles procréations à l'origine d'une nouvelle biologie
- 17 h 10** **Jean-Pierre CHANGEUX**, *Membre de l'Institut, Président du Comité National d'Éthique*  
Réflexions d'un neurobiologiste sur les fondements de l'éthique : de l'ontologie à la déontologie
- 17 h 45** Conclusion par **Jacques POLONOVSKI**, *Membre de l'Académie Nationale de Médecine, Secrétaire général de la Société de Biologie*

**Une séance de communications aura lieu le 19 novembre 1998  
de 14 h 00 à 18 h 00 avec la participation de :**

Harold KALANT (Toronto), Christian DOUTREMÉPUICH (Bordeaux), B.A. Denian (Pékin),  
CHEN Zhu (Shanghai) Susan HOLLÁN (Budapest), Gustav BORN (Londres),  
Hannes STÄHELIN (Bâle), Francis KARST (Poitiers)

Renseignements et inscription pour le lunch avant le **15/10/98** auprès  
du Secrétariat de la Société de Biologie,  
3, rue d'Ulm – 75231 PARIS cedex 05 – ☎ ou Fax : 01 44 27 13 40