

■■■■ **Organisation du gène de la lipase hormono-sensible et adaptation au froid de l'enzyme.** La lipase hormono-sensible (LHS) est responsable de l'hydrolyse des triglycérides du tissu adipeux en acides gras libres et glycérol. A ce titre, elle joue un rôle très important dans le maintien de l'homéostasie énergétique de l'organisme. Comme la glycogène-phosphorylase hépatique, l'enzyme correspondante du métabolisme glucidique, la LHS est sous contrôle neuro-hormonal. Les catécholamines stimulent l'activité de l'enzyme par une élévation des taux intracellulaires d'AMP cyclique qui s'accompagne de la phosphorylation et de l'activation de la LHS. L'effet antilipolytique de l'insuline s'explique par une prévention de la phosphorylation de l'enzyme. L'organisation du gène de la LHS humaine vient d'être élucidée [1] ; il comprend 9 exons pour une taille de 11 kilobases. L'exon 6 code pour le site catalytique et l'exon 8 pour le site de phosphorylation. Un site potentiel de liaison des lipides est codé par l'exon 9. Cette organisation des domaines importants de la protéine sur différents exons indique que la LHS pourrait être une protéine mosaïque. Cette hypothèse est renforcée par deux observations. D'une part, l'alignement des séquences de LHS de plusieurs mammifères révèle une homologie importante excepté dans les régions flanquant le site de phosphorylation. Cette région pourrait donc résulter d'un apport relativement récent. Au contraire, la région entourant le site catalytique serait d'origine plus ancienne puisqu'elle présente une homologie de séquence avec la lipase d'une bactérie vivant en Antarctique. Comme cette lipase est capable d'hydrolyser des substrats à basse température, une propriété similaire de la LHS a été recherchée. De façon inattendue, la LHS est adaptée au froid et peut catalyser *in vitro* une réaction enzymatique à des températures inférieures à 10 °C. Cette propriété est importante pour les mammifères hibernants chez lesquels le réveil périodique

hivernal nécessite une mobilisation lipidique et la production d'acides gras libres dans l'adipocyte brun. Les acides gras sont nécessaires pour enclencher la thermogenèse de non-frisson grâce à laquelle la température corporelle augmente de 6 à 37 °C. [1. Langin D, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 4897-901.]

■■■■ **Des précisions sur le complexe de transmission du signal mis en jeu par l'insuline.** Nous avons récemment étudié les principales étapes de la transmission des signaux issus d'un récepteur à activité tyrosine kinase, notamment le récepteur de l'insuline, et aboutissant à l'activation des MAP kinases (*mitogen activated protein kinases*) et à une réponse transcriptionnelle et traductionnelle (*m/s n° 10, vol. 8, p. 1097*). Depuis, de nombreux résultats ont permis de préciser les différentes étapes, sans remettre en cause fondamentalement le schéma que nous avons présenté. Dans le cas de l'insuline, deux articles récemment publiés par la revue *Science* aboutissent, notamment, au même schéma [1,2]. L'insuline se lie à son récepteur, ce qui provoque la stimulation de son activité de tyrosine kinase et son autophosphorylation. Deux substrats majeurs sont phosphorylés sur des tyrosines, la molécule IRS-1 (*insulin receptor substrate-1*) et une molécule SHC contenant, comme IRS-1, des domaines SH2 et SH3. La protéine GRB-2 (*growth factor receptor-bound protein*), un analogue, chez les mammifères, de la protéine Sem-5, et la sous-unité régulatrice p85 de la 3-phosphadityl inositol-3 kinase se fixent par leur groupe SH2 à des peptides de IRS-1 contenant des tyrosines phosphorylées. Baltensperger *et al.* (Worcester, MA et Los Angeles, CA, USA) démontrent maintenant que ce complexe fixe également la protéine SOS de drosophile, produit du gène *son of sevenless*, un facteur d'échange permettant l'activation de Ras-GDP en Ras-GTP [1]. La même observation est faite par Skolnik EY *et al.* (New York, NY, USA), à propos de

l'équivalent de SOS chez les mammifères, G NRF/SOS (*guanine nucleotide-releasing factor SOS*) [2]. Les protéines SOS sont dépourvues de domaine SH2 et SH3 mais semblent se lier au domaine SH3 de GRB-2. Récemment, il a été proposé que les domaines SH3 de plusieurs molécules intervenant dans la transmission du signal reconnaissent de courts segments peptidiques de neuf à dix acides aminés riches en prolines [3]. Cependant, le site précis d'interaction de SOS avec GRB-2 n'est pas encore connu. Quoiqu'il en soit, il semble très probable que se forme autour d'IRS-1, phosphorylée par le récepteur de l'insuline activée, un complexe de signalisation dans lequel GRB-2 est un intermédiaire entre IRS-1 auquel il se lie par son groupe SH2 et un facteur d'échange de type SOS auquel il se lie par son domaine SH3. Un complexe pourrait aussi se former avec la protéine SHC, également phosphorylée par le récepteur de l'insuline. Ainsi activés, des facteurs d'échange de type SOS catalyseraient le remplacement du GDP de protéines Ras par du GTP, permettant la poursuite de la transmission du signal vers la MAP kinase et les machineries traductionnelle et transcriptionnelle.

[1. Baltensperger K, *et al. Science* 1993 ; 260 : 1950-2.]

[2. Skolnik EY, *et al. Science* 1993 ; 260 : 1953-5.]

[3. Ren R, *et al. Science* 1993 ; 259 : 1157-60.]

■■■■ **Les lésions moléculaires de la galactosialidose.** La galactosialidose est une maladie des lysosomes à hérédité autosomique récessive. Elle n'est pas due au déficit direct en une enzyme lysosomiale déterminée, mais à l'absence d'une protéine multifonctionnelle dite de « protection » : cette protéine possède des activités d'estérase, de désamidase et de carboxypeptidase ; elle est surtout capable de former un agrégat de haut poids moléculaire avec deux enzymes des lysosomes, la  $\beta$ -galactosidase et une  $\alpha$

neuraminidase, qu'elle stabilise et rend actives. En son absence, ces enzymes ne sont pas fonctionnelles et on aboutit à des troubles neurologiques et de la croissance de gravité variable : formes précoces mettant en danger la vie dès la première année (type I), ou formes plus tardives à manifestations neurologiques (type II). Cette maladie est relativement fréquente au Japon. Des auteurs japonais ont donc récemment analysé chez des malades l'ADNc, qui est connu depuis 1990 [1]. Ils ont trouvé [2] deux mutations « communes » : l'une est une mutation ponctuelle, Tyr 395 → Cys ; elle provoque une forme grave de la maladie ; l'autre conduit à un épissage alternatif avec élimination de l'exon 7, mais permettant à une faible fraction du messenger normal d'être préservée ; le phénotype en est donc moins sévère. Deux autres mutations ponctuelles ont été reconnues, qui se joignent à deux autres connues chez des sujets non japonais. La combinaison de ces diverses mutations, conduisant à des hétérozygoties composites différentes, rend compte assez bien des variations de gravité suivant les malades, comme cela est désormais bien connu dans nombre de maladies génétiques. [1. Galjart NJ, *et al. J Biol Chem* 1990 ; 265 : 4678-84.] [2. Shimmoto M, *et al. J Clin Invest* 1993 ; 91 : 2393-8.]

■■■ **L'homologie, un biais dans la production de la diversité des anticorps et des récepteurs T.** La diversité des anticorps et des récepteurs pour l'antigène des lymphocytes T (TcR) est engendrée par un phénomène de recombinaison entre des segments bornés par des signaux de recombinaison spécifiques. Cette recombinaison, associant variablement entre eux les segments V, D (dans certains cas), et J est catalysée par un système enzymatique comportant le produit des gènes RAG1 et RAG2. Dans les cellules, les phénomènes de recombinaison ne sont pas, le plus souvent, totalement au hasard : ils sont très souvent favorisés par l'exis-

tence de séquences homologues (recombinaison homologue). Si tel était aussi le cas pour la recombinaison V(D)J, cela devrait entraîner un biais considérable dans l'expression du répertoire des anticorps ou des récepteurs TcR. R.M. Gerstein et M.R. Lieber, de Stanford (CA, USA) [1], viennent de tester cette hypothèse en utilisant un modèle très original. Des substrats de recombinaison comportant les signaux reconnus par la recombinase, sont introduits dans des fibroblastes dans lesquels ont été également transférés les gènes RAG1 et RAG2. La recombinaison doit entraîner l'excision d'un codon stop et permettre la synthèse d'une enzyme de résistance au chloramphénicol codée par les substrats de recombinaison. Les molécules d'ADN modifiées sont ainsi facilement clonées après transformation de bactéries avec l'ADN cellulaire et sélection des clones résistants au chloramphénicol. La séquence des substrats de recombinaison ainsi modifiés a permis de prouver qu'il existait, en effet, un très fort biais en faveur d'un événement de recombinaison entre deux segments comportant une homologie de quatre nucléotides. Cependant, ce biais est fortement réduit lorsque les fibroblastes ont été également transfectés avec le gène de la *deoxynucleotidyl terminal transferase* (TdT), enzyme capable d'ajouter en 3' d'un fragment d'ADN des nucléotides au hasard, engendrant ainsi de la diversité. Ces résultats montrent que la *terminal transferase*, fortement exprimée dans les lymphocytes, est de nature à atténuer la préférence pour la jonction entre des segments partiellement homologues, préférence qui serait de nature à considérablement biaiser l'expression du répertoire d'anticorps ou de récepteurs T. Cependant, certaines recombinaisons pourraient être néanmoins privilégiées du fait de l'existence d'homologies significatives, résultat d'une sélection pour des spécificités idiotypiques contre des pathogènes dominants de l'espèce.

[1. Gerstein RM, Lieber MR. *Nature* 1993 ; 363 : 625-7.]

■■■ **L'emploi de l'hormone de croissance en dehors de son déficit.**

Les accidents dus au traitement par l'hormone de croissance hypophysaire sont à l'ordre du jour ; *m/s* les avait déjà signalés dès 1986 [1] et leur avait consacré un article en 1992 [2]. En 1988, l'hormone obtenue par génie génétique est devenue disponible, mettant fin aux risques de contamination. On est ainsi passé d'une situation de pénurie à des conditions d'abondance potentielle. Les compagnies ont cherché des débouchés, d'où l'idée de traiter des enfants, nullement déficients en hormone, mais dont on craignait que leur taille, à l'âge adulte, ne restât inférieure à celle souhaitée. Pour empêcher les utilisations abusives, le NIH américain a entrepris un essai comparatif entre hormone de croissance et placebo sur des enfants dont la taille prévue est relativement basse (il semble qu'on ait fixé la limite à moins de 1,70 m pour les garçons et de 1,55 m pour les filles). Mais, en juin et juillet derniers, un comité médical et un groupe de pression opposé aux biotechnologies animé par l'activiste Jeremy Rifkin ont engagé un procès visant à stopper l'essai jusqu'à l'identification des sujets que l'on considère destinés à rester petits. Le NIH estime que cet essai, qui devrait porter sur 80 enfants, est nécessaire pour s'assurer que le traitement est à la fois efficace et sans danger. Le problème de gros sous n'est en effet pas mineur : les deux compagnies qui possèdent le monopole de la fabrication jusqu'en 1994, Genentech et Eli Lilly, vendent annuellement pour près de 400 millions de dollars d'hormone de croissance ; un traitement coûtant environ 20 000 dollars annuels (plus de 100 000 francs), on voit qu'il s'adresse à d'autres patients que les 7 500 enfants actuellement recensés [3].

[1. Dreyfus JC. *médecine/sciences* 1986 ; 2 : 220.]

[2. Billette de Villemeur T. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 584-5.]

[3. Lehrman S. *Nature* 1993 ; 364 : 179.]