

## Knock-outs à la pelle !

Cold Spring Harbour Mouse Molecular Genetics Meeting, 26-30 août 1992.

Le congrès sur la génétique moléculaire de la souris qui s'est tenu à Cold Spring Harbour du 26 au 30 août a été celui de l'explosion des succès dans l'inactivation des gènes murins par recombinaison homologue, ou *knock-out* de gène.

### Des cellules totipotentes dérivées de la crête germinale

Sur le plan technique, la méthode de recombinaison homologue reste toujours aussi lourde à mettre en œuvre. Ainsi, une seule équipe a décrit une lignée de souris comportant une mutation dirigée du gène cible au lieu d'une inactivation, ce qui nécessite, si l'on suit les procédés publiés [1,2], deux étapes de sélection des cellules ES au lieu d'une seule (Bradley, Houston, TX, USA). Les différentes astuces apportées à la conception des vecteurs — sélection négative des intégrations non homologues par HSV-tk ou expression du gène de sélection positive *neo* « conditionnée » par une intégration homologue — semblent être d'efficacité variable. L'utilisation d'ADN cloné à partir de la lignée de cellules ES utilisée semble être devenue la règle bien que son efficacité, elle non plus, ne soit pas systématique. La capacité des cellules souches embryonnaires utilisées à contribuer à la lignée germinale demeure primordiale, plusieurs équipes n'hésitant pas à cloner de nouvelles lignées. Signalons que la réussite de B. Hogan (Nashville, TE, USA) [3] dans le maintien en culture de cellules de la lignée germinale marque peut-être l'aube d'une nouvelle ère dans cette technologie si ces cellules s'avèrent capables de coloni-

ser des embryons et notamment la lignée germinale. En effet, pour l'instant, les souris (et peut-être les cobayes) sont les seuls animaux chez lesquels des cellules ES fonctionnelles peuvent être isolées et cultivées, et, de ce fait, chez lesquels la recombinaison homologue est aujourd'hui possible. L'obtention de cellules totipotentes à partir de la crête germinale primitive pourrait permettre d'étendre l'application de la recombinaison homologue aux gros animaux [4].

### De la gestion des lignées mutantes

Il est à noter que les phénotypes obtenus pour les homozygotes *-/-* semblent être relativement variables. R. Ramirez-Solis (Houston, TX, USA) a pu montrer dans son cas que cette variabilité était due à celle du fond génétique des mutants *-/-* obtenus, d'origine mixte : 129, par le biais de la lignée de cellules ES, et C57, par le biais des blastocystes réimplantés avec les cellules ES *+/-*. Cette variabilité disparaissait après croisement extensif avec la lignée 129. Enfin, une fois obtenues, les lignées de mutants sont rapidement très lourdes à gérer. Le problème est si crucial que, sur l'initiative de H. Varmus (San Francisco, CA, USA), une réunion informelle s'est tenue pour débattre, d'une part, du bien-fondé de la concurrence entre différentes équipes pour l'inactivation d'un même gène (par exemple, voir *m/s* n° 7, vol. 8, p. 653 et n° 8, vol. 8, p. 879) et, d'autre part et de façon complémentaire, du maintien et de la distribution des mutants obtenus : privés (et lucratifs aux dépens des investissements publics initiaux ! ) ou publics (et non lucratifs mais non gratuits !)... D'un côté donc, *Gen-Pharm International*, de l'autre, le *Jackson Laboratory* (Bann Harbour, NY, USA). Si le premier a pu déployer

son argumentaire commercial, vantant garanties sur la qualité des services et assouplissement des restrictions d'utilisation des mutants, l'auditoire était acquis au second, qui s'est engagé à poursuivre les missions de stockage de mutants traditionnellement assumées par le *Jackson Laboratory*, en appelant toutefois à se limiter aux mutants les plus intéressants, et qui a surtout judicieusement rappelé que le problème disparaîtrait si des procédés fiables de congélation de sperme de souris étaient mis au point. Dans tous les cas, entre la réception d'une lignée mutante à l'animalerie et la mise en route effective des expériences désirées, il peut se dérouler une bonne année (Hanan, San Francisco, CA, USA).

### Plus de 50 *knock-outs* annoncés !

Sur le plan scientifique, le *Tableau I* expose succinctement les *knock-outs* de gènes présentés à ce congrès. En raison du nombre et de la densité des présentations, je me limiterai surtout à un compte rendu des inactivations donnant les résultats les plus spectaculaires et/ou significatifs. Un mot tout de même, pour rappeler les autres approches pour l'identification de gènes du développement. Les efforts soutenus dans les stratégies reposant sur les *gene-traps* (voir *m/s*, *lexique embryologie*, n° 3, vol. 8, p. 268) (J. Rossant, Toronto, Canada ; P. Soriano, Houston, TX, USA) ou dans le clonage positionnel de gènes responsables des phénotypes des lignées mutantes, avec la mise en route des méthodologies appliquées pour cloner des gènes de maladies humaines (S. Tilghman, Princeton, NJ, USA ; N. Copeland, Frederick, MD, USA), devraient s'avérer fructueux [5]. Par ailleurs, plusieurs systèmes expérimentaux pour l'étude de modèles d'induction mésenchyme/épithélium ont également été

Tableau I

INACTIVATIONS DE GÈNES PAR RECOMBINAISON HOMOLOGUE  
PRÉSENTÉES AU CONGRÈS DE COLD SPRING HARBOR, 26-30 AOÛT 1992

**Facteurs de transcription**

*c-Fos* (Johnson, Boston, MA, USA) [29] et (Wagner, Vienne, Autriche). 60 % décédés à 1 jour. Survivants, anormalement petits, développent ostéopétrose, lymphopénie (modifications histologiques spléniques mais thymus normal), troubles du comportement (aussi observés chez les hétérozygotes). Les fibroblastes *c-fos* <sup>-/-</sup> répondent toujours à la stimulation par le TPA.

*c-Jun* (Johnson, Boston, MA, USA) ; et (Wagner, Vienne, Autriche). Létalité embryonnaire entre les jours 12,5 et 17,5 du développement embryonnaire sans anomalies visibles. Les fibroblastes *c-jun* <sup>-/-</sup> répondent à la stimulation par le TPA.

*RAR α*, récepteur de l'acide rétinoïque (Lufkin, Strasbourg, France) ?

*RAR β* (Lufkin, Strasbourg, France). Létalité au cours des premières semaines après la naissance.

*RAR γ* (Lufkin, Strasbourg, France). Transformations homéotiques des vertèbres cervicales, côte surnuméraire.

*CREB*, *cyclic AMP response element binding protein* (Hummler, Heidelberg, Allemagne). Anomalies de l'hématopoïèse et de la spermatogenèse, hypotrophie de l'ordre de 60 % par rapport aux animaux de la même portée.

*Hox 1.3* (Jeannotte, Québec, Canada). Létalité de 40 % des homozygotes peu après la naissance, transformation homéotique des vertèbres (C7 de phénotype D1 dans 70 % des cas).

*Hox 2.6* (Ramirez-Solis, Houston, TX, USA). Inactivation totale : 50 % de létalité avant trois semaines, sternum non fusionné avec hernies diaphragmatiques non systématiques, transformations homéotiques des vertèbres (C2 en C1, fréquence variable suivant le fond génétique).

Inactivation partielle (introduction d'un codon stop) : sternum non fusionné, pas de transformation homéotique des vertèbres.

*MASH1*. Facteur de type hélice-boucle-hélice exprimé au cours du développement du système nerveux (Guillemot, Toronto, Canada) ?

*MyoD* (Jaenisch, Cambridge, MA, USA). Pas de phénotype apparent, peut-être un faible pourcentage de létalité embryonnaire des homozygotes [15].

*Myf5* (Jaenisch, Cambridge, MA, USA). Létalité à la naissance, pas de cage thoracique (bourgeons de côtes uniquement), muscles des membres normaux [16].

**Protéines d'adhérence**

*ICAM-1*, *intercellular adhesion molecule-1* (Sligh, Houston, TX, USA). Pas de phénotype anormal manifeste.

*Tenascin* (Saga, Tsukuba, Japon). Pas de phénotype anormal manifeste.

**Tyrosine kinases**

*Src* (Soriano, Houston, TX, USA). Ostéopétrose (*m/s*, n° 5, vol. 7, p. 509), inhibition de la croissance neuritique de neurones *Src* <sup>-/-</sup> cultivés sur boîtes enduites de protéines L1/Ng-CAM.

*Fyn* (Soriano, Houston, TX, USA) Anomalies de la transmission du signal dans les lymphocytes [8,9].

*c-Abl* (Soriano, Houston, TX, USA). Létalité néonatale et lymphopénie, (*voir aussi* [22,23]).

*Yes* (Soriano, Houston, TX, USA). Pas de phénotype anormal manifeste.

*c-Ros* (Walter, Cologne, Allemagne). Pas de phénotype anormal manifeste jusqu'à l'âge de 4 semaines.

*c-Ret* (Schuchardt, New York, NY, USA). Létalité dans les 24 heures après la naissance, reins absents ou rudimentaires, malformations intestinales.

Tableau I (suite)

*Hck* (Varmus, San Francisco, CA, USA). Déficit de la phagocytose.

*c-Fgr* (Varmus, San Francisco, CA, USA). Pas de phénotype anormal manifeste.

#### Cytokines

*TGF α* (Dunn, Melbourne, Australie). Pelage d'aspect ébouriffé, hyperkératose du museau.

*TGF β* (Schull, Cincinnati, OH, USA) et (Kulkarni, Bethesda, CA, USA). Létalité embryonnaire de 50 à 75 % des homozygotes, ceux qui naissent présentent un pelage d'aspect ébouriffé, une inflammation multifocale mixte et meurent le plus souvent par ulcère de l'estomac.

*IFN γ* (Dalton, Genentech Inc.). Homozygotes normaux à la naissance, populations de cellules normales dans le thymus et la rate, réponse anormale au BCG.

*LIF* (Stewart, Nutley, GB) (*m/s*, n° 8, vol. 8, p. 873).

*IL-2* (Horak, Würzburg, Allemagne) (*m/s*, n° 7, vol. 8, p. 736).

*IGFII, insulin growth factor-II* (Liu, New York). Homozygotes viables et fertiles, 60 % du poids normal (*m/s*, n° 3, vol. 7, p. 292).

*α inhibin* (Matzuk, Houston, TX, USA) [30] (membre de la famille des activines). Pas de létalité embryonnaire, tumeurs des gonades.

#### Récepteurs de facteurs de croissance

*p75LNGFR*, récepteur de faible affinité pour le NGF (Lee, Cambridge, MA, USA). Troubles de l'innervation sensorielle entraînant des ulcères des coussinets plantaires [24].

*IGFRI*, récepteur de l'*insulin growth factor I* (Liu, New York, NY, USA). Létalité à la naissance par défaillance respiratoire (pas d'extension pulmonaire, pas d'obstruction des voies aériennes), système nerveux central de taille réduite avec, en revanche, une augmentation de la densité des neurones, différences de taille avec les hétérozygotes ou les sauvages visible dès le jour 9,5 du développement embryonnaire.

#### Anti-oncogènes

*p53* (Bradley, Houston, TX, USA et Jacks, Cambridge, MA, USA). Tumeurs chez 70 % des homozygotes *p53*<sup>-/-</sup> (*m/s*, n° 5, vol. 8, p. 492).

*Rb*, gène de prédisposition au rétinoblastome. Létalité embryonnaire des homozygotes *Rb*<sup>-/-</sup> [18].

*NF1*, gène de susceptibilité à la neurofibromatose (Jacks, Cambridge, MA, USA). Létalité entre les jours 12,5 et 13,5 du développement embryonnaire, pas de neurofibromatose chez les hétérozygotes.

*APC*, gène de susceptibilité à la polypose colique familiale (Jacks, Cambridge, USA) ?

#### Gènes (potentiellement) impliqués dans des maladies

*CFTR* (Snouwart, Chapel Hill, USA). Formes graves de mucoviscidose, iléus méconial (*m/s*, n° 7, vol. 8, p. 653).

*ApoE* (Plump, New York, NY, USA) et (Zhang, Chapel Hill, USA). Hypercholestérolémie (principalement dans HDL/chylomicrons), athérosclérose (19,20).

*ApoB* (Homanics, Chapel Hill, MA, USA). Inactivation partielle (forme tronquée d'*apoB*) : létalité néonatale à 50 %, hydrocéphalie fréquente.

*AMH*, hormone anti-müllérienne (Berhinger, Cambridge, USA). Testicules de taille et position normales chez les mâles *-/-* mais persistance des canaux de Müller et présence d'utérus.

Tableau I (suite)

**Autres gènes**

*CRA8PI*, cytoplasmic retinoic acid-binding protein 1 (Lampron, Strasbourg, France). Létalité précoce au cours du développement embryonnaire.

*DNA méthyl transférase* (Li, Cambridge, MA, USA). Méthylation anormale des cytosines, létalité embryonnaire précoce [25].

*Collagène IXa1* (Schnegelsberg, Cambridge, MA, USA). Ostéo-arthrite à l'âge de 5 mois.

*TCR  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$* , récepteurs pour l'antigène des lymphocytes T (Mombaerts, Cambridge, MA, USA) [31]. Absence de lymphocytes  $T\alpha\beta+$  ou  $\gamma\delta+$  selon les gènes inactivés (voir aussi [26]).

*RAG-1*, gène de recombinaison, (Mombaerts, Cambridge, MA, USA). Déficit immunitaire combiné (24, *m/s*, n° 8, vol. 6, p. 820). Le phénotype des souris *RAG-2<sup>-/-</sup>* est identique [28].

*locus des chaînes lourdes d'immunoglobulines* (Lonberg, GenPharm International). Déficit immunitaire, hypotrophie splénique.

*TAP 1*, transporter antigen protein 1 (Aston-Rickardt, Cambridge, MA, USA). Pas d'expression de molécule de classe I du CMH à la surface, pas de cellules T  $CD8^+$ .

*Kératine 8* (Baribault, La Jolla, CA, USA). Létalité périnatale.

*Enzymes fibronolytiques (tPA, uPA, PA-i)* (Carmeliet, Louvain, Belgique) ?

*Mannose 6-phosphate récepteur cation-dépendant* (Ludwig, Heidelberg, Allemagne) ?

*Créatine kinase musculaire* (Van Deursen, Nijmegen, Pays-Bas). Concentrations élevées de glycogène dans les fibres musculaires rapides de type IIb, anomalies mitochondriales.

*Csk*, kinase impliquée dans la régulation de Src (Soriano, Houston, TX, USA). Létalité embryonnaire.

*Pim1* (Van der Lugt, Amsterdam, Pays-Bas). Homozygotes viables, réponse à l'IL-7 et à l'IL-7 + Steel diminuée dans les cultures primaires de moelle, autres cellules hématopoïétiques normales.

*N-Ras* (Umanoff, New York, NY, USA) ?

*Urate oxydase* (Wu, Houston, TX, USA). Hyperuricémie et néphropathies.

**Remarque :** un point d'interrogation indique que la transmission à la lignée germinale de l'allèle inactivé n'a été obtenue que récemment et que, par conséquent, le phénotype des homozygotes, aux deux allèles du gène cible inactivés, n'est pas encore connu.

décrits et pourraient apporter des enseignements précieux sur ces phénomènes aux mécanismes peu connus chez les mammifères [6,7].

### De l'analyse des lignées mutantes ... redondance fonctionnelle de gènes et troubles neurologiques

Pour commencer donc, on ne peut manquer de rendre honneur aux laboratoires présents qui inactivent désormais des gènes de façon routinière (peut-être, pourrait-on dire, industrielle ?) : A. Bradley (Houston, TX, USA), P. Chambon (Strasbourg, France), R. Jaenisch (Cambridge, MA, USA), O. Smithies

(Chapel Hill, USA), P. Soriano (Houston, TX, USA) et T. Tonegawa (Cambridge, MA, USA). Ces deux derniers commencent à décrire les résultats des croisements des lignées entre elles, donnant des phénotypes souvent spectaculaires. On se rappellera la surprise provoquée par les phénotypes relativement bénins décrits par P. Soriano pour l'inactivation des tyrosine kinases de type *src* (*m/s*, n° 5, vol 7, p. 509). Les doubles mutations donnent le plus souvent une létalité embryonnaire, ce qui indique qu'une redondance fonctionnelle serait donc bien l'explication des phénotypes des mutations simples ;

comme quoi il faut savoir être patient !

De la même façon, il apparaît que les mutants *fyn<sup>-/-</sup>* (P. Soriano), qui ne présentaient en première analyse que de bénignes anomalies de la transduction du signal dans les lymphocytes T [8,9], possèdent en fait de sévères troubles neurologiques avec un déficit de l'apprentissage et/ou de la mémoire spatiale, qui s'apparente à celui qui a été décrit dans les souris déficientes en isoforme  $\alpha$  de la kinase II dépendante du calcium et de la calmoduline (*m/s*, n° 8, vol 8, p. 870). Cependant, contrairement à ce dernier cas, chez les souris *fyn<sup>-/-</sup>*, ces

troubles sont associés à des altérations structurales de l'hippocampe, siège présumé de ce type de mémoire, et il sera probablement difficile de déterminer les mécanismes impliqués (développement perturbé ou lésion fonctionnelle).

### Transformations homéotiques

D'entrée, la présentation d'une unification de la nomenclature des gènes homéotiques dans le but de faciliter les comparaisons entre espèces annonçait la couleur (R. Krumlauf, Londres, GB) : inactivations et régulation de gènes homéotiques. Comme pour Hox 3.1 [10], l'inactivation de Hox 2.6 entraîne une transformation homéotique antérieure (de la vertèbre cervicale C2 en C1), en accord avec le modèle de fonctionnement du locus homéotique HOM-C chez la drosophile (R. Ramirez-Solis) [11]. T. Lufkin (Strasbourg, France) a également montré des transformations homéotiques de vertèbres, mais dues, quant à elles, à l'inactivation du récepteur à l'acide rétinoïque RAR  $\gamma$  ... Il sera passionnant d'apprendre comment l'expression des gènes homéotiques est affectée par l'inactivation de ces récepteurs, liant ainsi le plus populaire des candidats morphogènes aux plus populaires des gènes du développement. Enfin, des exemples spectaculaires de conservation de la régulation des gènes homéotiques entre la mouche et la souris ont été décrits. Ainsi, chez des souris transgéniques, le *enhancer* siège de l'autorégulation de *Deformed* chez la drosophile, entraîne une expression du gène *reporter* analogue à celle du gène homologue de souris, avec, en particulier, une même frontière antérieure d'expression dans le cerveau embryonnaire (A. Awgulewitsch, Charleston, CS, USA) [12]. A l'inverse, chez des drosophiles transgéniques, le gène murin Hox 3.1 sous contrôle d'un promoteur de choc thermique est capable d'induire l'expression de *fork-head*, cible connue du gène *sex combs reduced* (*scr*), homologue de *Hox 3.1* avec lequel il ne présente pourtant que 30 % d'homologie de séquence, et les transformations entraînées par l'expression ectopique de Hox 3.1 sont remarquablement identiques à

celles dues à la même expression ectopique de *scr* (J. Zhao, New York, NY, USA).

### Des aléas de la stratégie allant du gène au phénotype

La recombinaison homologue est l'outil de choix qui permet désormais d'aller du gène au phénotype, plutôt que l'inverse, dans l'étude du développement. Encore faut-il choisir les bons gènes... Les homologues de gènes connus pour jouer un rôle important au cours du développement d'autres espèces constituent une catégorie de candidats. Jusqu'à présent, ce sont pour une grande part des homologues de gènes homéotiques de drosophile qui ont été étudiés. Des homologues d'autres types de gènes de drosophile (gènes du développement de l'œil, de la neurogenèse, ...) ainsi que de gènes de xénope (actinines, *goosecoid*, ...) sont maintenant en cours d'étude. Une seconde catégorie de gènes candidats est constituée par les proto-oncogènes, dont le prototype est *wnt-1* [13]. Les proto-oncogènes de type récepteurs à activité tyrosine kinase, en particulier, sont fréquemment impliqués dans le développement : le phénotype W de souris est, par exemple, dû à une mutation du récepteur c-Kit (*m/s n° 10, vol. 6, p. 1016*), et des anomalies de la différenciation des cellules sensorielles de la rétine chez la drosophile sont la conséquence de mutations du récepteur *Sevenless*. Un nouvel exemple a été décrit à ce congrès avec l'inactivation du récepteur c-Ret : les souris meurent juste après la naissance et n'ont que des rudiments, voire pas du tout de reins (A. Schuchardt, New York, NY, USA). Le récepteur c-Ret joue donc vraisemblablement un rôle essentiel dans les inductions réciproques entre mésenchyme et épithélium qui donnent naissance aux reins. En revanche, l'inactivation de c-Ros, autre récepteur à activité tyrosine kinase exprimé aux interfaces mésenchyme/épithélium au cours de la formation des reins et présentant, en outre, une forte homologie structurale avec *Sevenless*, n'entraîne aucun phénotype marquant (B. Walter, Cologne, Allemagne). On ne gagne pas à tous les coups !

### Muscles des membres et muscles du tronc

Une troisième catégorie de gènes candidats est constituée par les facteurs de transcription. De façon inattendue, alors que son expression ectopique est létale, l'inactivation du facteur MyoD (*myogenic determination factor* !) [14] n'affecte pas le développement : les souris homozygotes MyoD  $-/-$  sont viables et leurs muscles, en première analyse, ne présentent aucune anomalie (R. Jaenisch) [15]. L'absence de MyoD pourrait être compensée par la présence des autres facteurs de la famille MyoD. Il semblerait que Myf-5, le premier d'entre eux à être exprimé au cours de l'embryogenèse, soit produit à la naissance à des niveaux plus élevés que chez les souris normales, stade où l'on observe habituellement l'expression de MyoD. En revanche, l'inactivation de Myf-5 a des conséquences spectaculaires : létalité à la naissance, avec des muscles des membres normaux mais une absence de cage thoracique (et donc absence de muscles intercostaux), (R. Jaenisch) [16] ... L'absence de côtes est-elle due à l'absence de muscles intercostaux ou bien à une induction défectueuse du sclérotome par le myotome dans les somites aux stades plus précoces du développement ? L'absence d'effet de l'inactivation de Myf-5 sur les muscles des membres, quant à elle, est sans doute à mettre en rapport avec la description récente de deux lignages myogéniques, aux précurseurs distincts dès la gastrulation, issus respectivement des moitiés médiane (donnant le myotome puis les muscles du tronc) et latérale (donnant les muscles des membres) des somites nouvellement formés [17].

### Pas de prédisposition au cancer chez les souris « anti-oncogène » + /- ?

En dehors de l'immunologie, peu représentée à ce congrès, et du développement, l'autre grand domaine d'application de la technique de recombinaison homologue à ce jour consiste en la création de modèles animaux de maladies humaines. Pour l'étude du cancer, il est apparu que plusieurs mutants de souris hétérozygotes pour un anti-oncogène (« anti-oncogène » + /-) ne semblaient

pas prédisposés à développer des tumeurs, et, en particulier, pas dans les organes habituellement affectés chez l'homme (pas de rétinoblastome dans les souris Rb +/-, de neurofibromatose chez les souris NF1 +/-, ni d'adénome colique chez les souris APC +/-), (T. Jacks, Cambridge, MA, USA) [18]. Une étude plus approfondie sera donc nécessaire, il est raisonnable d'imaginer que le croisement avec d'autres lignées de souris pourrait permettre d'observer de telles prédispositions.

On mentionnera à nouveau le succès du laboratoire de O. Smithies dans l'inactivation du gène CFTR, succès tempéré par l'un de ses artisans, J. Snouwart, qui a insisté sur la nécessité d'arriver à prolonger la durée de vie des animaux mutants pour pouvoir éventuellement étudier une symptomatologie pulmonaire équivalente à celle de la mucoviscidose (*m/s*, n° 7, vol. 8, p. 653). L'équipe anglaise de Porteous (Edimbourg, GB) vient également d'obtenir, par recombinaison homologue, un modèle murin de la mucoviscidose qui semble, quant à lui, plus proche de la maladie humaine (*m/s* n° 8, vol. 8, p. 879). Dans un autre ordre d'idée, malgré les différences importantes du métabolisme du cholestérol entre l'homme et la souris, il semble que les modèles d'athérosclérose obtenus par inactivation du gène d'apolipoprotéine E sont très intéressants : l'hypercholestérolémie observée entraîne effectivement une athérosclérose, à l'image de ce qui se passe chez l'homme en cas de déficience en apolipoprotéine E (A. S. Plump, New York, NY, USA) [19,20].

L'utilisation systématique de la recombinaison homologue semble donc ouvrir des perspectives prometteuses pour l'étude des mécanismes et pour la mise au point de traitements efficaces des maladies multigéniques (athéroscléroses, diabète, hypertension, ...) [21].

Malgré les progrès récents accomplis, l'inactivation d'un gène par recombinaison homologue reste une tâche ardue, aux résultats parfois décevants (modifications phénotypiques inapparentes), pour un investissement élevé à l'échelle d'un laboratoire ... même lorsqu'elle est réalisée à la chaîne. Se

posera par conséquent tôt ou tard la question d'une rationalisation de la production de tels modèles, permettant aux chercheurs de se consacrer au considérable travail aval de leur caractérisation et de leur utilisation ■

### Jean-Paul Concordet

*ICGM, Laboratoire de recherches en génétique et pathologie moléculaires, Inserm U. 129, 24, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.*

### RÉFÉRENCES

- Hasty P, Ramirez-Solis R, Krumlauf R, Bradley A. Introduction of a subtle mutation into the *Hox-2.6* locus in embryonic stem cells. *Nature* 1991 ; 350 : 243-6.
- Valancius V, Smithies O. Testing an « in-out » targeting procedure for making subtle genomic modifications in mouse embryonic stem cells. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 1402-8.
- Matsui Y, Zsebo K, Hogan BLM. Derivation of pluripotential embryonic stem cells from murine primordial germ cells in culture. *Cell* 1992 ; 70 : 841-7.
- McLaren A. The quest for immortality. *Nature* 1992 ; 359 : 482-3.
- Kingsley DM, Bland AE, Grubber JM, et al. The mouse *short ear* skeletal morphogenesis locus is associated with defects in a bone morphogenetic member of the TGF $\beta$  superfamily. *Cell* 1992 ; 71 : 399-410.
- Gumbiner BM. Epithelial morphogenesis. *Cell* 1992 ; 69 : 385-7.
- Blum M, Gaunt SJ, Cho KWY, et al. Gastrulation in the mouse : the role of the homeobox gene goosecoid. *Cell* 1992 ; 69 : 1097-106.
- Stein PL, Lee HM, Rich S, Soriano P. pp59<sup>lyn</sup> mutant mice display differential signaling in thymocytes and peripheral T cells. *Cell* 1992 ; 70 : 741-50.
- Appleby MW, Gross JA, Cooke MP, Levin SD, Qian X, Perlmutter RM. Defective T cell receptor signaling in mice lacking the thymic isoform of p59<sup>lyn</sup>. *Cell* 1992 ; 70 : 751-63.
- Le Mouellie H, Lallemand Y, Brûlet P. Inactivation de l'homéogène *Hox 3-1* chez la souris. *médecine/sciences* 1992 ; 4 : 340-5.
- Lewis EB. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* 1978 ; 276 : 565-70.
- Awgulewitsch A, Jacobs D. Deformed autoregulatory element from *Drosophila* functions in a conserved manner in transgenic mice. *Nature* 1992 ; 358 : 341-4.
- Nusse R., Varmus HE. *Wnt* genes. *Cell* 1992 ; 69 : 1073-87.
- Alonso S. Des facteurs de régulations spécifiques de la myogenèse. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 635-44.
- Rudnicki MA, Braun T, Hinuma S, Jaenisch R. Inactivation of *Myo D* in mice

leads to up-regulation of the myogenic HLH gene *Myf-5* and results in apparently normal muscle development. *Cell* 1992 ; 71 : 383-90.

- Braun T, Rudnicki MA, Arnold H-H, Jaenisch R. Targeted inactivation of the muscle regulatory gene *Myf-5* results in abnormal rib development and perinatal death. *Cell* 1992 ; 71 : 369-82.
- Ordahl CP, Le Douarin NM. Two myogenic lineages within the developing somite. *Development* 1992 ; 114 : 339-53.
- Harlow E. For our eyes only. *Nature* 1992 ; 359 : 270-1.
- Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, Maeda N. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* 1992 ; 258 : 468-71.
- Plump AS, Smith JD, Hayek T, et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell* 1992 ; 71 : 343-53.
- Brown MS, Goldstein JL. Koch's postulates for cholesterol. *Cell* 1992 ; 71 : 187-8.
- Tybulewicz VLJ, Crawford CE, Jackson PK, Bronson RT, Mulligan RC. Neonatal lethality and lymphopenia in mice with a homozygous disruption of the *c-abl* proto-oncogene. *Cell* 1991 ; 65 : 1153-63.
- Schwartzberg PL, Stall AM, Hardin JD, et al. Mice homozygous for the *abl<sup>m1</sup>* mutation show poor viability and depletion of selected B and T cell populations. *Cell* 1991 ; 65 : 1165-75.
- Lee KF, Li E, Huber LJ, et al. Targeted mutation of the gene encoding the low affinity NGF receptor p75 leads to deficits in the peripheral sensory nervous system. *Cell* 1992 ; 69 : 737-49.
- Li E, Bestor TH, Jaenisch R. Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell* 1992 ; 69 : 915-26.
- Philpott KL, Viney JL, Kay G, et al. Lymphoid development in mice congenitally lacking T cell receptor  $\alpha\beta$ -expressing cells. *Science* 1992 ; 256 : 1148-52.
- Mombaerts P, Iacomini J, Johnson RS, Herrup K, Tonegawa S, Papaioannou E. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes. *Cell* 1992 ; 68 : 869-77.
- Shinkai Y, Rathbun G, Lam KP, et al. RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement. *Cell* 1992 ; 68 : 855-67.
- Johnson RS, Spiegelman BM, Papaioannou V. Pleiotropic effects of a null mutation in the *c-fos* proto-oncogene. *Cell* 1992 ; 71 : 577-86.
- Matzuk MM, Finegold MJ, Su JGJ, Hsueh AJW, Bradley A.  $\alpha$ -inhibin is a tumour-suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature* 1992 ; 360 : 313-9.
- Mombaerts P, Clarke AR, Rudnicki MA. Mutations in T-cell antigen receptor genes  $\alpha$  and  $\beta$  block thymocyte development at different stages. *Nature* 1992 ; 360 : 225-31.

### TIRÉS A PART

J.-P. Concordet.