

Une myotonie de la souris due à l'inactivation d'un canal chlore musculaire

Les courants à chlore Cl^- sont indispensables pour un grand nombre de fonctions ; un exemple éclatant des conséquences possibles de leur dysfonctionnement est fourni par la mucoviscidose. Le muscle est particulièrement dépendant de ces canaux ; la conductance de la membrane musculaire au repos est pour les trois quarts due à des ions chlore ; son blocage par des agents comme l'acide 9-anthracène carboxylique provoque une myotonie expérimentale. Pour isoler un canal chlore, l'équipe de Jentsch (Hambourg, Allemagne) s'est d'abord adressée à la torpille (*T. californica*), dont l'organe électrique en est une source abondante.

Ils ont réussi [1] à en cloner le gène et à faire exprimer son ARNm dans des ovocytes de xénope, en démontrant ainsi l'activité fonctionnelle. L'ADNc obtenu code pour une protéine de 805 acides aminés ; le message mesure 9 à 10 kb et possède une très longue queue 3'. La taille calculée de la protéine est de 89 kDa, elle ne présente pas d'homologie avec des protéines connues. Elle ne semble pas posséder de peptide signal. Son diagramme d'hydropathie indique l'existence de 13 domaines hydrophobes, dont la plupart doivent être transmembranaires, séparés par des zones hydrophiles probablement intra- et extra-cyto-

plasmiques, dont la plus longue se situe entre les domaines 12 et 13 (figure 1). Le même groupe [2] s'est servi de l'ADNc de torpille pour isoler un ADNc codant pour un canal chlore de muscle de rat, sous forme d'une protéine de 994 acides aminés, identique à 54 % à celle de torpille. Il a appelé CIC0 le canal isolé de la torpille et CIC1 celui de rat. La structure générale des deux protéines est la même, mais celle de rat est plus grande, d'environ 110 kDa, du fait d'une insertion entre D12 et D13 et d'une extension C-terminale.

Le message chez le rat mesure 4,5 kb ; son abondance est grande

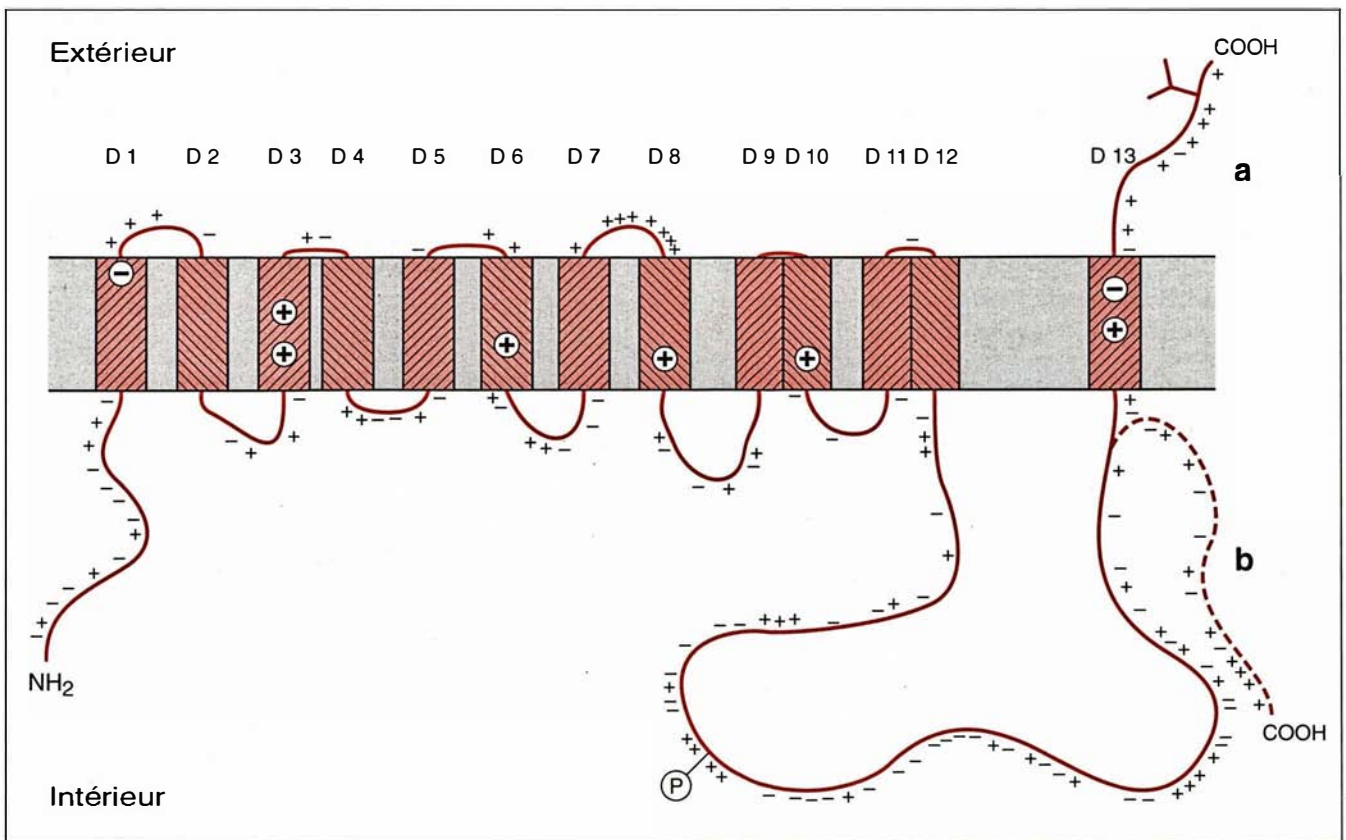


Figure 1. **Topologie proposée pour le canal chlorure de Torpedo.** L'extrémité N-terminale est supposée intracellulaire. L'extrémité C-terminale est incertaine : le domaine 13 traverse la membrane (a) ou non (b). (D'après [1].)

S E T T E M B E R E

dans le muscle strié et très faible dans les autres tissus. Son taux dans le muscle, très bas à la naissance, s'élève rapidement au cours du premier mois. L'injection du messager dans les ovocytes de xénope induit une expression fonctionnelle du canal chlore. La partie la plus passionnante du travail est l'implication de ce canal dans une souche de souris myotonique.

La myotonie est un symptôme d'origine myogène, caractérisé par une tension musculaire incontrôlable à la suite d'une contraction volontaire. A l'état pur (c'est-à-dire en dehors de la myopathie myotonique de Steinert), elle se présente chez l'homme comme une maladie autosomique dominante (maladie de Thomsen) ou récessive.

On connaît depuis longtemps un modèle animal, la chèvre myotonique, dont le principal défaut est une baisse de la conductance des membranes musculaires aux chlorures. Après nombre de tentatives infructueuses, deux mutations ont été trouvées il y a quinze ans chez la souris, transmises selon le mode autosomique récessif. Il s'est avéré que ces deux mutations conduisaient à des symptômes similaires mais non identiques, et qu'il s'agissait de mutations alléliques [3]. On les appela ADR (*arrested development of righting response*), et leurs allèles — un troisième a été découvert depuis — ADR^{mt} (pour myotonie) et ADR^k. Steinmeyer *et al.* [4] ont abordé l'étude des souris ADR par la recherche de remaniements grâce à la méthode de Southern. Ils ont trouvé des fragments aberrants, notamment un trop grand, suggérant une insertion. Par analyse de l'ADN, une bande de 7-8 kb fut observée. La séquence des ADNc obtenus à partir de ces souris était normale jusqu'au 9^e domaine ; la suite divergeait, sous forme de séquences non apparentées au canal chlore, et que les banques de données révélaient presque identiques à des transposons appelés ETn (*early transposons*). Ces éléments ont été découverts en 1983 par Brûlet *et al.* dans le laboratoire de François Jacob [5], et analysés ensuite par la même équipe [6, 7]. Il s'agit de séquences de 6 kb, répétées environ 1 000 fois par génome de souris, détectées dans des lignées de carcinome embryonnaire. Leur nature a été pres-

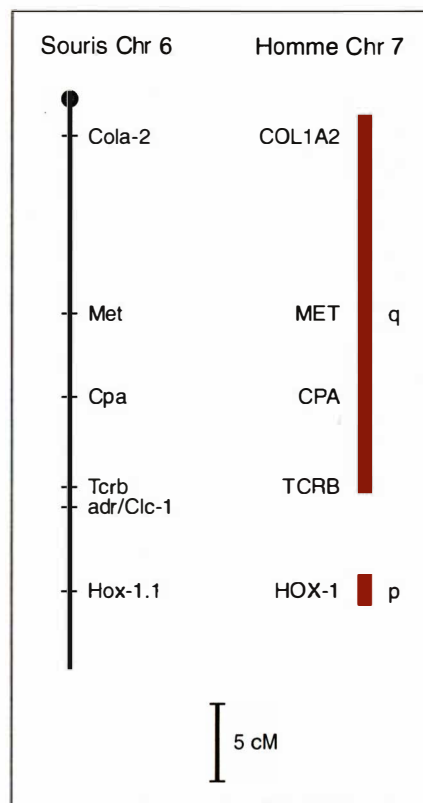


Figure 2. **Comparaison des zones homologues des chromosomes 6 murin et 7 humain.** COL1 A2 : collagène type I $\alpha 2$; MET : proto-oncogène MET ; CPA : carboxypeptidase A ; TCR β : T-cell receptor β ; CM : centromere ; CIC1 : canal chlore. (D'après [4].)

sentie par analogie avec des structures rétrovirales, mais la première indication qu'il s'agisse effectivement d'un élément mobile a été fournie [8] dans une lignée de plasmocytome murin où il se trouve inséré dans des régions de commutation de chaînes lourdes d'immunoglobulines. C'est une nouvelle démonstration de leur nature de transposons que de les voir ainsi insérés dans le gène du canal chlore chez la souris myotonique. L'insertion d'ETn ne s'observe que chez le mutant ADR ; les mutants mto et K ne la portent pas, mais puisqu'il s'agit d'allèles, on peut admettre qu'ils sont dus à d'autres mutations qui restent à découvrir, et qui ne s'accompagnent pas de remaniements importants de l'ADN.

Quels enseignements peut-on tirer de ces découvertes pour les myotonies humaines ? La maladie de Thomsen, à laquelle on pense d'abord, comporte une hérédité dominante. De plus, le rôle des canaux chlore y est discuté et celui des canaux sodium souvent invoqué. Sans l'éliminer pour autant, il semble que les chances de succès soient plus grandes avec la forme récessive, déjà connue pour présenter une baisse de la conductance membranaire aux chlorures. Or on a pu localiser le gène ADR sur le chromosome 6 de la souris [3, 4], et on sait que cette portion proximale du chromosome 6 de la souris est homologue du chromosome 7 humain (figure 2). Il doit donc être possible, s'il en est bien ainsi, de localiser à partir du gène de souris un gène candidat sur le chromosome 7 humain, et on pourra ensuite tester le bien-fondé de l'hypothèse dans la myotonie humaine.

J.-C. D.

1. Jentsch TJ, Steinmeyer K, Schwarz G. Primary structure of *Torpedo marmorata* chloride channel isolated by expression cloning in *Xenopus* oocytes. *Nature* 1990 ; 348 : 510-4.
2. Steinmeyer K, Ortland C, Jentsch TJ. Primary structure and functional expression of a developmentally regulated skeletal muscle chloride channel. *Nature* 1991 ; 354 : 301-4.
3. Rüdell R. The myotonic mouse : a realistic model for the study of human recessive generalized myotonia. *Trends Neurol Sci* 1990 ; 13 : 1-3.
4. Steinmeyer K, Kloche R, Ortland C, *et al.* Inactivation of muscle chloride channel by transposon insertion in myotonic mice. *Nature* 1991 ; 354 : 304-8.
5. Brûlet P, Kaghad M, Xu YS, Croissant O, Jacob F. Early differential tissue expression of transposon-like repetitive DNA sequences of the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983 ; 80 : 5641-5.
6. Brûlet P, Condamine H, Jacob F. Spatial distribution of transcripts of the long repeated ETn sequence during early mouse embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 2054-8.
7. Sonigo P, Wain-Hobson S, Bougueleret L, Thiollais P, Jacob F, Brûlet P. Nucleotide sequence and evolution of ETn elements. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 3768-71.
8. Shell B, Szurek P, Dunnick W. Interruption of two immunoglobulin heavy-chain switch regions in murine plasmacytoma P3.26Bu4 by insertion of retroviruslike element ETn. *Mol Cell Biol* 1987 ; 7 : 1364-70.