

Biologie moléculaire et perception des phéromones chez les mammifères

Catherine Dulac

Chez les mammifères, l'olfaction est contrôlée par deux organes sensoriels distincts : l'épithélium olfactif principal et l'organe voméronasal. Les phéromones activent l'organe voméronasal et déclenchent des modifications des comportements sexuels et sociaux, ainsi que des fonctions neuroendocrines. Le criblage différentiel de banques d'ADNc, construites à partir de neurones sensoriels uniques de l'organe voméronasal de rat, a permis d'isoler une famille d'environ trente gènes codant pour des récepteurs présumptifs des phéromones chez les mammifères. Ces gènes codent pour une nouvelle famille de protéines à sept domaines transmembranaires, sans analogie de séquence avec les récepteurs olfactifs. L'isolement de ces gènes devrait permettre de mieux comprendre la nature chimique des phéromones, la logique du codage olfactif dans l'organe voméronasal, et la façon dont la perception des odeurs conduit à des comportements innés.

Les systèmes sensoriels animaux perçoivent les informations présentes dans l'environnement et transforment ces signaux extérieurs en influx électriques qui, transmis aux centres supérieurs du cerveau, vont y être décodés afin de définir une image interne du monde extérieur. Les différentes stratégies employées par le cerveau pour décoder la complexité des informations sensorielles, visuelles, tactiles, ou olfactives, font

l'objet de recherches en rapides progrès. En particulier, l'utilisation de techniques moléculaires a été décisive pour comprendre le fonctionnement du système olfactif principal [1]; elle a fourni, récemment, les premiers outils qui vont permettre l'étude moléculaire de la perception des phéromones chez les vertébrés supérieurs [2].

L'olfaction, responsable de la perception des senteurs et des goûts, est considérée chez l'être humain

ADRESSE

C. Dulac : *assistant professor*, Department of molecular and cellular biology, Harvard University, 16 Divinity Avenue, Cambridge, Massachusetts 02138, États-Unis.

comme un sens noble et esthétique, éveillant souvenirs et émotions, participant à la pensée et aux comportements réfléchis. Mais l'olfaction est aussi le sens le plus primitif: chez la plupart des espèces animales, certaines molécules dénommées phéromones déclenchent des comportements stéréotypés propres à une espèce animale donnée, résultant d'une perception olfactive vraisemblablement inconsciente. Les phéromones sont des signaux chimiques libérés par l'animal qui procurent aux autres individus de l'espèce des informations sur son genre, son statut de dominance et de reproduction, entraînant des modifications considérables des comportements sexuels et sociaux ainsi que des fonctions neuro-endocrines [3, 4]. Les deux types de signaux olfactifs, molécules odorantes et phéromones, sont perçus dans la cavité nasale par deux organes sensoriels distincts (figure 1): l'épithélium olfactif principal et l'organe voméronasal (VNO, vomeronasal organ). Les influx nerveux engendrés sont ensuite décodés dans le cerveau par des réseaux neuronaux indépendants. Les neurones sensoriels de l'organe voméronasal sont bipolaires et leur dendrite, terminé par des microvilli, transforme la liaison spécifique de phéromones à leur récepteur en signal électrique transmis aux centres supérieurs du cerveau. Les neurones du VNO projettent leur axone dans une zone particulière du bulbe olfactif, dénommé bulbe accessoire, distinct du site de projection des neurones de l'épithélium olfactif principal. Le bulbe accessoire est ensuite connecté *via* l'amygdale à certains noyaux de l'hypothalamus qui vont déclencher le programme stéréotypé de comportements sexuels et sociaux et de sécrétions hormonales caractéristiques de la réponse aux phéromones. Dans l'état actuel des connaissances, il semblerait que ce circuit neuronal sensoriel ait la fascinante particularité de ne pas être connecté à une quelconque zone cognitive du cerveau. Il provoquerait donc des modifications physiologiques et comportementales stéréotypées qui résulteraient d'une perception inconsciente du message phéromonal.

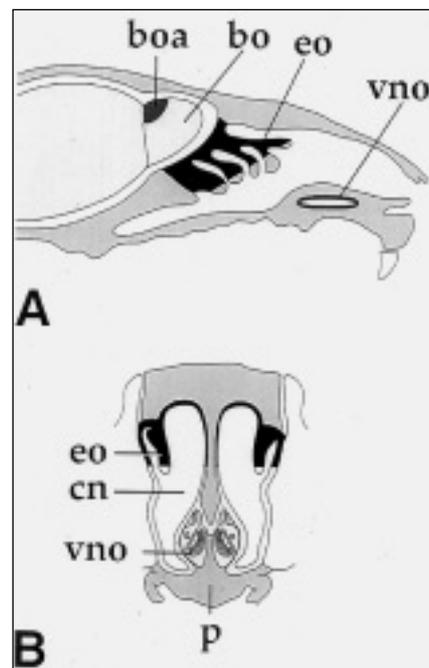


Figure 1. Localisation de l'organe voméronasal et de l'épithélium olfactif principal. A: Représentation schématique d'une coupe parasagittale de tête de rat. L'épithélium olfactif principal (EO) est localisé dans la partie postérieure de la cavité nasale (CN) alors que l'organe voméronasal (VNO) se situe de façon plus antérieure dans une cavité du septum nasal. Les neurones sensoriels de l'épithélium olfactif envoient leurs axones dans le bulbe olfactif (BO) alors que les neurones du VNO projettent dans le bulbe olfactif accessoire (BOA). B: Coupe coronale d'une cavité nasale de rat. P, palais.

RÉFÉRENCES

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. Dulac C, Axel R. A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. *Cell* 1995; 83: 195-206.
3. Halpern M. The organization and function of the vomeronasal system. *Annu Rev Neurosci* 1987; 10: 325-62.
4. Wysocki CJ. Vomeronasal chemoreception: its rôle in reproductive fitness and physiology. In: neural control of reproductive function New York: Alan R. Liss, Inc, 1989: 545-66.
5. Parmentier M, Vanderhaegen P, Schurmans S, Libert F, Vassart G. Génétique moléculaire des récepteurs olfactifs. *Med Sci* 1994; 10: 1083-90.
6. Axel R. The molecular logic of smell. *Sci Am* 1995; 273: 154-9.
7. Vassar R, Ngai J, Axel R. Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell* 1993; 74: 309-18.
8. Vassar R, Chao SK, Sitcheran R, Nunez JM, Vosshall LB, Axel R. Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb. *Cell* 1994; 79: 981-91.
9. Ressler KJ, Sullivan SL, Buck LB. A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell* 1993; 73: 597-609.

La caractérisation moléculaire des récepteurs olfactifs a été la clé pour comprendre la logique de la perception olfactive

Les récepteurs des odeurs caractéristiques des neurones du système olfactif principal ont été isolés et caractérisés en 1991 par Linda Buck et Richard Axel [1]. Ils constituent une famille d'environ 1000 gènes, chacun d'entre eux codant pour une

molécule distincte appartenant à la superfamille des protéines à sept domaines transmembranaires [5]. L'analyse de l'expression de ces gènes ainsi que des études plus anciennes employant des techniques d'électrophysiologie et de marquage des connexions axonales ont permis d'établir un modèle logique de la perception olfactive [6] (figure 2). Chaque neurone de la muqueuse olfactive choisit d'exprimer un gène unique parmi le millier de gènes codant pour les récepteurs des odeurs (C. Dulac, R. Axel, non publié). Ainsi, l'activation d'un récepteur olfactif par une odeur particulière a pour résultat l'excitation électrique de l'ensemble des neurones sensoriels synthétisant le même récepteur. L'étude topographique des projections axonales des neurones olfactifs a ensuite démontré que l'ensemble des neurones synthétisant un même récepteur, bien que dispersés dans l'épithélium olfactif, envoient tous leur axone dans un site très restreint du bulbe olfactif principal ou glomérule [7-11]. Cela suggère que la discrimination olfactive résulterait de la détection par le cerveau d'une activité localisée dans certaines régions du bulbe olfactif. De la même manière, la caractérisation des gènes codant pour les récep-

teurs des phéromones pourrait procurer les outils moléculaires essentiels pour identifier la nature chimique des phéromones elles-mêmes et pour comprendre les mécanismes sensoriels qui, dans le système voméronasal, permettent à cette classe d'odorants de déclencher des modifications comportementales et hormonales spécifiques.

Première stratégie de clonage des récepteurs des phéromones

La caractérisation des récepteurs des odorants dans l'épithélium olfactif principal était fondée sur la connaissance préalable des signaux intracellulaires induits par un odorant : l'exposition de membranes de neurones olfactifs à des cocktails d'odeurs entraîne une stimulation rapide de l'activité adénylyl cyclase et une élévation du taux d'AMP cyclique qui va permettre la formation d'un potentiel d'action. L'activation des adénylyl cyclases dépendant de la présence de GTP, Linda Buck et Richard Axel avaient prédit que les récepteurs olfactifs devaient appartenir à la superfamille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Nos efforts initiaux

pour identifier les gènes codant pour les récepteurs des phéromones se fondaient sur l'hypothèse selon laquelle l'épithélium olfactif et l'organe voméronasal ayant vraisemblablement une origine commune au cours de l'évolution, les deux classes de récepteurs devaient partager une certaine similitude de séquence. Cependant, toutes les approches entreprises pour isoler les gènes codant pour les récepteurs du VNO, qui se fondaient sur une analogie de séquence avec les récepteurs olfactifs ou plus généralement avec la superfamille des récepteurs à sept domaines transmembranaires, se sont révélées infructueuses. En outre, l'ensemble des gènes exprimés dans le système olfactif principal et impliqués dans la transduction intracellulaire des signaux olfactifs en potentiels d'action (protéine G, adénylyl cyclase et le canal ionique spécifiques du système olfactif) se sont révélés indécélabiles dans l'organe voméronasal [2, 12, 13]. Cela suggère que, contrairement à notre hypothèse initiale, l'ensemble de la machinerie sensorielle moléculaire du VNO, récepteurs des phéromones et molécules associées chargées de la transduction du signal en potentiel d'action, aurait évolué de façon indépendante de celle du système olfactif principal. Des études électrophysiologiques effectuées de façon indépendante [14] ont confirmé que, contrairement aux neurones olfactifs, les neurones du VNO ne sont pas stimulés par des analogues de nucléotides cycliques.

Comment caractériser des récepteurs inconnus de ligands mystérieux et couplés à un signal intracellulaire insaisissable ?

L'absence totale de renseignements concernant le couplage intracellulaire des récepteurs des phéromones et l'impossibilité manifeste d'isoler les gènes correspondants par analogie avec la superfamille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G nous ont placés dans une situation imprévue. Aucune information n'indique, en effet, à quelle grande famille de récepteurs ils appartiennent. En

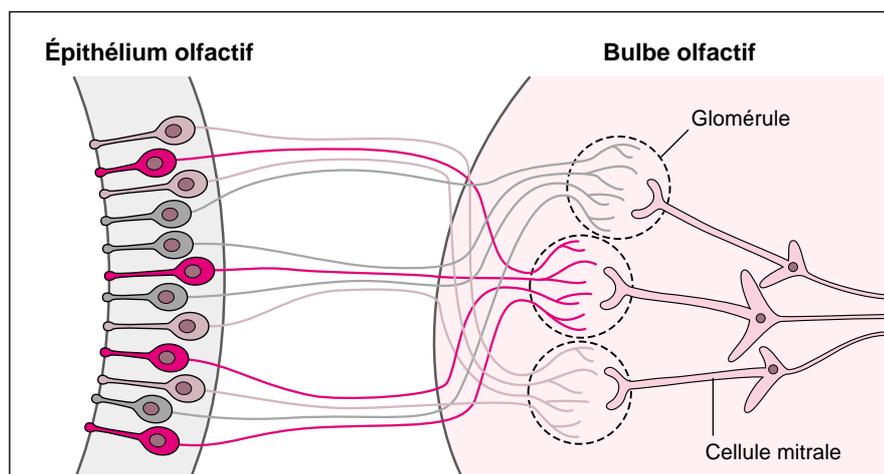


Figure 2. **Modèle de la perception du signal olfactif par le cerveau.** L'isolement des gènes codant pour les récepteurs olfactifs a permis la visualisation de l'organisation topographique des neurones olfactifs et de leurs projections axonales. Un seul type de récepteur est synthétisé par neurone et l'ensemble des neurones synthétisant un même récepteur, bien que dispersés le long de l'épithélium olfactif, envoient leurs axones vers le même site de projection du bulbe olfactif appelé glomérule. Ainsi, une odeur peut être identifiée par le cerveau suite à l'activation d'une région précise du bulbe olfactif.

RÉFÉRENCES

10. Ressler KJ, Sullivan S, Buck LB. Information coding in the olfactory system: evidence for a stereotyped and highly organized epitope map in the olfactory bulb. *Cell* 1994; 79: 1245-55.
11. Ngai J, Chess A, Dowling MM, Neeles N, Macagno ER, Axel R. Coding of olfactory information: topography of odorant receptor expression in the catfish olfactory epithelium. *Cell* 1993; 72: 667-80.
12. Berghard A, Buck LB, Liman ER. Evidence for distinct signalling mechanisms in two mammalian olfactory sense organs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2365-9.
13. Liman E. Pheromone transduction in the vomeronasal organ. *Curr Op Neurobiol* 1996; 6: 487-93.
14. Liman ER, Corey DP. Electrophysiological characterization of chemosensory neurons from the mouse vomeronasal organ. *J Neurosci* 1997 (sous presse).
15. Moran DT, Jafek BW, Rowley III JC. The vomeronasal (Jacobson's) organ in man: ultrastructure and frequency of occurrence. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 545-52.
16. Stensaas LJ, Lavker RM, Monti-Bloch L, Grossier BI, Berliner DL. Ultrastructure of the human vomeronasal organ. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39: 553-60.
17. Garcia-Velasco J, Mondragon M. The incidence of the vomeronasal organ in 1 000 human subjects and its possible clinical significance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991; 39(4B): 561-4.
18. Monti-Bloch L, Jennings-White C, Dolberg DS, Berliner DL. The human vomeronasal system. *Psychoneuroendocrinology* 1994; 19: 673-86.
- outre, si quelques auteurs ont identifié des molécules pouvant reproduire chez l'animal une activité physiologique proche de celle attendue pour des phéromones, il a jusqu'à présent été impossible de détecter une quelconque réponse électrique des neurones du VNO à ces mêmes substances. Ainsi, la nature chimique réelle des phéromones et les mécanismes de transduction du signal déclenchés par la liaison d'une phéromone à son récepteur restent mystérieux.
- Nous avons donc dû développer une stratégie de clonage qui ne reposait sur aucune idée préconçue concernant la classe structurelle des récepteurs que nous recherchions, mais qui exigeait, comme critères absolus, une expression restreinte à l'organe voméronasal et la présence dans la séquence protéique d'un ou plusieurs segments hydrophobes compatibles avec une structure transmembranaire.
- Même si les neurones sensoriels emploient des familles de récepteurs et de seconds messagers différents, la logique de fonctionnement des deux systèmes olfactifs est vraisemblablement identique. Par analogie avec le système olfactif principal, nous avons donc supposé qu'un neurone du VNO choisit d'exprimer un gène unique parmi l'ensemble des gènes codant pour les récepteurs des phéromones, afin que la liaison d'une phéromone à son récepteur soit traduite par l'excitation électrique d'une sous-population neuronale donnée. Par conséquent, deux neurones du VNO pris au hasard ont une très forte probabilité de synthétiser deux récepteurs différents. Nous avons fabriqué des banques d'ADNc à partir de cellules uniques, dans le but d'isoler les transcrits synthétisés de façon différentielle par les neurones sensoriels du VNO. En bref (figure 3), un neurone caractérisé par sa morphologie et la présence d'un axone et d'une dendrite est isolé d'une suspension cellulaire de VNO de rat, et déposé directement par micromanipulation dans un tube de PCR contenant du tampon de lyse. Après lyse cellulaire à 65°C, l'ARN messager est transcrit en ADNc en présence d'une amorce oligodT, puis une terminal-transférase ajoutée à l'ADNc une queue polyA en 5'. Les amorces polyT en 3' et polyA en 5' permettent ensuite l'étape finale d'amplification avec une amorce unique contenant une séquence polyT et les sites de restriction nécessaires pour permettre la ligation ultérieure de l'ADN amplifié dans un vecteur. Une partie de l'ADNc synthétisé à partir de deux neurones isolés du VNO est ensuite liée à des bras de phage λ afin de construire les banques d'ADNc correspondantes. La qualité de ces banques a été contrôlée en vérifiant la présence et la proportion de transcrits codant pour des protéines connues telles que la tubuline et des marqueurs neuronaux spécifiques du système olfactif. Les ADNc synthétisés à partir de deux neurones, neurone VNO1 et neurone VNO2, ont servi de sondes différentielles pour cribler la banque d'ADNc fabriquée à partir du neurone VNO1. Ce criblage nous a permis d'isoler un transcrit présent dans la banque du neurone VNO1 à la fréquence de 0,5 % et hybridant avec l'ADNc issu de VNO1 mais non avec l'ADNc issu de VNO2. L'hybridation *in situ* effectuée avec ce clone a confirmé que ce transcrit n'était synthétisé que par une sous-population de neurones du VNO (figure 4A, 4B) suggérant l'existence d'une famille de récepteurs des phéromones codés par différents gènes dont chacun serait exprimé par une sous-population cellulaire différente.

Découverte d'une nouvelle famille de récepteurs

Le gène isolé grâce au criblage différentiel de banques d'ADNc de cellules uniques a ensuite servi de sonde pour cribler, à faible stringence, une banque d'ADNc préparée, cette fois-ci, de façon classique à partir de plusieurs milligrammes de tissu disséqué d'organe voméronasal de rat. Six nouveaux ADNc ont ainsi pu être isolés, leurs séquences protéiques sont alignées (figure 5). L'analyse de l'hydrophobicité de chacune de ces séquences montre la présence de sept régions très hydrophobes qui représentent des domaines transmembranaires potentiels. Ces molécules adoptent donc vraisemblablement une structure voisine de celle des protéines à sept domaines trans-

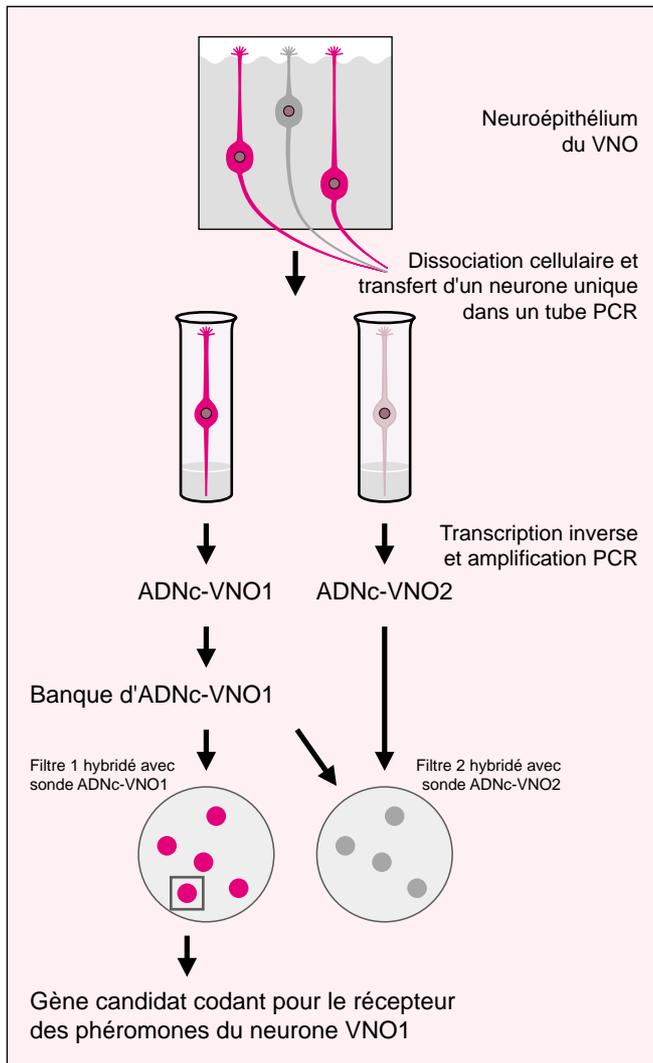


Figure 3. **Stratégie de clonage des récepteurs des phéromones.** L'organe voméronasal disséqué d'un rat adulte est dissocié de telle sorte que les neurones conservent intacts leur axone et leur dendrite. Les neurones sont ensuite micromanipulés sous un microscope et transférés individuellement dans un tube de PCR dans lequel aura lieu l'ensemble des réactions enzymatiques conduisant à la fabrication et à l'amplification de l'ADNc. Plusieurs dizaines de microgrammes d'ADNc sont ainsi obtenus à partir du picogramme d'ARN contenu dans une cellule. L'ADNc issu d'un neurone sensoriel du VNO (VNO1) sert ensuite à fabriquer une banque d'ADNc de cellule unique. Le criblage différentiel de cette banque

rentes. La présence de nombreux neurones du VNO non reconnus par le mélange de sondes suggère l'existence d'autres gènes également exprimés par diverses sous-populations cellulaires. En effet, le criblage d'une banque génomique de rat à faible stringence avec le mélange de sept sondes d'ADNc a permis de détecter l'existence d'au moins 35 gènes de séquence voisine par génome haploïde. L'expression des gènes caractérisés s'est révélée très spécifique de l'épithélium sensoriel de l'organe voméronasal. Aucun signal n'a été observé par hybridation *in situ* dans l'épithélium olfactif principal, dans d'autres régions du système nerveux ou d'autres tissus non nerveux.

Les récepteurs présomptifs des phéromones

Nous avons caractérisé une nouvelle famille de plus de 30 gènes exprimés de façon spécifique par les neurones de l'organe voméronasal de rat. Ces gènes codent pour une nouvelle famille de récepteurs qui adoptent vraisemblablement une structure à sept domaines transmembranaires. Chacun de ces récepteurs est synthétisé par une sous-population neuronale différente dans le VNO. Cet ensemble de propriétés coïncide parfaitement avec celles attendues pour les récepteurs des phéromones; des données fonctionnelles devront prouver de façon définitive que les récepteurs que nous venons de caractériser sont, en effet, capables de lier des molécules dont l'activité physiologique est propre aux phéromones et de transformer cette liaison en potentiel d'action.

L'approche expérimentale que nous avons choisie – le criblage différentiel d'une banque d'ADNc fabriquée à partir d'une cellule unique – nous a effectivement conduits à caractériser des gènes codant pour les récepteurs présomptifs des phéromones. Cette stratégie peut être appliquée de façon plus générale à l'analyse de l'expression spécifique de gènes dans des populations cellulaires hétérogènes. Par exemple, dans le système nerveux, des neurones remplissant des fonctions différentes et projetant leurs axones vers des cibles diffé-

est ensuite effectué en utilisant comme sondes différentielles l'ADNc issu de ce même neurone (VNO1) et l'ADNc synthétisé à partir d'un deuxième neurone du VNO (VNO2). Les clones présents dans la banque d'ADNc de VNO1, hybridant avec l'ADNc de VNO1 mais non avec l'ADNc de VNO2, représentent les gènes potentiels codant pour le récepteur des phéromones caractéristique du neurone VNO1.

membranaires déjà caractérisées. Les sept séquences que nous avons isolées possèdent entre 47 % à 87 % d'acides aminés identiques; les zones les plus divergentes correspondent aux domaines transmembranaires qui, dans les protéines de cette famille, sont supposés être les sites de liaison du ligand. Les différentes molécules que nous avons caractérisées semblent donc susceptibles de lier des ligands différents.

Le profil d'expression de chacun des nouveaux ADNc isolés a été étudié par hybridation *in situ*. Chaque

sonde reconnaît une sous-population cellulaire de l'ordre de 1 % à 4 % des neurones sensoriels du VNO et aucune différence n'a été observée lorsque l'hybridation a été effectuée sur du tissu issu de rat mâle ou femelle (figure 4). L'hybridation effectuée avec le mélange des sept sondes reconnaît environ 15 % des neurones du VNO. Cela correspond à la somme totale du nombre de cellules reconnues par chaque sonde individuelle, impliquant un mode d'expression des gènes isolés par des sous-populations cellulaires diffé-

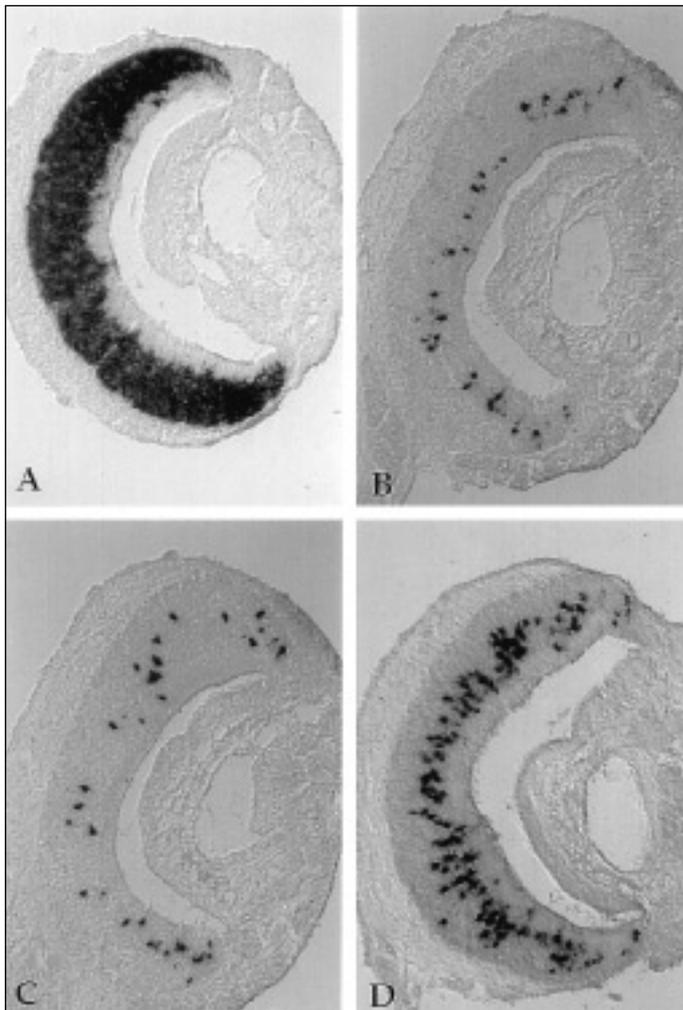


Figure 4. Profil de synthèse des récepteurs potentiels des phéromones par les neurones sensoriels du VNO.

Des expériences d'hybridation in situ sur des coupes coronales de VNO de rat adulte démontrent la localisation exclusive des gènes codant pour les récepteurs potentiels des phéromones dans une sous-population de neurones sensoriels du VNO. A: Hybridation in situ avec la sonde du gène codant pour le marqueur OMP, exprimé dans tous les neurones sensoriels du VNO. B. C: Hybridation in situ avec la sonde du gène isolé de la banque d'ADNc

fabriquée à partir du neurone VNO1 et codant pour un récepteur potentiel des phéromones. Environ 0,5% des neurones sensoriels sont reconnus par la sonde utilisée et aucune différence n'est observée lorsque l'hybridation est effectuée sur de l'organe voméronasal disséqué d'un rat mâle (B) ou femelle (C). D: Lorsque l'hybridation est effectuée avec un mélange de sept sondes, environ 15% des neurones sensoriels du VNO sont reconnus. Cela correspond à la somme totale du nombre de cellules reconnues par chaque sonde individuelle, impliquant un mode d'expression des gènes isolés par des sous-populations cellulaires différentes et suggérant qu'un neurone individuel du VNO ne peut exprimer qu'un seul des gènes testés.

rentes se retrouvent très souvent entremêlés dans une même structure. Dans ces conditions, il a été très difficile jusqu'à présent d'isoler des ARN produits de façon spécifique par une population fonctionnelle donnée de neurones. La possibilité de fabriquer des banques d'ADNc à partir de cellules uniques isolées de groupes de cellules hétérogènes devrait permettre l'identification de gènes importants pour la spécification cellulaire.

A l'heure actuelle, quatre grandes familles de récepteurs potentiels ont été isolées à partir de l'épithélium olfactif [1] et de l'organe voméronasal [2] des mammifères, ainsi que des neurones olfactifs [3] et chémosensoriels [4] de *Caenorhabditis elegans*. Il est très frappant de constater que les récepteurs des phéromones ne partagent aucun motif protéique commun avec les récepteurs olfactifs et, plus généralement, avec un quelconque membre de la superfamille des pro-

téines à sept domaines transmembranaires. Les gènes du VNO constituent donc une nouvelle famille de gènes qui a évolué de façon totalement indépendante de l'ensemble des gènes codant pour la superfamille de récepteurs à sept domaines transmembranaires et couplés aux protéines G.

Les récepteurs des phéromones chez l'être humain

Jusqu'à une date très récente, le VNO n'avait pas d'existence reconnue chez l'homme ou était vu, tout au plus, comme une structure vestigiale sans aucune fonction. Pourtant, plusieurs auteurs ont récemment montré que toutes les biopsies de cavité nasale adulte contenaient une structure voméronasale intacte [15-17] et que des composés chimiques extraits de peau déclenchaient une réponse électrique du VNO humain [18]. Cependant, les conséquences physiologiques et comportementales de l'activation du VNO humain restent très évasives, l'éducation et l'apprentissage étant des facteurs essentiels du comportement humain. Au cours d'expériences préliminaires, nous avons identifié dans une banque de génome humain des séquences semblables à celle des récepteurs des phéromones de rongeurs. Mais de nombreuses études sont encore nécessaires pour affirmer que ces récepteurs sont fonctionnels ■

Remerciements

Le travail décrit dans cet article a été effectué à l'Université Columbia de New York en collaboration avec Richard Axel, et financé par le Howard Hughes Medical Institute. Je tiens à remercier M.C. Labastie, C. de Firmas et C. Théry pour leurs commentaires critiques sur ce manuscrit.

TIRÉS À PART

C. Dulac.

	I	II	
VN1	MMNKNRSLYTDNIRNTFFAEIGIGVANSNLLLLFNIFKLIICGQRSRLTDLPIGLLSSLINLLMLLMTAFIATDTFISWRGW		81
VN2	MMNKNRSLHIDSNIRNTFFTEIGIGVANSNLLLLFNIFKFIHGQRSRLTDLPIGLLSSLINLLMLLIMACIATDIFISCRRW		81
VN3	MMNKNRSHVTDSTIRNTFSTEIGIGILANSFLLLFHIFKFIIRGQRSDLTDLPIGLLSSLIHLLMLLMGAFIADIFISWRGW		81
VN4	MNKDNTLHVDTIMKITMFSVSVGILANSILFFGHLCMLLGENKPKPIHLYIASLSLTQLMLLITMGLIAADMFSQGIW		80
VN5		FSHLFMLFEKNRSKPIDLYIAFLSLTQLMLLITIGLIAADMFSRGRW	47
VN6	MRRISTLYGVVDKQAIFFSEVVGISFNSILFHFHIFQFLERLRITDLIISLALIHGLMGLTVMGFRAVDIFASQNVW		80
VN7	MMNPVLWL----QMTNMISYQGLVVRTFPNSILFFAHLCMFFEENRSKPIDLCIAFLSLTQLMLLVTMGLIAADMFMAGGIW		81
	III	IV	
VN1	DDIICKSLLLYLRTFRGLSLCTSCLLSVLQAIILSPRSSCLAKFKHKPSHHISCAILSLSVLYMFISSHLLVSIATPNLT		162
VN2	DDIICKSLLLYLRTFRGLSLSTTCLLSVLQAIILSPRSSCLAKYKHKPPHHIFCAMLFLSVLYMFISSHLLLSIATPNLT		162
VN3	DDIICKFLVLYLRSFRGLSLCTTCLLSVLQAITLSPRSSCLAKFKHKSPHHVSCAIIISLILYMFISHHLLVSIATPNLT		162
VN4	DSTSCQSLIYLHRLSRGFTLSAACLLNVFWMITLSSKKSCLTKFKHNSPHHISGAFLLLCVLYMCFSSHLLLSIATPNLT		161
VN5	DSTTCQSLIYLDRLLRGFTLCATCLLNVLWTITLSPRSSCLTKFKHKSPHHISGAFLLFCVLYISFGSHLFLSTIATPNLT		128
VN6	NDIKCKSLAHLRLLRGLSLCATCLLSIFQAITLSPRSSCLAKFKYKSTQHSLSLVLWAFYMSCGTHYSFTIVADYNFS		161
VN7	DITTCRSLIYFHRLLRGFNLCACCLLHILWTFITLSPRSSCLTKFKHKSPHHISGAYLFFCVLYMSFSSHLLVLIATSNLT		162
	V		
VN1	TNDFIHVTQWCSILPMSYLMQSMFSTLLAIRDVFLISLMLVSTWYVALLCRHRKQTRHLQGTSLSPKASPEQRATRISILM		243
VN2	TNDFIHVSQSCSILPMSYLMQSMFSTLLAIRNVFLISLIVLSTWYVALLCRHRKQTRHLQGTSLSRKASPEQRATRISILM		243
VN3	TNNFMQVTQSCYIIPLSYLMQSMFSTLLAIRDISLISLMLVSTCYMEVLLCRHRNQIQHLQGTNLSPKASPEQRATQTILM		243
VN4	SDNFMVYVTKSCSFLPMSYLRSTSMFSTTIAVREAFFIGLMLSSGYLVAFWRHRKQAQHLHSTGLSSKSSPEQRATETIIL		242
VN5	SDNFMVYVTKSCSFLPMSYLRSTSMFSTPMAIREALLIGLIGLSSGYMVAFLWRHKNQARHLHSTSLSSKVSPEQRATRTIMI		209
VN6	SRSLIFVTESCIILPMDYITRHLFFILGIFRDVSFGLMLSSGYMVAFLWRHRKQAQHLHRTSLSPKASPEQRATRTIIL		242
VN7	SDHFMVYVTKSCSFLPMSYLRSTSTFSLMVTREVFLLISLMLSSGYMVTLLWRHKKQAQHLHSTRSSKASPQRATRTIIL		243
	VI	VII	
VN1	LMSLFLVMSVFDIVCSRTMYLNDPISYSYQLFMVHIYATVSPFVFIVTEKHIVNSLRSMCVKVECLNIP		315
VN2	LRSLFGLMSIFDSIASCRTMYLNDPISYSYQLLVVHIYATVSPFVFIVTEKHIVNYLKSVMYRVLNV		311
VN3	LMTFFVLMISIFDSIVCSRTMYLNDPISYSYQIFGVDIYATVSPFVFIVTEKHIVNFKSMCVRVKNV		311
VN4	LMSFFVVLVIENVVVYSSRMFKDGSFTYCVQIIVSHSYATVSSVVFIVTEKRMTKILRSVCARIINN		310
VN5	LMSFFVVLVIENVVVYSSRMFTKDGSMFYCVQIIVSHSYATVSPFVFIVTEKRIKLVGSMSSRIVSI		277
VN6	LMSFFVLMYCLDCTISASRLMHNGEPIHHSIQMMVSNSYATLSPLLIVTENRISRFLLKSLGRVTVDA		310
VN7	LMTFFVVFYILGTVIFHSRTKFKDGSIFYCVQIIVSHSYATVSPFVFVFEKRIKFFRSMCGRIVNT		311

Figure 5. **Séquence protéique des récepteurs potentiels des phéromones.** Les séquences en acides aminés de sept gènes (VN1 à VN7) isolés du VNO et codant pour les récepteurs potentiels des phéromones sont alignées. La position des régions hydrophobes est indiquée (I à VIII), et les acides aminés présents dans plus de cinq gènes sont représentés en rouge.

Summary

Molecular biology of pheromone perception in mammals

In mammals, olfactory sensory perception is mediated by two anatomically and functionally distinct sensory organs: the main olfactory epithelium (MOE) and the vomeronasal organ (VNO). Pheromones activate the VNO and elicit a characteristic array of innate reproductive and social behaviors, along with dramatic neuroendocrine responses. Differential screening of cDNA libra-

ries constructed from single sensory neurons from the rat VNO has led to the isolation of a family of about 30 putative receptor genes. Sequence analysis indicates that these genes comprise a novel family of seven transmembrane domain proteins unrelated to the receptors expressed in the MOE. Moreover, the expression of each member of the gene family is restricted to a small subpo-

pulation of VNO neurons. These genes are likely to encode mammalian pheromone receptors. The isolation of the genes encoding the pheromone receptors from VNO neurons might provide insight into the chemical nature of the pheromones themselves, the logic of olfactory coding in the VNO, and the way in which perception of this class of odors leads to innate behaviors.

22^e Symposium Européen Hormones et Régulation cellulaire

avec l'aide de l'INSERM

Mont-Sainte-Odile (Alsace, France) 3-6 octobre 1997

L'AMP cyclique de la membrane plasmique au noyau : adénylyl cyclases, protéines G trimériques, phosphodiésterases, régulation des gènes, régulations complexes et pathologiques.

J.A. Beavo (US); L. Birnbaumer (USA); J. Bockaert (F); A. Danchin (F); J. Dumont (B); R. Fischmeister (F); P. Gierschik (G); A. Gilchrist (US); T. Guderman (G); M. Houslay (UK); M. Lohse (G); S. Loterzajtjn (F); C. Lugnier (F); N. Mons (F); M. Montminy (US); A. Munnich (F); S. Offermanns (G); E. Pays (B); J. Saez (F); D. Storm (US); P. Sassone Corsi (F); G. Schütz (G); E. Tzavara (Gr).

Date limite de soumission des résumés et d'inscription : 15 juin 1997

Information et inscription : Dr J. Hanoune, Symposium Ste Odile, INSERM U. 99, Hôpital Henri-Mondor - 94010 CRÉTEIL, France. Fax : 33 1 48 98 09 08 @mail : hanoune@im3.inserm.fr.