

Histones et polyamines interviennent dans la stabilité de l'information génétique

Le rôle structural des histones est bien connu : elles sont responsables de l'organisation en chapelet de la fibre chromatinienne et aussi des structures d'ordres supérieurs de la chromatine. La chromatine contient aussi des polyamines ; leur rôle est moins bien compris, mais on sait que leur concentration augmente fortement quand les chromosomes doivent se multiplier. Les travaux réalisés ces dernières années par l'équipe du professeur Walter Verly (université de Liège, Belgique) suggèrent que histones et polyamines pourraient avoir aussi un rôle fonctionnel important : sans elles, l'information génétique portée par l'ADN risquerait de s'effacer progressivement.

L'ADN perd spontanément des bases qui sont les lettres de l'alphabet génétique. Cette perte est accélérée quand la base est altérée par des agents chimiques ou physiques, que cette perte reste spontanée ou qu'elle soit catalysée par des enzymes appelées ADN glycosylases. Dans tous les cas, apparaissent des sites sans base, dits sites AP (apuriniques ou apyrimidiniques). L'entretien du message génétique exige la réparation des sites AP, réparation qui commence par leur excision.

Au début des années 1970, l'équipe de W. Verly, alors à Montréal, avait trouvé, dans les cellules de mammifères, une enzyme qui reconnaît les sites AP et coupe la chaîne d'ADN devant (c'est-à-dire du côté 5') la lésion par hydrolyse de la liaison phosphodiester, donnant naissance à une extrémité 3'-hydroxyle (figure 1). Quelques années plus tard, la même équipe montrait que l'enzyme appelée AP endonucléase était localisée principalement dans la chromatine. En revanche, on ne connaît, dans les cellules de mammifères, aucune enzyme capable d'hydrolyser une liaison phosphodiester derrière (c'est-

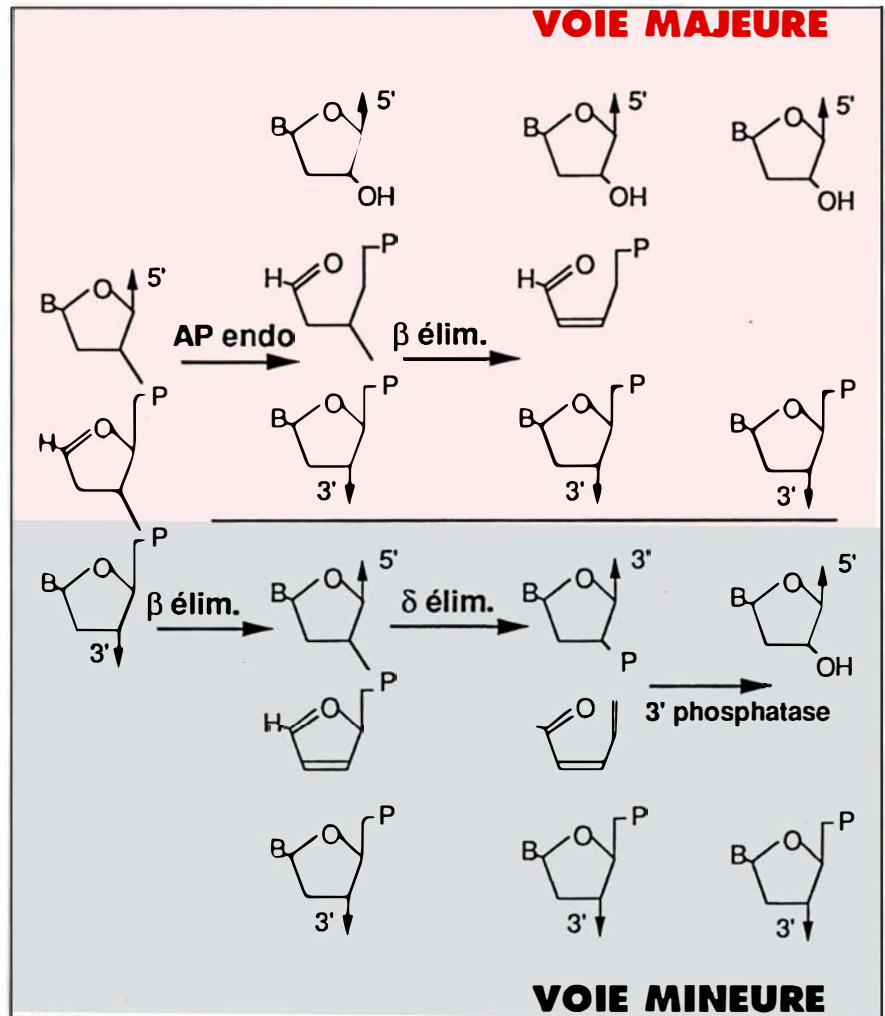


Figure 1. **Les deux mécanismes d'excision des sites AP dans les cellules de mammifères.** A gauche, un segment trinucleotidique d'une chaîne d'ADN ayant perdu une base (B) ; le site AP est ici l'unité centrale du trimère. La voie majeure (en haut) d'excision du site AP fait intervenir successivement l'hydrolyse de la liaison phosphodiester (P) du côté 5' du site AP par l'AP endonucléase et la coupure du côté 3' par β -élimination catalysée par une histone ou une polyamine ; la perte d'un sucre-phosphate laisse un trou d'un nucléotide bordé par un 3'-hydroxyle et un 5'-phosphate. La voie de secours (en bas) commence par la coupure du côté 3' du site AP par β -élimination catalysée par une histone ou une polyamine qui catalyse aussi la deuxième étape de δ -élimination ; la perte d'un sucre laisse un hiatus bordé par un 3'-phosphate et un 5'-phosphate ; la 3'-phosphatase chromatinienne hydroxyle le 3'-phosphate en 3'-hydroxyle pour donner le même trou d'un nucléotide que dans la voie majeure. Ce trou est comblé par l'ADN-polymérase β et la réparation est terminée par l'ADN-ligase (ces deux dernières étapes ne sont pas représentées sur la figure).

à-dire du côté 3') le site AP ; comment, dès lors, le site AP pouvait-il être excisé ? C'est ce problème qui a été l'objet des études plus récentes de l'équipe liégeoise qui a fait trois observations potentiellement importantes : (1) après coupure en 5' du site AP par l'AP endonucléase, la liaison phosphodiester en 3' se rompt spontanément par une réaction de β -élimination (*figure 1*) ; cependant, en l'absence de catalyseur, la demi-vie du site AP reste longue (deux heures à 37°C) ; (2) histones et polyamines sont des catalyseurs de β -élimination qui réduisent cette demi-vie à quelques minutes, voire quelques secondes ; (3) si la réparation commence par la coupure en 3' du site AP par β -élimination, l'AP endonucléase est incapable de couper du côté 5'. Mais histones et polyamines, qui ont catalysé la β -élimination, peuvent aussi catalyser, bien que plus lentement, une coupure du côté 5' du site AP par δ -élimination (*figure 1*). Cette coupure laisse un 3'-phosphate, mais la chromatine contient

une 3'-phosphatase qui hydrolyse le 3'-phosphate en 3'-hydroxyle.

Ces observations conduisent les chercheurs liégeois à proposer deux voies de réparation de l'ADN qui a perdu des bases (*figure 1*) dans les cellules de mammifères.

- **La voie majeure** comporte quatre étapes : coupure du côté 5' du site AP par l'AP endonucléase ; coupure du côté 3' par une histone ou une polyamine catalysant une β -élimination ; comblement du trou d'un nucléotide par l'ADN-polymérase β qui utilise la chaîne complémentaire intacte comme matrice (ce qui assure la fidélité de la réparation) ; rétablissement de la continuité de la chaîne polynucléotidique par l'ADN-ligase.

- **La voie de secours** comporte cinq étapes : coupure du côté 3' du site AP par β -élimination catalysée par une histone ou une polyamine se produisant exceptionnellement avant que l'AP endonucléase n'ait eu le temps d'intervenir et empêchant cette enzyme de couper du côté 5' ; coupure du côté 5' par δ -élimination

aussi catalysée par une histone ou une polyamine ; hydrolyse du 3'-phosphate en 3'-hydroxyle laissant le même trou d'un nucléotide qu'après la deuxième étape de la voie majeure ; polymérisation ; ligation. Les deux voies de réparation ont été reproduites *in vitro* à l'aide de réactifs purifiés ; elles rétablissent l'ADN tel qu'il était avant d'avoir perdu des bases : l'information génétique est complètement restaurée.

W.V.

1. Bailly V, Verly WG. Possible roles of β -elimination and δ -elimination reactions in the repair of DNA containing AP (apurinic/aprimidinic) sites in mammalian cells. *Biochem J* 1988 ; 253 : 553-9.

2. Bailly V, Verly WG. The multiple activities of *E. Coli* endonuclease IV and the extreme lability of 5'-terminal base-free deoxyribose-5-phosphate. *Biochem J* 1989 ; 259 : 761-8.

3. Bailly V, Verly WG. δ -elimination in the repair of AP sites in DNA. *Biochem J* 1989 ; 261 : 761-8.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ **Un troisième récepteur β -adrénergique.** Les récepteurs adrénergiques β_1 et β_2 sont bien caractérisés ; leurs ADNc ont été clonés et leurs structures protéiques sont connues. Des données de pharmacologie et de physiologie laissaient cependant supposer qu'existait une troisième classe de récepteurs « atypiques », jouant un rôle important dans des processus métaboliques tels que la thermogénèse et la synthèse de glycogène dans le muscle soléaire. Des agonistes particuliers stimulaient en effet très efficacement ces processus alors qu'ils n'avaient que peu d'influence sur les récepteurs β_1 et β_2 . L'équipe de D. Strosberg (Institut Pasteur, Paris) vient de parvenir à cloner un ADNc qui code pour un récepteur β_3 dont les propriétés indiquent qu'il pourrait correspondre à ces récepteurs atypiques [1]. Ce résultat fut obtenu grâce au criblage d'une banque d'ADN génomique humain par une sonde d'ADNc du récepteur

β_1 de dinde et β_2 humain. Le récepteur β_3 est à environ 50 % identique à β_1 et β_2 (qui sont eux-mêmes à 50 % identiques entre eux). Ses messagers, de 4,1 et 2,8 kb, sont peu abondants. Des cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) transfectées par un plasmide permettant l'expression de l'ADNc, synthétisent le récepteur β_3 et répondent aux agonistes β -adrénergiques ; les plus puissants de ceux-ci étant ceux supposés antérieurement reconnaître les récepteurs « atypiques ». Les antagonistes classiques des récepteurs β_1 et β_2 sont ici peu efficaces. Les récepteurs β_3 seraient une cible possible d'agonistes à action anti-obésité et antidiabétique, du moins chez l'animal d'expérience. C'est dire le probable intérêt pharmacologique des recherches de nouveaux modulateurs de ce récepteur que va autoriser sa caractérisation.

[1 Emorine LJ, *et al. Science* 1989 ; 245 : 1118-21.]

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ Les cellules chromaffines produisent le *basic fibroblast growth factor* (bFGF), un facteur neurotrophique actif sur les neurones du système sympathique [1]. On savait que le bFGF était présent dans les cellules chromaffines de la médullosurrénale. Il est démontré à présent que le blocage spécifique de son activité dans des co-cultures de cellules chromaffines et de neurones de ganglion ciliaire de poulet élimine l'effet neurotrophique normalement observé. *In vivo*, la destruction des cellules chromaffines entraîne secondairement la mort de neurones sympathiques préganglionnaires de la moelle épinière. Cette atteinte secondaire est prévenue par le remplacement de la médullosurrénale par un tampon imprégné de bFGF. Un des mécanismes envisagés pour expliquer les effets thérapeutiques des greffes de cellules médullosurrénales dans le cerveau de malades parkinsoniens, était la production de facteurs neurotrophiques provoquant un renforcement local de l'innervation catécholaminergique. Dans le cas où l'implication du bFGF serait démontrée à ce niveau également, les autogreffes surrénales — dont la morbidité est élevée — pourraient peut-être laisser la place à de simples applications locales de bFGF.

[1. Blottner P, et al. *Eur J Neurosci* 1989 ; 1 : 471-8.]

■■■ Des premiers résultats du transfert de « lymphocytes activés » génétiquement modifiés chez des malades atteints de mélanomes. L'autorisation donnée le printemps dernier à R.M. Blaese et S.A. Rosenberg du NCI et à W.F. Anderson du *Heart Institute*, de réimplanter à des malades des cellules génétiquement modifiées a fait grand bruit. Rappelons qu'il s'agissait de contrôler le devenir de TIL (*tumor-infiltrating lymphocytes*), lymphocytes provenant de la tumeur de malades, cultivés et stimulés *ex vivo* par l'interleukine-2, puis réinjectés aux malades recevant également de l'interleukine-2 selon le protocole LAK (*lymphokine-activated killer-cells*),

décrit dans *médecine/sciences* par W.H. Fridman (*m/s* n° 8, vol. 3, p. 490). Ce traitement n'est pas toujours efficace (des résultats sont observés dans un peu moins de 50 % des cas de mélanome), si bien que la question se posait des causes des échecs ; il pouvait s'agir, notamment, d'une élimination rapide des lymphocytes réinjectés, ou bien de leur localisation en dehors du tissu tumoral. Pour résoudre ces problèmes, S.A. Rosenberg et al. ont intégré dans les TIL un marqueur génétique, le gène bactérien de résistance à un antibiotique actif sur les cellules animales, la généticine (ou G-418). Il est dès lors possible de suivre le cheminement, la localisation et la durée de vie des cellules réimplantées. Les premiers résultats — par ailleurs intéressants sur le plan thérapeutique — montrent que les TIL ainsi modifiés se sont bien localisés, notamment dans les tumeurs, et qu'ils persistaient dans la circulation sanguine trois semaines après l'injection. Le comportement de ces cellules ne semble en aucune manière modifié par le transfert de gène, ce qui n'est pas vraiment une surprise.

[1. Culliton BJ. *Science* 1989 ; 245 : 1325.]

■■■ Une aire du cortex cérébral spécialisée dans la vision des couleurs existe dans le lobe occipital chez l'homme. Les expériences électrophysiologiques avaient démontré l'existence d'un groupe de neurones répondant spécifiquement à la vision des couleurs chez le singe. L'absence de troubles spécifiques d'une telle vision chez l'homme lors de lésions ponctuelles du cortex cérébral avait, jusqu'alors, empêché les neuropsychologues de définir une aire comparable, la vision des couleurs semblant disparaître en même temps que la vision précise des formes lors des lésions des aires visuelles primaires. Ce sont de nouveau des expériences de tomographie par émission de positons (PET-scan) qui ont permis à l'équipe de Frackowiak (Londres, GB) la mise en évidence de cette région [1]. La localisation des augmentations transitoires du flux san-

guin a été étudiée chez des sujets auxquels on demandait de regarder un *stimulus* coloré supposé « non-significatif » (un tableau de Piet Mondrian) et son équivalent en noir et blanc. Par soustraction entre les deux images, on a isolé une région occipitale active uniquement lorsque le *stimulus* était coloré. Les (rares) personnes insensibles à l'art de Mondrian ont à présent une justification organique toute trouvée...

[1. Lueck CJ, et al. *Nature* 1989 ; 340 : 386-9.]

■■■ Le sang de cordon peut-il être utilisé pour réaliser des greffes de moelle ? La greffe de moelle osseuse est réalisée de plus en plus souvent pour traiter des leucémies, des aplasies médullaires, certains types de déficits immunitaires, voire certaines anomalies héréditaires du métabolisme. Les donneurs sont habituellement des membres de la fratrie, mais l'utilisation de donneurs non apparentés identiques pour les antigènes HLA est de plus en plus fréquente. Il faut néanmoins, pour avoir des chances raisonnables de trouver un donneur identique, disposer d'un fichier très important de donneurs potentiels (250 000 donneurs répertoriés permettent d'avoir environ 59 % de chances d'en trouver un identique à un receveur donné). Le sang fœtal est riche en cellules fraîches hématopoïétiques (2 millions de précurseurs érythroïdes pour 100 ml) et peut être aisé à obtenir sous la forme du sang placentaire (sang de cordon ombilical) prélevé à la naissance. De 75 à 200 ml d'un tel sang pourraient être obtenus à chaque naissance [1]. De nombreuses études complémentaires sont nécessaires pour apprécier si un tel matériel est efficace, s'il crée spontanément des réactions du greffon contre l'hôte et s'il peut être préalablement traité (par tri cellulaire ou irradiation), pour éviter une telle complication. Si ces essais sont concluants, on disposera peut-être d'une vaste collection de matériel permettant de faire face à la demande croissante de greffes de moelle.

[1. Broxmeyer HE, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 3828-32.]