

■■■ **Mais quel âge a cet ADN et dans quel état est-il?** L'ADN ancien : un trésor pour les spécialistes de l'évolution moléculaire ou une duperie [1]? Certains groupes ont maintenant rapporté avoir amplifié, grâce à la technique PCR, de l'ADN d'insectes pris dans de l'ambre (*m/s n°8-9, vol. 9, p. 985*), dans des plantes fossilisées et même dans de l'os de dinosaures conservés dans du charbon (*m/s n°4, vol. 11, p. 631*), soit des prélèvements dont l'âge va jusqu'à 135 millions d'années. Mais l'ADN n'est pas la plus stable des molécules, et de nombreux sceptiques pensent que cet ADN « ancien » n'est rien d'autre que celui de divers contaminants modernes tels que des bactéries. Il fallait donc un test qui puisse indiquer si un spécimen ancien peut contenir de l'ADN. Un groupe international de chercheurs [2] vient de décrire que la racémisation des acides aminés dans les protéines se produit à la même vitesse que la dégradation de l'ADN. Tous les acides aminés, à l'exception de la glycine, peuvent exister sous forme de deux isomères optiques (les énantiomères D et L). Mais, seul l'énantiomère L est utilisé lors de la biosynthèse des protéines. Une fois isolés des processus métaboliques actifs, les acides aminés L subissent une racémisation (passage de la forme L à la forme D) jusqu'à ce que, éventuellement, un acide aminé particulier soit pour 50 % sous sa forme L et pour 50 % sous sa forme D. La vitesse de survenue de la racémisation dépend de la présence d'eau, de la température et de la chélation de certains ions métalliques par les protéines. La racémisation est donc affectée par certains facteurs qui interviennent dans la dépurination de l'ADN, la réaction hydrolytique majeure responsable de la dégradation spontanée des acides nucléiques. Le taux de racémisation de l'acide aspartique (Asp) est l'un des plus élevés et est similaire à celui de la dépurination de l'ADN. En utilisant des contrôles positifs (des prélèvements anciens

où de l'ADN avait été isolé et qui répondaient à des critères stricts d'authenticité) et des contrôles négatifs (des prélèvements anciens où aucun ADN n'avait pu être amplifié), les auteurs ont montré que sur 26 prélèvements organiques archéologiques et paléontologiques datant de 50 000 ans à 40 000 ans, de l'ADN intact ne pouvait être retrouvé que lorsque le rapport des concentrations D/L de l'Asp était inférieur ou égal à 0,08. En outre, une relation a été trouvée entre l'importance du taux de racémisation et la taille de l'ADN amplifié (de 120 pb pour D/L Asp à 0,08 à 340 pb pour D/L Asp à 0,05). Quand les auteurs ont analysé des prélèvements plus vieux (17 à 65 millions d'années), la valeur de D/L Asp inférieure à 0,08 n'a été retrouvée que pour le matériel préservé dans de l'ambre. Le rapport D/L Asp des os de dinosaures est de 0,17 rendant très improbable que l'on puisse y trouver de l'ADN, contrairement à ce qui avait été publié (*m/s n°4, vol. 11, p. 631*). Ainsi donc, il semble que seule l'ambre, qui est une forme de résine d'arbre, soit capable de préserver les molécules biologiques de leur dégradation hydrolytique afin de livrer à notre curiosité leurs secrets vieux de plusieurs millions d'années.

[1. Service RF. *Science* 1996, 272: 810.]

[2. Poinar HN, *et al. Science* 1996; 272: 864-6.]

■■■ **Raccourcissement accéléré des télomères dans l'ataxie-télangiectasie.** Les mécanismes pathogéniques survenant dans l'ataxie télangiectasie (AT) sont d'un intérêt capital pour la compréhension du fonctionnement cellulaire. C'est pourquoi *médecine/sciences* se fait régulièrement l'écho de toutes les connaissances nouvelles concernant cette redoutable et complexe mala-

die génétique. Outre l'ataxie cérébelleuse progressive et les dilata-tions des capillaires (télangiectasies) qui lui ont donné son nom, elle comporte un déficit immunitaire, une prédisposition aux cancers et leucémies, une radiosensibilité anormale et un vieillissement précoce. On s'attendait à trouver plusieurs gènes en raison des quatre types de complémentation établis *in vitro*. Il n'en existe qu'un seul, *ATM (ataxia telangiectasia mutated)*, qui code pour une protéine ressemblant à la PI-3 kinase [1]. Elle doit intervenir dans la transmission de signaux multiples au sein de la cellule mais on ne connaît pas encore son rôle exact. Pour le préciser, l'approche chromosomique n'est pas sans intérêt. On sait que les lymphocytes AT présentent des cassures, de nombreux remaniements (dont certains intéressent préférentiellement les chromosomes 7, 14, 2 et 22 en des sites où se trouvent des gènes codant pour les chaînes d'immunoglobulines), et enfin des fusions de télomères [2]. Ces fusions télomériques, qui peuvent porter sur n'importe quelle paire chromosomique, s'observent aussi dans certains cancers [4]. Une équipe anglaise de Birmingham s'intéresse depuis plus de dix ans à ces fusions télomériques des lymphocytes AT et elle vient de publier des résultats fort intéressants sur les relations pouvant exister entre les fusions télomériques, la longueur des télomères et l'activité de la télomérase [5]. Déjà en 1995, Jean-Claude Dreyfus soulignait l'importance de ces régions terminales des chromosomes, dont dépendent les capacités répliquatives des cellules [6]. Faites de répétitions de l'hexamère TTAGGG, elles sont sous la dépendance de la télomérase, qui sert de matrice à la réplication de leur ADN. Dans les cultures *in vitro*, le potentiel de divisions des cellules est corrélé à la longueur des télomères. Chez l'homme, la taille des télomères, génétiquement programmée, diminue progressivement avec l'âge. Enfin, dans des conditions

d'hyperoxie, la réduction de leur longueur est due à des cassures monobrins, alors que l'activité télomérasique est normale. Les résultats de l'étude anglaise démontrent qu'il existe un raccourcissement anormal des télomères dans les lymphocytes AT comparés à des lymphocytes de sujets normaux du même âge. Il est tentant de corréliser cette diminution de longueur des télomères au vieillissement prématuré que l'on observe chez les sujets AT. Les fusions observées en sont peut-être la conséquence. Mais on peut affirmer qu'elle ne résulte pas d'une diminution de l'activité télomérasique puisque celle-ci est présente dans les lymphocytes AT comme dans les lymphocytes témoins. Enfin, les cellules tumorales ou leucémiques des sujets AT ne montrent pas de fusions télomériques; par conséquent, ni les fusions, ni le raccourcissement des télomères ne semblent jouer un rôle dans la tumorigénèse.

- [1. Kahn A. *médecine/sciences* 1995; 11: 1189-90.]
- [2. Aurias A. *médecine/sciences* 1994; 10: 957-61.]
- [3. Taylor AMR, et al. *Int J Cancer* 1981; 27: 311-9.]
- [4. Pathak S, et al. *Cytogenet Cell Genet* 1988; 47: 227-9.]
- [5. Metcalfe JA, et al. *Nature Genet* 1996; 13: 350-3.]
- [6. Dreyfus JC. *médecine/sciences* 1995; 11: 279-81.]

■■■ **Syndrome de Stickler et collagène de type II.** Dans l'arthropathie progressive héréditaire, de sévères troubles oculaires (myopie avec dégénérescence chorioretinienne pouvant se compliquer de décollement de rétine et/ou de glaucome) sont associés à des atteintes articulaires avec lésions des cartilages, atteignant principalement les chevilles, les poignets, les coudes et les hanches. Cette maladie autosomique dominante est plus commu-

nément connue sous le nom de syndrome de Stickler. Ce médecin en avait fait une description clinique soignée en 1965 [1] à partir d'une famille du Minnesota suivie à la Mayo Clinic (Rochester, Minnesota) et dont le docteur C.H. Mayo lui-même avait examiné quelques membres dès 1897. Dans environ 50 % des cas de syndrome de Stickler, on trouve des mutations dans le gène codant pour la chaîne  $\alpha$  du collagène de type II (COL2A1). Dans la famille ayant permis d'individualiser ce syndrome, l'analyse moléculaire vient aussi de retrouver une mutation dans le gène COL2A1 [2]. Il s'agit d'une transition  $A^{-2} \rightarrow G$  sur le site accepteur d'épissage de l'intron 17 qui entraîne son remplacement par un nouveau site d'épissage cryptique dans l'exon 18, avec pour conséquence l'apparition d'un codon stop prématuré à 645 pb en amont. Cette mutation, d'abord mise en évidence chez un des malades par séquençage direct de l'ADN génomique amplifié par PCR entre les exons 17 et 20, fut ensuite retrouvée chez tous les sujets atteints de la famille, et exclusivement chez eux. C'est la première fois qu'une mutation dans un site d'épissage est observée dans la forme classique du syndrome de Stickler. Cependant, dans les cas de syndrome de Stickler où le gène COL2A1 n'est pas en cause, on peut s'attendre à ce que d'autres gènes de la matrice extracellulaire soient impliqués, en particulier COL11A2.

- [1. Stickler GB, et al. *Mayo Clinic Proc* 1965; 40: 433-55.]
- [2. Williams CJ, et al. *Am J Med Genet* 1966; 63: 461-7.]

■■■ **Comment modifier l'expression de l'hémoglobine A<sub>2</sub> dans le globule rouge? ... mais est-ce souhaitable?** Bien qu'issus d'un gène ancestral commun par duplication et situés en liaison sur le chromosome 11, les deux gènes de globine adultes ont une expression totale-

ment différente. L'hémoglobine (Hb) A<sub>2</sub> est normalement très minoritaire (2,5 %), classiquement augmentée au cours des  $\beta$ -thalassémies (5 %), avec une nette séparation entre les deux groupes de valeurs. Une série de cas au cours desquels est observée une élévation exceptionnelle de ce taux (>6,5 %) coïncide toujours avec une délétion partielle du promoteur du gène  $\beta$ -globine et a été attribuée à la disponibilité d'éléments régulateurs normalement compétents au niveau de ce gène [1]. Les mécanismes responsables de ce défaut d'expression, encore imprécis, viennent sans doute d'être élucidés par deux équipes du NIH et de l'Université de Pennsylvanie [2]. L'étude est partie d'une comparaison informatisée des séquences promotrices de gènes humains et de différents primates. Deux différences majeures sont constantes dans toutes les espèces chez lesquelles est constaté un taux faible d'expression de la chaîne  $\delta$ : (1) le motif CCAAT, consensus de fixation du facteur ubiquitaire CP1, est substitué en position -70 pb par un motif CCAAC; (2) la boîte CACCC, séquence consensus de fixation du facteur EKLF (*erythroid kruppel like factor*), située dans le promoteur  $\beta$  en position -85 pb, n'est pas retrouvée. Il existe, en outre, entre les gènes  $\beta$  et  $\delta$ , des différences importantes au niveau du second intron qui semblerait jouer un rôle dans la stabilité de l'ARNm  $\beta$ . A partir de ces constatations, des mutations ont été effectuées dans un promoteur  $\delta$  (-612 à +68 pb) dont l'expression a été mesurée par un gène rapporteur luciférase, après transfection de cellules K562 ou MEL. On a pu observer une augmentation additive de l'expression par introduction successive d'une boîte CCAAT, puis d'un site de fixation du facteur EKLF (CCA CAC CCT). Le phénomène n'est pas observé dans des cellules HeLa et a donc une spécificité érythroïde. La possibilité d'une application pratique de cette constatation s'est alors posée. On savait,

en effet, depuis longtemps que les spécificités de structure de la chaîne  $\delta$ -globine, en particulier au niveau des positions  $\delta 22$  (B4) et  $\delta 87$  (F3) interfèrent avec la polymérisation de l'Hb S et font de l'HbA2 un inhibiteur au moins aussi efficace que l'Hb F de cette polymérisation [3]. Le projet d'une équipe de l'Université d'Alabama, dans la perspective d'une stratégie d'abord thérapeutique de la drépanocytose, a été d'activer l'expression du gène  $\delta$ -globine par EKLF [4]. La construction de gènes chimères modifiant simultanément les séquences de fixation du promoteur  $\delta$  et le facteur EKLF lui-même pour accroître sa fixation ont permis, sous contrôle du site hypersensible HS2 du LCR, d'obtenir en lignées cellulaires un taux d'expression de l'ARNm  $\delta$  avoisinant 30 %. Une possibilité de thérapie génique inspirée de ces résultats était donc suggérée. Une dernière série d'expériences, enfin, effectuée à Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, décourage cependant cette perspective [5]. Différentes constructions utilisant un gène  $\delta$  modifié, en même temps que les gènes humains  $\alpha$  et  $\epsilon$ , chez des souris thalassémiques, ont permis l'obtention d'animaux exprimant des taux croissants de chaîne  $\delta$  : 7,1 % ; 15 % et 23 % chez les hétérozygotes, 18,4 % et 38 % chez des homozygotes. Chez tous les animaux présentant des taux d'expression élevés, on a pu observer des cellules denses et morphologiquement anormales en proportion directe du pourcentage de chaîne  $\delta$  exprimée. Les multiples déformations observées témoignent d'une interaction avec la membrane rendue instable ainsi que d'une fixation accrue au cytosquelette. Le taux physiologique de l'HbA2 n'altérerait pas l'intégrité érythrocytaire, mais tout accroissement majeur de l'expression des chaînes  $\delta$  s'avérerait incompatible avec une morphologie érythrocytaire normale.

[1. Weatherall DJ]. In: Stamatoyannopoulos G, et al., eds. *The molecular*

*basis of blood diseases*, 2nd ed. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Co, 1994: 187.]

[2. Tang DC, et al. *The Tenth Conference on Hemoglobin Switching*, June 14-18. Rosario, Orcas Island, Washington, 1996.]

[3. Nagel RL, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 670-2.]

[4. Donze D, et al. *The Tenth Conference on Hemoglobin Switching*, June 14-18. Rosario, Orcas Island, Washington, 1996.]

[5. Nagel RL, et al. *The Tenth Conference on Hemoglobin Switching*, June 14-18. Rosario, Orcas Island, Washington, 1996.]

■■■■ **Le gène *FRM2* étant identifié, faut-il dépister les *FRAXE*?** Dans la région Xq27.3-q28 se trouvent non seulement le site fragile *FRAXA* mais aussi deux autres sites également sensibles au folate, *FRAXE* et *FRAXF* (*m/s* n° 4, vol. 10, p. 482). On doit leur identification à l'analyse moléculaire exhaustive de cette région de l'X chez des garçons ayant un retard mental, une cassure de l'X, et chez lesquels aucun des stigmates moléculaires de la maladie de l'X fragile ne furent retrouvés : ni amplification de la séquence (CGG) $_n$ , ni hyperméthylation, ni absence d'expression du gène *FMRI*. Les quelques sujets atteints de *FRAXE* découverts de cette manière sont généralement porteurs d'un retard mental beaucoup plus modéré. Les anomalies moléculaires de *FRAXE* ont une grande similitude avec celles de *FRAXA*. Le site fragile est lié à une séquence répétée (GCC) $_n$  voisine d'un îlot CpG se situant à 600 kb de *FRAXA*, côté télomérique. Les allèles normaux vont de 6 à 25 copies. L'expansion peut atteindre 200 copies avec méthylation de l'îlot CpG chez les garçons atteints [1]. Le gène *FRM2*, gène de *FRAXE*, vient d'être cloné par une équipe australienne [2]. Il a quelque similitude avec le proto-oncogène *AF-4*. Ce dernier

appartient au groupe des gènes de fusion (*AF* = *ALL1 fused gene*). Il est porté par le chromosome 4 et dans la translocation (4;11), très fréquente dans les leucémies aiguës de l'enfant, sa fusion avec le gène *ALL1* entraîne la production d'une protéine chimérique. Il importe donc à présent de voir si *FRM2*, comme *AF4*, code pour un facteur de transcription [3]. On sait déjà qu'il est fortement exprimé dans le placenta, les poumons, et le cerveau (particulièrement dans l'hippocampe et l'amygdale, ce qui orienterait vers les fonctions d'apprentissage et le contrôle des réactions émotionnelles) [4]. L'analyse moléculaire de délétions submicroscopiques dans la région du gène *FRM2* chez deux garçons ayant un retard mental modéré a facilité l'isolement du gène. Dans ces deux cas, il semble raisonnable de corrélérer l'absence de transcription du gène, qui fut vérifiée, au retard mental observé. Mais il règne encore une grande incertitude sur les conséquences cliniques du *FRAXE* et certains auteurs ont même mis en doute son caractère pathologique [5]. On ignore également sa fréquence, d'autant plus que celle des *FRAXA* vient d'être révisée à la baisse grâce à une étude dirigée par Patricia Jacobs (Salisbury, UK) et portant sur plus de mille garçons en difficulté scolaire. Au lieu de la fréquence avancée jusqu'à présent de 1/2500 garçons, dans la population générale, elle ne serait que de 1/5000 environ [6]. Celle de *FRAXE* serait quatorze fois moins élevée, ce qui explique la rareté des renseignements cliniques dont nous disposons actuellement. C'est pourquoi l'équipe de Kay Davies (Oxford, UK) propose une recherche combinée systématique de *FRAXA* et *FRAXE* par PCR simultanée des deux séquences chez les garçons porteurs de retard mental [7]. Mais une telle étude ne permettrait pas de supprimer le biais de recrutement des sujets *FRAXE*, provenant toujours de populations de garçons retardés mentaux. De plus, la faible

prévalence ainsi que la bénignité du phénotype FRAXE rendent improbable avant longtemps la prise en charge d'un dépistage de routine par les pouvoirs publics [8].

- [1. Knight SJL, *et al. Cell* 1993; 74: 127-34.]
- [2. Gecz J, *et al. Nature Genet* 1996; 13: 105-13.]
- [3. Biondi A, *et al. Blood* 1993; 82: 2943-7.]
- [4. Chakrabarti L, *et al. Hum Mol Genet* 1996; 5: 275-82.]
- [5. Allingham-Hawkins DJ, Ray PN. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 72-6.]
- [6. Murray A, *et al. Hum Mol Genet* 1996; 5: 727-35.]
- [7. Knight SJL, *et al. Am J Hum Genet* 1996; 58: 906-13.]
- [8. Brown WT. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 903-5.]

■■■ **La protéine WASp, déficiente dans le syndrome de Wiskott-Aldrich.** Le syndrome de Wiskott-Aldrich, récessif lié au chromosome X, est caractérisé par un défaut quantitatif et qualitatif des plaquettes ainsi que par un déficit immunitaire sévère. Le gène WAS code pour une protéine WASp qui possède une extrémité carboxyterminale riche en proline et, dans sa moitié aminoterminal, un motif de type GTP-ase [1]. Cette protéine, comme on pouvait s'y attendre, est synthétisée dans les cellules sanguines, notamment les lymphocytes et les plaquettes. L'interaction à haute affinité de la protéine WASp avec d'autres protéines donnent des indications précieuses sur son rôle probable. En effet, WASp interagit fortement avec la petite protéine G Cdc42 [2, 4], intervenant elle-même dans le contrôle de l'organisation du cytosquelette. Membre de la famille des protéines Rho, Cdc42 semble être particulièrement impliquée dans la formation des lamellipodes et des filopodes [5]. Par ces motifs riches en prolines, WASp se fixe à des protéines à domaine SH3, parti-

culièrement à Nck, un adaptateur de la famille Sos/Grb2 et Shc [6]. La protéine WASp est donc très probablement impliquée dans le contrôle du signal reliant des récepteurs membranaires à la réorganisation ainsi induite du cytosquelette. D'autres travaux avaient proposé que WASp pouvait également être en position nucléaire et intervenir directement dans la régulation transcriptionnelle [7]. Cependant, des résultats plus récents semblent indiquer plutôt que WASp n'est que cytoplasmique [8]. En quelque sorte, la maladie de Wiskott-Aldrich pourrait être une maladie du cytosquelette dont la liaison fonctionnelle avec les signaux extracellulaires serait perturbée. Ces anomalies entraîneraient des anomalies de la différenciation et de la fonction des plaquettes, ainsi qu'une perturbation de la réponse lymphocytaires.

- [1. Kirchhausen T, Rosen FS. *Curr Biol* 1996; 6: 676-8.]
- [2. Apenstrom PU, *et al. Curr Biol* 1996; 6: 70-5.]
- [3. Symons M, *et al. Cell* 1996; 84: 723-34.]
- [4. Kolluri RK, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5615-8.]
- [5. Zalcman G, *et al. médecine/sciences* 1995; 11: 1551-6.]
- [6. Chardin P. *médecine/sciences* 1994; 10: 709-12.]
- [7. Remold-O'Donnell E, *et al. Blood* 1996; 87: 2621-31.]
- [8. Stewart DM, *et al. J Clin Invest* 1996; 97: 2627-34.]

**m/s ANNIVERSAIRE EN VIDÉO-CASSETTES**

**Les conférences de la journée du 10<sup>e</sup> anniversaire de médecine/sciences du 16 mars 1995 sont disponibles sur vidéo-cassettes auprès de :**

**ASSOCIATION DIFFUSION DES CONNAISSANCES**  
2, avenue Léon-Bernard,  
35043 Rennes Cedex, France.