

■■■ **En YAC, BAC, PAC, fosmidés et cosmides, des banques pour le chromosome 2.** Il ne se passe pas de semaine sans que de nouvelles banques d'ADN ne soient proposées aux chercheurs pour progresser dans la cartographie du génome humain, et *médecine/sciences* se fait régulièrement l'écho des stratégies nouvelles permettant de parcourir à pas de géant une région du génome ou au contraire de la mignoter soigneusement. Les banques monochromosomiques (spécifiques d'un chromosome), ont déjà rendu de grands services, bien qu'il ne soit pas facile d'obtenir une sélection pure par cytométrie de flux. Il serait évidemment superflu de les mentionner régulièrement dans nos colonnes. Toutefois, le gros effort qui vient d'être déployé pour le chromosome 2 nous semble devoir mériter une notule [1]. Ce chromosome, de 255 Mb environ, représente 8 % du génome haploïde neutre (les 22 autosomes plus l'X), et porte des gènes d'immunoglobulines et d'interleukines, le gène de la maladie de Waardenburg et celui du cancer héréditaire du côlon, pour ne citer que les plus importants. Il intéresse donc de nombreuses équipes et on dispose pour lui à présent de cinq banques. Une banque des BAC (pour *bacterial artificial chromosome*, le vecteur étant dérivé de l'épisome bactérien F) fut d'abord construite [2], puis, uniquement pour le bras long, une banque de YAC (*yeast artificial chromosome*) [3]. L'équipe américaine du *Human genome center de Livermore* (San Francisco, CA, USA) vient de constituer trois nouvelles banques de cosmides, de fosmidés et de PAC. Les fosmidés, vecteurs eux aussi dérivés de l'épisome bactérien F, sont réputés plus stables que les cosmides car ils ne sont présents

qu'à raison d'un très faible nombre de copies dans les cellules. Le vecteur PAC (dérivé de P1: pCYPAC-2) [4] a permis d'obtenir environ 5 800 clones à partir d'une lignée d'hybride somatique ne comportant, pour seul chromosome humain, que le chromosome 2 entier. Les autres banques furent construites à partir d'une sélection de chromosomes 2 obtenue au moyen d'un cytomètre de flux à double laser. Ces banques furent vérifiées avec des sondes d'ADN génomiques et par STS (*sequence tag site*). Ainsi, il semble que le chromosome 2 doive être couvert dans sa totalité et qu'il soit donc actuellement le mieux conditionné de tous les chromosomes humains.

- [1. Gingrich JC, *et al. Genomics* 1996; 32: 65-74.]
- [2. Wang M, *et al. Genomics* 1994; 24: 527-34.]
- [3. Liu J, *et al. Genomics* 1995; 26: 178-191.]
- [4. Ioannou P, *et al. Nature Genet* 1994; 6: 84-9.]

■■■ **Le secret du sceau parental.**

Les gènes soumis à l'empreinte parentale n'ont pas encore livré les secrets de cette soumission et de nombreuses théories sur l'évolution de l'empreinte génomique des mammifères sont offertes à la sagacité des chercheurs [1]. Peut-être existe-t-il dans leur structure même des éléments qui permettent leur reconnaissance? Pour les trouver, de nombreuses équipes ont recherché les caractères communs des régions ou des gènes soumis à empreinte parentale. L'idée d'une «boîte à empreinte», contenant des séquences analogues à un ADN étranger fut d'abord proposée pour le gène *Igf2* (*insulin growth factor*), par analogie, chez la souris, à l'empreinte gamétique du gène *agouti*, provoquée par l'insertion, en amont de celui-ci,

d'une particule rétrovirale IAP (*intracisternal A particle*) [2]. D'une manière plus générale, il fut constaté, dans un certain nombre de gènes soumis à l'empreinte parentale, la présence de séquences répétées enchâssées dans des régions riches en CG, séquences mises généralement bout à bout mais quelquefois inversées. La méthylation qui joue un rôle incontesté dans l'empreinte (*m/s n° 2, vol. 10, p. 216*) et le superenroulement de ces régions pourraient favoriser la formation d'ADN non B (forme normale de la double hélice dextrogyre), retentir sur le mécanisme transcriptionnel [3] et expliquer la réplication asynchrone (*m/s n° 10, vol. 9, p. 1140*). Si on examine la fréquence des recombinaisons, il est clair, comme l'a bien montré une équipe française [4], que les régions soumises à l'empreinte ont une fréquence de recombinaison beaucoup plus élevée dans les méioses masculines que dans les méioses féminines, alors qu'habituellement c'est l'inverse qui se produit. Enfin, tout récemment, une équipe anglaise, en analysant la structure génomique de 16 gènes humains et murins soumis à une empreinte parentale, montre qu'en moyenne, les introns y sont nettement plus petits et moins nombreux, alors qu'il n'existe pas de différence de taille des exons [5]. La comparaison entre *Igf2* (soumis à l'empreinte) et *Igf1* (non soumis) suggère que les gènes soumis à l'empreinte ont perdu leurs introns en même temps qu'ils devenaient plus riches en CG. Il faut maintenant établir les liens qui existent très probablement entre toutes ces données.

- [1. Surani MA. *Nature Genet* 1993; 366: 302-3.]
- [2. Michaud EJ, *et al. Genes Dev* 1994; 8: 1463-72.]
- [3. Neumann B, *et al. Nature Genet* 1995; 9: 12-3.]
- [4. Paldi A, *et al. Curr Biol* 1995; 5: 1030-5.]
- [5. Hurst LD, Moore T. *Nature Genet* 1996; 12: 234-7.]

\* *Le phénomène d'anticipation, en clinique, est la survenue plus précoce et/ou plus sévère d'une maladie dominante à la génération suivante ou, plus généralement, dans les générations qui suivent le cas initial.*

■■■■ **La femme aux fourneaux : attention à sa santé!** Les femmes sont encore des victimes ! Celles qui utilisent le gaz pour cuisiner ont un risque accru de développer des symptômes respiratoires, le genre masculin n'étant pas concerné par ce phénomène [1]. Des études antérieures, chez les enfants, avaient montré que l'usage du gaz domestique était associé à une diminution des fonctions respiratoires, le dioxyde d'azote dégagé lors de la combustion étant l'agent responsable ; la situation reste controversée chez l'adulte. Aujourd'hui, une enquête réalisée par l'ECRHS (*European Community Respiratory Health Survey*) et analysée à Londres par une équipe médicale rapporte que les femmes qui utilisent le gaz pour cuisiner ont, comparées aux femmes cuisinant à l'électricité, plus de risques de présenter des symptômes respiratoires (respiration bruyante, réveil avec troubles respiratoires et crises d'asthme), une réduction de la capacité pulmonaire et une obstruction des voies respiratoires. Ces conclusions ont été tirées d'une étude portant sur 659 femmes et 500 hommes âgés de 20 à 44 ans et originaires de trois villes britanniques. L'enquête comportait un questionnaire, un entretien administratif et médical et des tests sanguins (recherche d'IgE) et respiratoires. Parmi ces individus, 60 % utilisent le gaz domestique pour la cuisine, 54 % un radiateur à gaz et 74 % une chaudière à gaz. En première analyse, il ressort que l'association existant entre l'usage du gaz de cuisine et les symptômes respiratoires diffère significativement entre les sexes ( $p < 0,01$ ). Chez les femmes, après correction des paramètres pour l'âge, le tabagisme et la localité de résidence, l'usage d'une cuisinière à gaz est associé à un risque accru des symptômes respiratoires (multiplié par 2,6 pour les crises d'asthme, par exemple), association légèrement plus forte chez les non-fumeuses. Ce risque ne dépend pas de l'activité sociale de la femme (étudiante, travaillant ou

non travaillant) et n'est pas significativement augmenté chez les femmes allergiques (ayant des IgE spécifiques pour un allergène donné). En outre, aucune relation entre l'usage du gaz domestique et l'allergie à la poussière, aux poils de chat et à l'herbe, n'a pu être établie. L'étude de la fonction respiratoire (évaluée par le VEMS (volume expiratoire maximum par seconde) et la capacité respiratoire) établit que les femmes utilisant le gaz pour la cuisine et le chauffage ont une capacité pulmonaire plus faible que celles qui utilisent d'autres énergies domestiques ( $p < 0,01$ ). Cette relation, identique chez les femmes allergiques ou non, est plus serrée dans le groupe des femmes à la maison. Enfin, l'utilisation d'une hotte d'extraction ne modifie en rien les données. Chez les hommes aucune association entre l'usage d'une cuisinière à gaz et des symptômes respiratoires ou une altération des fonctions pulmonaires n'a été observée, si ce n'est un risque accru (multiplié par 1,7) de réveil avec crise de toux chez les utilisateurs de chaudière à gaz. Si cette enquête établit, uniquement chez les femmes, une relation certaine entre l'usage du gaz domestique et les symptômes respiratoires, aucun lien causal ne peut cependant être établi. Cependant, la corrélation entre l'exposition plus fréquente, directe et des femmes au gaz domestique, comparée à celle des hommes, et leur particulière sensibilité aux troubles respiratoires, rend nécessaire l'approfondissement des enquêtes épidémiologiques sur les effets morbides du dioxyde d'azote.

[1. Jarvis D, *et al. Lancet* 1996; 347: 426-31.]

■■■■ **GAPDH = HAP-2?** Il y a quelques semaines (*m/s* n° 4, vol. 12, p. 535), nous présentions aux lecteurs de *m/s* la molécule HAP-1 (*huntingtin-associated protein-1*) identifiée par l'équipe de Christopher

Ross [1] comme une protéine se liant à la chaîne polyglutamique de la huntingtine avec une affinité proportionnelle à la longueur de la chaîne. Il n'a pas fallu longtemps pour que la prédiction que nous faisons alors d'une identification rapide d'autres HAP se réalise. Burke *et al.* (Duke university, NC, USA) viennent, en effet, de tracer la voie à d'autres facteurs potentiellement impliqués dans la physiopathologie de la maladie de Huntington – et d'autres maladies génétiques caractérisées par la présence d'une répétition de triplets CAG – en montrant qu'un certain nombre de protéines issues d'un homogénat de cerveau se lient à un peptide synthétique de 20 glutamines et, encore plus, de 60 (la maladie de Huntington est caractérisée par une chaîne de 40 glutamines et plus) [2]. Parmi ces protéines, un séquençage partiel a permis de reconnaître la GAPDH (glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase), une enzyme de la glycolyse anaérobie (voie d'Embden-Meyerhoff). Les hypothèses les mieux défendues actuellement sur la physiopathologie de la maladie de Huntington mettant en cause un déficit énergétique mitochondrial [3], les auteurs suggèrent que la liaison de la huntingtine à la GAPDH pourrait être la clé de cet effet délétère de la mutation. Pourquoi pas ? mais il y a sans doute dans cette observation de quoi rester un peu prudent. HAP-1 avait, par exemple, au moins le mérite d'être localisée spécifiquement dans certaines régions du cerveau touchées par la maladie, ce qui n'est pas le cas (c'est un des problèmes à résoudre) de l'huntingtine, mais ce qui, à l'évidence, ne joue pas en faveur de la GAPDH, enzyme ubiquitaire. Cette liaison est-elle vraiment spécifique ou l'enzyme est-elle à même de se lier, *in vitro*, à de nombreux sites peptidiques ? Quoiqu'il en soit, la chasse continue : par leur technique, Burke et ses collègues ont élu au moins une bonne douzaine de protéines... cela présage, comme nous le disions

il y a quelques semaines, encore un certain nombre d'autres HAP à considérer!

- [1. Li XJ, *et al. Nature* 1995; 378: 398-402.]
- [2. Burke JR, *et al. Nature Med* 1996; 2: 347-50.]
- [3. Beal MF. *Ann Neurol* 1992; 31: 119-30.]

■■■ **La liaison du récepteur des œstrogènes au facteur GATA-1 entraîne l'apoptose des cellules érythroïétiques.** La mort cellulaire par apoptose est une des fonctions contrôlées par les hormones stéroïdes; l'action des glucocorticoïdes sur les thymocytes immatures et certaines cellules leucémiques a été particulièrement étudiée, mais le mécanisme en cause, qui fait intervenir le récepteur des glucocorticoïdes (GR) est encore mal identifié. Un autre système, l'action des œstrogènes au niveau de la lignée érythroïde, a été exploré récemment par l'équipe de S.H. Orkin (Harvard Medical School, Boston, MA, USA). Les œstrogènes sont inducteurs d'anémie, et on a démontré que leur récepteur (ER) inhibe les fonctions du facteur GATA-1 par une interaction directe protéine/protéine [1]. GATA-1, premier-né d'une famille de facteurs transcriptionnels, a dans la lignée érythroïde un rôle central: il participe à la régulation de pratiquement tous les gènes spécifiques du globule rouge, il est nécessaire à la maturation cellulaire, et les mêmes auteurs ont montré qu'il s'oppose à l'apoptose (*m/s n° 1, vol. 12, p. 107*). L'étude récente établit que GATA-1 est aussi la cible par l'intermédiaire de laquelle s'exerce l'action apoptotique des œstrogènes [2]. L'étude a été faite en cellules érythroleucémiques murines MEL; le facteur GATA-1 endogène y est inhibé par un traitement par les œstrogènes, ce que reflète la régulation négative au niveau de l'ARNm d'une série de gènes spécifiques, codant pour le

récepteur de l'érythropoïétine, la  $\beta$ -globine et les facteurs de transcription EKLF et GATA-1 lui-même; cet effet inhibiteur est partiellement levé par l'introduction d'un variant de GATA-1 résistant à ER. En revanche un mutant ER, déficient quant à sa capacité de liaison aux éléments spécifiques de réponse aux œstrogènes (ERE), mais qui a gardé le pouvoir d'inhiber GATA-1, provoque l'apoptose. C'est donc bien par une interaction directe avec un facteur de transcription spécifique d'une lignée cellulaire qu'une hormone stéroïde contrôle une évolution vers l'apoptose. Les facteurs GATA constituent une famille très conservée à travers l'évolution, qui ont des fonctions multiples dans différents tissus. Le modèle d'interférence étudié pourrait avoir valeur générale.

- [1. Blobel GA, *et al. Mol Cell Biol* 1995; 15: 3147-53.]
- [2. Blobel GA, Orkin SH. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 1687-94.]

■■■ **Les anticorps anti-facteur VIII et la désensibilisation des hémophiles.** Le traitement des hémophiles par le facteur VIII recombinant, s'il a supprimé les risques infectieux viraux, est trop souvent accompagné du développement d'une réponse immune dirigée contre le facteur VIII. Le moyen d'y remédier est alors d'injecter de grandes quantités de facteur VIII pour désensibiliser le patient. La constatation que le facteur VIII redevient actif chez ces sujets bien que la concentration d'anticorps anti-facteur VIII ne soit pas modifiée a fait s'interroger une équipe belge de Louvain [1]. Ils avaient en mémoire la description ancienne par Yvette Sultan *et al.* de troubles de la coagulation chez des patients souffrant de maladies auto-immunes qui fabriquaient des anticorps anti-facteur VIII; ces malades, une fois guéris, conservaient ces autoanticorps, mais ils avaient développé

des anticorps anti-idiotypiques dirigés contre eux [2]. Gilles *et al.* montrent que les hémophiles, eux non plus, ne suppriment ni ne modifient leur production d'anticorps (le système immunitaire n'est pas programmé pour rendre silencieux ou déléter les lymphocytes B-mémoires responsables des réactions contre le non-soi), mais fabriquent des anticorps anti-idiotypiques qui les rendent inoffensifs.

- [1. Gilles JG, *et al. J Clin Invest* 1996; 97: 1382-8.]
- [2. Sultan Y, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 828-31.]

