

■■■ **La tête et le cœur: les deux nobles cibles de la vinculine.**

La vinculine est un des constituants essentiels des jonctions cellulaires, qu'il s'agisse de jonctions entre cellules (*zonulae adherens*) ou de jonctions entre cellules et matrice extracellulaire (plaques d'adhérence). Sa liaison à la taline, et donc aux  $\beta$ -intégrines et à l'actine, lui fait supposer un rôle de lien entre le cytosquelette d'actine et la matrice extracellulaire. En dépit de ce rôle universel (la vinculine est d'expression ubiquitaire) et essentiel, cette protéine ne semble pas indispensable à la différenciation de nombreux types cellulaires. En effet, des cellules ES présentant une invalidation homozygote du gène de la vinculine gardent leur capacité de totipotence et de différenciation. De même, en l'absence de vinculine, les cellules sont toujours capables de former des plaques d'adhérence *ex vivo*. On était donc en droit de se demander si la vinculine serait même indispensable au développement embryonnaire. C'est en réalité le cas, puisque les embryons totalement déficients en vinculine ne dépassent pas le stade de 10 jours de développement et révèlent une atteinte à la fois cérébrale et cardiaque [1]. Sur le plan neurologique, on note l'absence de fermeture du tube neural, l'absence de développement des nerfs crâniens et des ganglions rachidiens dorsaux à peine détectables. Sur le plan cardiaque, la population de cardiomyocytes est réduite à tel point qu'elle est incapable de s'agréger pour constituer un tissu contractile. En dehors de la réduction du nombre de cellules, il est probable que la perte de l'adhérence des cellules cardiaques entre elles (par l'intermédiaire des disques intercalés) soit également impliquée dans ce phénotype. En effet, l'invalidation des gènes de la  $\gamma$ -caténine, composant important des desmosomes, de la N-cadhérine, qui joue un rôle essentiel dans l'adhérence intercellulaire cardiaque, ou de la FAK (*focal adhesion kinase*) entraîne aussi des anomalies

sévères du développement cardiaque. Les fibroblastes embryonnaires issus des embryons déficients en vinculine ont une activité FAK nettement augmentée, expliquant peut-être l'accroissement de la mobilité de ces cellules alors que leur adhérence est réduite. Il semble donc qu'une modification de l'adhérence cellulaire ait des conséquences particulièrement graves pour le développement cérébral et cardiaque. Cependant, l'hypothèse d'un rôle spécifique de la vinculine dans ces deux tissus n'a pas été écartée.

[1. Xu W, *et al. Development* 1998; 125 : 327-37.]

■■■ **CBP étend son partenariat à la lignée rouge en coopérant avec GATA-1.**

Les bases moléculaires de la prolifération et de la différenciation des cellules souches vers la lignée érythroïde sont progressivement dévoilées. Trois facteurs de transcription ont été impliqués : GATA-1, dont les sites de liaison sont présents dans quasiment toutes les régions régulatrices des gènes exprimés dans la lignée érythroïde, EKLF (*erythroid Krüppel-like factor*) et NF-E2 [1]. L'absence de GATA-1 bloque complètement le développement érythroïde (*m/s n° 4, vol. 7, p. 385*) et est létale. Mais GATA-1 agit-il seul ? On en doutait depuis qu'il a été montré que, selon les tissus, différents domaines de la protéine sont nécessaires à l'activation génique. Le fait que l'activité transcriptionnelle de GATA-1 soit sévèrement réprimée par les récepteurs hormonaux nucléaires a fait envisager un rôle majeur pour le co-activateur CBP (*CREB-binding protein*). CBP a été décrit comme le partenaire de nombreux régulateurs de la transcription (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1113*) ; il possède une activité histone acétyl-transférase nécessaire pour maintenir la chromatine dans une configuration ouverte propice à la transcription génique ; enfin, il est en quantité limitée, ce qui pour-

rait expliquer les phénomènes de compétition observés entre divers activateurs [2]. Une collaboration dirigée par Stuart Orkin (Boston, MA, USA) vient d'apporter de très solides arguments en faveur de la coopération entre GATA-1 et CBP [3]. Les protéines GATA-1 et CBP sont co-immunoprécipitées dans les extraits nucléaires des cellules érythroïdes ; dans des expériences de transfection transitoire, CBP stimule l'activité transcriptionnelle de GATA-1 dans des cellules non hématopoïétiques ; cet effet, bloqué par la protéine virale E1A, un partenaire connu de CBP, ne l'est plus si E1A est muté dans son domaine de liaison à CBP ; enfin, l'expression conditionnelle de E1A dans les cellules murines érythroleucémiques MEL bloque leur maturation, aboutissant au même phénotype que celui observé en l'absence de fonction de GATA-1. GATA-1 recruterait donc obligatoirement le facteur ubiquitaire CBP pour exercer ses fonctions d'activateur des gènes érythroïdes et de différenciation érythroïde.

[1. Labie D, Krishnamoorthy R. *Med Sci* 1992 ; 8 : 255-8.]

[2. Gelman L, *et al. Med Sci* 1997 ; 13 : 961-70.]

[3. Blobel GA, *et al. Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 2061-6.]



**BiDOCS**  
L'Association des Etudiants-Chercheurs en Biologie

**Vous voulez faire un DEA, une thèse ?  
Vous cherchez un laboratoire de recherche ?**

**Vous êtes inquiet pour votre statut  
et votre avenir dans la recherche ?**

**Vous êtes inquiet sur les débouchés dans la recherche ?  
BioDocs vous invite**

à consulter le serveur web (Internet) <http://157.136.20.60>  
Contactez-nous également par e-mail ([analenn@pasteur.fr](mailto:analenn@pasteur.fr))

■■■■ **Mutagenèse dirigée *in vivo* par des oligonucléotides hybrides ARN-ADN.** L'utilisation d'oligonucléotides hybrides ARN-ADN a été mise au point *in vitro* par l'équipe de Kmiec (Philadelphie, PA, USA) qui a montré que la transfection d'oligonucléotides hybrides homologues d'un segment de gène de la  $\beta$ -globine permettait la correction de plus de 20 % de cellules homozygotes pour la mutation  $\beta^S$  de la drépanocytose [1]. L'oligonucléotide chimérique, sous sa forme linéaire, comporte deux séquences complémentaires inversées de 25 nucléotides : l'une est une séquence ADN, l'autre est une séquence ARN sauf dans la partie centrale qui comprend cinq désoxy-nucléotides. En solution, les deux séquences s'hybrident et l'oligonu-

cléotide prend une allure double-brin. La séquence est strictement identique à la région cible de 25 nucléotides sauf pour un nucléotide. Cette différence permet d'induire la mutation ponctuelle voulue dans le gène ciblé et cela avec une efficacité au moins 100 fois plus grande que par recombinaison homologue classique à l'aide de plasmides. La construction d'un tel oligonucléotide chimérique ARN-ADN a résulté d'études montrant que la présence d'ARN au sein d'oligonucléotides favorisait l'appariement homologue. Cependant, en l'absence d'un mécanisme d'action clairement établi ces résultats ont été très controversés. Kren *et al.* ont maintenant utilisé ces chimères *in vivo* chez le rat en induisant une mutation sélective du gène

du facteur IX dans les hépatocytes [2]. Le ciblage des hépatocytes a été obtenu par injection intraveineuse des oligonucléotides complexés avec du polyéthylèneimine lactosylé. La mutation du facteur IX a été objectivée par analyse génomique, par RT-PCR et par la mesure de la réduction de l'activité du facteur IX dans le sérum des animaux traités. En conclusion ces oligonucléotides hybrides ARN-ADN semblent pouvoir être utilisés en thérapie génique sans que l'utilisation de vecteurs viraux soit nécessaire.

[1. Cole-Strauss A, *et al Science* 1996 ; 273 : 1386-9.]

[2. Kren BT, *et al. Nat Med* 1998 ; 4 : 285-90.]

## Deuxième conférence Louis Pasteur sur les maladies infectieuses SIGNAUX MOLÉCULAIRES ET MALADIES INFECTIEUSES 8-10 octobre 1998 • Institut Pasteur, Paris, France

La conférence portera sur la pathogénie des maladies infectieuses (parasites, bactéries, virus) dans le cadre des développements récents en biologie cellulaire. L'accent sera placé sur les voies de signalisation intracellulaires et les signaux solubles produits par les microbes et leurs hôtes

**Organisateurs** J.L. Virelizier

**Organizers** (Institut Pasteur, coordinateur)  
R.R. Kiberg

K. Joiner  
(Yale University)

S. Pellegrin  
(Institut Pasteur)

**INSTITUT PASTEUR**  
**Centre d'Information**  
**Scientifique**  
**28, rue du Docteur-Roux**  
**75015 Paris, France**

**Conférence inaugurale**  
Peter C. Doherty (États-Unis)

**Signalisation et invasion par les micro-organismes  
(adhésion, entrée, fusion, événements précoces)**

Norma Andrews (États-Unis), Joan Brugge (États-Unis), Pascale Cossart (France), Jorge E. Calan (États-Unis), Keith Joiner (États-Unis), Dan Littman (États-Unis), Robert Menard (États-Unis), Philippe Sansonetti (France), John Skehel (Royaume-Uni).

**Vie et mort des cellules infectées (immortalisation, apoptose,  
transmission des signaux, influences réciproques sur la sur-  
vie)**

Guy Cornelis (Belgique), Michael Donnenberg (États-Unis), Paul Farrell (Royaume-Uni), Alan Hall (Royaume-Uni), Gordon Langsley (France), Thomas Meyer (Allemagne), David Russel (USA), Jürg Tschopp (Suisse),

**Signaux solubles (cytokines, chimiokines, récepteurs  
solubles, leurres, mécanismes de protection et d'échappe-  
ment)**

Fernando Arenzana (France), Marco Baggiolini (Suisse), James X. (États-Unis), David Sacks (États-Unis), Louis Schefield (Australie), Geoffrey Smith (Royaume-Uni)

**Conférences de clôture**  
Daniel Louvard (France), Stanley Falkow (États-Unis)