

■■■ **Redondance fonctionnelle des facteurs myogéniques.**

Les lecteurs de *médecine/sciences* se rappellent probablement le phénotype des souris déficientes en facteurs myogéniques de la famille MyoD. L'invalidation par recombinaison homologe des allèles de MyoD aboutit à des animaux de phénotype pratiquement normal. Les souris *Myf5*^{-/-} meurent à la naissance d'une absence de cage thoracique [1]. Enfin, les souris *myogenine*^{-/-} sont dépourvues de muscles, comme les souris déficientes à la fois pour les protéines MyoD et Myf5 (*m/s n°4, vol. 10, p. 481*). Comme nous l'avons rapporté récemment en ce qui concerne le rôle respectif des deux allèles du gène *engrailed* (*m/s, n° 10, vol. 11, p. 1486*), la question se pose de la base moléculaire de ces phénotypes différents : sont-ils dus à des fonctions différentes des protéines MyoD, Myf5 et myogénine ? Ou bien à la chronologie et à la spécificité cellulaire différente d'expression de chacun de ces facteurs ? Wang *et al.*, du laboratoire de Rudolf Jaenisch (Cambridge, MA, USA) ont utilisé pour répondre à cette question la stratégie déjà décrite dans le cas du gène *engrailed* : ils ont inséré dans le locus *Myf5* un gène *myogenine* fonctionnel. Les souris homozygotes ainsi obtenues expriment le transgène *myogenine* situé dans le locus *Myf5* avec la spécificité et la chronologie *Myf5*... et naturellement continuent d'exprimer normalement leur gène *myogenine* endogène. Leur phénotype est strictement normal [2]. Par conséquent, les propriétés de la protéine myogénine sont tout à fait identiques à celles de la protéine Myf5, les fonctions différentes des gènes correspondants reposant sur leurs particularités chronologiques et spatiales d'expression.

[1. Concordet J. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 1091-6.]

[2. Wang Y, *et al. Nature* 1996 ; 379 : 823-6.]

■■■ **La kinase Pelle/IRAK: des drosophiles et des hommes.**

La fixation de l'interleukine-1 (IL1) à son

récepteur IL1-RI, localisé sur la membrane des cellules réceptives, entraîne l'activation du facteur de transcription NF-κB qui va régler l'expression de gènes effecteurs des effets biologiques de l'IL1. Chez la drosophile la protéine homologue de NF-κB, appelée Dorsal, est nécessaire à l'établissement de l'axe dorso-ventral lors de l'embryogenèse. L'activation de Dorsal dans les cellules ventrales résulte de l'activation par le ligand Spaetzle d'un récepteur membranaire, Toll, qui présente de fortes homologues avec le récepteur IL1-RI. La compréhension de la cascade d'événements qui se déroulent entre la liaison du ligand à son récepteur et l'activation du facteur de transcription de la famille *rel* (dorsal/NF-κB) bénéficie des progrès réalisés, soit dans le modèle vertébrés, soit dans le modèle invertébrés. Dorsal (ou NF-κB) est maintenu inactif dans le cytoplasme sous forme d'un complexe avec la protéine Cactus (ou I-κB) [1]. Des expériences récentes [2] ont montré que la dégradation de Cactus en réponse au signal provenant de l'activation de Toll (ou IL1-RI) est un événement primaire qui conduit à la libération de dorsal et à son activation, comme cela avait été montré pour ILB/NF-κB [1, 3]. Un autre composant de cette cascade vient à son tour d'être identifié chez les vertébrés [4] grâce, cette fois, à ses analogies avec un gène de drosophile également impliqué dans cette cascade. Cao *et al.* [4] ont purifié une kinase dépendante de l'IL1, qui peut être co-précipitée avec IL1-RI d'où son nom IRAK (*IL1-R associated kinase*). Elle présente de fortes homologues avec la protéine kinase de drosophile Pelle, notamment au niveau du domaine kinase mais aussi dans la région N-terminale, dans un domaine qui permet l'interaction de pelle avec une autre protéine de drosophile, Tube. La protéine tube est la moins bien connue des cinq protéines de drosophile actives dans la transmission du signal de ventralisation ; elle permettrait de recruter la kinase

pelle à la membrane [5] mais son équivalent chez les mammifères reste encore à découvrir. IRAK est donc un nouvel élément dans la voie de transmission du signal en provenance de IL1. Les autres partenaires impliqués dans cette cascade, ainsi que les substrats de la kinase IRAK/Pelle, devraient être rapidement identifiés par les techniques de double hybride ou par co-immunoprécipitation. La kinase IRAK/Pelle pourrait phosphoryler Cactus/IκB et/ou Dorsal et/ou d'autres intermédiaires (des protéases?) de cette cascade permettant d'activer la dégradation de cactus.

[1. Israël A. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 1017-20.]

[2. Belvin M, *et al. Genes Dev* 1995 ; 9 : 783-93.]

[3. Palombella V, *et al. Cell* 1994 ; 78 : 773-85.]

[4. Cao Z, *et al. Science* 1995 ; 271 : 1128-31.]

[5. Galindo RL, *et al. Development* 1995 ; 121 : 2209-18.]

■■■ **Bicoid, Caudal, les multiples manières de constituer un gradient.**

Chez la drosophile, le gène *bicoid* joue un rôle essentiel dans l'établissement de la polarité antéro-postérieure de l'embryon, et donc dans le développement des structures céphaliques. Il coopère avec le gène *caudal* indispensable au développement des structures postérieures. Ces deux gènes sont actifs durant l'ovogenèse et leurs transcrits sont donc d'origine maternelle. Les messagers *bicoid* se concentrent au pôle antérieur de l'embryon de drosophile, qui, rappelons le, est initialement sous la forme d'un blastoderme syncytial, dépourvu de séparations cellulaires. Par conséquent, la traduction de l'ARNm *bicoid* au pôle antérieur en protéine Bicoid aboutit à la diffusion de celle-ci à partir de son site de synthèse, et ainsi à la formation d'un gradient. En revanche, l'ARNm *caudal* est distribué

uniformément dans les différentes régions de l'embryon, ce qui contraste avec l'apparition d'un gradient de la protéine Caudal dont la concentration est maximale au pôle postérieur et qui est totalement absente au pôle antérieur. On savait déjà que la fonction *bicoid* était indispensable à l'établissement de ce gradient puisque les mutants *bicoid* contiennent une protéine Caudal uniformément répartie dans l'embryon. Deux équipes, l'une américaine (Dubnau et Struhl, New-York, USA) et l'autre germano-suisse (équipes de Walter Gehring à Bâle, Suisse et de Herbert Jäckle, Göttingen, Allemagne) viennent d'expliquer cette interdépendance entre la formation des gradients protéiques Bicoid et Caudal. La protéine Bicoid, une homéoprotéine, comme d'ailleurs Caudal, est capable de se fixer par son homéodomaine à une petite région de l'extrémité 3' non codante du messageur *caudal*, et d'en inhiber la traduction. Le gradient de Caudal reflète donc un gradient de de son messageur, reflet inverse du gradient de concentration de l'inhibiteur de la traduction du messageur *caudal* qu'est la protéine Bicoid [1, 2]. On connaissait déjà plusieurs mécanismes susceptibles d'engendrer la formation de gradients protéiques, si importants dans les processus de morphogénèse au cours du développement embryonnaire: ce peut être la localisation du messageur qui est spécifiquement contrôlée; ou bien, après sa synthèse, la protéine qui est redistribuée. Voilà maintenant un troisième mécanisme agissant par contrôle spatial de la traductibilité d'un messageur.

[1. Dubnau J, Struhl G. *Nature* 1996; 379 : 694-9.]

[2. Rivera-Pomar R, et al. *Nature* 1996; 379: 746-9.]

■■■■ **Des cellules ES de brebis.** Les cellules ES murines permettent aujourd'hui de réaliser des progrès

considérables dans l'étude du développement et du fonctionnement des gènes. Ces cellules sont, notamment, le matériel de base des expériences de recombinaison homologue [1, 2]. Malheureusement, aucune lignée de cellules ES dérivées d'une autre espèce que la souris n'avait pu être isolée jusqu'à présent. C'est dire l'importance des résultats de Campbell *et al.* (Edimbourg, Écosse, GB) [3]. Cette équipe a isolé une lignée de cellule ES à partir du bouton embryonnaire d'un blastocyste de brebis. Lorsque les noyaux des cellules de cette lignée sont transférés dans des ovocytes énucléés de brebis, ils permettent, dans un petit pourcentage de cas, le redémarrage d'un développement embryonnaire qui a pu aboutir à la naissance de cinq agneaux femelles de la même race que le donneur de cellule ES. L'efficacité globale de la méthode reste cependant faible. Environ 250 ovocytes de brebis bloqués en métaphase ont été énucléés (par ablation de la plaque métaphasique) et fusionnés avec les noyaux de cellules ES synchronisées et arrêtées en phase G0 du cycle cellulaire. Les embryons reconstruits étaient alors englobés dans de l'agar et incubés dans les oviductes ligaturés de brebis en période d'œstrus. Six jours après, les embryons étaient retirés et observés: environ 14 % d'entre eux étaient au stade morula ou blastocyste. Trente quatre de ces embryons développés étaient réimplantés chez des brebis, aboutissant au développement de huit fœtus et à cinq naissances. Deux des agneaux devaient mourir dans les minutes suivant la naissance et un troisième au dixième jour alors que deux étaient vivants et en bonne santé au huitième et au neuvième mois. La faible efficacité de la méthode comparée aux expériences utilisant des cellules ES murines peut être due au fait que le phénotype des cellules ES de brebis semble plus différencié, avec expression de cytokératine et de lamine nucléaire de type A/C. Le développement embryonnaire

exige donc une reprogrammation dans l'ovocyte de ces noyaux, ce qui est obtenu grâce à l'activation des noyaux transférés par la forte activité MPF (*maturation/mitosis/meiosis promoting factor*) (*m/s n° 3, vol. 10, p. 358*) des ovocytes en métaphase II. Il n'empêche que ces premiers résultats permettent de faire le pronostic de rapides progrès dans un domaine dont les perspectives peuvent être considérables s'il s'agit de cloner des animaux de grand intérêt pour les éleveurs, de modifier leur génome par recombinaison homologue, etc. Un autre développement possible, aussi stupéfiant que vaguement inquiétant, repose sur l'importance du pouvoir reprogrammeur de l'ovocyte activé: serait-il capable de reprogrammer les noyaux, non pas de cellules ES totipotentes, mais de cellules somatiques? Dans ce cas, la porte serait ouverte au clonage d'animaux à partir des noyaux dérivés de cellules sanguines ou cutanées! Encore de beaux débats en perspective sur les conséquences scientifiques, économiques et éthiques de l'avènement de telles méthodes!

[1. Babinet C. *médecine/sciences* 1992; 8 : 268-75.]

[2. Viville S. *médecine/sciences* 1995; 11 : 735-46.]

[3. Campbell KHS, et al. *Nature* 1996 ; 380: 64-6.]

■■■■ **De l'amélioration transgénique du mouton.** En vue de tester l'utilisation de la transgénèse comme moyen d'améliorer la race ovine, l'équipe de D.W. Bullock (Nouvelle-Zélande) présente deux séries d'expériences consécutives. Dans un premier temps, les auteurs ont démontré la surexpression possible d'un gène étranger dans le follicule laineux du mouton [1]. Pour ce faire, ils ont injecté dans le pronucleus mâle de l'œuf de brebis une construction d'ADN comportant le promoteur d'une kératine de souris particulièrement riche en résidus soufrés, lié à

BRÈVES

un gène rapporteur CAT, et vérifié que l'expression du transgène dans la peau était restreinte à la zone kératogène du follicule laineux. Une deuxième série d'expériences a démontré la possibilité d'améliorer la production de la laine [2]. Le même promoteur que précédemment a été utilisé, lié à l'ADNc du facteur de croissance *insulin-like* ovin (IGF1). Après croisement d'un jeune bélier exprimant le gène *IGF1* dans la peau avec une série de brebis, la moitié environ des animaux de seconde génération sont transgéniques, sans aucun trouble du développement. On observe chez eux une augmentation du poids de la toison d'environ 6,2%, l'effet étant plus marqué chez les mâles que chez les femelles (9,2% contre 3,4 %). A quand la capilliculture transgénique humaine?

[1. Damak S, *et al. Biotechnology* 1996 ; 14 : 181-4]

[2. Damak S, *et al. Biotechnology* 1996 ; 14 : 185-8]