

P53 sous le soleil

Thierry Magnaldo

P53 et stress génotoxique

Le gène *P53* est un gène suppresseur de tumeur codant pour un facteur de transcription subissant de nombreuses modifications post-traductionnelles et impliqué dans le contrôle du cycle cellulaire et de l'apoptose (mort cellulaire programmée). *P53* est muté dans plus de 50 % des tumeurs humaines, notamment dans les tumeurs de la peau induites par les rayonnements ultraviolets (UV) contenus dans la lumière solaire. Les travaux récemment publiés par l'équipe de David Fisher à Harvard ont attribué à la protéine *P53* une nouvelle mission de surveillance et de contrôle de la pigmentation cutanée normale et pathologique [1].

Identifiée il y a bientôt 30 ans [2-4], *P53* est probablement l'une des protéines de régulation les plus étudiées (plus de 40 000 études font référence à *P53*). Il semble aujourd'hui que *P53* assure son rôle de « gardien du génome » [5] essentiellement au travers d'une multiplicité de régulations de la transcription visant à protéger la cellule contre les agressions extérieures [6].

Les UV constituent le stress génotoxique majeur des cellules de la peau. Les UV introduisent des lésions dans l'ADN (dimères de pyrimidines) dont la réplication peut être mutagène et à l'origine du développement tumoral [7]. Le destin cellulaire peut être déterminé par la quantité des lésions accumulées dans l'ADN. Ainsi, un nombre raisonnable – c'est-à-dire qui ne sature pas les systèmes de réparation de l'ADN – de lésions dans l'ADN provoque la stabilisation de *P53*, l'arrêt du cycle cellulaire (G1/S), et régule l'expression de certains gènes de réparation de l'ADN,

notamment *XPC* (*xeroderma pigmentosum, complementation group c*) [8]. Ce dernier est indispensable à la reconnaissance des dimères de pyrimidine induits par les UV dans l'ADN [9]. Si la quantité des lésions dans l'ADN est telle que les systèmes de réparation ne peuvent y faire face, la cellule lésée est orientée vers l'apoptose. En 1997, les travaux du groupe de Bert Vogelstein à Baltimore ont indiqué que certains des gènes précocement induits au cours de l'apoptose dépendante de *P53* codent pour des protéines génératrices d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) pour promouvoir l'élimination de la cellule lésée [10]. Sauveur ou tueur, *P53* protège notre organisme soit en contribuant à l'élimination des lésions dans l'ADN, soit en participant à l'élimination des cellules potentiellement tumorales. Le rôle de *P53* n'est toutefois pas limité aux situations de stress génotoxique exogènes. Des travaux plus récents ont ainsi rapporté que l'expression de *P53* à bas niveau est nécessaire à l'élimination des ROS produites en permanence par le métabolisme cellulaire et qui provoquent, elles aussi, des dommages dans l'ADN (bases oxydées, cassures simple brin de l'ADN) [11]. Ces travaux montrent que l'inactivation expérimentale de *P53* favorise l'accumulation de ROS. Les mutations de *P53* qui altèrent sa capacité à réguler l'expression des gènes pourraient contribuer à l'accumulation de ROS et favoriser l'instabilité génétique des tumeurs. L'ensemble de ces observations indique que la surveillance du génome par *P53* est indispensable, diversifiée et adaptée en fonction du type et de la quantité des lésions génotoxiques.

CNRS, Équipe Génétique et physiopathologie des cancers, épidermiques, FRE Génomes et Cancer, Institut Gustave-Roussy, PR2, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex France.
magnaldo@igr.fr

P53 et pigmentation

La pigmentation cutanée joue également un rôle protecteur contre les tumeurs de la peau, cancers de plus forte incidence chez l'homme (carcinomes baso- et spinocellulaires). Ces cancers se développent à partir des kératinocytes qui sont les cellules majoritaires de l'épiderme, le tissu superficiel de la peau. L'exposition aux UV de la lumière solaire stimule la production de mélanines par les mélanocytes. Ces cellules spécialisées (dérivées des crêtes neurales) sont situées dans la couche basale de l'épiderme qui abrite aussi les cellules souches épidermiques (Figure 1A). Les mélanines sont transmises aux kératinocytes sous forme de petits granules appelés mélanosomes (Figure 1B). La pigmentation assure ainsi une protection naturelle du génome kératinocytaire en absorbant les ultraviolets [12]. L'importance de la protection assurée par les mélanines est illustrée par des taux de cancers cutanés significativement plus élevés chez les personnes à peau claire que chez les personnes à peau plus sombre. Dans les populations australiennes d'ascendance celte, de pigmentation claire et qui souvent brûlent plus qu'elles ne bronzent, les cancers de la peau induits par les UV constituent un réel problème de santé publique.

La pigmentation cutanée dépend des interactions cellulaires entre kératinocytes et mélanocytes. L'exposition aux UV stimule la transcription du gène appelé *POMC* (*pro-opio-melano-cortin complex*) (Figure 1B) codant pour l'hormone α -MSH (α -melanocyte sti-



mulating hormone), l'ACTH (*adreno corticotrophic hormone*) ainsi que la β -endorphine. La production d' α -MSH est spécifique des tissus cutanés et est observée dans les kératinocytes et dans les mélanocytes, notamment après exposition UV [1]. Une fois produite et sécrétée, l' α -MSH se fixe au récepteur membranaire MC1R (mélanocortine récepteur 1) présent à la surface des mélanocytes. MC1R active la protéine kinase A, conduisant à la production accrue d'AMPc (adénosyl monophosphate cyclique) puis à l'activation de facteurs de transcription spécifiques contrôlant la synthèse des mélanines. Ces dernières sont ensuite distribuées aux kératinocytes qui se trouvent ainsi protégés. Toutefois, la mécanistique de cette régulation restait assez mal caractérisée jusqu'à la publication de D. Fisher. Les observations de D. Fisher partent d'une analyse *in silico* des régions de l'ADN génomique impliquées dans la régulation de la transcription du

gène *POMC*. Ces analyses ont révélé une séquence d'ADN régulatrice fonctionnelle, cible de la protéine suppresseur de tumeur P53. De plus, les travaux montrent que la transcription de *POMC* (et donc la production d' α -MSH) est dépendante de la stabilisation de P53 après un stress génotoxique et qu'elle est quantitativement beaucoup plus importante dans les kératinocytes que dans les mélanocytes. L'invalidation du gène P53 chez la souris (souris *p53*^{-/-}) abolit l'augmentation du transcrit *POMC* après UV et, de fait, le bronzage (limité aux oreilles chez la souris). Ces données suggèrent que la régulation de la pigmentation cutanée après UV fait l'objet d'interactions cellulaires étroites entre les kératinocytes et les mélanocytes. Cette hypothèse est soutenue par le fait que, dans l'épiderme humain, un mélanocyte interagit avec environ 35 kératinocytes pour former une « unité de mélanogenèse ». La capacité de pigmentation de ces uni-

tés apparaît donc étroitement liée à la réponse des kératinocytes aux UV. Dans les mélanocytes, il a été montré que la transcription du gène codant pour l'enzyme clé de la mélanogenèse (la tyrosinase) est aussi stimulée par l'exposition aux UV [13]. Dans ce cas, la réponse transcriptionnelle est plus lente que pour *POMC*, et résulte probablement d'un mécanisme de régulation indirect.

Les aspects physiopathologiques de la régulation de la production d' α -MSH par P53 ont été abordés de façon très intéressante par l'équipe de D. Fisher au travers de l'analyse du statut de *P53* dans des carcinomes basocellulaires pigmentés ou non pigmentés. Toutes les tumeurs non pigmentées étudiées présentaient au moins une mutation de *P53* alors que les tumeurs pigmentées étaient systématiquement normales pour *P53*. Ces observations suggèrent que la stabilisation constitutive de P53 sauvage, déjà décrite dans certaines tumeurs humaines [14], conduit, via la sécrétion de α -MSH, au recrutement des mélanocytes environnants. Ce mécanisme pourrait limiter l'instabilité génétique décrite dans les tumeurs en l'absence d'une protéine P53 fonctionnelle.

Ces travaux suggèrent aussi que la capacité de P53 à activer la transcription du gène *POMC* est liée au potentiel de pigmentation individuel. Ainsi, le variant P53 72Pro qui est un activateur de la transcription plus puissant que la forme plus répandue P53 72Arg pourrait être plus favorable à la pigmentation UV-induite. Toutefois, il ne semble pas exister de corrélation entre le polymorphisme P53 72Pro et l'incidence des cancers d'origine kératinocytaire [15].

Conclusions

La découverte du rôle direct de la stabilisation de P53 dans la pigmentation pourrait susciter des recherches pharmacologiques visant à joindre l'utile à l'agréable : protection du génome

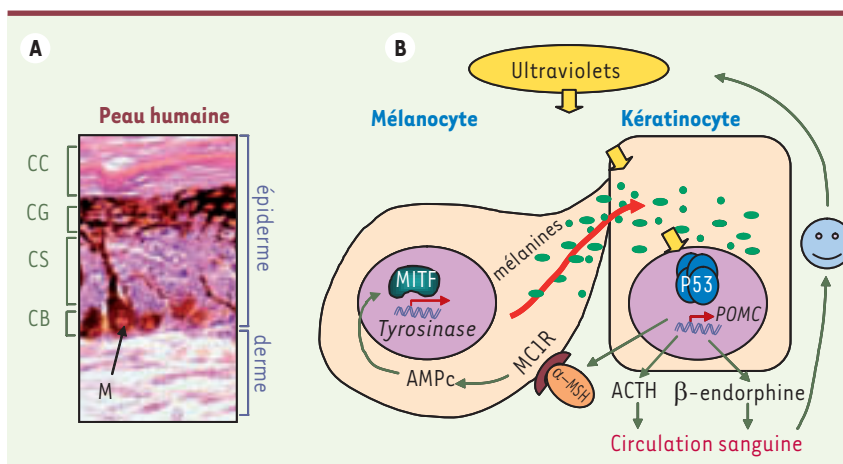


Figure 1. A. Coupe de peau humaine à forte pigmentation. L'épiderme est en majeure partie composé de kératinocytes. M indique un mélanocyte situé dans la couche basale de l'épiderme (CB). CS : couches spineuses ; CG : couches granuleuses ; CC : couches cornées. Le derme sous-jacent, et l'épiderme superficiel sont indiqués. **B. L'exposition aux ultraviolets conduit à la stabilisation de P53 (tétramère) qui va alors activer la transcription du gène POMC.** Le peptide précurseur POMC subit une maturation pour produire les peptides α -MSH, ACTH, et β -endorphine. L' α -MSH sécrétée en plus grande partie par les kératinocytes se fixe au récepteur MC1R, ce qui conduit à l'augmentation du niveau d'AMPc et à l'activation du facteur de transcription MITF (*microphthalmia associated transcription factor*) qui va activer la transcription du gène de la tyrosinase, ce qui conduit à la production de mélanines (granules de deux types). Ces granules sont distribués aux kératinocytes par l'intermédiaire des dendrites mélanocytaires. La sécrétion de la β -endorphine dans la circulation sanguine pourrait contribuer à la recherche de bien-être procuré par l'exposition solaire.



et bronzage. L'étude publiée montre notamment que P53 stabilisée stimule l'expression de l'ensemble du complexe POMC, ce qui aboutit à la sécrétion du peptide opiacé β -endorphine et peut-être au bien-être naturel qui accompagne l'exposition au soleil (*sun seeking behavior*). Manipuler l'expression de POMC est donc une hypothèse séduisante, mais elle est, bien entendu, à envisager avec précaution. ♦

Suntanning and p53

REMERCIEMENTS

Je remercie le Dr Françoise Bernerd et Emilie Warrick pour leurs discussions et leur lecture critique.

RÉFÉRENCES

1. Cui R, Widlund HR, Feige E, et al. Central role of p53 in the suntan response and pathologic hyperpigmentation. *Cell* 2007 ; 128 : 853-64.
2. Linzer DJ, Levine AJ. Characterization of a 54K dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. *Cell* 1979 ; 17 : 43-52.
3. Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 1979 ; 278 : 261-3.
4. Kress M, May E, Cassingena R, May P. Simian virus 40-transformed cells express new species of proteins precipitable by anti-simian virus 40 tumor serum. *J Virol* 1979 ; 31 : 472-83.
5. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992 ; 358 : 15-6.
6. Toledo F, Bluteau O, Simeonova I. Réactivation de p53 dans les tumeurs : une stratégie antitumorale prometteuse. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 565-7.
7. Magaldi T. La « guerre » du NER (nucleotide excision repair). *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 268-70.
8. Adimoolam S, Ford JM. p53 and DNA damage-inducible expression of the xeroderma pigmentosum group C gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 12985-90.
9. Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001 ; 411 : 366-74.
10. Polyak K, Xia Y, Zweier JL, et al. A model for p53-induced apoptosis. *Nature* 1997 ; 389 : 300-5.
11. Sablina AA, Budanov AV, Ilyinskaya GV, et al. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat Med* 2005 ; 11 : 1306-13.
12. Miyamura Y, Coelho SG, Wolber R, et al. Regulation of human skin pigmentation and responses to ultraviolet radiation. *Pigment Cell Res* 2007 ; 20 : 2-13.
13. Khlgatian MK, Hadshiew IM, Asawanonda P, et al. Tyrosinase gene expression is regulated by p53. *Jof Inv Dermatol* 2002 ; 118 : 126-32.
14. Bartkova J, Horejsi Z, Koed K, et al. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature* 2005 ; 434 : 864-70.
15. Bendesky A, Rosales A, Salazar AM, et al. p53 codon 72 polymorphism, DNA damage and repair, and risk of non-melanoma skin cancer. *Mutat Res* 2007 ; 619 : 38-44.

NOUVELLE

À la recherche des capteurs mécaniques moléculaires de la cellule

Nicolas Desprat, Emmanuel Farge

Mécanique et Génétique du Développement Embryonnaire et Tumoral, CNRS, UMR 168, Institut Curie, 11, rue Pierre-et-Marie-Curie, 75005 Paris, France. efarge@curie.fr

► De l'échelle tissulaire à l'échelle moléculaire, l'activation des voies de transduction d'un signal mécanique tend à devenir un champ de recherche aujourd'hui incontournable. Ce domaine a connu un essor particulier au cours des années 1990 lors de la publication des premiers travaux ayant permis de montrer l'existence de gènes dont une région promotrice est mécanosensible (*shear stress responsive elements*), comme PDGF-B (*platelet-derived growth factor B*), surexprimé en réponse aux flux hémodynamiques baignant les cellules endothéliales vasculaires [1].

Gènes mécanosensibles

Les premiers gènes mécanosensibles découverts ont été des gènes de « réponse à un stress mécanique », au sens où ils fonctionnent de manière à adapter la structure du tissu à son envi-

ronnement mécanique, par exemple en le renforçant par le déclenchement de divisions cellulaires, ou par l'expression de protéines composants le cytosquelette [2, 3]. Dans ce cadre, on a mis en évidence qu'un certain nombre de facteurs de transcription, dont NF- κ B, étaient sensibles aux contraintes mécaniques, dans ce cas leur translocation nucléaire est induite mécaniquement [4]. Si l'activation mécanique de voies de signalisation peut donc mener parfois jusqu'à la transcription de gènes, il doit exister, au cours du processus, une étape permettant de convertir un signal mécanique en signal biochimique : la mécanotransduction. L'identification de capteurs et transducteurs mécaniques moléculaires de la cellule constitue aujourd'hui l'une des grandes questions suscitées par ce champ d'investigation.

Certains mécanismes sont connus : ainsi les déformations membranaires peuvent entraîner l'ouverture de canaux ioniques [5], permettant ainsi de modifier la concentration calcique à l'intérieur du cytoplasme, ou la modulation mécanique de l'internalisation cellulaire par endocytose de protéines-signal modulant en aval l'activation de voies de signalisation [6]. D'autres commencent à être évoqués comme le changement de conformation mécanique direct d'une protéine, transmembranaire ou non, déclenchant l'initiation d'une voie de signalisation [7]. Dans ce cas, la transduction du signal mécanique s'effectue directement au niveau de la protéine par un changement de son activité enzymatique. Mais la recherche expérimentale de tels capteurs reste plus que jamais une question d'actualité.

Activation de p130Cas par les déformations cellulaires

Yasuhiro Sawada, Michael Sheetz et leurs collaborateurs ont publié récemment dans la revue *Cell* une série d'expériences indiquant que la protéine p130Cas est directement activable en réponse aux déformations que subit la cellule [8]. p130Cas appartient à la famille des substrats de la kinase Src qui intervient au niveau des complexes focaux d'adhésion. En attachant *in vitro* la partie substrat (CasSD) de p130Cas à des membranes déformables en latex, les auteurs ont pu mettre en évidence que le niveau de phosphorylation du domaine substrat CasSD était corrélé au niveau d'extension de la molécule. Le niveau d'extension a été mesuré par échange de domaine amino-terminal de la YFP (*yellow fluorescent protein*) insérées entre les deux extrémités de CasSD biotinylée. Le niveau de phosphorylation a été mesuré à l'aide d'anticorps pCas-165 et pCas-410 reconnaissant les sites spécifiques de phosphorylation de CasSD. Ensuite, des expériences *ex vivo* de marquage immunofluorescent montrent que l'anticorps pCas-165 se localise dans la cellule aux endroits où p130Cas est

dépliée (forme allongée reconnue par l'anticorps spécifique α Cas1). Enfin, le *silencing* de Cas réduit l'activité de Rap1 qui est connue pour être dépendante de l'étirement cellulaire. Les auteurs en concluent que p130Cas est un senseur mécanique primaire, dont la conformation mécaniquement étirée favorise l'activation par Src, sans que Src ne soit mécaniquement activé.

L'observation *in vitro* de l'activation mécanique directe d'une protéine était une étape attendue dans le domaine, et prouve aujourd'hui concrètement l'existence de capteurs mécaniques moléculaires, véritables transducteurs de signaux de nature physique en signaux de nature biochimique. À l'interface entre les propriétés physiques macroscopiques du vivant, et les propriétés biochimiques des molécules, ces capteurs jouent probablement un rôle clé dans l'interaction et le couplage réciproque entre le phénotype mécanique des tissus et cellules (forme cellulaire, morphogenèse pluricellulaire, flux hydrodynamiques) et l'état d'expression ou d'activation du génome et du protéome (fonction physiologique, différenciation cellulaire, organisation tissulaire) [9].

Interrogations

L'étude de ce couplage mécano-biochimique reste pour autant un domaine où subsistent beaucoup de questions. Se pose tout d'abord celle de la spécificité des réponses protéiques aux contraintes mécaniques. En effet, si les auteurs trouvent que, dans les cellules humaines embryonnaires de rein, p130Cas est activable mécaniquement sans activation de Src, d'autres ont récemment observé une réponse mécaniquement induite de Src dans des fibroblastes d'embryons de souris [10]. Il y a donc fort à parier que, en fonction du contexte cellulaire, nombre de protéines sont mécaniquement activables, dans la mesure où elles sont susceptibles de changer de conformation en interagissant mécaniquement avec une structure de la cellule (membrane, cytosquelette, jonctions cellulaires). Une réponse aussi globale et non spécifique pourrait peut-être précisément être la condition permettant au génome ou protéome de distinguer la nature mécanique du signal reçu de la nature biochimique d'autres signaux spécifiques. Mais comment imaginer la possibilité de réponse spécifique de la cellule à de telles activations non spécifiques ? La solution réside peut-être dans le fait que la contrainte mécanique seule ne permet pas une réponse fonctionnelle, et doit toujours être doublée d'un effecteur biochimique spécifique, rendant ou non la cellule compétente pour répondre, c'est-à-dire filtrant le signal mécanique. Ici, la présence de Src est bien requise pour la réponse de p130Cas. Dans d'autres cas, la présence de ligands spécifiques est requise [6]. L'autre interrogation reste la fonction physiologique associée à de tels processus de signalisation mécanique, *in vivo*. Au-delà des réponses à un stress hydrodynamique, le rôle des flux hémodynamiques dans les processus d'organogenèse est connu depuis longtemps, mais reste à les disséquer sur le plan moléculaire [11, 12]. Par ailleurs la mise en évidence, au cours du développement embryonnaire précoce, de

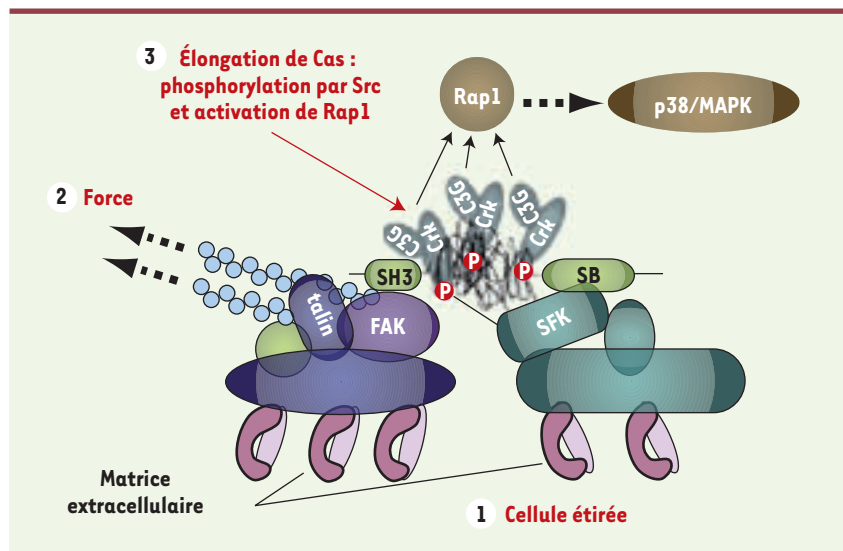


Figure 1. Activation mécanique de la phosphorylation de la protéine du complexe d'adhérence focale Cas par Src en réponse à son étirement mécanique local, induisant l'activation de Rap1. SH3 : domaine amino-terminal de Cas ; FAK : focal adhesion kinase ; SB : domaine de p130Cas ; C3G : guanine nucleotide exchange factor (se lie à p130Cas) ; SFK : Src family kinases.



processus d'induction mécanique d'expression de gènes du développement par les mouvements morphogénétiques pose la question de l'existence d'un contrôle-qualité de l'état de l'élaboration de la morphologie physique de l'embryon par le génome, maître d'œuvre du développement embryonnaire [9]. Il se peut même que les signaux mécaniques facilitent une communication rapide et de longue portée entre domaines de différenciation distants. Enfin, l'importance grandissante des signaux mécaniques dans la régulation de processus embryogénétiques ou organogénétiques pose nécessairement la question de leur rôle potentiel dans la dérégulation des pro-

cessus morphogénétiques, conduisant à des développements pathologiques. ♦

In search of the molecular mechano-transducers of the cell

RÉFÉRENCES

1. Resnick N, Collins T, Atkinson W, et al. Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear-stress-responsive element. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 4591-5.
2. Meyer CJ, Alenghat FJ, Rim P, et al. Mechanical control of cyclic AMP signalling and gene transcription through integrins. *Nat Cell Biol* 2000 ; 2 : 666-8.
3. Davies PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995 ; 75 : 519-60.
4. Resnick N, Yahav H, Shay-Salit A, et al. Fluid shear stress and the vascular endothelium: for better and for worse. *Prog Biophys Mol Biol* 2003 ; 81 : 177-99.
5. Corey DP, Hudspeth AJ. Ionic basis of the receptor potential in a vertebrate hair cell. *Nature* 1979 ; 281 : 675-7.
6. Rauch C, Brunet AC, Deleule J, Farge E. C2C12 myoblast/osteoblast transdifferentiation steps enhanced by epigenetic inhibition of BMP2 endocytosis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002 ; 283 : C235-43.
7. Katsumi A, Orr AW, Tzima E, Schwartz MA. Integrins in mechanotransduction. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 12001-4.
8. Sawada Y, Tamada M, Dubin-Thaler BJ, et al. Force sensing by mechanical extension of the Src family kinase substrate p130Cas. *Cell* 2006 ; 127 : 1015-26.
9. Brouzes E, Farge E. Interplay of mechanical deformation and patterned gene expression in developing embryos. *Curr Opin Genet Dev* 2004 ; 14 : 367-74.
10. Wang Y, Botvinick EL, Zhao Y, et al. Visualizing the mechanical activation of Src. *Nature* 2005 ; 434 : 1040-5.
11. Hove JR, Koster RW, Forouhar AS, et al. Intracardiac fluid forces are an essential epigenetic factor for embryonic cardiogenesis. *Nature* 2003 ; 421 : 172-7.
12. Serluca FC, Drummond IA, Fishman MC. Endothelial signaling in kidney morphogenesis: a role for hemodynamic forces. *Curr Biol* 2002 ; 12 : 492-7.

NOUVELLE

Quand la lumière contrôle l'activité neuronale et le comportement

Laurent Groc, Daniel Choquet

Unité « Physiologie Cellulaire de la Synapse »,
UMR 5091 CNRS, Université Bordeaux 2,
Bordeaux 33077, France.
laurent.groc@u-bordeaux2.fr

« Si l'on pouvait regarder à travers la voûte crânienne et si la zone à excitabilité optimale était éclairée, on découvrirait sur un être pensant le déplacement incessant de ce point lumineux »

Ivan Petrovitch Pavlov, 1927

► Parmi les rêves qui foisonnent dans la tête des neuroscientifiques figure en bonne place celui d'observer le fonctionnement du cerveau, ou encore mieux de contrôler l'activité des neurones, à l'aide de lumière maîtrisée. La lumière maîtrisée en microscopie du vivant est principalement utilisée comme moyen d'observation [1], depuis la morphologie générale des neurones jusqu'au mouvement de protéines uniques [2]. Le tour de force technologique de l'équipe de K. Deisselroth, publié dans la revue *Nature* [3], montre que l'association d'approches de biologie moléculaire et d'optique permet de moduler l'activité

neuronale, et par la même le comportement d'organismes vivants. Quand le rêve devient lumière !

Comment activer ou inhiber rapidement un ensemble de neurones avec de la lumière ?

La question peut sembler simple, mais chaque mot cache une difficulté expérimentale de taille. Les neurones sont des cellules excitables qui reçoivent et émettent des informations. Leur excitation ou inhibition dépend en grande partie de l'activation de récepteurs par des neuromédiateurs ou des variations du potentiel membranaire. Le principal neuromédiateur excitateur du cerveau est le glutamate. Lorsque du glutamate est libéré par un neurone au niveau d'une synapse (zone de connexion entre neurones), il active les récepteurs glutamatergiques présents

dans la membrane du neurone opposé, ce qui entraîne une dépolarisation du neurone et possiblement la génération de potentiels d'action. Afin de contrôler l'activité d'un neurone ou d'une synapse particulière, une des approches développées au cours de la dernière décennie a consisté à bloquer l'activité des molécules de glutamate à l'aide de cages chimiques sensibles à la lumière [4]. Lors d'une stimulation lumineuse dans l'ultraviolet, la cage se défait, le glutamate est libéré, les récepteurs glutamatergiques sont activés, et le neurone excité. Cette approche permet donc d'activer un neurone, mais peut poser problème lorsque l'expérimentateur cherche à contrôler l'activité d'un ensemble de neurones. Entre autres, cela nécessite la libération de glutamate dans un grand volume contenant les neurones d'intérêt, et entraîne une

activation massive, et excessive, de tous les récepteurs glutamatergiques membranaires. Or, cette situation est représentative d'un état pathologique observé, par exemple, lors d'accidents cérébraux vasculaires. Il fallait donc trouver une alternative à l'utilisation de neurotransmetteurs « encagés », qu'ils soient excitateurs ou inhibiteurs, pour activer des ensembles neuronaux.

C'est de la diversité des organismes vivants qu'une solution a émergé

En effet, il existe des récepteurs qui s'activent après stimulation lumineuse. Par exemple, les récepteurs rhodopsine sont présents dans la rétine, le phytochrome des plantes, et dans des cellules procaryotes. Le canal membranaire rhodopsine-2 (ChR2), qui est exprimé chez l'algue *Chlamydomonas reinhardtii*, répond à

ces caractéristiques puisque, en présence du co-agoniste nécessaire rétinoloïde, une stimulation lumineuse produit un flux de cations (ions chargés positivement) à travers le canal [5]. De telles propriétés ont fait de ChR2 une protéine de choix pour pouvoir moduler le potentiel de membrane et donc l'activation de neurones. ChR2 n'étant pas exprimé dans les neurones, Zhang *et al.* [3] ont utilisé des lentivirus contenant l'ADNc codant ChR2 pour infecter et exprimer ChR2 dans les neurones d'intérêt [6,7] (Figure 1A). Cette étape, qui pourrait apparaître à première vue contraignante, s'avère en fait présenter un double avantage. Premièrement, elle permet de cibler, si besoin est, une population neuronale spécifique, telle ou telle partie du cerveau par exemple. Deuxièmement, un rapporteur fluorescent introduit dans la construction ADN permet de visualiser les neurones infectés par ChR2, et donc excitables par un faisceau lumineux. Les neurones exprimant le ChR2 répondent à une stimulation lumineuse de très courte durée (~ 15 ms) par une dépolarisation membranaire (potentiel plus positif) et la genèse d'un potentiel d'action. L'effet excitateur est immédiat, et surtout réversible puisque l'arrêt de l'illumination conduit à un retour instantané au potentiel membranaire d'origine (Figure 1A). Nous sommes donc en présence de neurones répondant de façon réversible et très rapide à une stimulation lumineuse par une décharge de potentiel d'action. Au regard de la question d'origine, à savoir comment activer ou inhiber rapidement un ensemble de neurones avec de la lumière, subsiste donc le problème de l'inhibition des réseaux neuronaux. Question d'autant plus importante que les neurones en culture, ou *a fortiori* dans un animal vivant, sont actifs spontanément et que le seul moyen d'agir sur ces patrons d'activité spontanée est d'inhiber le neurone. En d'autres termes, induire 5 potentiels d'actions/minute dans un neurone qui en décharge spontanément 100 par minute aura peu d'effet et sera peu informatif.

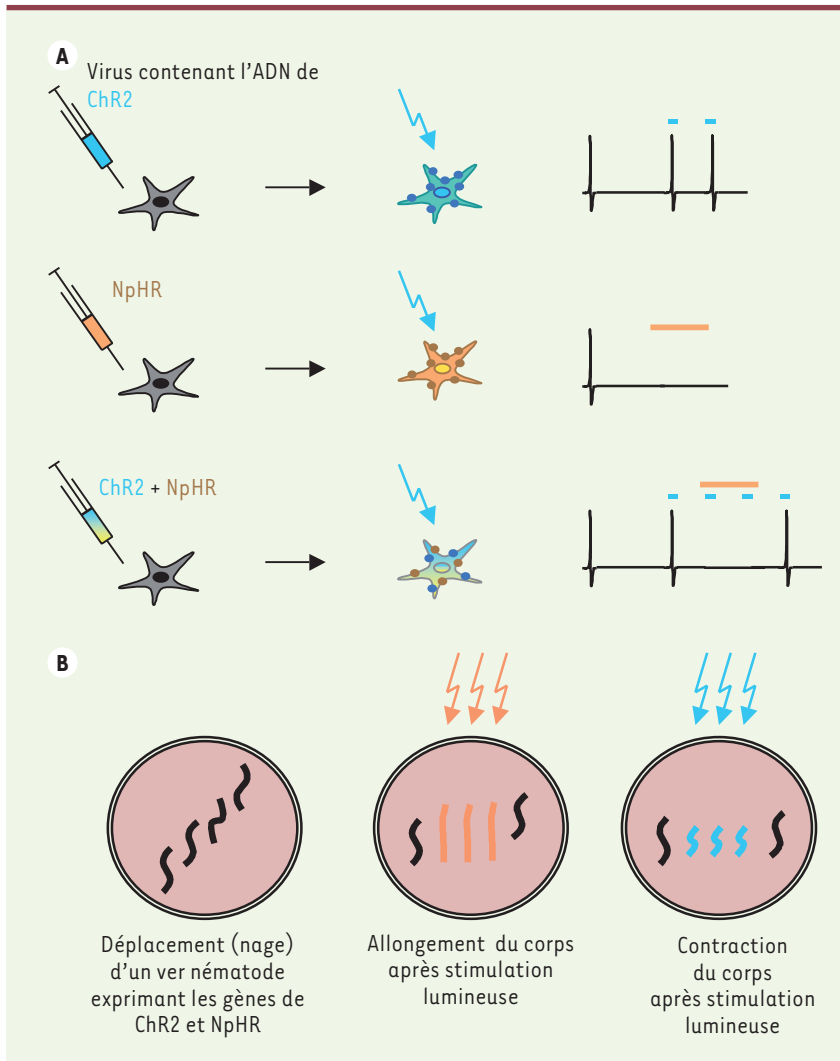


Figure 1. Modulation de l'activité neuronale par la lumière. A. L'infection de neurones par des virus contenant l'ADN de ChR2 (bleu) et NpHR (orange) permet l'expression de ces canaux au niveau de la membrane plasmique des neurones. L'activation transitoire et réversible de ces canaux par un faisceau lumineux dont la longueur d'onde est précisément choisie permet soit l'excitation (ChR2, bleu), soit l'inhibition (NpHR, orange) du neurone. L'expression des deux types de canaux au sein du même neurone permet de contrôler à la fois l'excitation et l'inhibition du neurone. B. Le développement de vers nématodes transgéniques exprimant les canaux ChR2 (vers bleus) et NpHR (vers oranges) au sein de muscles locomoteurs, ou de neurones innervant ces muscles locomoteurs, permet un contrôle instantané et réversible du comportement du ver à la suite de l'illumination de l'animal.



Le grand catalogue de constructions moléculaires présentes dans la nature a encore apporté une solution. Zhang *et al.* ont utilisé une halorhodopsine (NpHR) provenant du micro-organisme procaryote *Natronomas pharaonis*, et qui fonctionne comme pompe au chlore (ion chargé négativement) dont l'activité est dépendante de la lumière. À l'inverse du canal ChR2, l'activation du NpHR par la lumière induit une hyperpolarisation membranaire (potentiel plus négatif). La même stratégie d'infection virale, avec cette fois NpHR, a permis de montrer qu'une stimulation lumineuse des neurones contenant NpHR produit une inhibition rapide et réversible du neurone (Figure 1A).

L'excitation et l'inhibition d'un neurone peuvent alors être contrôlées par l'expérimentateur. Un même neurone peut-il cependant être excité et inhibé séquentiellement puisque les deux processus nécessitent une même stimulation lumineuse ? La réponse est oui. C'est grâce à la différence des spectres d'excitation du ChR2 et du NpHR que cela est possible. En effet, le ChR2 est principalement activé par une lumière bleue (longueur d'onde ~ 460 nm) tandis que le NpHR est principalement activé par une lumière jaune (longueur d'onde ~ 580 nm) (Figure 1A).

Quid de l'utilisation de ces systèmes de contrôle d'activité neuronale dans un cerveau d'animal actif ?

Afin de répondre à cette question primordiale, les auteurs ont notamment testé leurs systèmes dans un organisme entier et vivant, le ver *Caenorhabditis elegans*. Pour ce faire, des vers transgéniques exprimant à la fois ChR2 et NpHR dans des sous-types cellulaires précis ont été développés. L'expression des canaux au niveau de muscles locomoteurs ou de neurones cholinergiques impliqués dans la contraction musculaire permet alors le contrôle instantané et réversible du mouvement ondulatoire du ver (Figure 1B). En d'autres termes, l'excitation ou l'inhibition de neurones du système nerveux intact d'un animal vivant et libre de ses mouvements peut être modulée par l'expérimentateur en fonction du type de lumière envoyée.

L'utilisation de cette nouvelle technologie permet donc de contrôler précisément la fréquence de décharge d'un neurone (délai de moins de quelques millisecondes) et possède une grande reproductibilité dans l'induction de trains de potentiels d'action (plus de 98 %). De plus, l'expression de ces canaux dans des animaux transgéniques permet la modulation rapide et réversible de l'activité de réseaux neuronaux. Les perspectives d'une telle prouesse technologique sont presque aussi vastes que l'en-

semble des fonctions du système nerveux, fusse-t-il celui d'un ver. L'utilisation de ces outils d'optique et de génétique permettra, à n'en pas douter, de disséquer le fonctionnement de nombreux réseaux neuronaux lors de tâches comportementales complexes, comme le système olfactif de cerveaux de rats [8].

Quand le rêve des neuroscientifiques se rapproche de la lumière ! ♦

Optical control of neuronal network activity

RÉFÉRENCES

1. Lippincott-Schwartz J, Patterson GH. Development and use of fluorescent protein markers in living cells. *Science* 2003 ; 300 : 87-91.
2. Groc L, Choquet D. AMPA and NMDA glutamate receptor trafficking : multiple roads for reaching and leaving the synapse. *Cell Tissue Res* 2006 ; 326 : 423-38.
3. Zhang F, Wang LP, Brauner M, *et al.* Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature* 2007 ; 446 : 633-9.
4. Judkewitz B, Roth A, Hausser M. Dendritic enlightenment : using patterned two-photon uncaging to reveal the secrets of the brain's smallest dendrites. *Neuron* 2006 ; 50 : 180-3.
5. Nagel G, Szellas T, Huhn W, *et al.* Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 13940-5.
6. Boyden ES, Zhang F, Bamberg E, *et al.* Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci* 2005 ; 8 : 1263-8.
7. Zhang F, Wang LP, Boyden ES, *et al.* Channelrhodopsin-2 and optical control of excitable cells. *Nat Methods* 2006 ; 3 : 785-92.
8. Arenkiel BR, Peca J, Davison IG, *et al.* In vivo light-induced activation of neural circuitry in transgenic mice expressing channelrhodopsin-2. *Neuron* 2007 ; 54 : 205-18.



Tarifs d'abonnement M/S - 2007

Abonnez-vous

à Médecine/Sciences

> Depuis 20 ans, grâce à m/s, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement
page 643 et 648 dans ce numéro de m/s



Culture du virus de l'hépatite C, enfin !

Florence Legrand-Abravanel, Jacques Izopet

Inserm, U563, Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, Toulouse, F-31300, France ; CHU de Toulouse, Hôpital Purpan, Laboratoire de virologie, Institut fédératif de biologie de Purpan, F-31300, France. izopet.j@chu-toulouse.fr

➤ Après la découverte du virus de l'hépatite C (VHC) en 1989, il a fallu attendre 16 ans pour disposer d'un système permettant la propagation du virus et la production de particules virales *in vitro*. La première étape fut la génération de réplicons subgénomiques. Cependant, ce système n'aboutissait pas à la production de virions infectieux et permettait uniquement l'étude de la phase intracellulaire du cycle réplcatif. L'identification d'une souche particulière qui, pour des raisons encore inconnues, se répliquait à un niveau élevé dans des lignées hépatocytaires humaines a constitué une avancée décisive. Ce nouveau système permet à présent l'étude du cycle cellulaire du VHC, élément essentiel pour le développement de nouveaux antiviraux.

Le VHC infecte 170 millions d'individus dans le monde et représente l'un des agents principaux de maladie chronique du foie. Six génotypes et de nombreux sous-types ont été décrits. Cette variabilité a des conséquences thérapeutiques puisque les différents génotypes ne présentent pas la même sensibilité au traitement [1]. Comme les autres *Flaviviridae*, le VHC est un virus enveloppé et est constitué d'un génome à ARN simple brin de polarité positive (Figure 1A). Sa biologie restait mal connue car le chimpanzé était le seul modèle animal et aucun modèle de culture cellulaire ne permettait un cycle réplcatif complet.

Différentes stratégies ont été successivement développées. Par analogie aux travaux réalisés sur le poliovirus, des constructions subgénomiques

composées seulement des gènes non structuraux du VHC ont été réalisées (Figure 1B) et leur transfection dans la lignée d'hépatome humain Huh-7 a permis une réplcation autonome [2]. D'autres travaux ont confirmé ces résultats et ont montré qu'un niveau élevé de réplcation était lié d'une part à des mutations adaptatives localisées dans les régions NS3 et NS5A, et d'autre part à l'existence de clones cellulaires hautement permissifs : Huh-7.5 et Huh-7 Lunet [3]. Ces éléments ont permis la construction de réplicons du VHC comportant le génome entier, mais aucun réplicon génomique ne permettait la production de particules virales infectieuses. De plus, il a été montré que les mutations adaptatives favorisant la multiplication *in vitro* étaient en fait délétères pour l'infectiosité *in vivo* chez le chimpanzé [4].

L'année 2005 aura été déterminante pour la mise au point d'un système cellulaire permettant de reproduire un cycle infectieux complet du VHC *in vitro*. Une étape essentielle fut la construction d'un clone consensus de génotype 2a, isolé d'un patient japonais présentant une hépatite fulminante, forme clinique exceptionnelle dans les hépatites C. Ce clone fut appelé JFH1. Un réplicon subgénomique de JFH1 présentait des niveaux de réplcation plus élevés que les précédents, sans mutation adaptative [5]. Point crucial, la transfection du génome complet de JFH1 dans les cellules Huh-7 a permis la production de particules virales infectieuses dont l'infectiosité a été démontrée à la

fois sur des lignées hépatocytaires et chez le chimpanzé [6]. Une autre innovation de ce système fut la possibilité d'accroître les titres du virus JFH1 en utilisant des cellules traitées par de l'interféron- γ [7]. Les cellules Huh7.5 semblent constituer le système le plus favorable à la production virale *in vitro*. Ces cellules présentent une mutation dans le gène RIG-I, conduisant à l'inactivation des réponses immunes innées antivirale [8]. La culture d'un virus de génotype 1a a pu être réalisée mais la production de virus infectieux était inférieure à celle de la souche JFH1 [9].

La production de particules virales infectieuses à partir d'un génome VHC chimère résultant du remplacement des gènes C, E1, E2 et NS2 de JFH1 par la séquence correspondante du virus J6 (génotype 2a) a été également décrite (Figure 1C) [10]. Ce virus chimère est infectieux chez le chimpanzé et après passage chez cet animal le virus reste infectieux en culture cellulaire [11]. De plus, la réplcation est inhibée par l'interféron- α et les titres viraux obtenus avec ce virus chimère sont plus élevés qu'avec JFH1. Les gènes structuraux de JFH1 semblent donc présenter une plus faible capacité intrinsèque d'assemblage et/ou de libération du virus. Cette hypothèse est étayée par une étude récente où la production en culture de virus chimères intergénomiques et intragénomiques a été comparée à celle de JFH1 (Figure 1D) [12]. Les titres les plus élevés ont été obtenus avec le recombinant J6-JFH1. L'étude de ces virus chimères a permis récemment l'identification de déterminants essen-



tiels à la production de virus *in vitro* [13]. Afin de produire en culture des virus de différents génotypes, d'autres constructions comportant l'ADN complémentaire du VHC flanqué par des structures ribozymes ont été réalisées mais les niveaux de répllication restent cependant faibles [14]. Il est intéressant de noter que les rares virus recombinants décrits *in vivo* chez des patients chroniquement infectés présentent un point de cassure localisé à la jonction NS2-NS3 et sont constitués des gènes structuraux de génotype 2 [15-17].

Le modèle de culture cellulaire du VHC avec la souche JFH1 constitue donc un événement majeur permettant l'étude *in vitro* du cycle viral dans son ensemble et la confirmation des données établies précédemment à partir d'autres modèles. Ce système a récemment contribué à la caractérisation d'un nouveau récepteur impliqué dans l'entrée du VHC : la claudine-1 [18]. Cependant, malgré tout l'intérêt de la culture conventionnelle pour l'analyse détaillée de la biologie du VHC, les études concernent principalement le génotype 2a ou des constructions dérivées de ce génotype. Le dévelop-

pement de génomes chimériques, comportant les éléments structuraux et non structuraux de l'ensemble des génotypes, reste un enjeu essentiel. ♦

A new system for the culture of hepatitis C virus

RÉFÉRENCES

1. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev* 2000 ; 13 : 223-35.
2. Lohmann V, Korner F, Koch J, et al. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999 ; 285 : 110-3.
3. Blight KJ, McKeating JA, Marcotrigiano J, Rice CM. Efficient replication of hepatitis C virus genotype 1a RNAs in cell culture. *J Virol* 2003 ; 77 : 3181-90.
4. Bukh J, Pietschmann T, Lohmann V, et al. Mutations that permit efficient replication of hepatitis C virus RNA in Huh-7 cells prevent productive replication in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 14416-21.
5. Kato T, Date T, Miyamoto M, et al. Efficient replication of the genotype 2a hepatitis C virus subgenomic replicon. *Gastroenterology* 2003 ; 125 : 1808-17.
6. Wakita T, Pietschmann T, Kato T, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 2005 ; 11 : 791-6.
7. Zhong J, Gastaminza P, Cheng G, et al. Robust hepatitis C virus infection in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 9294-9.
8. Sumpter R Jr, Loo YM, Foy E Jr, et al. Regulating intracellular antiviral defense and permissiveness to hepatitis C virus RNA replication through a cellular RNA helicase, RIG-I. *J Virol* 2005 ; 79 : 2689-99.
9. Yi M, Villanueva RA, Thomas DL, et al. Production of infectious genotype 1a hepatitis C virus (Hutchinson strain) in cultured human hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 2310-5.
10. Lindenbach BD, Evans MJ, Syder AJ, et al. Complete replication of hepatitis C virus in cell culture. *Science* 2005 ; 309 : 623-6.
11. Lindenbach BD, Meuleman P, Ploss A, et al. Cell culture-grown hepatitis C virus is infectious *in vivo* and can be recultured *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 3805-9.
12. Pietschmann T, Kaul A, Koutsoudakis G, et al. Construction and characterization of infectious intragenotypic and intergenotypic hepatitis C virus chimeras. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 7408-13.
13. Binder M, Quinkert D, Bochkarova O, et al. Identification of determinants involved in initiation of hepatitis C virus RNA synthesis by using intergenotypic replicase chimeras. *J Virol* 2007 ; 81 : 5270-83.
14. Kato T, Matsumura T, Heller T, et al. Production of infectious hepatitis C virus of various genotypes in cell cultures. *J Virol* 2007 ; 81 : 4405-11.
15. Kalina O, Norder H, Mukomolov S, et al. A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J Virol* 2002 ; 76 : 4034-43.
16. Noppornpanth S, Lien TX, Poovorawan Y, et al. Identification of a naturally occurring recombinant genotype 2/6 hepatitis C virus. *J Virol* 2006 ; 80 : 7569-77.
17. Legrand-Abravanel F, Claudon J, Nicot F, et al. New natural intergenotypic (2/5) recombinant of hepatitis C virus. *J Virol* 2007 ; 81 : 4357-62.
18. Evans MJ, von Hahn T, Tschernie DM, et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 2007 ; 446 : 801-5.

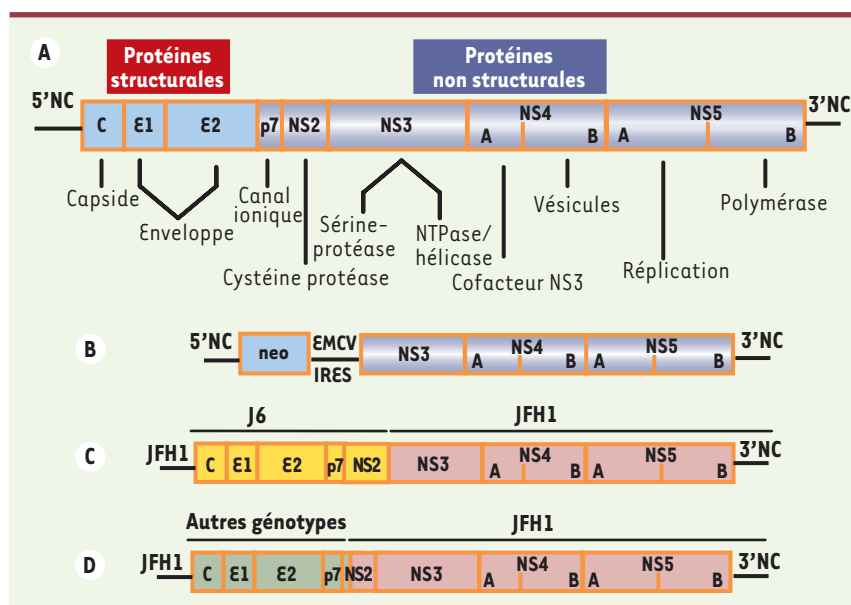


Figure 1. Organisation du génome du virus de l'hépatite C et structure des réplicons ou des génomes infectieux. **A.** Représentation schématique du génome viral. La fonction des protéines clivées est indiquée. C est la protéine de capsid, E1 et E2 sont les glycoprotéines d'enveloppe, p7 forme un canal ionique impliqué dans la répllication du virus, NS2 est une cystéine protéase, NS3 forme un complexe stable avec NS4A créant une sérine protéase alors que son domaine carboxy-terminal contient une activité de phosphatase des nucléotides et une activité hélicase. NS4B peut induire la formation de vésicules intracellulaires servant de support à la répllication du virus. La phosphoprotéine NS5A est un co-facteur de répllication. NS5B est l'ARN polymérase dépendante de l'ARN. **B.** Structure des réplicons subgénomiques. La traduction du gène *neo* (conférant la résistance à G418) est sous la dépendance de l'IRES du HCV alors que les autres protéines sont sous la dépendance du site d'entrée dans le ribosome (*internal ribosomal entry site*, IRES) du virus de l'encéphalomyocardite (EMCV). **C.** Représentation schématique du virus chimère construit par Lindenbach et al. La région comprise entre le gène de capsid et NS2 est dérivée de la souche J6 (génotype 2a), les autres régions du génome appartiennent à la souche JFH1 (génotype 2a). **D.** Représentation schématique des virus chimères construits par Pietschmann et al. Les fragments génomiques ont été fusionnés immédiatement après le premier domaine transmembranaire de NS2.

Implication de la voie des microARN dans la réplication du VIH-1

Robinson Triboulet, Monsef Benkirane

Laboratoire de Virologie Moléculaire,
Institut de Génétique Humaine,
CNRS UPR 1142, 141, rue de la Cardonille,
34396 Montpellier Cedex 5, France.
robinson.triboulet@igh.cnrs.fr
bmonsef@igh.cnrs.fr

➤ Les microARN (miARN) sont des petits ARN simple-brin de 19-25 nucléotides qui régulent l'expression des gènes chez les organismes eucaryotes [1]. Ils sont exprimés à partir de gènes codants ou non-codants sous forme de transcrits primaires (Figure 1). Ces transcrits, également appelés pri-miARN, subissent deux étapes de clivage : l'une est réalisée dans le noyau par une RNase appelée Drosha, qui génère des miARN précurseurs, ou pré-miARN, qui sont exportés dans le cytoplasme par l'intermédiaire de l'exportine 5 ; l'autre est réalisée dans le cytoplasme par une autre RNase appelée Dicer, qui engendre des ARN double-brin de miARN à partir des pré-miARN. Les ARN double-brin s'associent à un complexe multi-protéique appelé

RISC (*RNA-induced silencing complex*), au sein duquel l'un des brins est dégradé, tandis que l'autre sert de guide au complexe pour cibler des ARN messagers (ARNm) et bloquer leur traduction et/ou les déstabiliser par un mécanisme encore mal compris. Un miARN peut cibler un ARNm par le jeu d'un appariement de bases avec une ou plusieurs séquences présentes dans sa région 3' non-traduite. Or, la complémentarité entre un miARN et sa cible est souvent imparfaite, rendant difficile l'identification et l'étude des cibles des miARN. Malgré cela, plusieurs travaux ont montré que les miARN peuvent réguler de nombreuses voies biologiques au cours du développement, de la différenciation ou de l'apoptose cellulaire par exemple.

Le cycle réplcatif de certains virus est également soumis à des régulations par les miARN [2]. L'ARN du virus foamy et celui du virus de l'hépatite C sont chacun ciblés par un miARN cellulaire qui, pour le premier, réprime sa réplication (il s'agit du miR-32), et pour le second, la potentialise (il s'agit du miR-122, qui est à ce jour le seul exemple de miARN capable de stimuler la production d'ARN). L'analyse des séquences de certains virus et le clonage systématique des petits ARN isolés à partir de cellules infectées ont également révélé l'existence de miARN viraux. Ces miARN, principalement codés par des virus à ADN, joueraient un rôle important pendant l'infection, comme en témoigne par exemple le cas du miR-S1 codé par le virus simien 40 ou celui du miR-LAT codé par le virus de l'herpès simplex de type I. Récemment, nous avons montré que l'expression de miARN cellulaires peut aussi être soumise à des régulations par des virus [3]. L'analyse du profil d'expression des miARN cellulaires au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience de type I, ou VIH-1, a montré que plusieurs miARN sont régulés : 6 miARN sont significativement diminués, et 11 sont augmentés. Dans quel but le VIH-1 altère-t-il de façon spécifique l'expression de ces miARN ? Certains résultats laissent penser que cela permettrait au VIH-1 de moduler l'expression de certains gènes cellulaires qui potentialiseraient sa réplication. En effet, parmi les 6 miARN diminués, deux miARN (les miR-17-5p et 20a) sont capables de cibler l'ARNm qui code pour PCAF (*pCAF, CREB-binding protein associated factor*), une protéine cellulaire qui joue un rôle essentiel dans l'activation de l'expression des gènes du VIH-1 (Figure 2) [4]. PCAF

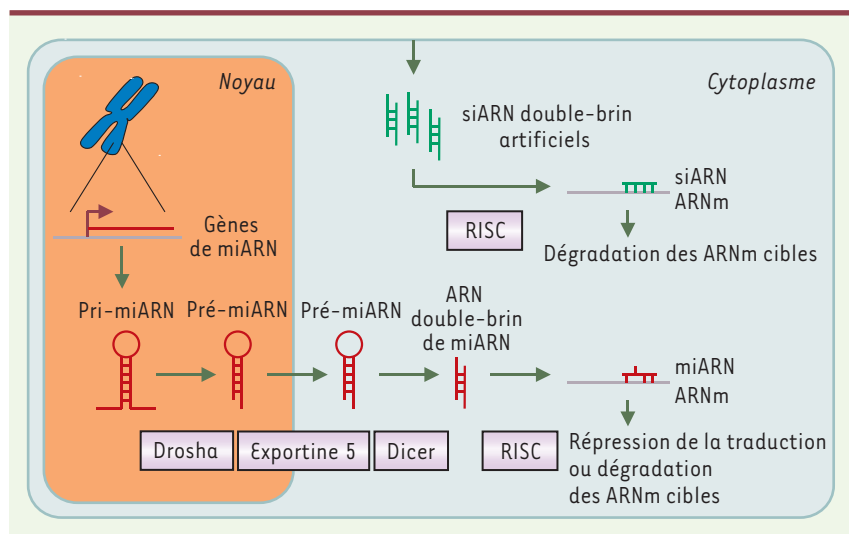


Figure 1. Voie de synthèse et d'action des miARN. Les miARN (représentés en rouge) sont transcrits dans le noyau, clivés par Drosha, exportés dans le cytoplasme, puis clivés par Dicer avant de servir de guide pour cibler des ARNm et bloquer leur traduction ou les dégrader. Les siARN (représentés en vert) sont apportés de façon artificielle dans les cellules pour cibler et dégrader spécifiquement des ARNm.

possède une activité acétyl-transférase qui lui permettrait d'acétyler les histones et de lever la répression chromatinienne au niveau du promoteur du VIH-1. PCAF est également un co-activateur essentiel de la protéine Tat, car l'acétylation de Tat par PCAF module son activité vis-à-vis du promoteur [5]. Donc, en diminuant l'expression de ces 2 miARN, le VIH-1 facilite l'expression de PCAF et permet ainsi une activation efficace du promoteur viral. Comment le VIH-1 régule-t-il l'expression de ces miARN ? Les 6 miARN dimi-

nués lors de l'infection sont exprimés à partir d'un même pri-miARN, appelé pri-miR-17/92, qui est localisé dans l'un des introns d'un gène dont la fonction n'est pas connue [6]. Des résultats indiquent que le VIH-1 pourrait réguler de façon négative l'activité du promoteur qui contrôle leur expression. Pour les 11 miARN qui sont augmentés, les analyses par *microarray* montrent que 4 ne sont exprimés qu'après infection par le VIH-1. Leur expression est donc manifestement induite en présence du

virus. Dans tous les cas, peu d'informations existent concernant la régulation de l'expression de ces miARN et il reste donc à déterminer quels sont les mécanismes mis en jeu.

Des observations indiquent clairement que Dicer et Drosha, les deux RNases impliquées dans la biogenèse des miARN, répriment la réplication du VIH-1. Cela a pu être mis en évidence en utilisant des siARN, des petits ARN couramment utilisés en laboratoire pour éteindre de façon spécifique l'expression des gènes, et qui empruntent pour cela une voie similaire à celle utilisée par les miARN (Figure 1). L'utilisation de siARN capables de bloquer l'expression de Dicer ou de Drosha s'accompagne d'une augmentation de la cinétique de réplication du virus dans des cellules de patients infectés et dans différentes lignées cellulaires. Ces résultats indiquent donc que la voie des miARN est inhibitrice de la réplication du VIH-1. La régulation de l'expression de PCAF, résultante de la diminution de l'expression des miR-17-5p et 20a par le VIH-1, explique en partie pourquoi l'inhibition de Dicer et Drosha s'accompagne d'une meilleure réplication du VIH-1. Mais des observations suggèrent que d'autres cibles cellulaires des miARN régulés par le VIH-1 pourraient également être impliquées. Ainsi, on peut imaginer que les miARN augmentés par le VIH-1 pourraient cibler des gènes antiviraux, alors que les gènes ciblés par les miARN diminués pourraient être des gènes nécessaires à la réplication virale, comme dans l'exemple de PCAF [7]. Une autre hypothèse est que certains miARN pourraient être régulés dans le cadre d'un mécanisme de défense mis en place par la cellule pendant l'infection. En effet, des études ont montré que des miARN peuvent être induits en réponse à une infection microbienne [8, 9]. Ces miARN n'ont pas été identifiés dans notre analyse *microarray*, mais il est fort probable que certains miARN soient mis en jeu de manière spécifique en fonction du type de pathogène détecté par la cellule. L'implication de la voie des miARN dans le cycle réplcatif du VIH-1 ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques. En

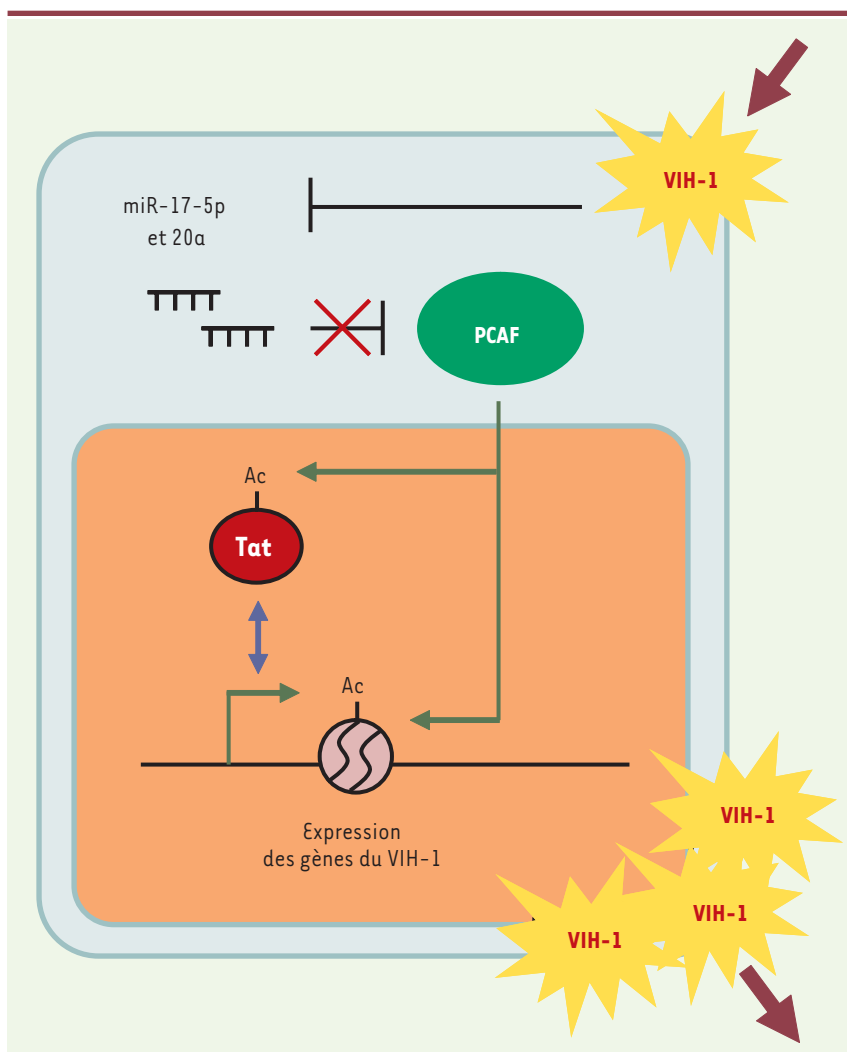


Figure 2. Régulation par le VIH-1 de l'expression de PCAF par l'intermédiaire des miR-17-5p et 20a. Le VIH-1 bloque l'expression des miR-17-5p et 20a, permettant une meilleure expression de PCAF. PCAF acétyle (Ac) les nucléosomes (représenté en rose), ce qui permet de lever la répression chromatinienne au niveau du promoteur du VIH-1. PCAF acétyle également Tat et permet ainsi de réguler l'activité transcriptionnelle de Tat vis-à-vis du promoteur viral. Ce mécanisme permet une meilleure expression des gènes viraux et favorise la réplication du virus.

effet, arriver à réactiver le virus qui est entré dans une phase de latence répllicative représente un enjeu majeur du traitement du VIH-1 [10]. L'utilisation de siARN permettant de cibler et de dégrader des ARNm s'est montrée efficace dans le traitement de certaines pathologies dans des modèles animaux, et des essais sont actuellement réalisés chez l'homme [11]. Aussi, en ciblant par des siARN les ARNm qui codent pour des protéines essentielles de la voie des miARN, telles que Dicer ou Drosha, cela permettrait de réactiver le virus et de procéder à son éradication par la conjonction de la trithérapie. Par ailleurs, comprendre comment le VIH-1 régule ces miARN et arriver à caractériser

leurs cibles représentent également des enjeux déterminants pour mieux comprendre les mécanismes de l'infection par le VIH-1. ♦

Interplay between HIV-1 replication and the microRNA-silencing pathway

RÉFÉRENCES

1. Bartel DP. MicroRNAs : genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004 ; 116 : 281-97.
2. Scaria V, Hariharan M, Maiti S *et al.* Host-virus interaction : a new role for microRNAs. *Retrovirology* 2006 ; 3 : 68.
3. Triboulet R, Mari B, Lin YL *et al.* Suppression of microRNA-silencing pathway by HIV-1 during virus replication. *Science* 2007 ; 315 : 1579-82.
4. Kiernan RK, Vanhulle C, Schiltz L *et al.* HIV-1 Tat transcriptional activity is regulated by acetylation. *EMBO J* 1999 ; 18 : 6106-18.
5. Brès V, Tagami H, Pélouponèse JM *et al.* Differential acetylation of Tat coordinates its interaction with the co-activators cyclin T1 and PCAF. *EMBO J* 2002 ; 21 : 6811-9.
6. Ota A, Tagawa H, Karnan S *et al.* Identification and characterization of a novel gene, *C13orf25*, as a target for 13q31-q32 amplification in malignant lymphoma. *Cancer Res* 2004 ; 64 : 3087-95.
7. Goff S. Host factors exploited by retroviruses. *Nat Rev Microbiol* 2007 ; 5 : 253-63.
8. Navarro L, Dunoyer P, Jay F *et al.* A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. *Science* 2006 ; 312 : 436-9.
9. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ *et al.* NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 12481-6.
10. Marcello A. Latency : the hidden HIV-1 challenge. *Retrovirology* 2006 ; 3 : 7.
11. Kim DH, Rossi JJ. Strategies for silencing human disease using RNA interference. *Nat Rev Genet* 2007 ; 8 : 173-84.

NOUVELLE

Diagnostic prénatal non invasif de la trisomie 21 Chimère ou réalité ?

Patrizia Paterlini-Bréchet

Inserm U807,
Faculté de Médecine Necker-Enfants malades,
Université Paris V, 156, rue de Vaugirard, 75015 Paris, France.
paterlini@necker.fr

► Malgré les progrès remarquables de la médecine moderne, un diagnostic prénatal fiable de la trisomie 21 est possible, à l'heure actuelle, uniquement par des méthodes invasives, notamment l'amniocentèse et la biopsie des villosités chorales, qui sont associées à un risque non négligeable de fausse-couche (0,8 % à 3 % des cas). Depuis une quinzaine d'années, les chercheurs ont essayé d'isoler et analyser les cellules fœtales rarissimes (environ une par ml de sang) qui circulent dans le sang maternel (CFC, *circulating fetal cells*). Après la publication en 2002 [1] d'une étude multicentrique américaine rapportant l'isolement d'au moins une cellule fœtale chez seulement 41,4 % des mères, la recherche des CFC a été abandonnée par plusieurs groupes de recherche au profit de l'étude des acides nucléiques d'origine fœtale circulant sous forme libre dans le plasma. La proportion de

l'ADN fœtal dans le plasma (3,4 %) peut être augmentée en ajoutant de la formaldéhyde au prélèvement sanguin. Les indications actuelles de l'utilisation de l'ADN fœtal concernent la détermination du sexe fœtal et le génotypage RHD (Rhésus D) [2, 3], qui ciblent des séquences absentes dans l'ADN maternel. Deux travaux récents ont exploré la faisabilité de l'utilisation des acides nucléiques d'origine fœtale circulant sous forme libre dans le plasma pour le diagnostic d'aneuploïdie.

Quantification des transcrits fœtaux

Le travail de Dennis Lo *et al.* [4] (Figure 1) utilise le génotypage par SNP (*single nucleotide polymorphism*) et la quantification des transcrits du gène *PLAC4* (*placenta specific protein 4*) situé sur le chromosome 21, exprimés de façon prévalente au niveau du placenta et dont une proportion passe dans la circulation

[5]. La méthode implique l'extraction des ARN du plasma, l'amplification par RT-PCR d'un locus SNP (rs8130833) sur le chromosome 21 (locus qui n'est informatif que dans 45 % de la population) et l'analyse quantitative par spectrométrie de masse des produits d'amplification. Les auteurs ont défini les variations du *ratio* entre les deux allèles quantifiés chez les femmes portant un fœtus euploïde et, par comparaison, ont effectué le diagnostic de trisomie 21 quand ce *ratio* dépassait ces limites (par excès quantitatif d'un allèle ou de l'autre). La méthode a permis de classer correctement 9 cas sur 10 de trisomie 21 et 55 cas sur 57 d'euploïdie avec une sensibilité de 90 %, une spécificité de 96,5 % et un taux de faux positifs de 2,98 %. Cette méthode, qui a pu être mise au point actuellement avec un seul marqueur (rs8130833), présent sous forme hétérozygote chez 45 % des sujets, cible



environ la moitié de la population. Si la combinaison de plusieurs marqueurs permet son extension, elle pourrait être applicable à environ 95 % de la population caucasienne.

Techniquement, l'approche est fondée sur l'amplification quantitative des ARN placentaires transférés dans le plasma maternel. Il est donc essentiel que la proportionnalité quantitative des transcrits provenant des deux ou trois allèles du gène *PLAC4* dans le plasma maternel soit identique à ce qu'elle est dans le placenta. Si tel est le cas, les transcrits exprimés par les deux allèles identiques seront en quantité supérieure à celle des transcrits issus de l'autre allèle dans le plasma des femmes avec fœtus trisomique. Toutefois, de façon surprenante, la

quantité globale des ARN *PLAC4* dans le plasma des mères avec fœtus trisomique n'était pas supérieure à celle détectée dans le plasma des femmes dont le fœtus était normal [4]. Il faut donc imaginer que des problèmes relatifs au nombre de copies des transcrits du gène exprimés par allèle et/ou à leur amplification et/ou à leur passage dans le plasma maternel pourraient expliquer ce résultat et constituer un point critique pour la mise au point d'une méthode fiable en prévision de sa diffusion à large échelle.

Ou quantification d'allèles des chromosomes 13 et 21

Le travail de R. Dhallan *et al.* [6] (Figure 2) cible l'ADN fœtal libre dans

le plasma, après un traitement du sang avec du formaldéhyde. Les auteurs détectent ainsi une proportion moyenne d'ADN fœtal de 34 % par rapport à l'ADN libre maternel. L'ADN plasmatique du sang maternel est analysé par amplification avec des amorces spécifiques de SNP informatifs ciblant les chromosomes 13 et 21. Le produit d'amplification, obtenu avec des amorces biotinylées portant un site de restriction, est capturé sur un support solide par une liaison avidine-biotine, coupé, marqué avec des nucléotides fluorescents, et déposé sur gel de séquence. Le signal est « pixelisé » et quantifié. Le test est basé sur le rapport entre l'intensité du signal de l'allèle paternel et celui de l'allèle maternel à la fois pour les SNP du chromosome 13 et ceux du chromosome 21. Un rapport de 0,333 est attendu en cas d'euploïdie (exemple : 1T/3C) et de 0,25 (exemple : 1G/4A) en cas de trisomie 21 (Figure 2). Les auteurs ont étudié 57 femmes porteuses d'un fœtus euploïde et 3 femmes porteuses d'un fœtus ayant une trisomie 21. Cinquante-six cas normaux ont été identifiés correctement ainsi que 2 des 3 trisomies (sensibilité : 66,7 %, spécificité : 98,2 %, taux de faux positifs : 1,6 %).

La performance de cette méthode, dont la sensibilité est inférieure à celle des tests sérologiques, ne peut pas être évaluée en raison du nombre trop faible des cas avec trisomie 21. L'approche technique est intéressante, mais il est clair que sa fiabilité dépend, comme les auteurs le remarquent, de la proportion relative de l'ADN fœtal par rapport à l'ADN maternel, variable d'un prélèvement à l'autre, et du nombre de SNP informatifs qui peuvent être détectés sur les chromosomes 13 et 21. Il est intéressant de noter qu'une différence significative entre les rapports des deux allèles calculés sur le chromosome 13 et sur le chromosome 21 n'a été trouvée que dans trois cas sur les 60 testés [6]. Deux de ces cas ont permis le diagnostic correct de trisomie 21, le troisième a été interprété comme une trisomie 21,

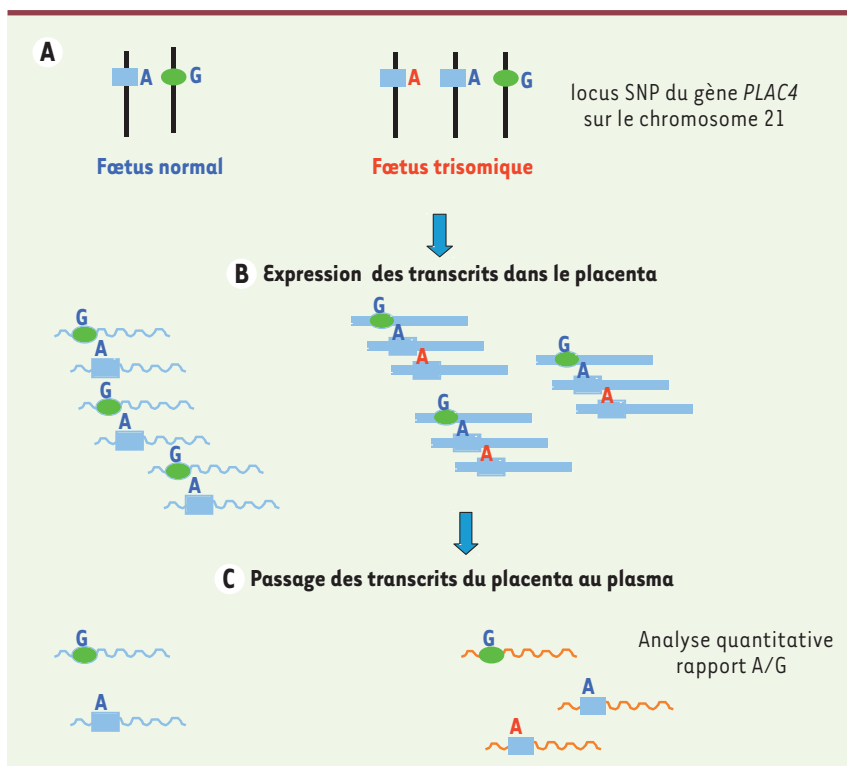


Figure 1. Principe de la méthode utilisée par D. Lo et al. [4]. A. En cas d'hétérozygotie du locus SNP (rs8130833) sur le gène *PLAC4* (taux d'hétérozygotie dans la population caucasienne : 45%), le fœtus normal a une base différente sur chacun des deux allèles (ici A et G). Chez le fœtus trisomique, il y a duplication d'un allèle. B. En cas de trisomie 21, les transcrits du gène *PLAC4* au niveau du placenta sont caractérisés par une quantité plus importante de transcrits avec A par rapport aux transcrits avec G (si le taux de transcription des trois allèles du gène est le même). C. Il y a une réduction du nombre de transcrits *PLAC4* du placenta vers le plasma, mais, si la proportionnalité entre transcrits est maintenue, le nombre des transcrits avec A est supérieur à celui des transcrits avec G.

mais il s'agissait d'un faux positif (le pourcentage absolu d'ADN fœtal était de 21,7 % et le nombre de SNP trouvés sur les deux chromosomes était bas). Enfin, un autre cas, pour lequel la proportion d'ADN fœtal était de 31,8 % et le nombre de SNP utilisés plus important, a été interprété comme normal alors qu'il s'agissait d'une trisomie 21.

En pratique...

Ces travaux soulignent les difficultés auxquelles se heurte l'utilisation des acides nucléiques fœtaux libres dans le plasma maternel pour la mise au point d'un diagnostic fiable de trisomie 21. Le dépistage non invasif, réalisé actuellement au second trimestre (marqueurs sériques et analyse échographique de l'épaisseur de la nuque), a une sensibi-

lité de 82,5 % et un taux de faux positifs de 5 % alors que le dépistage combiné réalisé au premier et au second trimestres a une sensibilité de 89,7 % et un taux de faux positifs de 4,2 % [7]. Les limites des méthodes moléculaires, réalisées à partir d'échantillons plasmatiques, ne permettent pas, en l'état actuel, de les proposer en complément des méthodes de dépistage actuelles (ce qui conduirait à augmenter les coûts sans véritable avantage diagnostique) ni en remplacement des méthodes diagnostiques invasives. Il apparaît clair que, si les acides nucléiques fœtaux libres dans le plasma sont d'obtention facile, leur mélange avec ceux de la mère impose des développements techniques dont la reproductibilité et la validation ne sont pas aisées. Par ailleurs, l'isolement

par ISET (*isolation by size of epithelial tumor/trophoblastic cells*) des cellules trophoblastiques à partir du sang maternel constitue un espoir tangible car il permet de réaliser les analyses génétiques sur de l'ADN fœtal pur, non mélangé à l'ADN maternel [8-10].

La mise au point d'une méthode fiable et applicable à large échelle de diagnostic prénatal non invasif de la trisomie 21 n'est sûrement pas une chimère, mais reste un défi pour la médecine moderne. ♦

Non invasive prenatal diagnosis of trisomy 21: dream or reality ?

RÉFÉRENCES

1. Bianchi DW, Simpson JL, Jackson LG, et al. Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood : analysis of NIFTY I data. National Institute of Child Health and development fetal cell isolation study. *Prenat Diagn* 2002 ; 22 : 609-15.
2. Bianchi DW, Avent ND, Costa JM, Van der Schoot CE. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal Rhesus D: ready for Prime(r) Time. *Obstet Gynecol* 2005 ; 106 : 841-4.
3. Costa JM, Benachi A, Gautier E, et al. First-trimester fetal sex determination in maternal serum using real-time PCR. *Prenat Diagn* 2001 ; 21 : 1070-4 et 2002 ; 22 : 1242.
4. Lo YM, Tsui NB, Chiu RW, et al. Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat Med* 2007 ; 13 : 218-23.
5. Tsui NB, Ng EK, Lo YM. Molecular analysis of circulating RNA in plasma. *Methods Mol Biol* 2006 ; 336 : 123-34.
6. Dhallan R, Guo X, Emche S, et al. A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study. *Lancet* 2007 ; 369 : 474-81.
7. Rozenberg P, Bussières L, Chevret S, et al. Screening for Down syndrome using first-trimester combined screening followed by second-trimester ultrasound examination in an unselected population. *Am J Obstet Gynecol* 2006 ; 195 : 1379-87.
8. Vona G, Bérout C, Benachi A, et al. Enrichment and genetic analyses of fetal cells circulating in the maternal blood by the ISET technique and single cell microdissection : a non-invasive tool for early prenatal diagnosis. *Am J Pathol* 2002 ; 160 : 51-8.
9. Bérout C, Karliova M, Bonnefont JP, et al. Prenatal diagnosis of spinal muscular atrophy (SMA) by genetic analysis of circulating fetal cells. *Lancet* 2003 ; 361 : 1013-4.
10. Saker A, Benachi A, Bonnefont JP, et al. Genetic characterization of circulating fetal cells allows non invasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis. *Prenat Diagn* 2006 ; 26 : 906-16.

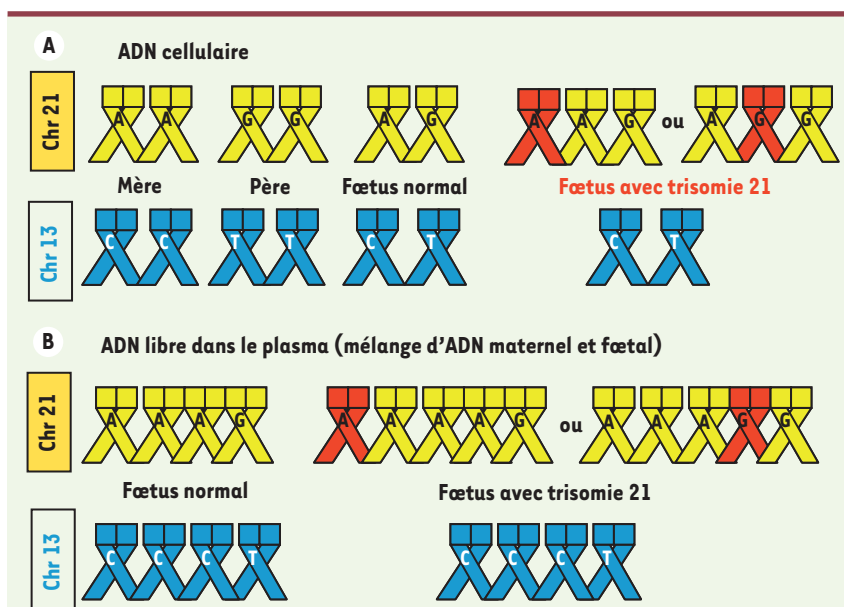


Figure 2. Principe de la méthode utilisée par R. Dhallan et al. [6]. A. Exemple de SNP informatif ; allèles sur les chromosomes 21 et 13 au niveau cellulaire. B. Allèles des chromosomes 21 et 13 au niveau de l'ADN du plasma (mélange d'ADN maternel et fœtal). Si le fœtus est normal, les rapports des signaux (analyse quantitative) des allèles G et A ($1/3 = 0,333$) sur le chromosome 21 et T et C ($1/3 = 0,333$) sur le chromosome 13 sont identiques. Si le fœtus est atteint de trisomie 21, les rapports des signaux (analyse quantitative) des allèles G et A ($1/4 = 0,25$ ou $2/3 = 0,666$) sur le chromosome 21 et T et C ($1/3 = 0,333$) sur le chromosome 13 sont différents.

Les calmars des grands fonds attaquent avec des « tentacules de lumière »

Marcel Koken, Martial Huet, Marie Le Jean

CNRS UMR6539 « LEMAR »,
Institut Universitaire Européen de la Mer,
Place Nicolas Copernic,
29280 Plouzané, France.
marcel.koken@univ-brest.fr

> Une chaude soirée d'été... et d'un coup une petite lumière au milieu d'un arbuste...

Qui n'a jamais vu ce spectacle du ver luisant ? Ce « ver », la femelle du scarabée, *Lampyrus noctulica*, émet une faible lumière au niveau de son abdomen. Depuis la nuit des temps, l'homme s'émerveille de ces êtres lumineux. Pourtant, ce n'est qu'en 1886 que le médecin lyonnais, Raphaël Dubois, mène les premières expériences pour découvrir le mécanisme de la « bioluminescence » [1]. Il trouve que la réaction chimique à l'origine de cette lumière implique seulement trois facteurs : une « luciférase » (l'enzyme), une « luciférine » (le substrat) et de l'oxygène. Cette simple réaction est retrouvée pour toute bioluminescence. Moins de 10 luciférines sont répertoriées actuellement. Ce nombre réduit de substrats contraste sérieusement avec la grande diversité des luciférases [2]. Pour produire de la lumière, chaque groupe d'organismes a, au cours de son évolution, indépen-

damment « inventé » son enzyme pour produire de la lumière. Étonnamment, il n'existe aucune conservation protéique entre ces différentes luciférases [3].

Plusieurs séquences de ces enzymes sont désormais utilisées *in vivo* et *in vitro* comme « gène rapporteur ». Ces outils sont devenus de toute première importance pour la biologie moderne [4]. Pour preuve, une recherche bibliographique, dans PubMed, signale plus de 18 000 publications, en 2006, pour le mot luciférase.

Si le mécanisme biochimique est connu, les fonctions biologiques de ces phénomènes lumineux restent souvent énigmatiques.

Sur la terre ferme, les espèces bioluminescentes sont rares : deux gastropodes, quelques bactéries, champignons et vers de terre ainsi que plusieurs centaines d'insectes [5]. Les fonctions de la bioluminescence chez ces organismes sont inexplicables hormis chez les « vers lui-

sants », étudiés en détail. Ils utilisent leur lumière pour communiquer avec leurs congénères. Les codes de « clignotement » sont bien connus : les femelles attirent leurs partenaires à l'aide de signaux spécifiques à leur espèce. Il existe même des vers luisants « sournois » dont les femelles changent de code après l'accouplement. Elles imitent alors le message d'une autre espèce dont les mâles seront attirés... vers le fond d'un estomac !

Dans les profondeurs océaniques, le plus grand écosystème de notre planète (plus de 99 % de l'espace de vie et pourtant le moins étudié !), la bioluminescence est plutôt la règle que l'exception [6, 7]. Plus de 90 % des organismes vivant entre - 150 m et - 1 500 m sont bioluminescents et on ne sait souvent pas pourquoi ! Il est supposé que cette lumière dans l'obscurité des grands fonds pourrait servir à trois grandes fonctions : la communication, la défense et l'attaque.

Certaines crevettes, par exemple, ont la capacité d'émettre une encre lumineuse soupçonnée de distraire leur prédateur et parfois même d'attirer les prédateurs de cet agresseur. Beaucoup de poissons des profondeurs possèdent des leurres lumineux qui attirent les proies vers leur bouche dotée de dents terribles. D'autres ont des glandes sous-oculaires qui émettent des flashes de lumière. Dans ce cas, une fonction de communication

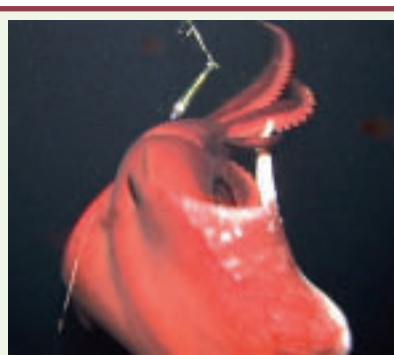


Figure 1. *T. danae* n'est ni lent ni mou, mais vorace et rapide quand il se jette féroce-ment sur l'appât.



Figure 2. *T. danae* s'apprête à attaquer l'appât.

ou de recherche de proies est soupçonnée. Parmi les fonctions biologiques supposées de la bioluminescence, seules deux ont été démontrées expérimentalement :

1. La communication chez les poissons de la famille *Anomalopidae* [8]. Ces poissons de récifs coralliens ont des glandes sous-oculaires abritant des bactéries symbiotiques bioluminescentes. L'animal contrôle ses émissions de lumière en obturant ou non ses glandes. Un moyen idéal pour communiquer la nuit...

2. Le mimétisme par « contre-illumination » est très largement exploité dans les profondeurs de la mer [7]. Dans les mers les plus claires, les ondes bleues pénètrent jusqu'à - 1 500 m. Les prédateurs peuvent ainsi repérer une proie au-dessus d'eux grâce à la silhouette créée en contre-lumière. Pour éviter d'être détectés, beaucoup d'organismes intègrent l'éclairage venant d'en haut et émettent, vers le bas, par des petits photophores ventraux, exactement la même lumière (couleur et intensité) : le camouflage parfait.

Grâce à un système de caméra haute sensibilité permettant de filmer dans

les grands fonds, les prédateurs s'approchant d'un « appât », Kubodera *et al.* [9] confirment maintenant l'hypothèse d'une fonction d'attaque¹. Ces auteurs s'étaient déjà illustrés en filmant, en 2005, pour la première fois, le fameux calmar géant *Architeuthis* [10], celui des légendes du « Kraken ». Cette fois, c'est dans les eaux profondes autour des Iles Ogasawara, au sud-est du Japon, qu'ils filment le grand calmar, *Taningia danae*, *in situ* [9]. Cette espèce cosmopolite peut atteindre 2 mètres 30 et peser 61 kg. Elle a de très grands yeux, des ventouses avec des « grandes griffes » et, contrairement aux autres calmars, seulement 8 tentacules. Les deux tentacules longs, normalement utilisés pour se nourrir, ont régressé. Deux des huit tentacules sont dotés des plus grands organes lumineux connus : des photophores jaunes d'un diamètre de 7,5 cm. Cette source de lumière peut être utilisée tel un stroboscope grâce aux mouvements rapides d'une membrane opaque, sorte de paupière. Des flashes avaient déjà été observés chez un jeune individu, en aquarium. Contrairement à l'idée de mollesse inhérente aux grands calmars, le film de Kubodera *et al.* montre que ces « ennemis jurés du cachalot » sont très rapides, bons nageurs (2,5 m/s), agressifs et voraces (*Figures 1 et 2*). L'étude établit aussi les migrations verticales nyctémérales de ces céphalopodes. Les individus vivent le jour entre - 600 et - 900 m et remontent la nuit entre - 240 et - 500 m. Ce comportement est fréquent chez les organismes des profondeurs. Au niveau de la bioluminescence, deux types d'émissions sont observées. Juste avant l'atta-

que, un puissant flash lumineux bref (1,2 à 1,6 s) entraîne probablement un éblouissement de la proie. Il pourrait également servir à estimer la distance de la cible. Des lueurs d'une durée de 4,4 à 8,5 secondes sont également mesurées (*Figure 3*). Leur fonction de communication est suspectée.

Ces découvertes de l'équipe japonaise engendrent une avancée considérable dans la connaissance de la biologie de ces grands calmars, si peu connus encore aujourd'hui malgré leur abondance dans les profondeurs océaniques. ♦

Luminescent tentacles: mortal weapons of large deep-sea squids

REMERCIEMENTS

Les 3 figures de cet article (photos) sont publiées avec l'aimable autorisation du Dr Tsunemi Kubodera, National Science Museum, Tokyo, Japon, Department of Zoology, 3- 3-1 Hyakumin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, Japon et de l'Éditeur, The Royal Society.

RÉFÉRENCES

1. Dubois R. Les élatérides lumineux. *Bull Soc Zool France* 1886 ; 11 : 1-275.
2. Hastings JW. Chemistries and colors of bioluminescent reactions : a review. *Gene* 1996 ; 173 : 5-11.
3. Day JC, Tisi LC, Bailey MJ. Evolution of beetle bioluminescence : the origin of beetle luciferin. *Luminescence* 2004 ; 19 : 8-20.
4. Tsien RY. Imaging imaging's future. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003 ; suppl : S16-21.
5. Herring PJ. Systematic distribution of bioluminescence in living organisms. *J Biolumin Chemilumin* 1987 ; 1 : 147-63.
6. Widder EA. Marine bioluminescence. Why do so many animals in the open ocean make light ? *Bioscience explained* 2001 ; 1 : 9.
7. Herring PJ. *The biology of the deep ocean*. Oxford-New York : Oxford University Press, 2002.
8. McCosker JE. Flashlight fishes. *Sci Am* 1977 ; 236 : 106-14.
9. Kubodera T, Koyama Y, Mori K. Observations of wild hunting behaviour and bioluminescence of a large deep-sea, eight-armed squid, *Taningia danae*. *Proc R Soc B* 2007 ; 274 : 1029-34.
10. Kubodera T, Mori K. First-ever observations of a live giant squid in the wild. *Proc R Soc B* 2005 ; 272 : 2583-6.

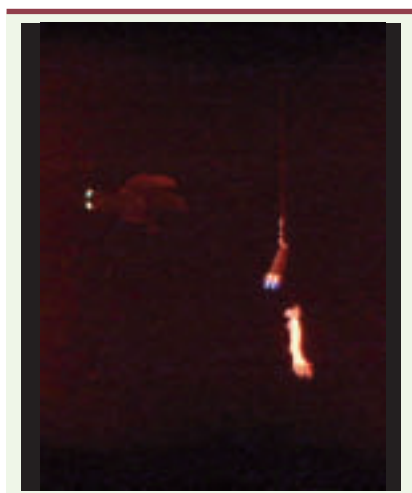


Figure 3. Le calmar tourne autour de sa « victime » tous « phares allumés ».

¹ L'article de Kubodera *et al.* [9] est accompagné de 5 petits films montrant les comportements de *T. danae*.

ILLUSTRATION DES ARTICLES (VIGNETTES) : p. 611 : partie antérieure du germarium où les cellules souches sont localisées, une protéine permettant de suivre la méiose est en rouge (© photo Jean-René Huynh) - p. 619 : ovocyte humain juste après la fécondation (photo Jean Parinaud - © photothèque Inserm) - p. 626 : triple hélice d'ADN (photo Sheng Sun-Jian - © photothèque Inserm) - p. 633 : réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et endosomes (© photo Thierry Galli) - p. 640 : carcinome basocellulaire (© photo Nicole Basset-Seguin) - p. 644 : *Shigella* (photo Philippe Sansonetti - © photothèque Inserm) - p. 649 : cellules transfectées co-exprimant les protéines EBNA1 et LANA1 (© photo Pierre Busson).