



ils permettraient d'apporter les réponses à ces questions et de déterminer la composition et l'architecture des fourches de réplication. ♦

Cohésin acétylation: a sesame for replication forks to break free

REMERCIEMENTS

Les travaux de recherche exposés ici ont été effectués dans le laboratoire du Dr Prasad V. Jallepalli, Molecular Biology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, New York 10065, USA. Ils ont été subventionnés par le National Institutes of Health (NIH) et par une bourse Pew Scholar in the Biochemical Sciences allouée à Prasad V. Jallepalli. Je remercie Stéphane Brunet et Marie-Hélène Verlhac pour leur lecture critique de cette nouvelle.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Uhlmann F. A matter of choice: the establishment of sister chromatid cohesion. *EMBO Rep* 2009 ; 10 : 1095-102.
- Hou F, Zou H. Two human orthologues of Eco1/Ctf7 acetyltransferases are both required for proper sister-chromatid cohesion. *Mol Biol Cell* 2005 ; 8 : 3908-18.
- Vega H, Waisfisz Q, Gordillo M, et al. Roberts syndrome is caused by mutations homolog of yeast ECO1 that is essential for the establishment cohesion. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 468-70.
- Ben-Shahar TR, Heeger S, Lehane C, et al. Eco1-dependent cohesin acetylation during establishment of sister chromatid cohesion. *Science* 2008 ; 321 : 563-6.
- Unal E, Heidinger-Pauli JM, Kim W, et al. A molecular determinant for the establishment of sister chromatid cohesion. *Science* 2008 ; 321 : 566-9.
- Zhang J, Shi X, Li Y, et al. Acetylation of Smc3 by Eco1 is required for S phase sister chromatid cohesion in both human and yeast. *Mol Cell* 2008 ; 31 : 143-51.
- Rowland BD, Roig MB, Nishino T, et al. Building sister chromatid cohesion: Smc3 acetylation counteracts an antiestablishment activity. *Mol Cell* 2009 ; 33 : 763-74.
- Sutani T, Kawaguchi T, Kanno R, et al. Budding yeast Wpl1(Rad61)-Pds5 complex counteracts sister chromatid cohesion-establishing reaction. *Curr Biol* 2009 ; 19 : 492-7.
- Bermudez VP, Maniwa Y, Tappin I, et al. The alternative Ctf18-Dcc1-Ctf8-replication factor C complex required for sister chromatid cohesion loads proliferating cell nuclear antigen onto DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 10237-42.
- Lengronne A, McIntyre J, Katou Y, et al. Establishment of sister chromatid cohesion at the *S. cerevisiae* replication fork. *Mol Cell* 2006 ; 23 : 787-99.
- Kenna MA, Skibbens RV. Mechanical link between cohesion establishment and DNA replication: Ctf7p/Eco1p, a cohesion establishment factor, associates with three different replication factor C complexes. *Mol Cell Biol* 2003 ; 8 : 2999-3007.
- Terret ME, Sherwood R, Rahman S, et al. Cohesin acetylation speeds the replication fork. *Nature* 2009 ; 462 : 231-4.
- Dorée M. Le déclenchement de la mitose chez les eucaryotes supérieurs. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 299-307.
- Michel B, Baldacci G. Réplication (lexique). *Med Sci (Paris)* 1998 ; 14 : 1422-7.

NOUVELLE

TRPM1, un nouveau gène impliqué dans la cécité nocturne congénitale stationnaire

Isabelle Audo, José-Alain Sahel, Shomi Bhattacharya, Christina Zeitz

Inserm, UMR S968, CNRS, UMR7210, Université Pierre et Marie Curie Paris 6, Institut de la Vision, 17, rue Moreau, 75012 Paris, France.
CMR/CIC 503 Inserm, CHNO des Quinze-Vingts, 28, rue de Charenton, 75012 Paris, France.
isabelle.audo@inserm.fr
christina.zeitz@inserm.fr

Les différentes formes de cécité nocturne congénitale

Notre équipe et deux autres groupes ont rapporté simultanément en novembre dernier dans le journal *American Journal of Human Genetics* l'implication du gène *TRPM1* (*Transient receptor potential cation channel subfamily M member 1*) dans une forme particulière de cécité nocturne congénitale stationnaire (CNCS), la forme complète [1-3].

La cécité nocturne congénitale est une dysfonction rétinienne héréditaire non évolutive, dont un type particulier,

décrit par Schubert et Borschein, se caractérise par un défaut de transmission entre le photorécepteur, premier neurone de la rétine intervenant dans la transduction du signal visuel, et la cellule bipolaire, deuxième neurone rétinien. Il existe deux types de cellules bipolaires, les cellules bipolaires-ON, qui se dépolarisent au début d'un flash lumineux, et les cellules bipolaires-OFF, qui s'hyperpolarisent à l'extinction du flash lumineux. La CNCS de type Schubert-Borschein se manifeste par une réponse caractéristique, élec-

tronégative, de l'électrorétinogramme (ERG) après stimulation par un flash intense dans les conditions d'adaptation à l'obscurité (réponse scotopique mixte). L'onde a (déflexion négative) est normale, reflétant la fonction normale des photorécepteurs, alors que l'onde b (déflexion positive) est très diminuée, reflétant le défaut de transmission aux cellules bipolaires [4]. L'hérédité de la CNCS de type Schubert-Borschein peut être soit liée au chromosome X, soit autosomique récessive. Les patients atteints manifestent

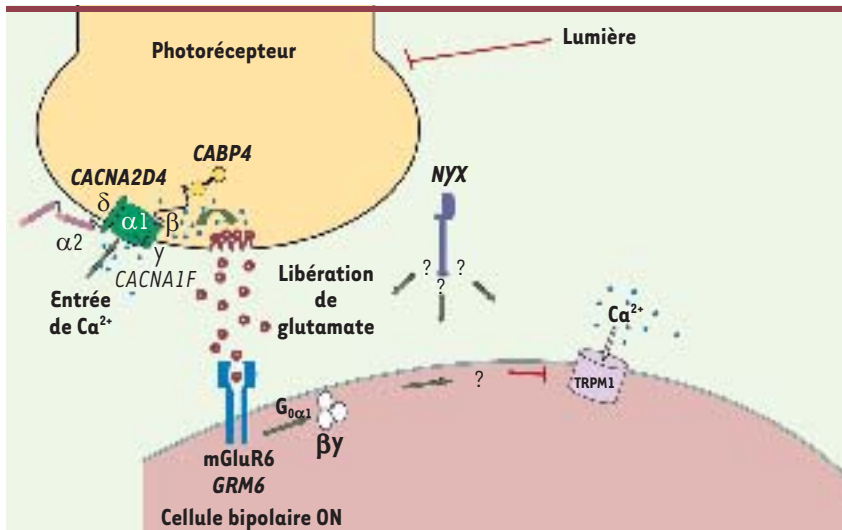


Figure 1. Transmission du signal visuel des photorécepteurs vers les cellules bipolaires-ON. Les différentes protéines dont la dysfonction conduit à l'héméralopie congénitale stationnaire sont indiquées (modifié de [1], © n° 2334770811763).

à des degrés variables des troubles de la vision nocturne, une baisse de l'acuité visuelle, une myopie forte, un nystagmus et un strabisme. L'ERG, pratiqué selon les recommandations de la société internationale d'électrophysiologie visuelle clinique (ISCEV-*International society of clinical electrophysiology of vision*) est l'examen clef pour le diagnostic. Il permet de distinguer deux formes, complète et incomplète, de CNCS, en fonction de la réponse à un flash d'intensité faible dans les conditions scotopiques¹ [5]. La forme complète (CNCS_c) se caractérise par l'absence de réponse discernable au flash d'intensité faible délivré dans les conditions scotopiques. Elle correspond à une atteinte sélective de la voie des cellules bipolaires-ON. Elle s'accompagne d'anomalies caractéristiques des réponses photopiques (adaptation de

la rétine à la lumière) qui sont la relative conservation des amplitudes mais avec un retard des temps de culmination² et un aspect d'onde a carrée [4]. Dans la forme incomplète (CNCS_i), la réponse à un flash d'intensité faible délivré dans les conditions scotopiques est très diminuée mais présente. Cette forme est liée à une dysfonction à la fois de la voie des cellules bipolaires-ON et -OFF. Elle s'accompagne d'une altération plus importante des réponses photopiques (diminution d'amplitude, retard de temps de culmination et aspect de double pic au 30Hz) [4].

Les gènes impliqués dans les cécités congénitales nocturnes

Les avancées de la génétique moléculaire ont permis de mettre en évidence que ces deux formes de CNCS étaient associées à des anomalies génétiques portant sur des

gènes distincts avec une bonne corrélation entre le phénotype électrorétinographique et le génotype. En effet, dans les CNCS_c, des mutations du gène *NYX* (*Nyctalopin*) ont été mises en évidence dans les formes liées à l'X, et du gène *GRM6* (*glutamate receptor, metabotropic 6*) dans les formes autosomiques récessives. Dans les formes incomplètes de CNCS, c'est le gène *CACNA1F* (*calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1F subunit*) qui est muté dans les formes liées à l'X, et les gènes *CABP4* (*Ca²⁺-binding protein 4*) et *CACNA2D4* (*calcium channel, voltage-dependent, alpha 2/delta subunit 4*) dans les formes autosomiques récessives (voir pour revue [6], *Tableau I* et *Figure 1*). Cependant, malgré l'utilisation de puces de génotypage dédiées aux CNCS pour la détection à haut débit de mutations connues des gènes cités [7] ou l'approche par séquençage direct des différents gènes connus, l'analyse génétique restait négative dans beaucoup de cas de CNCS, suggérant l'existence d'autres gènes candidats.

Le cheval Appaloosa permet d'identifier TRPM1, le canal cationique des cellules bipolaires

Un modèle équin de CNCS autosomique récessive a été décrit chez le cheval Appaloosa [8]. Les animaux atteints présentent des anomalies électrorétinographiques suggérant une cécité nocturne [9]. Ce trait fonctionnel coségrègue avec une coloration de la robe du cheval atteint très caractéristique [9]. L'étude de l'expression de certains gènes potentiellement impliqués a mis en évidence une diminution de l'expression du gène *TRPM1*, également appelé gène de mélanostatine (*MLSN1*), dans la

¹ Les conditions scotopiques sont des conditions d'obscurité. La rétine, adaptée à l'obscurité, est excitée par une lumière de très faible intensité.

² Le temps de culmination détermine l'intervalle de temps entre le début de la stimulation et la première réponse physiologique visuelle.

CNCS complète		CNCS incomplète	
Autosomique récessive	Liée à l'X	Autosomique récessive	Liée à l'X
<i>GRM6</i> <i>TRPM1</i>	<i>NYX</i>	<i>CABP4</i> <i>CACNA2D4</i>	<i>CACNA1F</i>

Tableau I. Gènes candidats impliqués dans les deux formes phénotypique de cécité nocturne congénitale stationnaire (CNCS) de type Schubert-Bornschein.

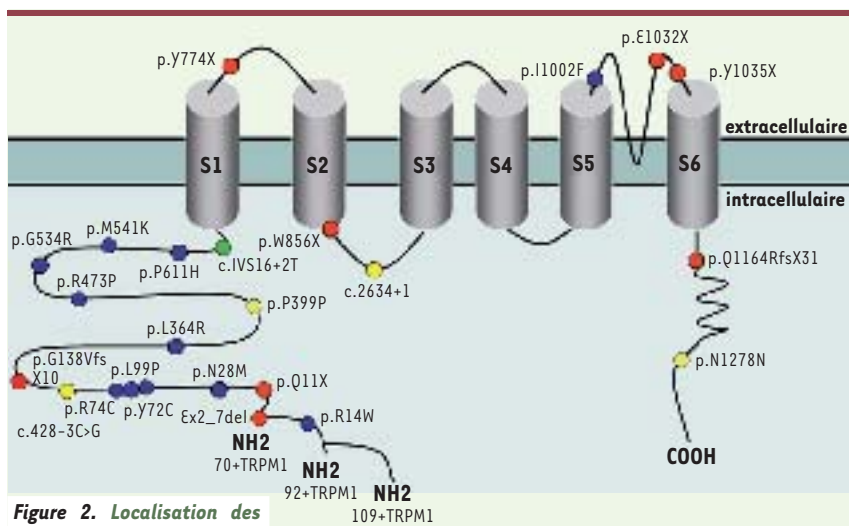


Figure 2. Localisation des mutations rapportées sur les différents domaines de prédiction du canal cationique transmembranaire TRPM1.

Modifié de [1], © n° 2334770811763 incorporant les mutations rapportées par notre groupe [1], ainsi que celles rapportées par Z. Li et al. [2], et M.M. van Genderen et al. [3].

rétine et la peau des animaux atteints. Ceci suggérerait le rôle de ce gène dans l'anomalie de transduction du signal dans les cellules bipolaires et dans les altérations de la fonction mélanocytaire [10], anomalie que l'analyse directe de la séquence du gène n'a pas encore confirmée chez ce cheval. *TRPM1* code pour un canal cationique membranaire appartenant à la famille des canaux à potentiel récepteur transitoire (*transient receptor potential* ou TRP). Ces canaux permettent l'entrée d'ions Ca^{2+} dans les cellules hyperpolarisées, ce qui conduit à l'activation de voies de transduction intracellulaires liées au phosphatidylinositol et à la protéine kinase C [11]. Étant donné la diminution d'expression de *TRPM1* chez le cheval Appaloosa atteint de cécité nocturne, il fut suggéré que *TRPM1* pouvait jouer un rôle dans la transmission du signal dans les cellules bipolaires en modifiant la concentration de Ca^{2+} intracellulaire libre. Un argument supplémentaire plaiderait en faveur de l'importance de *TRPM1* : mGluR6, récepteur métabotrope au glutamate des cellules bipolaires-ON codé par *GRM6*, également

impliqué dans la CNCS, était couplé à $G_{0\alpha 1}$ et à *TRPM1*. Il était donc tentant de suggérer que *TRPM1* pouvait être le canal cationique des cellules bipolaires-ON, agissant en aval de $G_{0\alpha 1}$, dont l'ouverture serait responsable de l'onde b enregistrée par l'électrorétinogramme (Figure 2) [10].

Mutations de *TRPM1* dans les CNCS

Au vu de ces éléments, nous avons fait l'hypothèse que *TRPM1* pouvait être un bon gène candidat chez les patients atteints de CNCS. Nous avons donc étudié par séquençage direct 30 fragments amplifiés par PCR couvrant les 27 exons de *TRPM1* (RefSeq NM_002420.4, variant 70+*TRPM1*), 2 fragments correspondant aux 2 exons nouvellement identifiés (exon 1 [variant 92+*TRPM1*] et exon 0 [variant 109+*TRPM1*]) et leurs régions introniques flanquantes chez 38 patients atteints de CNCS inclus dans un consortium européen et d'Amérique du Nord [1]. La présence de mutations connues avait été exclue chez la plupart de ces patients [7]. Parmi ces 38 patients, nous en avons détecté dix porteurs de mutations causales dont

la pathogénicité fut confirmée par une analyse de coségrégation, quand elle était possible, à partir d'échantillons contrôles et de données de bioinformatique [1]. Les 14 mutations différentes identifiées incluent des mutations non-sens, faux-sens, des délétions avec codon stop prématuré, des mutations dans un site d'épissage et des mutations silencieuses. La localisation des différentes mutations sur la molécule transmembranaire *TRPM1* est présentée sur la Figure 1. Pour deux patients, seule une mutation hétérozygote a pu être identifiée suggérant l'existence d'une deuxième mutation dans un site régulateur du gène, ou d'une délétion non détectée par notre approche, ou encore l'implication d'un autre gène.

Dans le même numéro de novembre de l'*American Journal of Human Genetics*, deux autres groupes, l'un anglais [2], l'autre néerlandais [3], décrivent également des mutations de *TRPM1* dans leurs cohortes de patients atteints de CNCS (ces mutations sont également indiquées sur la Figure 2).

Le groupe londonien a suivi une approche différente de la nôtre, optant pour une étude par cartographie d'homozygotie dans une famille consanguine [2]. Après avoir identifié une zone homozygote chez les patients atteints, ils ont analysé les gènes candidats de cette région et la littérature les concernant, ce qui les a conduits au choix de *TRPM1* comme potentiel candidat. L'étude de 9 familles ayant des membres atteints de CNCS pour lesquels l'implication de *GRM6* et *NYX* avait été exclue, a conduit à l'identification de 5 mutations causales sur *TRPM1*.

La stratégie du groupe hollandais fut similaire à la nôtre, menant à l'identification de 4 familles et de 7 mutations différentes de *TRPM1*.

L'implication de *TRPM1* dans les formes de CNCS autosomiques récessives et une meilleure caractérisation de son rôle dans la transduction du signal visuel dans les cellules bipolaires-ON enrichissent nos connaissances de la physiologie

rétinienne. Des études fonctionnelles sont en cours pour mieux comprendre les conséquences des différents types de mutations de *TRPM1* sur la fonction de la protéine. En parallèle, nous poursuivons la caractérisation des différents protagonistes intervenant dans la cascade de signalisation intracellulaire induite par la fixation du glutamate libéré des photorécepteurs sur le récepteur membranaire mGluR6 des cellules bipolaires-ON, jusqu'à la fermeture du canal cationique *TRPM1* (Figure 1). Outre une meilleure connaissance de la transduction du signal dans les cellules bipolaires, cette recherche peut aboutir à la découverte de nouveaux gènes candidats et à l'identification de cibles pour l'élaboration d'approches thérapeutiques de ces pathologies. ♦

TRPM1, a new gene implicated in congenital stationary night blindness

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Audo I, Kohl S, Leroy BP, et al. TRPM1 is mutated in patients with autosomal-recessive complete congenital stationary night blindness. *Am J Hum Genet* 2009 ; 85 : 720-9.
2. Li Z, Sergouniotis PI, Michaelides M, et al. Recessive mutations of the gene TRPM1 abrogate ON bipolar cell function and cause complete congenital stationary night blindness in humans. *Am J Hum Genet* 2009 ; 85 : 711-9.
3. van Genderen MM, Bijveld MM, Claassen YB, et al. Mutations in TRPM1 are a common cause of complete congenital stationary night blindness. *Am J Hum Genet* 2009 ; 85 : 730-6.
4. Audo I, Robson AG, Holder GE, Moore AT. The negative ERG: clinical phenotypes and disease mechanisms of inner retinal dysfunction. *Survey Ophthalmol* 2008 ; 53 : 16-40.
5. Miyake Y, Yagasaki K, Horiguchi M, Kawase Y, Kanda T. Congenital stationary night blindness with negative electroretinogram. A new classification. *Arch Ophthalmol* 1986 ; 104 : 1013-20.
6. Zeitz C. Molecular genetics and protein function involved in nocturnal vision. *Expert Rev Ophthalmol* 2007 ; 2 : 467-85.
7. Zeitz C, Labs S, Lorenz B, et al. Genotyping microarray for CSNB-associated genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009 ; 50 : 5919-26.
8. Witzel DA, Smith EL, Wilson RD, Aguirre GD. Congenital stationary night blindness: an animal model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978 ; 17 : 788-95.
9. Sandmeyer LS, Breaux CB, Archer S, Grahn BH. Clinical and electroretinographic characteristics of congenital stationary night blindness in the Appaloosa and the association with the leopard complex. *Veterinary ophthalmology* 2007 ; 10 : 368-375.
10. Bellone RR, Brooks SA, Sandmeyer L, et al. Differential gene expression of TRPM1, the potential cause of congenital stationary night blindness and coat spotting patterns (LP) in the Appaloosa horse (*Equus caballus*). *Genetics* 2008 ; 179 : 1861-70.
11. Clapham DE, Runnels LW, Strubing C. The TRP ion channel family. *Nat Rev Neurosci* 2001 ; 2 : 387-96.



ISBN : 978-2-8425-4138-5 438 pages

Entre Santé et Sécurité Routière, la prévention des risques liés à l'alcool et aux drogues mobilise les éducateurs. La cohérence dans l'application des plans ministériels successifs et programmes nationaux varie selon l'organisation et les pratiques territoriales : de nouveaux besoins émergent avec les changements de comportements individuels et les choix sociétaux de sécurité et de santé publiques. Entre chercheurs et acteurs, trois territoires contrastés (Ouest, Île-de-France, Est) sont observés : ils illustrent la complexité des réponses sanitaires, sécuritaires et sociales, qui fait écho à la complexité de l'étiologie des risques, des comportements plurifactoriels et des inégalités. Comment coordonner la diversité des statuts professionnels publics ou privés, comment allier les modèles développés par les chercheurs et les objectifs de prévention de proximité ? Cet ouvrage ouvre les perspectives de mutualisation des savoirs et des expériences.

Bon de commande

À retourner à EDK, 2, rue Troyon - 92316 Sèvres Cedex
Tél. : 01 55 64 13 93 - Fax : 01 55 64 13 94 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **L'éducation à la santé et à la sécurité routière** : 20 € + 3 € de port = **23 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**

Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |