



Ces études révèlent donc que deux molécules phylogénétiquement très anciennes comme AIF [12] et Hsp70 [13] participent à la régulation de l'apoptose mais que cette activité ne met pas en jeu leurs fonctions enzymatiques connues : oxydoréductase pour AIF [14] et chaperon

moléculaire dépendante de l'ATP pour Hsp70 [10]. Ces observations pourraient aussi suggérer que le blocage de l'interaction entre Hsp70 et AIF pourrait faciliter l'induction thérapeutique de l'apoptose, notamment dans les nombreux cancers qui surexpriment Hsp70. ♦

- Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 ; 286 : 433-42.
- Jolly C, Morimoto RI. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J Natl Cancer Inst* 2000 ; 92 : 1564-72.
- Beere HM, Wolf BB, Cain K et al. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nat Cell Biol* 2000 ; 2 : 469-75.
- Saleh A, Srinivasula SM, Balkir L, Robbins PD, Alnemri ES. Negative regulation of the Apaf-1 apoptosome by Hsp70. *Nat Cell Biol* 2000 ; 2 : 476-83.
- Ravagnan L, Gurbuxani S, Susin SA, et al. Heat-shock protein 70 antagonizes apoptosis-inducing factor. *Nat Cell Biol* 2001 ; 3 : 839-43.
- Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 1999 ; 397 : 441-6.
- Coulombel L. AIF est impliqué dans un processus d'apoptose embryonnaire. *Med Sci* 2001 ; 4 : 533-4.
- Joza N, Susin SA, Daugas E, et al. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 2001 ; 410 : 549-54.
- Bruey JM, Ducasse C, Bonniaud P, et al. Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nat Cell Biol* 2001 ; 2 : 645-52.
- Parsell DA, Lindquist S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. *Annu Rev Genet* 1993 ; 27 : 437-96.
- Li GC, Li L, Liu RY, Rehman M, Lee WM. Heat shock protein hsp70 protects cells from thermal stress even after deletion of its ATP-binding domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 2036-40.
- Lorenzo HK, Susin SA, Penninger J, Kroemer G. Apoptosis inducing factor (AIF): a phylogenetically old, caspase-independent effector of cell death. *Cell Death Differ* 1999 ; 6 : 516-24.
- Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet* 1988 ; 22 : 631-77.
- Miramar MD, Costantini P, Ravagnan L, et al. NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 16391-8.

NOUVELLE

Le gène *sox9* induit la formation de testicules chez des souris transgéniques de génotype XX

Valérie P.I. Vidal, Marie-Christine Chaboissier, Andreas Schedl

> Chez les mammifères, lors du développement, les gonades mâles et femelles sont morphologiquement identiques et appelées gonades indifférenciées. Ensuite, la gonade se développera soit en testicule, soit en ovaire selon que le chromosome Y sera présent ou absent. On sait depuis une décennie que le gène *sry* (*sex-determining region of the Y chromosome*), responsable de la formation des testicules par l'intermédiaire d'une cascade d'événements morphogé-

nétiques, est localisé sur le chromosome Y. Des souris transgéniques de génotype XX, dans les gonades desquelles on force l'expression de *Sry*, présentent une inversion du sexe: elles possèdent des testicules à la place d'ovaires [1]. La protéine SRY contient une séquence consensus HMG (*high mobility group*) lui permettant de se lier aux molécules d'ADN et d'en infléchir la courbure, ce qui suggère qu'elle pourrait avoir un effet sur la transcription de gène(s). Les

Induction of apoptosis by AIF is blocked by hsp70

REMERCIEMENTS

Nous remercions nos collaborateurs S. Susin, N. Zamzami, E. Daugas, C. Maise, N. Larochette (Cnrs, UMR 1599), M. Jäättelä (Danish Cancer Society, Danemark), T.W. Mak et J.M. Penninger (Amgen Institute, Canada).

cibles moléculaires directes de SRY restent toutefois méconnues. *sox9* est un bon candidat: il est transcrit en particulier dans les gonades où son expression augmente fortement et uniquement chez les embryons mâles juste après l'activation de *SRY*. Dans les testicules, *sox9* est exprimé

dans les cellules de Sertoli, lesquelles contribuent à la formation de ces organes.

Chez l'homme, *sox9* semble impliqué dans le développement des organes sexuels puisque des anomalies d'expression de ce gène entraînent des inversions de sexe. C'est le cas de 75 % des individus XY présentant soit une mutation ou une délétion d'un allèle du gène *SOX9*, soit un réarrangement de la partie 5' non codante. Tous ces individus

The International Centre for Life Institute of Human Genetics, Central Parkway, Newcastle upon Tyne, NE1 3BZ, Royaume-Uni.
andreas.schedl@ncl.ac.uk

(→) m/s sont également porteurs d'une dysplasie dite campomélique, grave malformation des os (→). Parallèlement, une duplication de *SOX9* a été détectée chez un patient de génotype XX présentant une inversion du sexe femelle en sexe mâle. Ces données indiquent que chez l'homme *SOX9* joue un rôle important dans la détermination du sexe.

Chez la souris, la contribution de *Sox9* à la détermination du sexe est moins évidente. En effet des souris hétérozygotes *Sox9*^{+/-} ne présentent pas d'inversion du sexe mais meurent à la naissance ([2] et nos propres observations). Afin de pouvoir analyser le rôle spécifique de *Sox9* dans la détermination du sexe, nous avons produit des souris transgéniques qui expriment de façon ectopique *Sox9* dans leurs gonades [3]. Le vecteur de transgénèse permet d'exprimer *Sox9* sous le contrôle des régions régulatrices du gène *Wt1* (*Wilm's tumor suppressor 1*) (Figure 1). *Wt1* est transcrit dans les gonades indifférenciées d'embryons mâles et femelles, et son expression persiste au stade adulte dans les cellules de Sertoli des testicules et les cellules de la granulosa des ovaires. De ce fait, les animaux transgéniques de génotype XX diffèrent des témoins qui n'expriment pas *Sox9* dans leur gonades. Deux souris transgéniques XX ont ainsi été obtenues, et toutes deux présentent une inversion du sexe. Elles possèdent tous les organes génitaux masculins et ont un comportement sexuel de type mâle. Toutefois, elles sont stériles car la présence de deux chromosomes X dans leurs génomes ne permet pas la production de spermatozoïdes [4]. Nous avons également obtenu un animal mâle (XY) transgénique capable de transmettre le transgène à sa descendance. Tous les animaux XX transgéniques de génération F1 présentent une inversion du sexe, démontrant que l'expression ectopique de *Sox9* dans les gonades d'animaux XX conduit à la formation de testicules. L'analyse macroscopique des organes génitaux de souris

transgéniques XX non pubères montre peu de différence avec ceux des mâles de génotype XY (Figure 1). Seuls les testicules des premiers sont de plus petite taille, différence qui s'accroît après la puberté. Histologiquement, des cellules de Sertoli confinées à la périphérie des tubes séminifères sont présentes en nombre normal, de même que des cellules de Leydig dans le tissu interstitiel de ces testicules. Cependant, aucune cellule germinale n'est visible chez les souris transgéniques XX (Figure 1).

Afin de tester la fonctionnalité de notre vecteur d'expression, nous avons analysé l'expression de *Sox9* dans les gonades d'embryons transgéniques XX. Nous avons également étudié la fonctionnalité des cellules de Sertoli en analysant l'expression du gène codant pour l'hormone mâle, *MIS* (*Müllerian inhibiting substance*), qui est un marqueur spécifique de ces cellules, et peut être aussi une cible directe de *sox9* [5]. *sox9* et *MIS* sont exprimés dans les testicules de souris transgéniques XX, indiquant que les cellules de

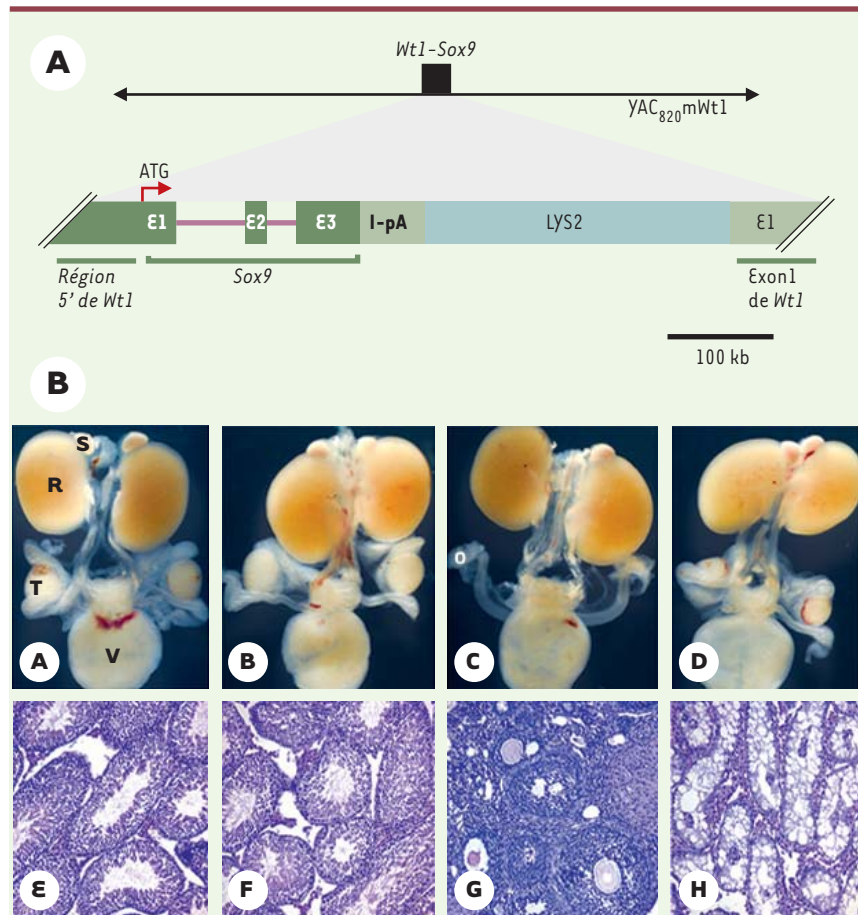


Figure 1. Souris transgéniques XX surexprimant *Sox9* dans leurs gonades. A. Représentation schématique du vecteur permettant l'expression de *Sox9* sous le contrôle des régions régulatrices de *Wt1*. Un large fragment d'ADN (*YAC_{820mWt1}*) couvrant 620 kb du locus *Wt1* a été utilisé afin de couvrir les régions régulatrices de *Wt1* dont la localisation reste imprécise. *YAC*: yeast artificial chromosome, *E*: exon, *I-pA*: intron suivi d'une séquence de polyadénylation, *LYS2*: marqueur de levure lysine 2. B. Comparaison du phénotype des souris transgéniques et témoins. (A-D) vue macroscopique de l'appareil urogénital de nouveau-nés. (E-H) vue microscopique de coupes de testicules adultes. (A, E) : animaux témoins XY (XY+/+); (B, F) : animaux transgéniques XY (XY Tr/+); (C, G) : animaux témoins XX (XX+/+); (D, H) : animaux transgéniques XX (XX Tr/+). Tr/+ : animal transgénique, +/+ : animal témoin. T : testicule ; O : ovaire ; S : glande surrénale ; R : rein ; V : vessie. Ces images sont issues de [3].



Sertoli sont fonctionnelles et que la protéine *Sox9* codée par notre vecteur peut activer les gènes en aval de la cascade moléculaire de la détermination du sexe [3].

Les données expérimentales obtenues à partir de l'expression ectopique de *Sox9* dans les gonades de souris de génotype XX montrent que la présence de ce gène est suffisante pour induire le

développement de testicules, ceci indépendamment du gène *Sry*. La similitude des phénotypes des souris XX transgéniques qui expriment dans leurs gonades *Sry* et de celles qui expriment *Sox9* suggère que *Sox9* peut se substituer à *Sry*. Il est maintenant intéressant de comprendre le lien moléculaire entre ces deux gènes, et en particulier de détermi-

ner si *Sox9* est une cible directe de *Sry* et s'il est l'unique cible de *Sry*. Les réponses à ces questions permettront d'élucider les premières étapes de la cascade de la détermination du sexe, qui restent encore méconnues bien que de nombreux gènes impliqués dans cette cascade aient été isolés et identifiés depuis la découverte du gène *sry*. ♦

Sox9 induces testis development in XX transgenic mice

1. Koopman P, Münsterberg A, Capel B, Vivian N, Lovell-Badge R. Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry*. *Nature* 1991; 351: 117-21.
2. Bi W, Huang W, Whitworth DJ, Deng JM, Zhang Z, Behringer RR. Haploinsufficiency of *Sox9* results in defective cartilage primordium and premature skeletal mineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6698-703.
3. Vidal VPI, Chaboissier MC, de Rooij DG, Schedl A. *Sox9* induces testis development in XX transgenic mice. *Nat Genet* 2001; 28: 216-7.
4. Hunt PA, Worthman C, Levinson H, et al. Germ cell loss in XXY male mouse: altered X-chromosome dosage affects prenatal development. *Mol Reprod Dev* 1998; 49: 101-11.
5. Arango NA, Lovell-Badge R, Behringer RR. Targeted mutagenesis of the endogenous mouse *Mis* gene promoter: *in vivo* definition of genetic pathways of vertebrate sexual development. *Cell* 1999; 99: 409-19.

NOUVELLE

Activation de récepteurs par une protéine intracellulaire : un nouveau concept et un nouveau type de cible pharmacologique

Fabrice Ango, Laurent Prézeau, Joël Bockaert, Jean-Philippe Pin, Laurent Fagni

> La communication intercellulaire se fait grâce à l'échange de messages chimiques qui agissent sur la face extracellulaire de récepteurs membranaires. Parmi ces récepteurs, un grand nombre appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Ces récepteurs sont des protéines transmembranaires capables de reconnaître des messages aussi différents que la lumière, les odeurs, les molécules du goût, des hormones ou des neurotransmetteurs. Leurs gènes représentent jusqu'à 1 à 2 % du génome humain. Les RCPG contrôlent l'activité physiologique de la majorité des cellules chez l'homme et sont

la cible privilégiée de nombreux médicaments et de la plupart des drogues [1].

Les RCPG sont des protéines allostériques qui sont spontanément en équilibre entre plusieurs états : des états inactifs, R, et des états actifs, R* (*Figure 1*). Un agoniste du récepteur déplace l'équilibre vers R*, tandis que certains ligands, qui sont appelés agonistes inverses, déplacent l'équilibre vers R. En l'absence d'agoniste, un antagoniste neutre n'a aucun effet sur cet équilibre, mais en présence d'agoniste, l'antagoniste déplace l'équilibre vers R. Des mutations des RCPG peuvent aussi déplacer l'équilibre vers R* et

UPR Cnrs 9023,
Laboratoire d'étude des
Mécanismes Moléculaires des
Communications Cellulaires,
141, rue de la Cardonille,
34090 Montpellier Cedex 05,
France.

donc rendre le récepteur actif, même en l'absence d'agoniste. Cette activité du récepteur, indépendante d'un agoniste, est appelée activité constitutive. D'après ce qui précède, cette activité constitutive peut être inhibée par un agoniste inverse, mais pas par un antagoniste neutre. De plus, le récepteur constitutivement actif conserve en partie ses capacités de réponse à un agoniste.

L'activité constitutive de certains RCPG peut résulter de mutations et être à l'origine de maladies génétiques [1]. On