

patient atteint de mucoviscidose et vérifier que, de cette façon, on corrigeait bien le transport des ions chlorure, mais les généticiens eurent des difficultés à construire ne serait-ce qu'une version simplifiée du gène. Le problème fut résolu au cours de l'été 1990, par Richard Gregory, de la Société Genzyme Corporation.

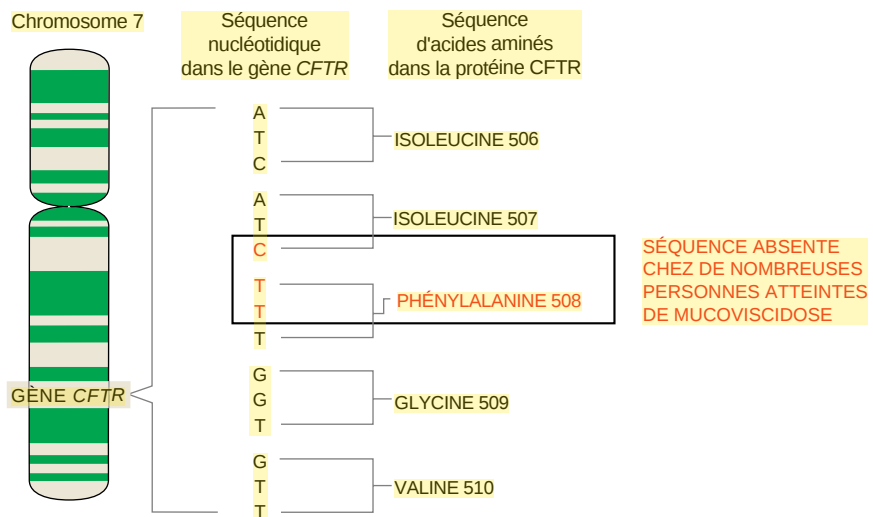
Nous avons alors introduit le gène normal dans des cellules épithéliales prélevées dans les voies respiratoires supérieures de patients atteints de mucoviscidose. Puis nous avons exposé ces cellules à de l'AMP cyclique, une molécule qui, normalement, stimule le transport des ions chlorure dans l'épithélium des voies respiratoires, mais qui est sans effet sur du tissu prélevé chez ces patients. Nous avons alors constaté que l'AMP cyclique déclenchait un flux d'ions chlorure hors des cellules traitées : le gène semblait normaliser ces cellules. Nous n'étions pas les seuls à nous réjouir : par des méthodes différentes, d'autres équipes avaient obtenu des résultats similaires sur des cellules de l'épithélium pancréatique.

Puisque l'on réussissait à normaliser des cellules en culture, pourrait-on, un jour lointain, administrer le gène *CFTR* normal aux patients et corriger ainsi l'anomalie biochimique incriminée ? Nous savions déjà que cette voie serait semée d'embûches. La suite des études l'a confirmé.

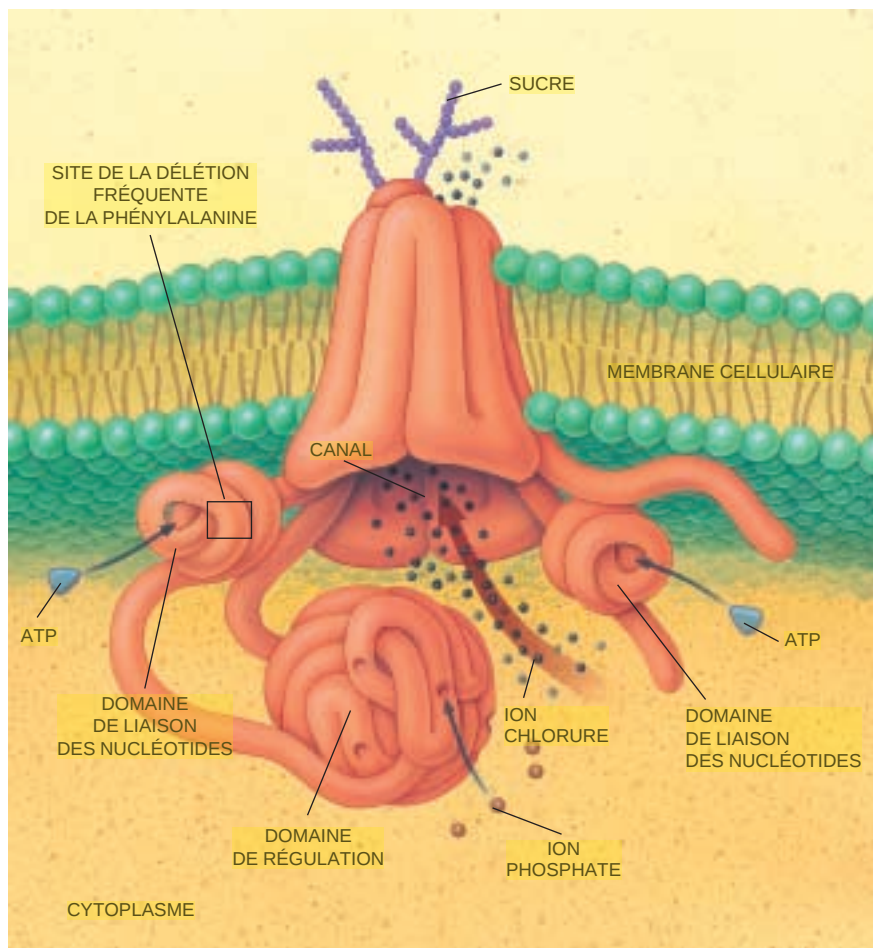
Le rôle de la protéine CFTR

À ce moment apparut un autre résultat important sur le rôle de la protéine CFTR dans le transport des ions chlorure. La séquence en acides aminés de la protéine, déduite de celle du gène, donnait quelques indices sur sa fonction. Elle ressemblait beaucoup à celle des protéines nommées transporteurs ATPases ou transporteurs ABC. Cette similitude indique que le comportement et la structure tridimensionnelle de la protéine CFTR sont semblables à ceux des protéines de cette famille.

Les bactéries pompent les substances nutritives de leur milieu à l'aide de protéines de la famille des transporteurs ATPases. La protéine de résistance multidrogue, qui rejette malheureusement les substances chimiothérapeutiques hors des cellules cancéreuses, fait également partie de cette famille. Lorsqu'elles sont repliées, ces ATPases présentent généralement quatre domaines : deux traversent la membrane



2. LE GÈNE RESPONSABLE DE LA MUCOVISCIDOSE se trouve sur le chromosome 7 (à gauche) et produit une protéine nommée CFTR. L'anomalie la plus souvent responsable de cette maladie est une délétion de trois nucléotides du gène (les lettres rouges, au centre) ; le gène qui contient cette mutation $\Delta F508$ code une protéine CFTR tronquée, à qui il manque un acide aminé, la phénylalanine en position 508 (à droite). La machinerie cellulaire qui exprime le gène voit, en position 507, la séquence ATT au lieu de la séquence ATC TTT, de sorte qu'elle fabrique une isoleucine au lieu d'une phénylalanine, normalement suivie par une glycine.



3. LA PROTÉINE CFTR NORMALE forme un canal perméable aux ions chlorure, inséré dans la membrane externe de nombreuses cellules. La structure de cette protéine n'est pas encore totalement élucidée, mais on sait que trois domaines cytoplasmiques commandent les mouvements des ions chlorure dans le canal. Le passage a seulement lieu lorsque les deux domaines de liaison des nucléotides fixent l'adénosine triphosphate (ATP) et la dégradent, et quand le domaine régulateur capte des groupes phosphate.

(chacun d'eux contient plusieurs segments transmembranaires) et deux baignent dans le cytoplasme. Ces derniers, nommés domaines de liaison des nucléotides, captent l'ATP (l'adénosine triphosphate) et en dissocient des groupes phosphate afin de produire l'énergie nécessaire au pompage. On avait alors supposé que la molécule CFTR avait sans doute la même forme, avec en outre un domaine localisé dans le cytoplasme, qui lui conférait des propriétés supplémentaires.

Certains biochimistes supposèrent ainsi que la protéine CFTR était une pompe actionnée par l'ATP, qui participait au transport de composés spécifiques, de l'intérieur vers l'extérieur des cellules épithéliales, ou inversement ;

les composés pompés auraient déclenché la traversée des membranes cellulaires par les ions chlorure, dans un canal séparé. Pourquoi un canal séparé ? Parce qu'aucun des canaux chlore connus (nécessaires au transport direct des ions chlorure) n'avait la structure repliée qui semblait être celle de la protéine CFTR.

Une deuxième possibilité aurait été que la protéine CFTR elle-même se fixe sur les canaux chlore et commande leur activité. Enfin, il était également possible que la protéine CFTR soit un canal chlore, bien que sa structure fût totalement différente de celle des canaux ioniques connus alors ; les deux domaines traversant la membrane auraient alors formé le pore où les ions chlorure seraient passés.

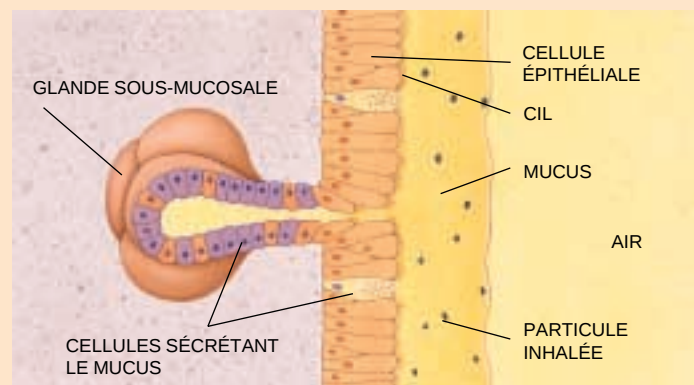
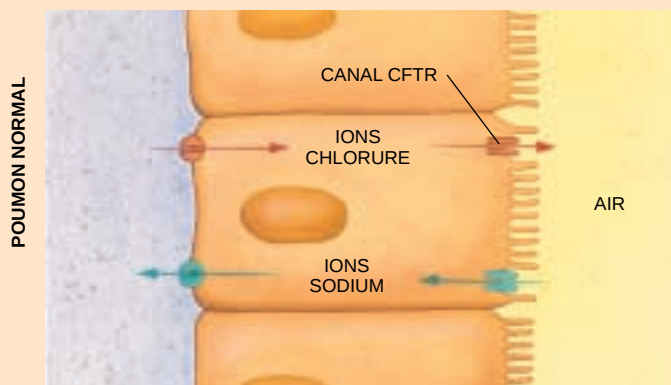
La troisième hypothèse se révéla la bonne : la protéine CFTR était un canal chlore. Nous avons montré que l'introduction d'un gène codant cette protéine dans des cellules imperméables aux ions chlorure permettait le transport transmembranaire de ces ions. Quand ce gène était modifié dans les régions supposées participer au mouvement des ions chlorure dans le canal, l'affinité du canal pour les ions chlorure diminuait. Les derniers doutes furent dissipés quand J. Riordan et ses collègues introduisirent des protéines CFTR purifiées dans des membranes cellulaires artificielles (des bicouches lipidiques) dépourvues d'autres canaux ioniques : l'introduction de la protéine rendit la membrane perméable aux ions.

CELLULES ÉPITHÉLIALES

À L'INTERFACE DE L'ÉPITHÉLIUM ET DE L'AIR

Sécrétion d'ions chlorure dans les voies respiratoires et absorption d'ions sodium.

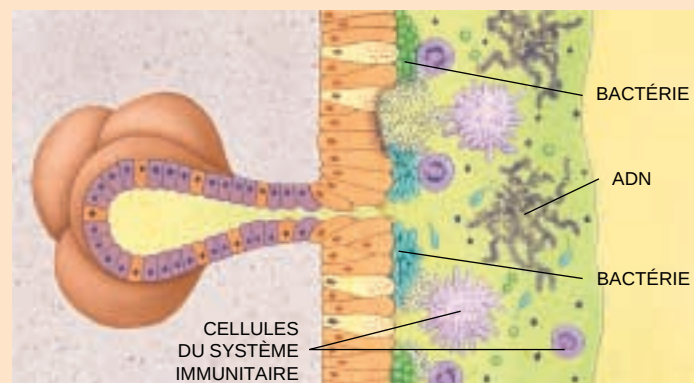
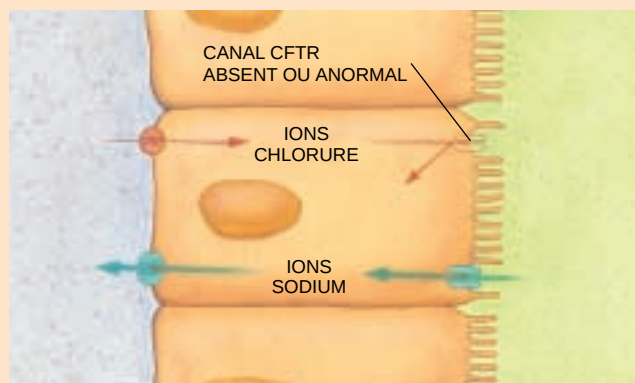
Le mucus humide et fluide piège les particules inhalées ; les cils propulsent le mucus vers la gorge, d'où il est évacué.



POUMON DE PATIENT ATTEINT DE MUCOVISCIDOSE

Les ions chlorure ne peuvent pas quitter la cellule et l'absorption d'ions sodium augmente.

Le mucus s'épaissit et devient difficile à évacuer. Les bactéries prolifèrent et activent les cellules du système immunitaire, qui risquent d'endommager le tissu sain. L'ADN libéré par les bactéries et par les cellules pulmonaires détruites participe aussi à cet épaississement.



4. LES MÉCANISMES MOLÉCULAIRES de l'atteinte pulmonaire, chez les personnes souffrant de mucoviscidose, sont progressivement élucidés. Chez les individus sains, les principales cellules épithéliales qui tapissent les voies respiratoires (*en haut à gauche*) ont au moins deux types de canaux, situés du côté du passage de l'air. L'un d'eux, le canal CFTR (*en rouge*), libère des ions chlorure dans la bronchiole ;

l'autre (*en vert*) capte des ions sodium. Ces échanges permettent au mucus produit par d'autres cellules de rester fluide et de s'évacuer aisément des voies respiratoires (*en haut au centre*) ; ces dernières restent dégagées (*en haut à droite*). Chez les personnes atteintes de mucoviscidose, une absence ou une anomalie du canal chlore CFTR inhibe tout mouvement des ions chlorure (*en bas à gauche*) et entraîne,