

Maladies génétiques : sur les possibilités de traitements médicamenteux ?

Un exemple : la mucoviscidose

Bayésté Leclair et Jean-Yves Lallemand

Summary

Approach of a therapy of a genetic disease by a chemical way : the cystic fibrosis

Mutations in the *cftr* gene located on chromosome 7 are responsible for the most frequent severe genetic disease among the caucasian population: cystic fibrosis. More than 800 mutations have been identified so far but the most common one (75% in France) leads to the deletion of a phenyl-alanine residue at position 507 in the 1480 residues CFTR protein coded by the gene. This amino acid is located in a cytosolic ATP binding domain called NBD1. Very little is known about the 3D structure of CFTR or related proteins of the large family of ABC transporters and our goal was to a study by NMR, the changes in the 3D structure of the NBD1 domain induced by the mutation.

Considerable efforts to produce this domain led to a new definition of its boundaries, and a procedure allowing to obtain it at mg scale. We have also reconstructed by homology with the F1 fragment of bovine ATP-ase a 3D fold which seems relevant on the basis of the location of the various known mutations. By the way, we have been led to suspect that the CFTR protein could have, besides its well-recognised function of chloride channel, a second function of detoxification using glutathion adducts. The role of one of them, leukotriene C-4, seems of particular interest.

Moreover, starting from the observation of a patient claimed to be cured from cystic fibrosis after a chemotherapy against a myosarcoma, we have proposed a possible functional complementation of CFTR by related proteins of the multidrug resistance family MDR and MRP. In collaboration with Pr. G. Lenoir (Hôpital Necker), a phase II test has been run to test this hypothesis using colchicine as inductor of the overexpression of these proteins. The results will be presented and discussed.

Mots-clés

CFTR, mucoviscidose, NBD1, ABC transporters, MDR, MRP.

Key-words

CFTR, cystic fibrosis, NBD1, transporteurs ABC, MDR, MRP.

Parmi les grands problèmes de santé publique, les maladies génétiques ont une place à part dans la mesure où, pour l'instant, on ne conçoit pas qu'un traitement médicamenteux puisse corriger une anomalie génétique. La seule stratégie, considérée comme raisonnable, consiste à corriger le défaut génétique dans l'ensemble de l'organisme ou seulement au niveau des organes particulièrement concernés, par insertion dans le génome de matériel génétique extérieur. Cette approche a donné naissance à une quantité énorme de travaux dans le domaine appelé « thérapie génique » [1].

Dans le cas de la mucoviscidose, cette stratégie a été particulièrement étudiée, car chez l'Homme, les cellules les plus atteintes étant les cellules épithéliales du système respiratoire, on pouvait envisager de les « transfecter » directement par voie aérienne afin d'éviter les difficultés et complications liées à une « transfection » par voie générale et touchant tout l'organisme. Après une première phase d'engouement, cette approche thérapeutique est apparue comme encore loin d'avoir l'efficacité clinique escomptée. L'une des difficultés majeures sur le plan technique provient d'une absence d'efficacité durable de la transfection. Les cellules cibles – les cellules épithéliales bronchiques et bronchiolaires – sont incapables de réplication et ont une

durée de vie d'une trentaine de jours. Une efficacité thérapeutique durable exige donc une répétition des administrations. Les vecteurs les plus étudiés sont des adénovirus. Ils peuvent induire un risque d'infection virale, de réactions inflammatoires et immunitaires compromettant ainsi l'efficacité d'une ré-administration.

Face à ces résultats décevants, on peut en fait s'interroger sur la pertinence d'une autre stratégie ne visant pas à corriger le défaut génétique, mais à en corriger les effets dans la mesure où c'est l'absence de la fonction de la protéine codée par le gène déficient qui est à l'origine de la maladie. Prenant en compte le grand nombre de gènes qui restent silencieux, une telle fonction pourrait être assurée par l'activation de l'expression de protéines voisines qui ne sont pas ou peu exprimées dans les conditions normales, mais qui ont joué ou pourraient jouer une fonction analogue. C'est le cas pour les protéines exprimées pendant la vie fœtale, dont l'expression s'arrête à la naissance et que l'on peut considérer comme « mises en réserve ». D'autres sont en réserve aussi pour permettre à l'organisme de répondre à des conditions particulières, par exemple à des conditions de stress. C'est l'approche que nous avons explorée pour la mucoviscidose, et pour les raisons qui vont être exposées

dans la suite, il semble que l'activation de l'expression de protéines normalement très peu exprimées et spécialisées dans l'élimination de composés toxiques soient en mesure de compenser, au moins en partie, le dysfonctionnement de la protéine mutée.

La mucoviscidose

La mucoviscidose, aussi appelée la fibrose kystique (cystic fibrosis, CF, pour les anglo-saxons) est la plus fréquente des maladies héréditaires mortelles dans la population blanche originaire du nord de l'Europe. L'incidence annuelle de la maladie est en France de 1/3 000 naissances environ. Elle a pour origine la modification du gène *cftr* pour « cystic fibrosis transmembrane regulator », situé sur le chromosome 7 et codant pour une protéine transmembranaire de 1 480 acides aminés appelée CFTR.

Bien que plus de 800 mutations aient été identifiées, la mutation la plus fréquente (environ 75 % des cas) est nommée mutation $\Delta F508$, correspondant à la délétion au niveau de la protéine d'un seul acide aminé, une phénylalanine, en position 508. Mais d'autres parties codantes ou non du gène peuvent être le siège de mutations. La maladie n'affecte que les porteurs homozygotes, c'est-à-dire ayant reçu de son père et de sa mère une copie déficiente du gène *cftr*, les déficiences pouvant être de natures différentes. Une personne sur 25 en France est porteur hétérozygote (n'ayant qu'une copie altérée du gène). Ceci n'entraîne en général pas de manifestations, mais parfois une sensibilité à des affections inflammatoires ou allergiques est observée (polyarthrite, asthme, bronchite chronique...).

La fonction de la protéine CFTR est universellement reconnue comme celle d'un canal transmembranaire capable d'exporter les ions chlorures et est très largement documentée. Le diagnostic précoce de la maladie est lié à cette fonction et consiste en la mesure de la quantité de sel contenu dans la sueur qui est deux fois supérieure à la normale.

La pathologie se manifeste chez l'Homme essentiellement au niveau des poumons dont les voies aériennes sont obstruées progressivement par un mucus trop visqueux. La fonction d'épuration ciliaire est également affectée. On observe une inflammation des voies respiratoires dès la naissance ; puis, plus tard, la colonisation de celles-ci par des bactéries pathogènes comme *Pseudomonas aeruginosa* dont il est très difficile de se débarrasser et qui nécessitent des cures lourdes d'antibiothérapie en hospitalisation. Le tableau clinique s'aggrave progressivement avec fibrose et destruction du tissu pulmonaire, conséquence de l'inflammation et de l'infection, et diminution des capacités respiratoires. Actuellement, l'espérance de vie est de l'ordre de 25 à 30 ans.

D'autres organes sont également touchés : le pancréas qui est détruit après la naissance dans 80 % des cas par obstruction du canal pancréatique entraînant des troubles digestifs sérieux, le colon avec des cas d'occlusions intestinales, le système reproducteur chez l'homme avec obstruction ou absence des canaux déférents et le foie au niveau duquel on observe des cirrhoses ou des cancers. 20 % des jeunes adolescents développent aussi des polyarthrites rhumatoïdes, et présentent une sensibilité à la toxicité des métaux lourds (syndrome de Young).

Il n'existe pas de traitement efficace autre que la kinésithérapie permettant de dégager les voies respiratoires ou en phase terminale, la greffe de poumon ou foie-poumon

avec un taux de réussite faible. Cependant, certains sujets sont peu affectés par la maladie et ne développent que des troubles de type bronchites chroniques à partir de 40-50 ans. Les raisons de cette apparente résistance ne sont pas connues et seront évoquées ultérieurement.

Toutes les mutations sont caractérisées par l'absence de CFTR fonctionnelle au niveau de la partie apicale de la membrane des cellules épithéliales, zone en contact avec l'extérieur, conduisant à une altération de la fonction canal chlorure couplée à une diminution du potentiel membranaire ; mais ce dysfonctionnement peut avoir une origine différente selon le type de mutation : défaut de synthèse (cas de mutation stop par exemple), de maturation, de positionnement dans la membrane cellulaire ou de fonction de la protéine CFTR.

CFTR appartient à la famille des transporteurs ABC (pour ATP binding cassette). Les protéines ABC représentent la plus grande famille des transporteurs connue à ce jour et ont une fonction commune qui est le transport d'une variété considérable de substrats, en allant des ions aux macromolécules. Chez l'Homme, les plus connues sont outre CFTR, la P-glycoprotéine (P-gP), appelée aussi MDR1, produit du gène *mdr1* (multidrug resistance), et les MRP (multidrug resistance associated proteins). Un certain nombre de ces protéines, en particulier les MDR et MRP, sont largement impliquées dans les mécanismes de résistance médicamenteuse, bien connus en cancérologie où leur expression massive (*10 à 100) par les cellules cancéreuses capables de réaliser une amplification génique, est responsable de la récurrence de cancers après traitement par chimiothérapie.

Actuellement, il y aurait 48 transporteurs de la famille ABC chez l'Homme, mais seulement une douzaine sont relativement bien connus. Il n'existe à ce jour aucune structure de l'un de ces transporteurs et le mécanisme de leur fonctionnement est également très discuté. Chez l'Homme, des mutations de certains de ces transporteurs sont à l'origine d'autres maladies génétiques : cholestases hépatiques pour MDR3, maladie de Dubin-Johnson pour MRP2 ou la dégénérescence de la macula de la rétine pour ABCR (maladie de Stargardt). Plusieurs structures de fragments de transporteurs ABC entiers bactériens ou celles de certains fragments sont maintenant disponibles [2].

CFTR est formé de deux sous-unités de même nature. Chacune comprend six domaines transmembranaires et un domaine de liaison à l'ATP ou nucléotide binding domain (NBD) (figure 1). Ces deux structures sont liées entre elles par un domaine cytoplasmique dit régulateur et appelé R, dont la phosphorylation intervient dans la fonction de CFTR.

Quelques observations surprenantes

Observations fondamentales

La perte de la fonction canal chlorure attribuée à CFTR est loin d'expliquer la globalité de la pathologie de la mucoviscidose. L'argumentation classique, rendant compte de l'augmentation de la viscosité du mucus, repose sur le fait que CFTR n'exportant pas correctement le sel, il y a importation d'eau par compensation osmotique et donc dessèchement du mucus.

Par ailleurs, les mesures de transport d'ions chlorure par CFTR montrent que cette protéine est un canal chlorure de faible conductance régulé par l'AMP cyclique agissant par phosphorylation du domaine R.

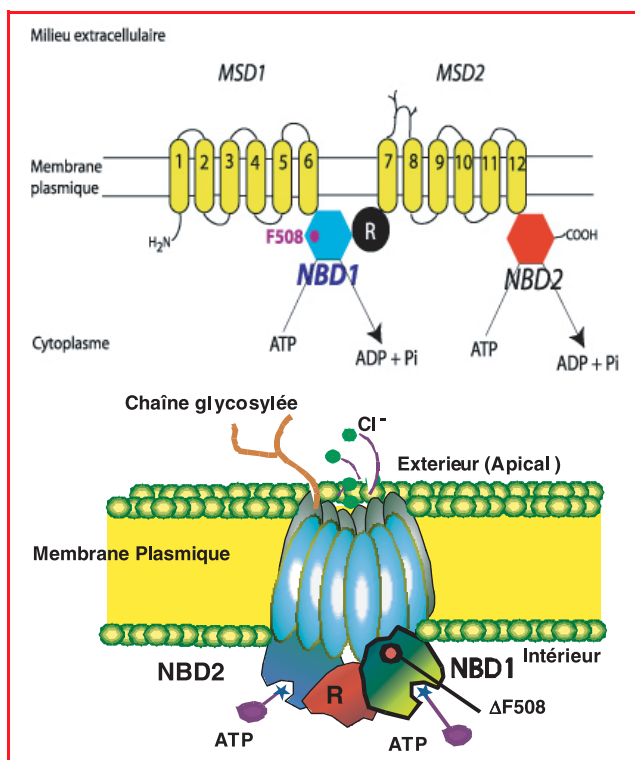


Figure 1 - Schémas de l'organisation des différents domaines de CFTR.

Récemment, des études ont montré un rôle régulateur de CFTR pour d'autres canaux ioniques. Elle activerait des canaux appelés ORCC (canal chlorure rectifiant sortant ou outwardly rectifying chloride channel) qui sont des canaux chlorure de conductance plus élevée que CFTR (10 à 100 fois) et également les canaux chlorure calcium dépendant. Ceci provoquerait une sécrétion d'ions chlorures supplémentaires.

Comme par ailleurs CFTR régule négativement l'activité du canal sodium appelé EnaC ou canal sodique, on comprend qu'un défaut de CFTR puisse conduire à une rétention intracellulaire majeure d'ions chlorures résultant du défaut d'activité de CFTR et de son action sur des canaux chlorure non CFTR en association avec une hyper-absorption sodique *via* le canal EnaC.

En plus d'une analogie de séquence élevée, il est admis qu'il existe une analogie de structure entre les protéines CFTR, P-gP et MRP [3]. La comparaison des profils d'expression des gènes *mdr1* et *cftr* chez le rat montre une régulation complémentaire de ces deux protéines ABC. Ceci suggère une analogie de mécanisme. D'autres données de la littérature suggèrent également une ressemblance fonctionnelle entre ces protéines. L'acquisition progressive de la résistance aux médicaments de cellules épithéliales HT29, qui expriment naturellement CFTR, est associée à l'augmentation correspondante de MDR et à une diminution importante du niveau de CFTR exprimées [4], confirmant une corrélation dans l'expression de ces deux protéines. De même, une fonction de type « multidrug resistance », analogue à celle assurée par MDR1, est jouée par CFTR lorsqu'elle est surexprimée [5].

La forte « ressemblance » entre CFTR, les MDR's et MRP's nous a conduit à penser que CFTR pouvait jouer en plus de son rôle de transporteur et/ou de régulateur de transport des

ions chlorures, un rôle de transporteur d'autres molécules chargées ou non.

L'hypothèse du glutathion

Parmi les substrats potentiels de CFTR, notre attention s'est portée sur le transport du glutathion, un tripeptide ubiquitaire impliqué dans les processus d'oxydo-réduction et de détoxication, et ceci pour au moins cinq raisons :

1- Le taux de glutathion dans le fluide bronchique est dix fois inférieur à la normale alors que le taux intracellulaire est normal.

2- Lors d'essais de production du fragment NBD1 de la protéine CFTR sous forme de protéine chimère avec la glutathion-S-tranférase (GST), nous n'avons pu séparer ce fragment de la GST sur colonne d'affinité greffée au glutathion, ce qui laisse penser que celui-ci pouvait présenter une affinité pour le glutathion.

3- Le glutathion intervient dans la régulation de l'inflammation.

4- L'exportation des ions chlorures ne nécessite pas l'hydrolyse de l'ATP alors que les autres transporteurs ABC l'utilisent.

Un cinquième indice sera évoqué plus loin.

De là est venue l'hypothèse que CFTR pouvait avoir comme deuxième fonction celle d'une « pompe » pour le glutathion ou ses dérivés conjugués [6], ce qui a été ensuite confirmé sur des modèles cellulaires [7]. Le glutathion est une molécule capable de « piéger » par conjugaison divers agents toxiques endobiotiques ou xénobiotiques ainsi que des radicaux libres libérés en grande quantité lors des processus inflammatoires. En particulier, un des adduits intéressants du glutathion est le leukotriène-C4 (LTC4) : c'est un puissant vaso et broncho-constricteur, stimulant la sécrétion du mucus et le développement de réactions inflammatoires. Un désordre dans la fonction de transport du glutathion ou de ses adduits pourrait donc rendre bien mieux compte de la nature de la maladie que la perturbation du transport des ions chlorures. Pour l'instant, ceci reste au niveau d'une hypothèse et n'a pas pu être encore formellement démontré, même s'il est bien connu que le métabolisme des leukotriènes est perturbé dans la maladie, ainsi que la proportion de son précurseur, l'acide arachidonique, parmi les lipides membranaires.

Observation clinique

Notre collègue, le professeur Gérard Lenoir (directeur du service de pédiatrie à l'Unité R. Debré, Hôpital Necker) nous avait signalé l'observation de l'amélioration notable et durable de l'état d'un patient atteint de mucoviscidose, dont les problèmes pulmonaires avaient fortement régressé à la suite d'un traitement anti-tumoral, l'ayant conduit à arrêter tout traitement [6]. Il a pu être vérifié que son état pulmonaire était normal au niveau de l'inflammation et de la viscosité du mucus, mais que par contre, ce patient présentait toujours un excès de sel dans la sueur.

L'explication que nous avons proposée est celle d'une compensation fonctionnelle de CFTR mutée et inactive par une ou plusieurs autres protéines ABC induites par la chimiothérapie. De fait, le traitement par chimiothérapie avait provoqué chez ce malade la surproduction, toujours détectable après arrêt du traitement, des gènes *cftr*, *mdr* et *mrp*. La persistance d'un test de la sueur clairement positif prouvait par ailleurs que la CFTR était restée non

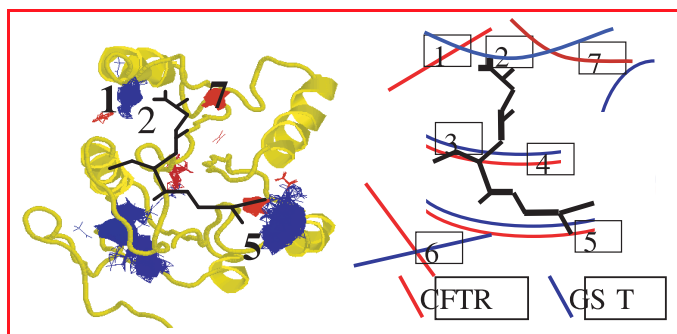


Figure 2 - Structure tridimensionnelle proposée pour le domaine NBD1 et obtenue par homologie avec le domaine F1 de l'ATP-ase bovine.

En trait noir épais, le squelette du glutathion. Les zones en rouge et en bleu correspondent au positionnement des acides aminés interagissant avec le glutathion dans la glutathion-S-tranfèrase en bleu et dans le modèle de NBD1 en rouge. Ces résultats ont été obtenus par la technique du « fonctionnal mapping ».

fonctionnelle au niveau du transport des ions chlorures et permet de s'interroger sur l'importance de cette fonction dans la maladie. Cependant, le caractère persistant (quatre ans) de cette guérison reste inexpliqué. D'autres cas similaires de guérison de mucoviscidose lors d'une chimiothérapie ont été ensuite répertoriés. Il nous est alors apparu plausible que MRP1 et/ou MDR1 se soient « substituées » sur le plan fonctionnel à CFTR déficient pour une fonction que nous proposons être principalement celle de transport d'adduits du glutathion. De très nombreux cas de substitutions fonctionnelles ont déjà été rapportés chez la levure pour d'autres protéines très proches de CFTR (YCF1 et STE6).

Approche de la structure du domaine NBD1 par RMN

Depuis la découverte du gène *cftr* par Riordan en 1989, l'importance du domaine NBD1 a toujours été soulignée car c'est dans cette région que se rencontre l'essentiel des mutations graves et les plus fréquentes : $\Delta F508$, G542X, G551D. On considère que ces mutations doivent induire une altération de la structure tridimensionnelle incompatible avec une maturation correcte ou le transport de CFTR à la membrane, par l'intermédiaire de protéines chaperonnes. CFTR étant une protéine membranaire dont l'expression est difficile et qui est beaucoup trop grosse pour pouvoir être étudiée par RMN, nous nous sommes intéressés à la production de ce fragment sous forme recombinante dans *E. Coli* en vue d'en réaliser la structure tridimensionnelle. Le premier essai de production a été mené avec la glutathion-S-tranfèrase (GST) comme protéine « porteuse » selon une procédure très classique, mais nous avons été incapable de séparer, après clivage de la GST, le fragment NBD1 de la GST sur colonne greffée au glutathion. Ceci nous a conduit à l'hypothèse de l'existence d'une certaine affinité du domaine NBD1 pour le glutathion, mais nous a empêché de préparer des quantités suffisantes de protéine pour une étude RMN.

Une étude de modélisation moléculaire par homologie à partir de la structure du fragment F1 de l'ATP-ase bovine nous a permis de proposer un modèle tridimensionnel (figure 2) de NBD1 redéfini et comprenant trente acides aminés de plus du côté C-terminal [8]. D'autres groupes ont par la suite confirmé cette définition et le repliement global

avec quelques différences au niveau des alignements de séquences. Le même type de repliement a été retrouvé dans les structures établies par RX de transporteurs ABC d'origine bactérienne.

De façon surprenante, et peut-être ne s'agit-il que d'un artefact, on retrouve sur ce modèle les sept acides aminés impliqués dans le site de fixation du glutathion dans les GST avec une disposition spatiale très similaire. Ces mêmes acides aminés se retrouvent dans les domaines NBD1 de MRP1, YCF1 qui sont des transporteurs ABC d'adduits du glutathion (tableau I).

Tableau I - Liste des acides aminés du site de fixation du glutathion dans les GST. Liste des acides aminés correspondant dans le modèle du domaine NBD1 de CFTR, et ceux de MRP1 et YCF1 obtenus par alignement de séquences entre ces trois protéines.

	GST	MRP1	YCF1	CFTR
Position 1	Ser, Thr	Pro 712	Ser 697	Ser 492
Position 2	Gln	Gln 713	Gln 698	Gln 493
Position 3	Leu, Val	Ile 726	Ile 711	Ile 506
Position 4	Asn, Gln	Asn 725	Asn 710	Asn 505
Position 5	Lys	Lys 820	Lys 805	Lys 598
Position 6	Trp	Trp 716	Trp 701	Trp 496
Position 7	Asp	Asp 757	Asp 742	Asp 537

Après des efforts considérables, nous sommes parvenus à mettre au point la production dans *E. Coli* d'un fragment de NBD1 de 248 résidus comportant un « tag-histone » avec enrichissement en isotope ^{15}N des azotes, en utilisant un choc thermique froid (induction et production à 16°C). Ce fragment soluble donne un spectre RMN de corrélation ^{15}N - ^1H présenté sur la figure 3, avec une bonne dispersion des corrélations en accord avec la présence d'une protéine possédant un repliement stable et bien défini.

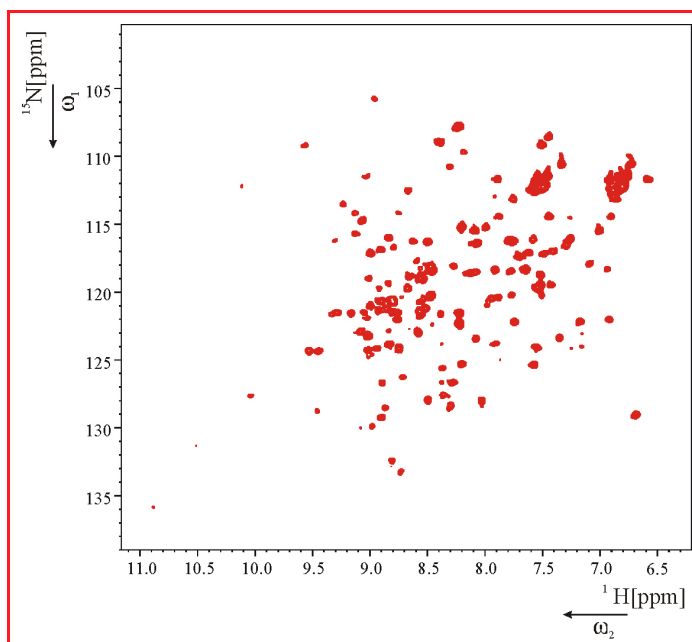


Figure 3 - Expérience de corrélation de déplacements chimiques ^{15}N - ^1H (HSQC) réalisée sur un appareil à 600 MHz équipé d'une cryosonde (concentration $40\ \mu\text{M}$). La dispersion des corrélations est en accord avec une protéine structurée.

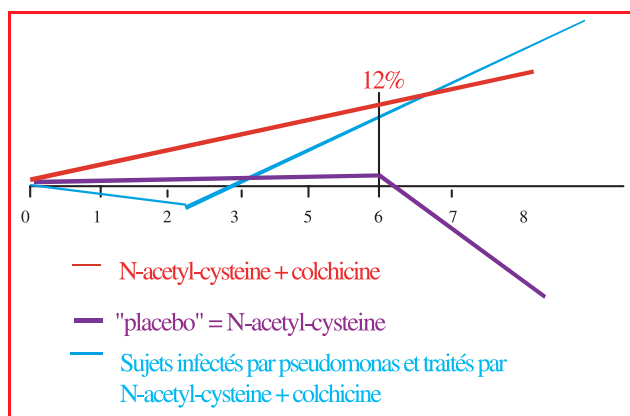


Figure 4 - Évolution en fonction du nombre de mois de traitement du volume d'expiration forcée en une seconde (FEV1) chez différents patients traités ou non par la colchicine versus placebo (N-acétyl-cystéine).

Des tests ont montré que ce domaine recombinant est capable de fixer l'ATP, c'est-à-dire qu'il présente bien une fonction qui lui est attribuée dans CFTR.

Toutes ces observations nous ont conduit à entrevoir une nouvelle stratégie pour le traitement de la mucoviscidose. Le principe est de substituer la protéine CFTR non fonctionnelle ou absente par une autre protéine ABC de fonction très proche.

Une thérapeutique de ce type est réaliste puisque l'on connaît déjà des molécules capables d'induire l'expression de certaines de ces protéines ABC, en particulier par les drogues utilisées en chimiothérapie anticancéreuse. Des antipaludéens et des antibiotiques (azithromycine) sont également de bons candidats.

Vers une nouvelle stratégie thérapeutique

Pour valider cette hypothèse, un essai de traitement (phase II) de la mucoviscidose par la colchicine a été lancé il y a 18 mois, par l'équipe du professeur Gérard Lenoir. Plusieurs arguments militent en faveur de cet antimétabolite utilisé jusqu'à présent essentiellement dans la goutte : ses propriétés inflammatoires par son action au niveau des polynucléaires, ses capacités connues d'être un bon inducteur de la production de MDR, et surtout son autorisation d'administration à des enfants pour une autre maladie génétique : la fièvre méditerranéenne héréditaire avec un mécanisme d'action inconnu.

Un essai en « double aveugle » de phase II, utilisant la N-acétyl-cystéine comme placebo, a été réalisé sur 80 enfants de plus de 5 ans atteints de formes moyennement sévères de la maladie. Les résultats sont schématiquement représentés sur la figure 4 (capacité respiratoire : volume en expiration forcée pendant une seconde). Tous les sujets (40) ayant reçu de la colchicine ont été globalement améliorés ($p = 0,02$), avec cependant une forte dispersion ; quatre cas ont donné des résultats remarquables.

La dispersion forte des résultats laisse penser qu'ils dépendent de la variabilité du patrimoine génétique de chacun et de la capacité à induire des protéines de « secours » non exprimées sans traitement et capables de se substituer à CFTR dans sa ou ses fonctions. Ceci est à

rapprocher de la découverte d'homozygotes de mutation graves de CFTR qui ne présentent pas les symptômes de la maladie. On peut penser que chez ces personnes, le mécanisme de compensation que nous proposons soit déjà spontanément activé.

Conclusion

D'une manière générale, et quelle que soit l'issue des premiers tests thérapeutiques, la molécule employée n'étant pas optimisée, une piste est ouverte : elle s'appuie sur la possibilité d'amplifier l'expression de transporteurs ABC voisins de CFTR capables de se substituer fonctionnellement à elle.

Il reste encore beaucoup de chemin à faire pour trouver la « super-colchicine », pour évaluer l'origine de la disparité des réponses et également les effets à long terme.

Une telle stratégie pourrait également s'appliquer à d'autres pathologies inflammatoires, comme certaines formes de polyarthrite rhumatoïde (dont un des traitements utilise le métotrexate, un anticancéreur) ou l'asthme, qui sont plus fréquemment rencontrés chez certains porteurs hétérozygotes de la mucoviscidose.

Une voie générale de recherche sur les maladies génétiques pourrait donc être l'identification de mécanismes similaires et leur activation par des substances chimiques. Deux stratégies de ce type sont actuellement à l'étude pour l'anémie falciforme et la myopathie de Duchenne, par réactivation des protéines fœtales correspondant aux protéines déficientes, mais il en existe certainement bien d'autres.

Remerciements

Les auteurs remercient particulièrement Jean-Philippe Annereau, François Bontems, Julien Boucher, Francis Duffieux, Gérard Lenoir et ses collaborateurs, Véronique Stoven qui a initié ce programme de recherche, la société Transgène pour la fourniture de c-DNA de fragments de CFTR et de différents anticorps, l'AFLM et l'association ABCF-protéines pour leur soutien financier.

Références

- [1] Cavazzana-Colvo M., Hacieu-Bey S., de Saint-Basile G., Gross F., Yvon E., Nussbaum P., Selz F., Hue C., Certain S., Casanova J.-L., Bouso P., Le Deist F., Fischer A., Gene therapy of human severe combined immunodeficiency disease (SCID)-X1, *Science*, **2000**, *288*, p. 669.
- [2] Locher K.P., Lee A.T., Rees D.C., The E. Coli BtuCD structure: a framework for ABC transporter architecture and mechanism, *Science*, **2002**, *296*(5570), p. 1091 ; Chang G., Roth C.B., Structure of MsbA from E. Coli: a homolog of the multidrug resistance ATP binding cassette (ABC) transporters, *Science*, **2001**, *293*(5536), p. 1793 ; Gaudet R., Wiley D.C., Structure of the ABC ATPase domain of human TAP1, the transporter associated with antigen processing, *EMBO J.*, **2001**, *20*(17), p. 4964 ; Karpowich N., Martsinkevich O., Millen L., Yuan Y.R., Dai P.L., MacVey K., Thomas P.J., Hunt J.F., Crystal structures of the MJ1267 ATP binding cassette reveal an induced-fit effect at the ATPase active site of an ABC transporter, *Structure*, **2001**, *9*(7), p. 571 ; Yuan Y.R., Blecker S., Martsinkevich O., Millen L., Thomas P.J., Hunt J.F., The crystal structure of the MJ0796 ATP-binding cassette. Implications for the structural consequences of ATP hydrolysis in the active site of an ABC transporter, *J. Biol. Chem.*, **2001**, *276*(34), p. 32313 ; Diederichs K., Diez J., Grellier G., Muller C., Breed J., Schnell C., Vonrhein C., Boos W., Welte W., Crystal structure of MalK, the ATPase subunit of the trehalose/maltose ABC transporter of the archaeon *Thermococcus litoralis*, *EMBO J.*, **2000**, *19*(22), p. 5951 ; Hung L.W., Wang I.X., Nikaido K., Liu P.Q., Ames G.F., Kim S.H., Crystal structure of the ATP-binding subunit of an ABC transporter, *Nature*, **1998**, *396*(6712), p. 703.
- [3] Annereau J.-P., Stoven V., Bontems F., Barthe J., Lenoir G., Blanquet S., Lallemand J.-Y., Insight into cystic fibrosis by structural modelling of CFTR first nucleotide binding fold (NBF1), *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, **1997**, *320*, p. 113.

- [4] Breuer W., Slotki I.N. *et al.*, Induction of multidrug resistance downregulates the expression of CFTR in colon epithelial cells, *Am. J. Physiol.*, **1993**, 265(6 Pt 1), C1711-5.
- [5] Wei L.-Y., Stutts M.J. *et al.*, Overexpression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in NIH 3T3 cells lowers membrane potential and intracellular pH and confers a multidrug resistance phenotype, *Biophys. J.*, **1995**, 69(3), p. 883.
- [6] Lallemand J.-Y., Stoven V. *et al.*, Induction by antitumoral drugs of proteins that functionally complement CFTR: a novel therapy for cystic fibrosis?, *Lancet*, **1997**, 350(9079), p. 711.
- [7] Linsdell P., Hanaharan J.W., Glutathione permeability of CFTR, *Am. J. Physiol.*, 1998, **275**, C 323.
- [8] Annereau J.-P., Wulbrand U. *et al.*, A novel model for the first nucleotide binding domain of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, *FEBS Lett.*, **1997**, 407(3), p. 303.



B. Leclaire



J.-Y. Lallemand

Bayésté Leclaire

est ingénieur 1A à l'École polytechnique de Palaiseau*.

Jean-Yves Lallemand

est directeur de l'ICSN**, membre de l'Académie des sciences.

* École polytechnique, 91128 Palaiseau cedex.

E-mail : leclaire@poly.polytechnique.fr

** Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette cedex.

Tél. : 01 69 82 30 89. Fax : 01 69 07 77 52.

E-mail : Lallemand@icsn.cnrs-gif.fr