

Génétique moléculaire

M. Pierre CHAMBON, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

A. COURS

Ce cours s'inscrit dans une série consacrée aux mécanismes moléculaires qui sous-tendent le contrôle transcriptionnel de l'expression de l'information génétique. Il a porté sur le rôle joué par les facteurs dits intermédiaires (médiateurs transcriptionnels) qui transduisent les fonctions d'activation et de repression des régulateurs transcriptionnels, en mettant plus particulièrement l'accent sur les récepteurs nucléaires, et les mécanismes par lesquels ceux-ci modifient l'activité de la machinerie transcriptionnelle et l'accessibilité à la matrice chromatinienne. Une série de six heures de cours a été dispensée à l'Institut Gulbenkian de Lisbonne, et 2 cours ont été donnés à l'Université Louis Pasteur (ULP) de Strasbourg. Les séminaires (17 heures au total) ont été organisés sous forme d'un colloque intitulé « Dynamique de la chromatine et transcription » qui s'est déroulé à Strasbourg les 28 et 29 mai 1996, et à l'Institut Gulbenkian les 24, 25 et 26 juin 1996 :

Colloque « Dynamique de la chromatine et transcription » (IGBMC, ULP Strasbourg, 28 et 29 mai 1996, exposés d'une heure, discussion comprise).

— Sarah ELGIN, Université de Washington, Saint Louis, USA : Structure and expression of hsp26 in different chromosomal environments.

— Renato PARO, ZMBH, Heidelberg, Allemagne : Chromatin-mediated gene silencing.

— Vincenzo PIRROTTA, Université de Genève, Suisse : Chromatin complexes that maintain a memory of the UBX domain of expression.

— Mariann BIENZ, MRC, Cambridge, UK : Transcriptional silencing of homeotic genes in *Drosophila*.

— Peter BECKER, EMBL, Heidelberg, Allemagne : Interactions of transcription factors with dynamic chromatin.

— Michael GRUNSTEIN, Molecular Biology Institute, Los Angeles, USA : Molecular structure and spreading of heterochromatin in yeast.

— Carl WU, NIH, Bethesda, USA : Energy-dependent chromatin remodeling factors.

— James KADONAGA, Université de Californie, La Jolla, USA : The role of chromatin structure and assembly in the regulation of transcription by RNA polymerase II.

— Miguel BEATO, IMT, Marburg, Allemagne : Nucleosome-mediated synergism between transcription factors.

— Gordon HAGER, NIH, Bethesda, USA : The interaction of steroid receptors with genes resident in chromatin.

— Örjan WRANGE, Karolinska Institute, Stockholm, Suède : Transcription factor access to nucleosomal DNA.

— Marcel MÉCHALI, Institut Jacques Monod, Paris : Programming of chromatin for gene expression and DNA replication during development.

— David CHAO, Whitehead Institute, Cambridge, USA : RNA polymerase II holoenzymes and gene regulation.

Séminaires dans le cadre de l'enseignement dispensé à l'Institut Gulbenkian de Lisbonne :

- Dr. Hinrich GRONEMEYER (deux fois 2 heures, discussions comprises) :
 - Mechanisms of DNA recognition by nuclear receptors and heterodimerization.
 - Cross-talks between nuclear receptors and other signalling pathways.
- Dr. Philippe KASTNER (deux fois 2 heures, discussions comprises) :
 - The new mouse genetics.
 - Genetic analysis of the retinoid signalling pathway.

B. RÉSUMÉ DE L'ACTIVITÉ SCIENTIFIQUE

Les travaux que je dirige et coordonne au sein de l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC) à Strasbourg-Illkirch portent sur la régulation transcriptionnelle de l'expression de l'information génétique chez les vertébrés. Ils visent à élucider les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent (i) le démarrage de la transcription ; l'accent est mis sur la machinerie transcriptionnelle de base et les protéines qui y sont associées au sein de complexes (TFIID par exemple) qui transduisent les effets des transactivateurs ; (ii) la transactivation par les récepteurs nucléaires (en particulier des œstrogènes et des rétinoïdes) ; (iii) le rôle joué par les deux familles de récepteurs des rétinoïdes au cours de la différenciation de cellules de tératocarcinomes embryon-

naires et au cours du développement de la souris, en faisant appel à la mutagenèse dirigée par recombinaison homologue ; (iv) le fonction des gènes homéotiques dans la mise en place du plan d'organisation corporelle chez la souris.

LISTE DES PRINCIPALES PUBLICATIONS

(i) Mécanismes contrôlant le démarrage de la transcription.

— D.S.W. BOAM, I. DAVIDSON, and P. CHAMBON : A TATA-less promoter containing binding sites for ubiquitous transcription factors mediates cell type specific regulation of the gene for transcription enhancer factor-1 (TEF-1). *J. Biol. Chem.* (1995) 270, 19487-18494.

— E. SCHEER, M.G. MATTEI, X. JACQ, P. CHAMBON, and L. TORA : Organization and chromosomal localization of the gene encoding the human TBP-associated factor II 30 (TAF_{II}30). *Genomics* (1995) 29, 269-272.

— G. LYONS, and P. CHAMBON : Direct activation and anti-repression functions of GAL4-VP16 use distinct molecular mechanisms. *Biochem. J.* (1995) 312, 899-905.

— A. BERTOLOTTI, Y. LUTZ, P. CHAMBON, and L. TORA : hTAF_{II}68, a novel RNA/ss DNA binding protein with homology to the pro-oncoproteins TLS/FUS and EWS is associated with both TFIID and RNA polymerase II. *EMBO J.*, in press.

(ii) Mécanismes sous-tendant la transactivation par les récepteurs nucléaires.

— D. LOHNES, M. MARK, C. MENDELSON, P. DOLLÉ, D. DÉCIMO, M. LEMEUR, A. DIERICH, P. GORRY, and P. CHAMBON : Developmental roles of the retinoic acid receptors. In *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* (1995) 53, 475-486.

— C. ROCHETTE-EGLY, M. OULAD-ABDELGHANI, A. STAUB, V. PFISTER, I. SCHEUER, P. CHAMBON, and M.P. GAUB : Phosphorylation of the retinoic acid receptor α by protein kinase A. *Mol. Endocrinol.* (1995) 9, 860-871.

— W. BOURGUET, M. RUFF, P. CHAMBON, H. GRONEMEYER, and D. MORAS : Crystal structure of the ligand binding domain of the human nuclear receptor RXR α . *Nature* (1995) 375, 377-382.

— G.J. FISHER, A.P. REDDY, S.C. DATTA, S. KANG, J.J. YI, P. CHAMBON, and J.J. VOORHEES : All-*trans* retinoic acid and all-*trans* retinol induces cellular retinol-binding protein in human skin *in vivo*. *J. for Investigative Dermatology* (1995) 105, 80-86.

— S. KERSTEN, D. KELLEHER, P. CHAMBON, H. GRONEMEYER, and N. NOY : The retinoic X receptor α forms tetramers in solution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1995) 92, 8645-8649.

— S. KATO, H. SASAKI, M. SUZAWA, S. MASHUSHIGE, L. TORA, P. CHAMBON, and H. GRONEMEYER : Widely spaced directly repeated PuGGTCA elements act

as promiscuous enhancer for different classes of nuclear receptors. *Mol. Cell. Biol.* (1995) *15*, 5858-5867.

— W. BOURGUET, M. RUFF, D. BONNIER, F. GRANGER, M. BÆGLIN, P. CHAMBON, D. MORAS, and H. GRONEMEYER : Purification, functional characterization, and crystallization of the ligand binding domain of the retinoid X receptor. *Protein Expression and Purification* (1995) *6*, 604-608.

— S. KATO, H. ENDOH, T. MASUHIRO, T. KITAMOTO, S. UCHIYAMA, H. SASAKI, S. MASUSHIGE, Y. GOTOH, E. NISHIDA, H. KAWASHIMA, D. METZGER, and P. CHAMBON : Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science* (1995) *270*, 1491-1494.

— S. KERSTEN, L. PAN, P. CHAMBON, H. GRONEMEYER, and N. NOY : Role of ligand in retinoid signaling. 9-*cis*-retinoic acid modulates the oligomeric state of the retinoid X receptor. *Biochemistry* (1995) *34*, 13717-13721.

— J.P. RENAUD, N. ROCHEL, M. RUFF, V. VIVAT, P. CHAMBON, H. GRONEMEYER, and D. MORAS : Crystal structure of the RAR- γ ligand-binding domain bound to all-*trans* retinoic acid. *Nature* (1995) *378*, 681-689.

— D.J. MANGELSDORF, C. THUMMEL, M. BEATO, P. HERRLICH, G. SCHÜTZ, K. UMESONO, B. BLUMBERG, P. KASTNER, M. MARK, P. CHAMBON, and R.M. EVANS : The nuclear receptor superfamily : the second decade. *Cell* (1995) *83*, 835-839.

— E. vom BAUR, C. ZECHEL, D. HEERY, M. HEINE, J.M. GARNIER, V. VIVAT, B. LE DOUARIN, H. GRONEMEYER, P. CHAMBON, and R. LOSSON : Differential ligand-dependent interactions between the AF-2 activating domain of nuclear receptors and the putative transcriptional intermediary factors mSUG1 and TIF1. *EMBO J.* (1996) *15*, 110-124.

— W. BOURGUET, M. RUFF, D. BONNIER, F. GRANGER, M. BÆGLIN, P. CHAMBON, D. MORAS, and H. GRONEMEYER : Purification, functional characterization, and crystallization of the ligand binding domain of the retinoid X receptor. *Protein Expression and Purification*, in press.

— J.M. WURTZ, W. BOURGUET, J.P. RENAUD, V. VIVAT, P. CHAMBON, D. MORAS, and H. GRONEMEYER : A canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors. *Nature Struct. Biology* (1996) *3*, 87-94.

— M. MAY, G. MENGUS, A.C. LAVIGNE, P. CHAMBON, and I. DAVIDSON : Human TAF_{II}28 promotes transcriptional stimulation by activation function 2 of the retinoid X receptors. *EMBO J.* (1996) *15*, 3093-3104.

— P. CHAMBON : A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. In *The FASEB Journal « the retinoid revolution »*. W.J. Whelan, ed. (parution juillet 1996).

— B. LE DOUARIN, E. vom BAUR, C. ZECHEL, D. HEERY, M. HEINE, V. VIVAT, H. GRONEMEYER, R. LOSSON, and P. CHAMBON : Ligand-dependent interaction of

nuclear receptors with potential transcriptional intermediary factors (mediators). In « Phil. Trans. R. Soc. Lond. B ». P.D. Wall, ed. (1996) 351, 569-578.

— J.J. VEGEL, M.J.S. HEINE, C. ZECHEL, P. CHAMBON, and H. GRONEMEYER : TIF2, a 160-kDa transcriptional mediator for the ligand-dependent activation function AF-2 of nuclear receptors. EMBO J., in press.

(iii) *Rôle joué par les récepteurs des rétinoïdes in vivo*

— P. BOUILLET, M. OULAD-ABDELGHINI, S. VICAIRE, J.M. GARNIER, B. SCHUHBAUR, P. DOLLÉ, and P. CHAMBON : Efficient cloning of cDNAs of retinoic acid-responsive genes in P19 embryonal carcinoma cells and characterization of a novel mouse gene, *stra1* (mouse LERK-2/Eplg2). Develop. Biol. (1995) 170, 420-433.

— P. BOUILLET, C. CHAZAUD, M. OULAD-ABDELGHINI, P. DOLLÉ, and P. CHAMBON : Sequence and expression of the *Stra7* (*Gbx-2*) homeobox-containing gene induced by retinoic acid in P19 embryonal carcinoma cells. Develop. Dynam. (1995) 204, 372-382

— L. CICATIELLO, G. COBELLIS, R. ADDEO, M. PAPA, L. ALTUCCI, V. SICA, F. BRESCIANI, M. LEMEUR, V.L. KUMAR, P. CHAMBON, and A. WEISZ : *In vivo* functional analysis of the mouse estrogen receptor gene promoter : A transgenic mouse model to study tissue-specific and developmental regulation of estrogen receptor gene transcription. Mol. Endocrinol. (1995) 9, 1077-1090.

— D. METZGER, J. CLIFFORD, H. CHIBA, and P. CHAMBON : Conditional site-specific recombination in mammalian cells using a ligand-dependent chimeric Cre recombinase. Proc. Natl. Acad. Sci. (1995) 92, 6991-6995.

— R. TANEJA, P. BOUILLET, J. BOYLAN, M.P. GAUB, B. ROY, L. GUDAS, and P. CHAMBON : Reexpression of retinoic acid receptor (RAR) γ or overexpression of RAR α or RAR ϑ in RAR γ -null F9 cells reveals a partial functional redundancy between the three RAR types. Proc. Natl. Acad. Sci. (1995) 92, 7854-7858.

— B. ROY, R. TANEJA, and P. CHAMBON : Synergistic activation of expression of retinoic acid (RA) responsive genes and induction of P19 and F9 EC cell differentiation by a RAR α , a RAR ϑ or a RAR γ selective ligand in combination with a RXR specific ligand. Mol. Cell. Biol. (1995) 15, 6481-6487.

— P. KASTNER, M. MARK, and P. CHAMBON : Nonsteroid nuclear receptors : what are genetic studies telling us about their role in real life ? Cell (review) (1995) 83, 859-869.

— C. CHAZAUD, M. OULAD-ABDELGHINI, P. BOUILLET, D. DÉCIMO, P. CHAMBON, and P. DOLLÉ : AP-2.2, a novel gene related to AP-2, is expressed in the forebrain, limbs and face during mouse embryogenesis. Mechanisms Dev. (1996) 54, 83-94.

— P. KASTNER, M. MARK, M. LEID, A. GANSMULLER, J.M. GRONDONA, D. DÉCIMO, W. KREZEL, A. DIERICH, and P. CHAMBON : Abnormal spermatogenesis in RXR δ mutant mice. *Genes and Dev.* (1996) *10*, 80-92.

— C. BAVIK, S. WARD, and P. CHAMBON : Developmental abnormalities in cultured mouse embryos deprived of retinoic acid by inhibition of yolk-sac retinoid binding protein synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1996) *93*, 3110-3114.

— N. ORIDATE, N. ESUMI, D. LOTAN, W. KI HONG, C. ROCHETTE-EGLY, P. CHAMBON, and R. LOTAN : Implication of retinoic acid receptor γ in squamous differentiation and response to retinoic acid in head and neck SqCC/Y1 squamous carcinoma cells. *Oncogene* (1996) *12*, 2019-2028.

— R. TANEJA, B. ROY, J.L. PLASSAT, C.F. ZUSI, J. OSTROWSKI, P.R. RECZEK, and P. CHAMBON : Cell-type and promoter-context dependent retinoic acid receptor (RAR) redundancies for *RAR* δ 2 and *Hoxa-1* activation in F9 and P19 cells can be artefactually generated by gene knockouts. *Proc. Natl. Acad. Sci.*(1996) *93*, 6197-6202.

— M. OULAD-ABDELGHANI, P. BOUILLET, C. CHAZAUD, P. DOLLÉ, and P. CHAMBON : AP-2.2 : a novel AP-2-related transcription factor induced by retinoic acid during differentiation of P19 embryonal carcinoma cells. *Exp. Cell Res.* (1996) *225*, 338-347.

— K. NIEDERREITHER, S.J. WARD, P. CHAMBON, and P. DOLLÉ : Morphological and molecular characterization of retinoic acid-induced limb duplications in mice. *Dev. Biol.*(1996) *176*, 185-198.

— J. CLIFFORD, H. CHIBA, D. SOBIESZCZUK, D. METZGER, and P. CHAMBON : RXR α -null F9 embryonal carcinoma cells are resistant to the differentiation, antiproliferative and apoptotic effects of retinoids. *EMBO J.*, in press.

— J.M. GRONDONA, P. KASTNER, A. GANSMULLER, D. DÉCIMO, P. CHAMBON, and M. MARK : Retinal dysplasia and degeneration in RAR δ 2/RAR γ 2 compound mutant mice. *Development* (1996) *122*, 2173-2188.

— R. TANEJA, B. THISSE, F. RIJLI, C. THISSE, P. BOUILLET, P. DOLLÉ, and P. CHAMBON : The expression pattern of the mouse receptor tyrosine kinase gene MDK1 is conserved through evolution and requires *Hoxa-2* for rhombomere-specific expression in mouse embryos. *Develop. Biol.*, in press.

— W. KREZEL, V. DUPÉ, M. MARK, A. DIERICH, P. KASTNER, and P. CHAMBON : RXR γ null mice are apparently normal and compound RXR $\alpha^{+/-}$ /RXR $\delta^{+/-}$ /RXR $\gamma^{-/-}$ mutant mice are viable. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, in press.

— H. NAKSHATRI, P. BOUILLET, P. BHAT-NAKSHATRI, and P. CHAMBON : Isolation of retinoic acid-repressed genes from P19 embryonal carcinoma cells. *Gene*, in press.

— P. BOUILLET, M. OULAD-ABDELGHANI, S.J. WARD, S. BRONNER, P. CHAMBON, and P. DOLLÉ : A new mouse member of the *Wnt* gene family, *mWnt-8* expressed during early embryogenesis and id ectopically induced by retinoic acid. *Mech. Dev.*, in press.

(iv) *Fonction des gènes homéotiques dans la mise en place du plan d'organisation corporelle chez la souris.*

F. RIJLI, R. MATYAS, M. PELLEGRINI*, A. DIERICH, P. GRUSS*, P. DOLLÉ, and P. CHAMBON : Cryptorchidism and homeotic transformations of spinal nerves and vertebrae in *Hoxa-10* mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1995) 92, 8185-8189.

— B. FAVIER, F.M. RIJLI, C. FROMENTAL-RAMAIN, V. FRAULOB, P. CHAMBON, and P. DOLLÉ : Functional cooperation between the non-paralogous genes *Hoxa-10* and *Hoxa-11* in the developing forelimb and axial skeleton. *Development* (1996) 122, 449-460.

— C. FROMENTAL-RAMAIN, X. WAROT, S. LAKKARAJU, B. FAVIER, H. HAACK, C. BIRLING, A. DIERICH, P. DOLLÉ, and P. CHAMBON : Specific and redundant functions of the paralogous *Hoxa-9* and *Hoxd-9* genes in forelimb and axial skeleton patterning. *Development* (1996) 122, 461-472.

CONFÉRENCES DONNÉES SUR INVITATION PAR PIERRE CHAMBON

— Max-Planck-Institut für Biologie, Abteilung Infektionsbiologie (Dr. M. Fussenegger), Tübingen, Allemagne, le 28 juillet 1995 : « Retinoids : recent molecular and developmental studies »

— The 1995 Kligman Lecture — Skin Pharmacology Society Annual Meeting. Vienna, November 2nd, 1995.

— The 11th Hans L. Falk Memorial Lecture — National Institute of Health, Research Triangle Park, N.C. USA, December 7, 1995 : « Molecular and genetic dissection of the retinoid signalling pathway » (Falk Lecture) — « Control of transcription by nuclear receptors » (Research Seminar).

— Imperial Cancer Research Fund « Special Seminars », London, GB, May 16th, 1996 : « How do nuclear receptors activate transcription ? »

— IIGB Workshop on Evolution and Development, Capri (Italie) 7-11 octobre 1995 : « Molecular Genetics of Retinoid Receptors ».

— Keystone Symposium on Steroid/Thyroid/Retinoic Acid Gene Family, Lake Tahoe (USA) 21 mars 1996 : « Retinoic receptors : recent insights in transactivation and three-dimensional structure ».