

## Génétique moléculaire

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

### A. COURS

Comme les années précédentes, mon cours s'est inscrit dans le prolongement des recherches qui sont menées dans mon laboratoire et sont consacrées aux mécanismes moléculaires qui sous-tendent le contrôle de l'expression de l'information génétique au niveau de la transcription. Il a porté sur les récepteurs nucléaires en mettant l'accent, d'une part sur les mécanismes moléculaires qui transduisent les fonctions d'activation et de répression de ces récepteurs, et d'autre part sur les fonctions physiologiques qu'ils exercent au niveau de l'animal considéré dans son intégralité, telles qu'elles peuvent être révélées chez la souris en procédant à des mutations ciblées. Les mécanismes par lesquels les récepteurs nucléaires modulent l'activité de la machinerie transcriptionnelle et l'accessibilité à la matrice chromatinienne ont été exposés dans le contexte général du contrôle de l'expression de l'information génétique chez les organismes eucaryotes. Le cours consacré aux fonctions physiologiques des récepteurs des rétinoïdes m'a donné l'occasion de présenter notre récente et spectaculaire avancée dans l'ingénierie de mutations somatiques chez la souris, selon des modalités qui permettent de muter un gène quelconque dans un tissu ou organe spécifique à un moment quelconque de la vie de l'animal. Les perspectives ouvertes par cette avancée méthodologique majeure sont immenses, car elle ouvre la voie à la caractérisation de la fonction physiologique des dizaines de milliers de gènes qui constituent notre patrimoine génétique.

Ayant bénéficié d'une dispense partielle de cours, j'ai donné deux cours de 2 heures chacun, l'un à l'Université Joseph Fourier de Grenoble, et l'autre à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg.

Les séminaires (11 au total) ont été organisés dans le cadre de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg à l'Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire

et Cellulaire (IGBMC). Chaque exposé a duré environ 60 minutes sur le thème général : Développement et Récepteurs nucléaires.

— Déroulement des séminaires :

- \* 24 mars 2000 **Dr. Gail MARTIN**, *Univ. California San Francisco, USA*. FGF gene function in vertebrate limb formation and other developmental processes.
- \* 4 avril 2000 **Dr. Brigitte KIEFFER**, *ESBS Illkirch*. Pain and drug addiction : genetic approaches for the study of opioid receptor function.
- \* 12 mai 2000 **Dr. Claudio STERN**, *Columbia University, New York, USA*. Towards a molecular understanding of neural induction.
- \* 25 mai 2000 **Dr. Jacques SAMARUT**, *École Normale Supérieure Lyon*. Rôle des récepteurs des hormones thyroïdiennes dans le développement postnatal de la souris.
- \* 25 mai 2000 **Dr. Walter WAHLI**, *Institute Animal Biology, Univ. Lausanne, Suisse*. Roles of PPARs during fasting and woundhealing.
- \* 25 mai 2000 **Dr. Johan AUWERX**, *IGBMC, Illkirch*. PPAR $\gamma$ , a pleiotropic regulator.
- \* 25 mai 2000 **Dr. Hinrich GRONEMEYER**, *IGBMC, Illkirch*. Retinoic acid signalling in acute promyelocytic leukemia : alternate pathways to cell death.
- \* 25 mai 2000 **Dr. Dino MORAS**, *IGBMC, Illkirch*. Interaction protéine-ligand dans les récepteurs nucléaires des hormones.
- \* 25 mai 2000 **Dr. Philippe KASTNER**, *IGBMC, Illkirch*. Fonction de RAR $\alpha$  dans la différenciation granuloctytaire.
- \* 25 mai 2000 **Dr. Shigeaki KATO**, *University Tokyo, Japon*. The function of VDR in gene regulation.
- \* 8 juin 2000 **Dr. Heiner WESTPHAL**, *NIH, LMGD/NICHD, Bethesda, USA*. Regulators of mouse embryonic development.

## 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 ont porté, comme les années précédentes, sur le contrôle de l'expression de l'information génétique chez les vertébrés. Ils visent :

(i) à élucider les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent le démarrage de la transcription. L'accent est mis, notamment par des études in vitro, sur la machinerie transcriptionnelle de base et les protéines qui y sont associées au sein des multiples complexes, afin de transduire les effets de transac-

tivateurs, en particulier des récepteurs nucléaires (notamment des œstrogènes et des rétinoïdes). Nous nous intéressons également aux constituants de la chromatine qui, en interagissant avec les récepteurs nucléaires, interviennent dans son remodelage, et ainsi participent au contrôle de la transcription en régulant positivement ou négativement l'accès à la matrice chromatinienne.

(ii) à réaliser des mutations somatiques ciblées et inductibles dans des tissus déterminés à des moments bien définis de la vie de la souris.

(iii) à établir le rôle physiologique joué par les deux familles de récepteurs des rétinoïdes et par les récepteurs des œstrogènes au cours du développement embryonnaire de la souris et chez l'animal après la naissance, en faisant appel à la mutagenèse ciblée non seulement dans la lignée germinale, mais aussi dans des cellules somatiques choisies.

Au cours de l'année écoulée nous avons publié plus d'une trentaine d'articles dans ces différents domaines.

#### LISTE DES PRINCIPALES PUBLICATIONS

##### (i) *Mécanismes moléculaires sous-tendant la transactivation par les récepteurs nucléaires*

— E. Remboutsika, Y. Lutz, A. Gansmuller, J.L. Vonesch, R. Losson, and P. Chambon : The putative nuclear receptor mediator TIF1 $\alpha$  is tightly associated with euchromatin. *J. Cell. Sci.* (1999) **112**, 1671-1683.

— S. Adam-Stitah, L. Penna, P. Chambon, and C. Rochette-Egly : Hyperphosphorylation of the retinoid X receptor alpha (RXR $\alpha$ ) by activated c-jun N-terminal kinases (JNKs). *J. Biol. Chem.* (1999) **274**, 18932-18941.

— M. Géhin, V. Vivat, J.M. Wurtz, R. Losson, P. Chambon, D. Moras, and H. Gronemeyer : Structural basis for engineering of retinoic acid receptor isotype-selective agonists and antagonists. *Chem Biol.* (1999) **6**, 519-529.

— L. Delva, J.N. Bastie, C. Rochette-Egly, R. Kraïba, N. Balitrand, F. Guidez, P. Chambon, and C. Chomienne : Physical and functional interactions between the cellular retinoic acid binding protein II and the retinoid nuclear receptors. *Mol. Cell Biol.* (1999) **19**, 7158-7167.

— H. Endoh, K. Maruyama, Y. Masuhiro, M. Goto, Y. Kobayashi, H. Tai, D. Metzger, P. Chambon, S. Hashimoto, S. Kato : Purification and identification of p68 RNA helicase acting as a transcriptional coactivator specific for the activation function 1 of human estrogen receptor  $\alpha$ . *Mol. Cell. Biol.* (1999) **19**, 5363-5372.

— A.L. Nielsen, J.A. Ortiz, J. You, M. Oulad-Abdelghani, R. Khechumian, A. Gansmuller, P. Chambon, and R. Losson : Interaction with members of the heterochromatin protein 1 (HP1) family and histone deacetylation are differen-

tially involved in transcriptional silencing by members of the TIF1 family. *EMBO J.* (1999) **18**, 6385-6395.

— W. Bourguet, V. Vivat, J.M. Wurtz, P. Chambon, H. Gronemeyer, and D. Moras : Crystal structure of a heterodimeric complex of RAR and RXR ligand-binding domains. *Mol. Cell* (2000) **5**, 289-298.

— J.-P.F. Egea, A. Mitschler, N. Rochel, M. Ruff, P. Chambon, and D. Moras : Crystal structure of the human RXR $\alpha$  ligand-binding domain bound to 9-*cis* retinoic acid. *EMBO J.* (2000) **19**, 2592-2601.

— Bastien, S. Adam-Stitah, T. Riedl, J.M. Egly, P. Chambon, and C. Rochette-Egly : TFIH interacts with the retinoic acid receptor gamma (RAR $\gamma$ ) and phosphorylates its AF-1 activating domain through cdk7. *J. Biol. Chem.*, (2000) **275**, 21896-21904.

— W. Bourguet, V. Andry, C. Iltis, B. Klahotz, N. Potier, A. Van Dorsselaer, P. Chambon, H. Gronemeyer, and D. Moras : Heterodimeric complex of RAR and RXR nuclear receptor ligand-binding domains : purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis. *Protein Express. Purif.*, (2000), **19**, 284-288.

— F. Cammas, J.M. Garnier, P. Chambon, and R. Losson : Sequence and genomic organisation of the mouse TIF $\beta$  gene. *Gene*, sous presse.

— E. Kopf, J.L. Plassat, H. de Thé\*, P. Chambon, and C. Egly : Dimerization with RXRs and phosphorylation modulate the retinoic acid-induced degradation of RAR $\alpha$  and RAR $\gamma$  through the ubiquitin-proteasome pathway, *J. Biol. Chem.*, sous presse.

(ii) *Mutagenèse somatique ciblée et contrôlée dans l'espace et le temps*

— A.K. Indra, X. Warot, J. Brocard, J.M. Bornert, J.H. Xiao, P. Chambon, and D. Metzger : Temporally-controlled site-specific mutagenesis in the basal layer of the epidermis : comparison of the recombinase activity of the tamoxifen-inducible Cre-ER<sup>T</sup> and Cre-ER<sup>T2</sup> recombinases. *Nucl. Acid. Res.* (1999) **27**, 4324-4327.

— T. Imai, P. Chambon, and D. Metzger : Inducible site-specific somatic mutagenesis in mouse hepatocytes. *Genesis* (2000) **26**, 147-148.

— D. Metzger, and P. Chambon : Site-and time-specific gene targeting in the mouse. *Methods*, sous presse.

— M. Li, A.K. Indra, X. Warot, J. Brocard, N. Messaddeq, D. Kato, D. Metzger, and P. Chambon : Skin abnormalities generated by temporally-controlled RXR $\alpha$  mutations in adult mouse epidermis, *Nature*, sous presse.

(iii) *Rôle joué par les récepteurs des rétinoïdes et des œstrogènes chez les mammifères in vivo*

— C. Chazaud, O. Wendling, P. Chambon, and P. Dollé : Retinoic acid is required in the mouse embryo for left-right asymmetry determination and heart morphogenesis. *Development* (1999) **126**, 2589-2596.

— M. Mark, N. Ghyselinck, O. Wendling, V. Dupé, B. Mascrez, P. Kastner, and P. Chambon : A genetic dissection of the retinoid signaling pathway in the mouse. *Proc. Nutr. Soc.* (1999) **58**, 609-613.

— O. Wendling, P. Chambon, and M. Mark : Un rôle essentiel des récepteurs de rétinoïdes au cours du développement embryonnaire précoce et de la placentogénèse. *Médecine/Sciences* (1999) **15**, 885-887.

— N.B. Ghyselinck, C. Bavik, V. Sapin, M. Mark, D. Bonnier, C. Hindelang, A. Dierich, C.B. Nilson, H. Hakansson, P. Sauvant, V. Azaïs-Braesco, M. Fransson, S. Picaud, and P. Chambon : Cellular retinol binding protein I is essential for vitamin A homeostasis. *EMBO J.* (1999) **18**, 4903-4914.

— V. Dupé, N.G. Ghyselinck, O. Wendling, P. Chambon, and M. Mark : Key roles of retinoic acid receptors alpha and beta in the patterning of the caudal hindbrain, pharyngeal arches and otocyst in the mouse. *Development* (1999) **126**, 5051-5059.

— T.N. Faria\*, C. Mendelsohn, P. Chambon, and L.J. Gudas\* : The targeted disruption of both alleles of RAR $\beta_2$  in F9 cells results in the loss of retinoic acid-associated growth arrest. *J. Biol. Chem.* (1999) **17**, 26783-26788.

— E. Borrelli, and P. Chambon : Control of transcription and neurological diseases. *Mol. Psychiatry (News & Views)* (1999) **4**, 112-114.

— V. Sapin, P. Bouillet, M. Ouald-Abdelghani, B. Dastugue, P. Chambon, and P. Dollé : Differential expression of retinoic acid-inducible (Stra) genes during mouse placentation. *Mech. Develop.* (2000) **92**, 295-299.

— V. Subbarayan, M. Mark, N. Messadeq, P. Rustin\*, P. Chambon, and P. Kastner : RXR $\alpha$  over-expression in cardiomyocytes causes dilated cardiomyopathy, but fail. *J. Clin. Invest* (2000) **105**, 387-394.

— K. Niederreither, J. Vermot, B. Schuhbauer, P. Chambon, and P. Dollé : Retinoic acid synthesis and hindbrain patterning in the mouse embryo. *Development* (2000) **127**, 75-85.

— O. Wendling, C. Dennefeld, P. Chambon, and M. Mark : Retinoid signaling is essential for patterning the endoderm of the third and fourth pharyngeal arches. *Development* (2000) **127**, 1553-1562.

— R. Mollard, S. Viville, S.J. Ward, D. Décimo, P. Chambon, and P. Dollé : Tissue-specific expression of retinoic acid receptor isoform transcripts in the mouse embryo. *Mech. Develop.*, (2000), **94**, 223-232.

— S. McGowan, S.K. Jackson, M.M. Doro, P. Chambon, and J.M. Snyder : Mice bearing targeted deletions of retinoic acid receptor (RAR)- $\gamma$  and retinoid-X-receptor (RXR)- $\alpha$  demonstrate reductions in lung elastin and alveolar number. *Amer. J. Respir. Cell. Molec. Biol.*, sous presse.

— F. Cammas, M. Mark, P. Dollé, A. Dierich, P. Chambon, and R. Losson : Mice lacking the transcriptional corepressor TIF1 $\beta$  are defective in early postimplantation development. *Development*, (2000), **127**, 2955-2963.

— J. Guibourdenche, I. Laurendeau, C. Rochette-Egly, P. Chambon, M. Vidaud, and D. Evain-Brion : Retinoids stimulate leptin synthesis and secretion in human syncytiotrophoblast. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, sous presse.

— R. Mollard, N.G. Ghyselinck, O. Wendling, P. Chambon, and M. Mark : Stage-dependent responses of the developing lung to retinoic acid signaling. *Int. J. Develop. Biol.*, sous presse.

— R. Romand, V. Sapin, N. Ghyselinck, P. Avan, S. Le Calvez, P. Dollé, M. Mark, and P. Chambon : Spatio-temporal distribution of cellular retinoid binding protein gene transcripts in the developing and the adult cochlea. Morphological and functional consequence from CRABPs and CRBPI null mutant mice. *J. Comp. Neurol.*, sous presse.

— N.S. Brown, A. Smart, V. Sharma, M.L. Brinkmeier, S.A. Camper, D.J. Jensen, W. Krezel, P. Chambon, and B.R. Haugen : Pituitary-thyroid axis function in the RXR $\gamma$  deficient mouse. *J. Clin. Invest.*, (2000), **106**, 73-79.

— J.L. Plassat, L. Penna, P. Chambon, and C. Rochette-Egly : The conserved amphipatic  $\alpha$ -helicase core motif of RAR $\gamma$  and RAR $\alpha$ AF-2 activating domains, is indispensable for RA-induced differentiation of F9 cells. *J. Cell. Sci.*, (2000), **113**, 2887-2895.

— C. Rochette-Egly, J.L. Plassat, R. Taneja, and P. Chambon : The AF-1 and AF-2 activating domains of RAR $\alpha$  and their phosphorylation are differentially involved in parietal endodermal differentiation of F9 cells and retinoid-induced expression of target genes. *Mol. Endocrinol.*, sous presse.

— S. Dupont, A. Krust, A. Gansmuller, A. Dierich, P. Chambon, and M. Mark : Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) and  $\beta$  (ER $\beta$ ) on mouse reproductive phenotypes, *Development*, sous presse.

— G. De Carlo Massaro\*, D. Massaro\*, W.Y Chan\*, L.B. Clerch\*, N. Ghyselinck, P. Chambon, and R.A.S. Chandraratna\* : Signalling via the retinoic acid receptor  $\beta$  inhibits the formation of pulmonary alveoli,  *soumis*.

— L. Bouchet, A. Krust, S. Dupont, P. Chambon, F. Bayard, and J.F. Arnal : Estradiol accelerates reendothelialization in mouse carotid artery through  $\alpha$ -, but not  $\beta$ , estrogen receptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, sous presse.

CONFÉRENCES DONNÉES SUR INVITATION PAR PIERRE CHAMBON  
JUN 1999 — JUN 2000

— Forefront Meeting Of The International Society Of Nephrology, « News in Aldosterone Action », Paris-Chantilly (France), 15-18 août 1999. « Nuclear receptors as transcriptional regulators in signal transduction » (Plenary Lecture).

— 6th International Congress Of Hormones & Cancer - Jerusalem (Israel), 5-9 septembre 1999. « Control of transcription by nuclear receptors » (Opening Lecture).

— Forum Scientia Europea N° 4 - Bischensberg, Strasbourg (France), 19-23 septembre 1999. « Nuclear receptors as transcriptional regulators in signal transduction » (Keynote Lecture).

— ERRG Conference « Retinoids and nuclear receptors 1999 », Bischensberg, Strasbourg (France), 26-30 septembre 1999 (organisateur).

— 6th IUBMB Conference « Life Science for the next millenium » Seoul, (Corée), 10-13 octobre 1999. « Retinoid signaling » (Plenary Lecture) (member of Scientific Advisory committee).

— Journées Dermatologiques De Paris, Paris (France), 1-4 décembre 1999. « Conditional somatic mutagenesis in the mouse : retinoid receptor function in the epidermis » (Plenary Lecture).

— Keystone Symposia On Molecular And Cellular Biology, Steamboats Springs (CO) (USA), March 25-31, 2000. « Cell-type specific temporarily-controlled targeted somatic mutagenesis in the mouse : functional dissection of retinoid signaling in vivo » (Plenary Lecture).

— Juan March Workshop On Integration Of Transcriptional Regulation And Chromatin Structure, Madrid (Spain), 10-12 avril 2000. « Control of transcription by retinoic acid receptors » (Plenary Lecture).

— Ramon Areces Foundation Symposium On Transgenesis, Madrid (Spain), 4-5 mai 2000. « Site-directed spatio-temporally-controlled somatic mutagenesis in the mouse » (Plenary Lecture).

— FASEB Summer Research Conference On Retinoids, Copper Mountain (CO) (USA), 25-30 juin 2000. « Engineering mouse mutants to dissect retinoid signaling in vivo : state of the art » (Opening Plenary Lecture).