

Génétique moléculaire

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

A. COURS

Les cours que j'ai dispensés au Collège ont été consacrés à des exposés sur l'ingénierie génétique chez les mammifères, y compris leur clonage. Chaque cours a comporté un exposé général, suivi d'exemples tirés des travaux de recherche réalisés dans le laboratoire que je dirige à l'IGBMC (Illkirch-Strasbourg).

Le cours que j'ai donné à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg fut consacré aux fonctions physiologiques des récepteurs des rétinoïdes. Il m'a donné l'occasion de présenter nos récentes avancées dans l'ingénierie de mutations somatiques chez la souris.

Les séminaires (9 au total) ont été organisés dans le cadre d'un mini-symposium qui s'est tenu à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, IGBMC). Chaque exposé a duré environ 60 minutes, la thématique générale étant celle des « Récepteurs Nucléaires ».

- * 13 juin 2001 **Hiroshi ICHINOSE** (*Fujita Health University, Aichi, Japan*), « Regulation of monoamine synthesis by tetrahydrobiopterin : its implication in dystonia/parkinsonism ».
- * 13 juin 2001 **Walter WAHLI** (*Université de Lausanne, Suisse*), « Three PPAR isotypes for multiple functions ».
- * 13 juin 2001 **Shigeaki KATO** (*Université de Tokyo, Japon*), « Function of steroid receptors ».
- * 13 juin 2001 **Johan AUWERX** (*IGBMC, Strasbourg, France*), « PPAR γ calls for activation moderation ».
- * 13 juin 2001 **Vincent LAUDET** (*École Normale Supérieure, Lyon, France*), « Evolution of retinoid receptors ».

- * 14 juin 2001 **Hughes de Thé** (*Centre Hayem, Paris, France*), « Activation of PML/RAR α catabolism by retinoic acid and arsenic : analysis of the involved signalling pathways ».
- * 14 juin 2001 **Jacques Samarut** (*ENS, Lyon, France*), « Genetic approach of the function of thyroid hormone receptors in the physiology and development of the mouse ».
- * 14 juin 2001 **Manuel Mark** (*IGBMC, Strasbourg, France*), « Cellular mechanisms underlying retinoic acid-dependent pattern formation in the caudal region of the embryonic head ».
- * 14 juin 2001 **Jean-Marie Wurtz** (*IGBMC, Strasbourg, France*), « Agonism, antagonism and what else ? ».

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 sont dans le droit fil de mes travaux antérieurs et portent sur l'analyse des mécanismes qui contrôlent l'expression de l'information génétique chez les vertébrés. Nos travaux visent d'une part à identifier, en mettant en œuvre les techniques relevant de la biologie et de la génétique moléculaire, les acteurs qui sous-tendent ce contrôle, et d'autre part à établir leur rôle physiologique *in vivo* en utilisant les techniques les plus récentes de la génétique interventionnelle chez la souris. Nos travaux 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 de multiples complexes pour transduire les effets de transactivateurs, en particulier des récepteurs nucléaires (notamment des récepteurs aux œstrogènes et aux 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 aux rétinoïdes et aux œstrogènes au cours du développement embryonnaire de la souris et chez l'animal après la naissance, en faisant appel non seulement à la mutagenèse ciblée dans la lignée germinale, mais aussi à la mutagenèse somatique dans des tissus et cellules déterminés à des moments choisis de la vie de l'animal, y compris au stade adulte.

Au cours de l'année écoulée nous avons publié plus d'une quarantaine d'articles dans ces différents domaines qui font l'objet d'une intense compétition. À cet égard, on peut noter qu'au cours de la dernière décennie, comme au cours de la précédente, nos travaux furent parmi ceux qui ont été les plus cités dans le domaine de la Biologie, tant au niveau mondial qu'au niveau national où ils se situent au premier rang.

P. C.

LISTE DES PRINCIPALES PUBLICATIONS

(i) *Mécanismes moléculaires sous-tendant la transactivation par les récepteurs nucléaires. Études in vivo et transcriptionnelles in vitro*

— Bastien, S. Adam-Stitah, T. Riedl, J.-M. Egly, P. Chambon, and C. Rochette-Egly : TFIIH interacts with the retinoic acid receptor gamma (RAR γ) 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 Dorselaer, 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 β gene. *Gene* (2000) **253**, 231-235.

— 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 α and RAR γ through the ubiquitin-proteasome pathway. *J. Biol. Chem.* (2000) **275**, 33280-33288.

— A. Benecke, P. Chambon, and H. Gronemeyer : Synergy between estrogen receptor α activation function AF1 and AF2 mediated by transcription intermediary factor TIF2. *EMBO Reports* (2000) **11**, 151-157.

— F.J. Dilworth, C. Fromental-Ramain, K. Yamamoto, and P. Chambon : ATP-driven chromatin remodeling activity and histone acetyltransferases act sequentially during transactivation by RAR/RXR in vitro. *Mol. Cell.* (2000) **6**, 1049-1058.

— S. Kersten*, S. Mandard, N. Soon Ta*, P. Escher*, D. Metzger, P. Chambon, F.J. Gonzalez, B. Desvergne, and W. Wahli : Characterization of the fasting-induced adipose factor FIAF, a novel peroxisome proliferator-activated receptor target gene. *J. Biol. Chem.* (2000) **275**, 28488-28493.

— S. Bultman, T. Gebuhr, D. Yee, C. La Mantia, J. Nicholson, A.C. Gilliam, F. Randazzo, D. Metzger, P. Chambon, G. Crabtree, and T. Magnuson : A *Brg1*

null mutation in the mouse reveals functional differences among mammalian SWI/SNF complexes. *Mol. Cell.* (2000) **6**, 1287-1295.

— M. Beth-Martin, T.F. Franke, G.E. Stoica, A. Wellstein, B.S. Katzenellenbogen, P. Chambon, B.A. Stoica, M.S. McLemore, S.E. Olivo, and A. Stoica : A role for Akt in mediating the estrogenic functions of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I. *Endocrinology* (2000) **141**, 4503-4511.

— M. Abrink, J.A. Ortiz, C. Mark, C. Sanchez, C. Looman, L. Hellman, P. Chambon, and R. Losson : Conserved interaction between distinct Krüppel-associated box domains and the transcriptional intermediary factor 1 β . *Proc. Natl. Acad. Sci.* (2001) **98**, 1422-1426.

— P.O. Angrand, F. Apiou, A.F. Stewart, B. Dutrillaux, R. Losson, and P. Chambon : NSD3, a new SET domain-containing gene, maps to 8p12 and amplified in human breast cancer cell lines. *Genomics* (2001) **74**, 79-88.

— A. Lade Nielsen, M. Oulad-Abdelghani, J.A. Ortiz, E. Remboutsika, P. Chambon, and R. Losson : Heterochromatin formation in mammalian cells : interaction between histones and HP1 proteins. *Mol. Cell.* (2001) **7**, 729-739.

— J-S. Seeler, A. Marchio, R. Losson, J.M.P. Desterro, R.T. Hay, P. Chambon, and A. Dejean* : Common properties of the nuclear body protein SP100 and the TIF1 α chromatin factors : the role of SUMO modification. *Mol. Cell. Biol.* (2001) **21**, 3314-3324.

— F.G. Dilworth, and P. Chambon : Nuclear receptors coordinate the activities of chromatin remodeling complexes and coactivators to facilitate initiation of transcription. *Oncogene* (2001) **20**, 3047-3054.

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

— D. Metzger, and P. Chambon : Site- and time-specific gene targeting in the mouse. *Methods* (2001) **24**, 71-80.

— H. Chiba, P. Chambon, and D. Metzger : F9 embryonal carcinoma cells engineered for tamoxifen-dependent Cre-mediated site-directed mutagenesis and doxycycline-inducible gene expression. *Exp. Cell. Res.* (2000) **260**, 334-339.

— S. Kühbandner*, S. Brummer, D. Metzger, P. Chambon, F. Hofmann, and R. Feil : Temporally controlled somatic mutagenesis in smooth muscle. *Genesis* (2000) **28**, 15-22.

— L. Vallier*, J. Mancip*, S. Markossian*, A. Lukaszewicz*, C. Dehay*, D. Metzger, P. Chambon, J. Samarut, and P. Savatier* : An efficient system for conditional gene expression in embryonic stem cells and in their *in vitro* and *in vivo* differentiated derivatives. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (2001) **98**, 2467-2472.

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

— 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**, 233-232.

— S. McGowan, S.K. Jackson, M. Jenkins-Moore, P. Chambon, and J.M. Snyder : Mice bearing targeted deletions of retinoic acid receptor (RAR)- γ and retinoid-X-receptor (RXR)- α demonstrate reductions in lung elastin and alveolar number. *Amer. J. Respir. Cell. Molec. Biol.* (2000) **23**, 162-167.

— F. Cammas, M. Mark, P. Dollé, A. Dierich, P. Chambon, and R. Losson : Mice lacking the transcriptional corepressor TIF1 β 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.* (2000) **85**, 2550-2555.

— 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.* (2000) **44**, 457-462.

— 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. *Eur. J. Neurosci* (2000) **12**, 2793-2804.

— N.S. Brown, A. Smart, V. Sharma, M.L. Brinkmeier, S.A. Camper, D.J. Jensen, W. Krezel, P. Chambon, and B.R. Haugen : Thyroid hormone resistance and increased metabolic rate in the RXR γ deficient mouse. *J. Clin. Invest.* (2000) **106**, 73-79.

— J.-L. Plassat, L. Penna, P. Chambon, and C. Rochette-Egly : The conserved amphipatic α -helicase core motif of RAR γ and RAR α 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 α and their phosphorylation are differentially involved in parietal endodermal differentiation of F9 cells and retinoid-induced expression of target genes. *Mol. Endocrinol.* (2000) **14**, 1398-1410.

— S. Dupont, A. Krust, A. Gansmuller, A. Dierich, P. Chambon, and M. Mark : Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors α (ER α) and β (ER β) on mouse reproductive phenotypes. *Development* (2000) **127**, 4277-4291.

— M. Li, A.K. Indra, X. Warot, J. Brocard, N. Messaddeq, S. Kato, D. Metzger, and P. Chambon : Skin abnormalities generated by temporally-controlled RXR α mutations in adult mouse epidermis. *Nature* (2000) **407**, 633-636.

— G. De Carlo Massaro*, D. Massaro*, W.Y. Chan*, L.B. Clerch*, N. Ghyselinck, P. Chambon, and R.A.S. Chandraratna* : Retinoic acid receptor β : an endogenous inhibitor of the perinatal formation of pulmonary alveoli. *Physiol. Genomics* (2000) **4**, 51-57.

— L. Brouchet, A. Krust, S. Dupont, P. Chambon, F. Bayard, and J.F. Arnal : Estradiol accelerates reendothelialization in mouse carotid artery through α -, but not β , estrogen receptor. *Circulation* (2001) **103**, 423-428.

— P. Kastner, H.J. Lawrence, C. Waltzinger, N. Ghyselinck, P. Chambon, and S. Chan : Positive and negative regulation of granulopoiesis by endogenous RAR α : implications for acute promyelocytic leukemia. *Blood* (2001) **97**, 1314-1320.

— S. Abu-Abed, P. Dollé, D. Metzger, B. Beckett, P. Chambon, and M. Petkovich : The retinoic acid-metabolizing enzyme, CYP26A1, is essential for normal hindbrain patterning, vertebral identity, and development of posterior structures. *Gene Develop.* (2001) **15**, 226-240.

— M. Li, H. Chiba, X. Warot, N. Messaddeq, C. Gérard, P. Chambon, and D. Metzger : RXR α ablation in skin keratinocytes result in alopecia and epidermal alterations. *Development* (2001) **128**, 675-688.

— K. Niederreither, J. Vermot, N. Messaddeq, B. Schuhbauer, P. Chambon, and P. Dollé : Embryonic retinoic acid synthesis is essential for heart morphogenesis in the mouse. *Development* (2001) **128**, 1019-1031.

— M. Mori, N. Ghyselinck, P. Chambon, and M. Mark : Systematic immunolocalization of retinoid receptors in developing and adult mouse eyes. *Invest. Ophthalmol. Visual. Sci.* (2001) **42**, 1312-1318.

— P. Desreumaux, L. Dubuquoy, S. Nutten, M. Peuchmaur, W. Englaro, K. Schoonjans, B. Derijard, B. Desvergne*, W. Wahli, P. Chambon, M.D. Leibowitz, J.F. Colombel, and J. Auwerx : Attenuation of colon inflammation through activators of the retinoid X receptor (RXR)/peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) heterodimer : a basis for new therapeutic strategies. *J. Exp. Med.* (2001) **193**, nbr. 7, 827-838.

— T. Imai, M. Jiang, P. Kastner, P. Chambon, and D. Metzger : Selective ablation of retinoid X receptor α in hepatocytes impairs their lifespan and regenerative capacity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (2001) **98**, 4581-4586.

— E. van den Akker, C. Fromental-Ramain, H. Le Mouellic, P. Brûlet, P. Chambon, and J. Deschamps : Axial skeletal patterning in mice lacking all paralogous group 8 *Hox* genes. *Development* (2001) **128**, 1911-1921.

— T. Imai, M. Jiang, P. Chambon, and D. Metzger : Impaired adipogenesis and lipolysis in the mouse upon selective ablation of the retinoid X receptor

α mediated by a tamoxifen-inducible chimeric Cre recombinase (Cre-ER^{T2}) in adipocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (2001) **98**, 224-228.

— R. Beckstead*, J.A. Ortiz, C. Sanchez*, S.N. Prokopenko*, P. Chambon, R. Losson, and H.J. Bellen* : Bonus, a *Drosophila* homolog of TIF1 proteins, interacts with nuclear receptors, and can inhibit β FTZ-F1-dependent transcription. *Mol. Cell.* (2001) **4** : 753-765.

— B. Mascrez, M. Mark, W. Krezel, V. Dupé, M. Le Meur, N.B. Ghyselinck, and P. Chambon : Differential contributions of AF-1 and AF-2 activities to the developmental functions of RXR α . *Development* (2001) **128** : 2049-2062.

— O. Wendling, N.G. Ghyselinck, P. Chambon, and M. Mark : Roles of retinoic acid receptors in early embryonic morphogenesis and hindbrain patterning. *Development* (2001) **128** : 2031-2038.

— A. Rangarajan*, C. Talora*, R. Okuyama*, M. Nicolas*, C. Mammucari*, H. Oh*, J.C. Aster*, S. Krishna*, D. Metzger, P. Chambon, L. Miele*, M. Aguet*, F. Radtke*, and G.P. Dotto* : Notch signaling is a direct determinant of keratinocyte growth arrest and entry into differentiation. *EMBO J.* (2001) **20** : 3427-3436.

— A.K. Indra, M. Li, X. Warot, J. Brocard, J.M. Bornert, C. Gérard, N. Mes-saddeq, P. Chambon, and D. Metzger : Targeted somatic mutagenesis in mouse epidermis. *Hormone Res.*, in press.

— R. Romand*, E. Albuissan*, K. Niederreither, V. Fraulob, P. Chambon, and P. Dollé : Specific expression of the retinoic acid-synthesizing enzyme RALDH2 during mouse inner ear development. *Mech. Develop.*, in press.

CONFÉRENCES DONNÉES SUR INVITATION PAR PIERRE CHAMBON
JUN 2000 — JUN 2001

— 4^e Carrefour Français des Biotechnologies, Strasbourg, France, 11-12 septembre 2000. « Transgénèse et invalidation ».

— First European Technology Workshop, Zürich (Suisse), 1-3 octobre 2000. « Engineering mouse mutants to dissect gene function in vivo : state of the art » (Keynote Lecture).

— 11th International Congress of Endocrinology (ICE 2000), Sydney (Australia), 29 octobre-2 novembre 2000. The Harrison Memorial Lecture of the Endocrine Society of Australia « Dissection of the retinoid signalling pathway : Cell type-specific temporally-controlled targeted somatic mutagenesis in the mouse » (Plenary session speaker). « Cell type-specific temporally-controlled targeted somatic mutagenesis in the mouse » (Meet the Expert Session).

— EMBO Workshop on Nuclear Receptor Structure and Function, Erice Italy, May 12-15 2001. « Genetic dissection of RXR and RAR functions in skin » (speaker et co-organisateur).