

BTF2/TFIIH, un facteur général de transcription à activité hélicase, est impliqué dans des réparatoses

La régulation de l'expression des gènes se fait à différents niveaux, transcriptionnel, traductionnel ou post-traductionnel, par l'intermédiaire de fonctions enzymatiques dont peu ont été identifiées à ce jour. Un niveau de contrôle de la transcription s'exerce au cours de l'étape « d'initiation » qui assure le positionnement correct de l'enzyme ARN polymérase sur le promoteur. Ainsi la mise en place des ARN polymérases I, II ou III (encore appelées A, B, C) sur leurs promoteurs respectifs, aboutira respectivement à la synthèse d'ARN ribosomiques, messagers ou de transfert. L'initiation de la transcription des gènes codant pour les protéines nécessite l'arrivée sur le promoteur minimal des gènes de classe II (contenant la plupart du temps une *TATA box* localisée 30 nucléotides en amont du site de démarrage de la transcription), de l'ARN polymérase II (B), attirée par un complexe déjà préformé par l'association des facteurs TFIIA, TFIIB et TFIID. L'arrivée de la polymérase sur le promoteur se ferait conjointement ou préalablement à celle des facteurs TFIIF, TFIIE, TFIIF, BTF2 (appelé encore TFIIH) ainsi que d'autres non identifiés à ce jour [1, 2]. Outre ces facteurs de base (encore appelés facteurs généraux), dont certains sont d'ores et déjà identifiés, la synthèse des ARN messagers est réglée par d'autres facteurs dits de régulation ; ces facteurs agiraient au niveau du complexe de base, soit par contact direct, soit après avoir reconnu certaines séquences nucléotidiques spécifiques de gènes et transmis les informations idoines *via* des facteurs intermédiaires [3]. Hormis leur absolue nécessité pour qu'un système de transcription *in vitro* soit actif, pratiquement rien n'est connu quant à la

fonction biologique des facteurs de base ou d'activation. La transformation du complexe de pré-initiation en un complexe actif capable d'initier la formation de la première liaison phosphodiester se fait à la suite d'un apport énergétique provenant de l'hydrolyse de l'ATP. Ainsi, le facteur de transcription BTF2/TFIIH humain [1], de même que ses analogues, le facteur δ chez le rat ou le facteur b chez la levure, possèdent une activité ATPase et protéine kinase. Cette kinase a comme substrat la grande sous-unité de l'ARN polymérase II dont elle phosphoryle l'extrémité carboxy-terminale composée d'une séquence riche en acides aminés thréonine et sérine, répétée entre vingt et cinquante fois selon les espèces. Cette phosphorylation favoriserait, soit la mise en place du complexe actif d'initiation de la transcription, soit le passage à l'étape d'élongation [5, 6]. Cependant, l'ATP nécessaire à la réaction de transcription peut également participer à d'autres réactions enzymatiques visant à la formation du complexe actif de transcription. Ainsi, les travaux réalisés par notre groupe ont permis d'identifier une activité hélicase, intimement associée au facteur de transcription précédemment caractérisé sous le nom de BTF2/TFIIH et utilisant de l'ATP [7]. L'arrivée de ce facteur sur le complexe de pré-initiation pourrait stimuler, comme cela a déjà été démontré chez les procaryotes, la formation du complexe « ouvert ». Cette hélicase interviendrait au niveau de la séparation des brins de l'ADN pour permettre la lecture et la synthèse de l'ARN correspondant (*figure 1*).

Une observation inattendue de nos travaux est également que cette hélicase de 89 kDa, participant vraisem-

blement à la réaction de transcription, avait préalablement été identifiée comme étant le produit du gène ERCC3 (*excision repair cross complementing group*) ; ce gène [8], ou du moins son produit, est impliqué dans les mécanismes de réparation de l'ADN et agirait comme indiqué sur la *figure 2*. De plus, des anomalies de ce gène, dont le produit participerait à un mécanisme aussi fondamental que la transcription, sont aussi responsables de maladies autosomiques récessives parfois associées chez un même patient et connues sous le nom de *Xeroderma pigmentosum* (XP) et syndrome de Cockayne (SC). Les principaux symptômes de ces maladies sont caractérisés par une hypersensibilité aux rayons ultraviolets favorisant des cancers de la peau et par des troubles neurologiques dans le premier cas (XP), alors que des dérèglements du développement apparaissent dans le second cas (SC). Une mutation de l'extrémité carboxy-terminale de ERCC3 est responsable de la forme B de XP, parfois associée à des symptômes typiques du syndrome de Cockayne.

Se pose dès lors la question du rôle potentiel de cette hélicase dans deux processus essentiels pour toutes les cellules vivantes, la transcription et la réparation. Différents travaux militent en faveur de cette double participation. Tout d'abord, l'inactivation par recombinaison homologue de ce gène dénommé RAD25 chez la levure est létale, alors qu'une mutation mimant celle observée chez des patients atteints de la forme B de XP n'affecte que la réparation [9]. De plus, des travaux réalisés chez la levure et la drosophile plaident en faveur d'autres fonctions que celle impliquée dans le mécanisme de réparation [10]. L'implication de cette

helicase dans la transcription pourrait expliquer, tout au moins en partie, certains des symptômes cliniques associés à la forme B de XP, à savoir des anomalies du développement, avec microencéphalie et nanisme. L'implication d'une même enzyme dans la transcription et la réparation de l'ADN n'est pas surprenante *a priori*. Dans les deux cas, il faut ouvrir l'ADN (séparer les deux brins) : l'helicase catalyse une réaction de déroulement de l'ADN permettant, lors de la réaction de transcription, la lecture du brin codant et, dans le cas de la réaction de réparation, l'excision du fragment endommagé par le rayonnement UV. Ce qui pourrait paraître plus surprenant est qu'une mutation dans la partie carboxy-terminale de l'enzyme n'affecte de façon sévère que le système de réparation de patients déjà identifiés, dont certains ont néan-

moins une espérance de vie pouvant atteindre une quarantaine d'année. En fait, il se pourrait que le peu de malades atteints de la forme B de XP que l'on examine soient justement ceux dont le gène a subi une mutation aux conséquences modérées, les mutations inactivant complètement l'enzyme étant létales. La région carboxy-terminale mutée ne contient aucune des séquences caractéristiques d'une activité hélicase. On peut donc imaginer le mode de fonctionnement suivant. L'extrémité carboxy-terminale de l'helicase pourrait intervenir comme point d'ancrage pour positionner l'enzyme dans le complexe de réparation et permettre son bon fonctionnement, alors que cette même extrémité n'aurait qu'un rôle mineur, voir négligeable dans la formation du complexe actif de transcription. Cela peut aussi expliquer pourquoi, à ce jour, nous n'avons

pas observé, chez l'homme, d'autres types de mutation. Il n'en reste pas moins vrai que d'autres travaux s'avèrent nécessaires pour démontrer l'implication exacte de l'helicase dans la transcription et la réparation ■

Jean-Marc Egly

Directeur de recherches à l'Inserm.

Laurent Schaeffer

Boursier BDI/Cnrs UPR 6520 (Cnrs), U. 184 Cnrs UPR 6520, Inserm U. 184, faculté de Médecine, 11, rue Humann, 67085 Strasbourg Cedex, France.

TIRÉS A PART

J.-M. Egly.

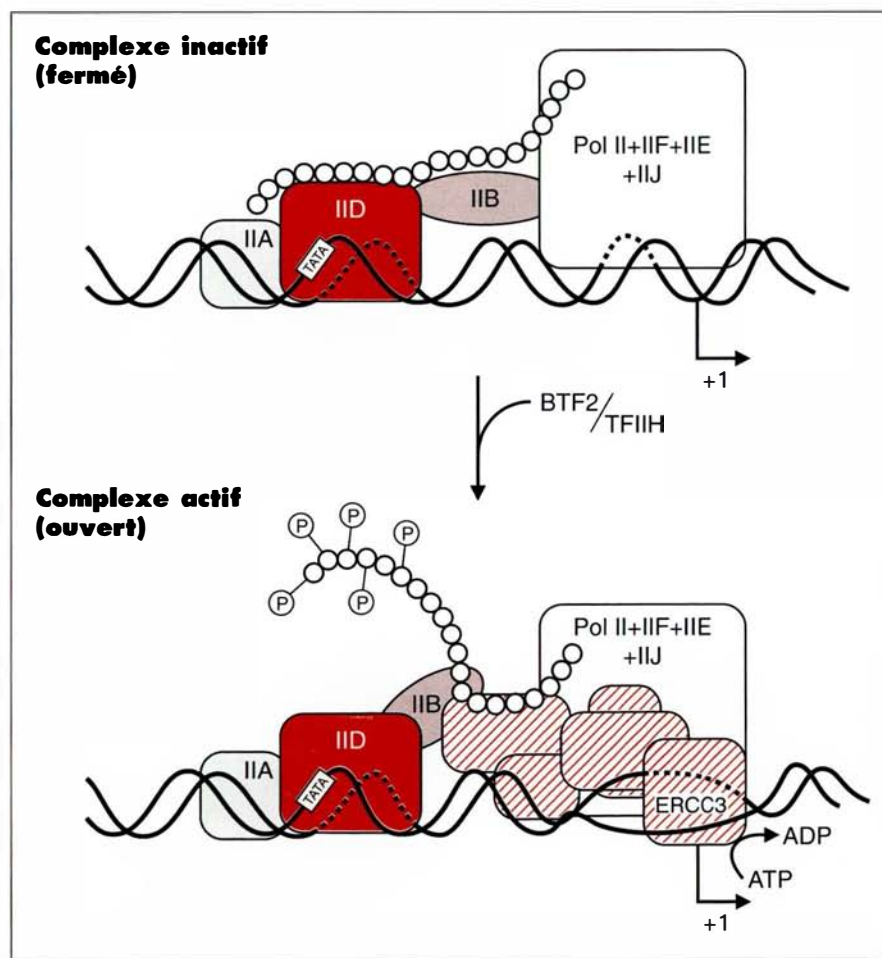


Figure 1. **Modèle illustrant la formation du complexe « ouvert » de transcription.** L'ARN polymérase II avec son extrémité carboxy-terminale non phosphorylée et tous les facteurs généraux de transcription (IIA, IIB, IID, IIE, IIF, IIJ), à l'exception du facteur BTF2/TFIIH, sont assemblés en un complexe de pré-initiation inactif « fermé » sur le promoteur. L'arrivée du facteur multimérique BTF2 auquel est associé une activité hélicase ERCC-3, sur le complexe « fermé », autorise l'ouverture de la double hélice d'ADN au niveau du site d'initiation. Préalablement ou simultanément, une autre sous-unité de BTF2 contenant une activité protéine kinase, phosphorylerait l'extrémité carboxy-terminale de la grande sous-unité de l'ARN polymérase. Les composants du complexe « ouvert » qui en résulterait, pourraient en totalité ou en partie, se dissocier du promoteur et entamer la synthèse de l'ARN.

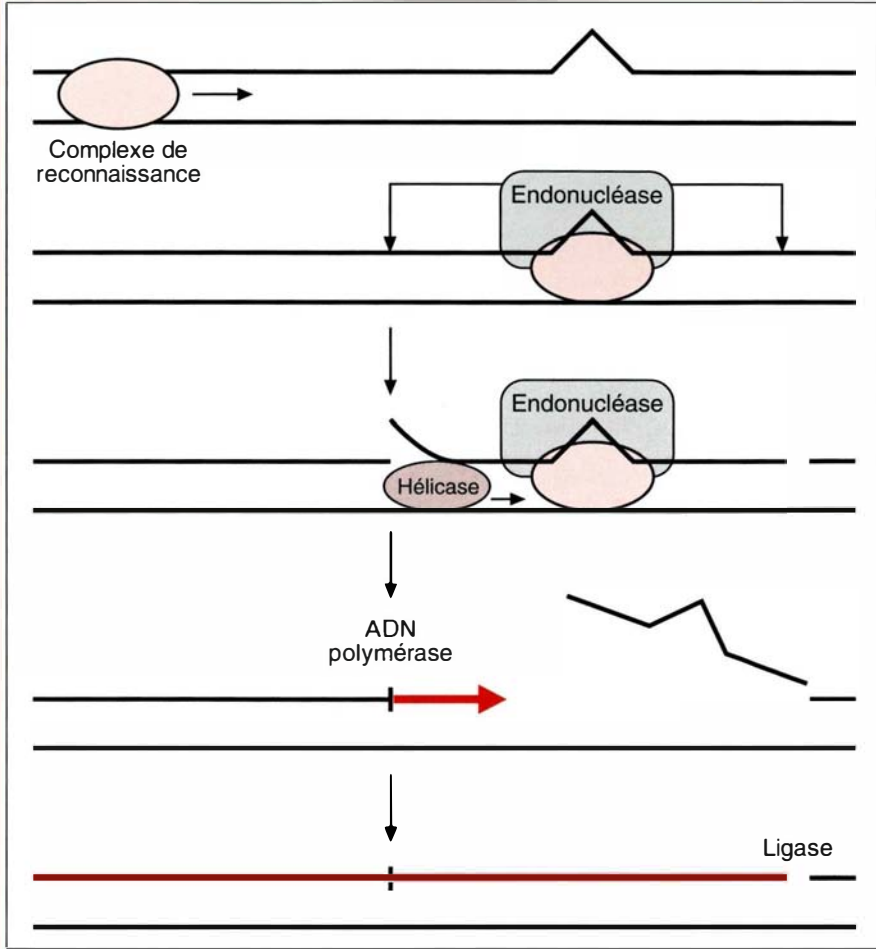


Figure 2. **La réparation de l'ADN par le système d'excision réparation [11].** Dans un premier temps, un complexe protéique parcourt l'ADN et s'arrête au niveau des parties endommagées suite à une irradiation aux UV ou à l'action d'intercalants par exemple. Ce complexe ainsi positionné serait alors rejoint par une endonucléase chargée de couper (inciser) le brin d'ADN de part et d'autre de la lésion. L'enlèvement du fragment ainsi coupé serait catalysé par une hélicase du type ERCC-3, permettant ainsi la synthèse d'un nouveau brin par l'ADN polymérase ; une ligase lierait finalement le fragment néosynthétisé au brin parental.

RÉFÉRENCES

1. Zawell L, Reinberg D. Initiation of transcription by RNA polymerase II : a multi-step process. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1993 ; 44 : 67-108.

2. Moncollin V, Roy R, Egly JM. The TATA saga : structure and function of the so called TATA binding factor. In : Conaway R, Conaway J, eds. *Transcription, Raven Serie on Cellular and Molecular Biology*. New York : Raven Press, 1993 (sous presse).

3. Gill G, Tijan R. Eukaryotic coactivators associated with the TATA box binding protein. *Curr Op Genet Dev* 1992 ; 2 : 236-42.

4. Gérard M, Fischer L, Moncollin V, Chipoulet JM, Chambon P and Egly JM. Purification and interaction properties of the human RNA polymerase B (II) general

transcription factor BTF2. *J Biol Chem* 1991 ; 267 : 20940-5.

5. Serizawa H, Conaway JW, Conaway RC. Lack of requirement for phosphorylation of the RNA polymerase II during basal transcription. *Nature* 1993 (sous presse).

6. Lu H, Zawell L, Fisher L, Egly JM, Reinberg D. Human general transcription factor IIH phosphorylates the C-terminal domain of RNA polymerase II. *Nature* 1992 ; 358 : 641-5.

7. Schaeffer L, Roy R, Humbert S, Moncollin V, Vermeulen W, Hoeijmakers JHJ, Chambon P, Egly JM. DNA repair helicase : a component of BTF2/TFIIH basic transcription factor. *Science* 1993 (sous presse).

8. Weeda G, van Ham RCA, Vermeulen W, Bootsma D, van der Eb A, Hoeijma-

kers JHJ. A presumed DNA helicase encoded by ERCC-3 is involved in the human repair disorders *Xeroderma pigmentosum* and Cockayne's syndrome. *Cell* 1990 ; 62 : 777-91.

9. Gulyas KD, Donahue TF. SSI2, a suppressor of a stemloop mutation in the HIS4 leader encodes the yeast homolog of human ERCC-3. *Cell* 1992 ; 69 : 1031-42.

10. Mounkes LC, Jones RS, Liang BC, Gelbart W, Fuller MT. A Drosophila model for *Xeroderma pigmentosum* and Cockayne's syndrome : haywire encodes the fly homolog of ERCC-3 a human excision repair gene. *Cell* 1992 ; 71 : 925-37.

11. Van Houten B. Nucleotide excision repair in *E. coli*. *Microbiol Rev* 1990 ; 54 : 18-51.