

## Grâce à FOG, GATA sort du brouillard...

Les facteurs GATA sont des protéines nucléaires régulatrices qui contrôlent et coordonnent l'expression de gènes spécifiques d'un type donné. Depuis la caractérisation initiale de GATA-1, cinq autres facteurs GATA ont été décrits chez les vertébrés, et on peut les classer en deux sous-familles selon leur profil d'expression, spécifique pour chacun d'eux. GATA-1, 2 et 3 sont exprimés essentiellement dans les lignées hématopoïétiques (*m/s* 1999, n° 4, p. 563 et 1999, n° 6/7, p. 889) alors que GATA-4, 5 et 6 le sont dans d'autres tissus, majoritairement dans le cœur (GATA-4), le poumon (GATA-6) (*m/s* 1999, n° 6/7, p. 910), l'intestin et le cerveau. Tous se fixent à une séquence consensus (A/T)GATA (A/G) de l'ADN. Des protéines fixant les mêmes séquences ont été identifiées chez la levure, dans des champignons, ainsi que chez *Drosophila melanogaster* et *Caenorhabditis elegans* (la séquence complète du génome prédit l'existence d'au moins 10 facteurs GATA dans cet organisme), ce qui témoigne d'un extrême degré de conservation au cours de l'évolution. Les expériences de gain/perte de fonction faites chez la drosophile et le nématode soulignent l'importance des protéines GATA dans la spécification embryonnaire précoce.

Chez les mammifères, le plus étudié, parce qu'identifié le premier, a été le facteur GATA-1, exprimé dans tous les érythroblastes hémoglobinisés, mais aussi dans les mégacaryocytes, les mastocytes, les éosinophiles, et dans les progéniteurs multipotents. Il s'agit d'une protéine modulaire, comportant un domaine de transactivation amino-terminal et deux doigts de zinc, dont le doigt carboxy-terminal (C-f) assure la fixation à l'ADN, et le doigt amino-terminal (N-f) aurait une fonction de stabilisation, en par-

ticulier quand la fixation se fait sur des séquences GATA palindromiques. Cette structure en doigts de zinc représente l'élément conservé à travers l'évolution, alors que les séquences en acides aminés situées de part et d'autre des doigts ont largement divergé.

La fonction de transactivation de GATA-1 a fait l'objet de toute une série de travaux, en particulier de l'équipe de S.H. Orkin (*Harvard Medical School*, Boston, MA, USA). Les expériences ont utilisé des cellules non hématopoïétiques et, plus récemment, une lignée proérythroblastique (G1E), dérivée de cellules souches embryonnaires murines *GATA-1*<sup>-\*</sup>, dans lesquelles l'expression forcée de *GATA-1* restaure la différenciation terminale interrompue [1]. La comparaison de la fonction de GATA-1 dans ces deux types de cellules révèle que le domaine acide

amino-terminal, indispensable à la transactivation par GATA-1 dans des cellules non hématopoïétiques, ne l'est pas pour la maturation érythroïde terminale; mais le doigt N-f, dont le rôle semblait accessoire dans des cellules non-hématopoïétiques, est, en revanche, strictement requis pour cette différenciation. Cette différence d'action selon l'environnement cellulaire a amené les auteurs à envisager l'existence d'un co-facteur nucléaire, interagissant avec le doigt N-f de GATA-1, co-facteur qui assurerait le couplage fonctionnel de GATA-1 et de la machinerie transcriptionnelle (*figure 1*).

Utilisant le système double-hybride, la même équipe a, peu après, isolé une protéine, FOG (*friend of GATA*), qui pouvait correspondre au co-facteur recherché dans la différenciation érythroïde et mégacaryocytaire [2]. Il s'agit d'une protéine à neuf doigts de zinc, dont le sixième (F6) aurait sans doute un rôle spécifique (*figure 2*). FOG se lie à GATA-1 par le doigt N-f, alors que le doigt C-f fixe d'autres partenaires de GATA-1,

\* Le gène GATA est sur le chromosome X, et les cellules ES dont sont issues les cellules G1E sont d'origine mâle, ce qui explique que les cellules G1E soient *GATA-1*<sup>-</sup> et non pas *GATA*<sup>-</sup>.

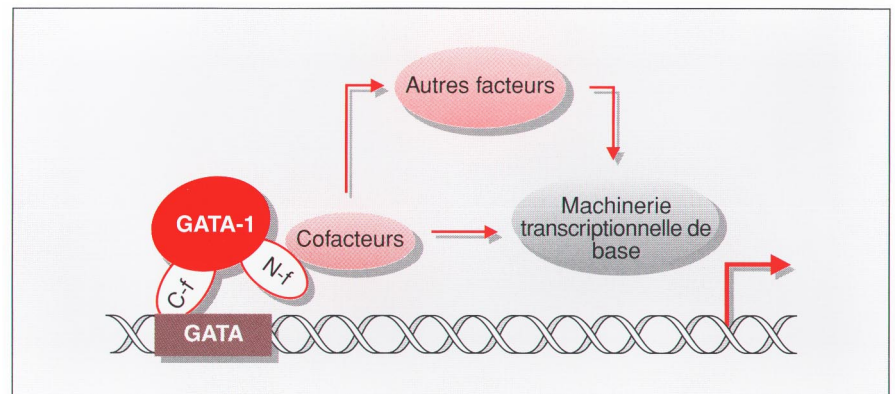


Figure 1. **Modèle proposé du fonctionnement de GATA-1 dans les cellules érythroïdes.** Le doigt C-f se fixe à la séquence consensus de l'ADN. Le doigt N-f interagit avec le co-facteur supposé qui, lui-même, peut interagir avec la machinerie transcriptionnelle de base ou recruter à distance d'autres facteurs protéiques.

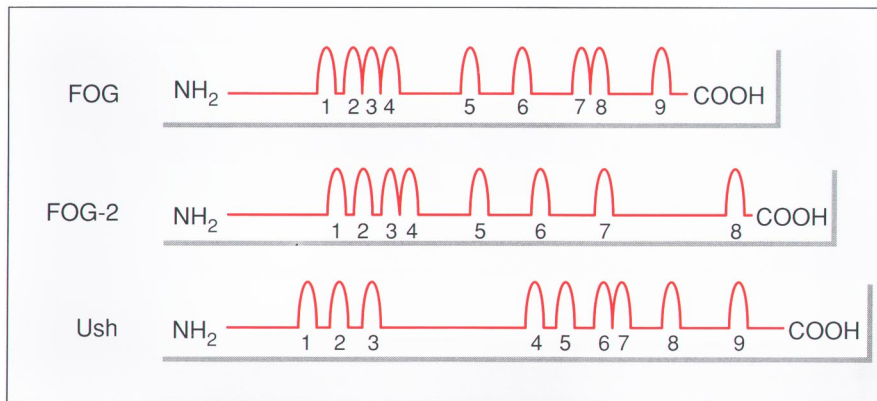


Figure 2. **Structure schématique comparée des co-facteurs FOG, Ush et FOG-2.** Les doigts de zinc sont numérotés.

comme les facteurs Krüppel, EKLF ou Sp1, ou le facteur LIM. FOG et GATA-1 sont co-exprimés pendant le développement embryonnaire et, chez l'adulte, dans les lignées érythroïdes ou mégacaryocytaires. Les deux facteurs, GATA-1 et FOG, agissent en synergie au cours de l'activation de la transcription et des différenciations érythroïde et mégacaryocytaire. Cependant, l'inactivation du gène *FOG* chez la souris n'a pas les mêmes conséquences sur le développement des lignées érythroïde et mégacaryocytaire [3]. Les souris *FOG*<sup>-/-</sup> meurent *in utero* dans un tableau d'anémie sévère. Seules subsistent des cellules érythroïdes immatures, dont la maturation terminale est bloquée, anomalies qui rappellent celles qui sont observées chez les souris *GATA-1*<sup>-/-</sup>. FOG se présente donc bien comme un co-facteur de GATA-1, et tous deux pourraient agir au sein d'un complexe multiprotéique comportant également les oncoprotéines SCL/tal-1 (*m/s* 1998, n° 8/9, p. 986) ou Rbtn2/LMO2 [4]. Mais, alors que les mégacaryocytes *GATA-1*<sup>-/-</sup> prolifèrent sans se différencier, en l'absence de FOG, les cellules issues du sac vitellin et du foie fœtal ne forment aucune colonie mégacaryocytaire, témoignant d'une atteinte en amont de l'atteinte créée par l'inactivation de GATA. Cette action de FOG est très spécifique, et aucun autre facteur de transcription, que ce soit NF-E2 ou GATA-1, n'ampute si précocement la lignée mégacaryocytaire. Dans un travail encore plus récent, l'équipe de S.H. Orkin a essayé de

préciser la nature de l'interaction entre GATA-1 et FOG [5]. Ce travail de dissection a été réalisé grâce à des mutants GATA-1 isolés chez la levure, qui se fixent à l'ADN, mais ne peuvent plus interagir avec FOG, et sont incapables de permettre la différenciation terminale des cellules GIE quand on les introduit dans cette lignée. L'introduction supplémentaire dans ces cellules d'un mutant FOG compensateur (dans cette étude un mutant du doigt F6), rétablit l'interaction et lève le blocage de maturation, permettant de caractériser l'interaction. Les doigts de zinc de FOG autres que F6 pourraient également recruter d'autres protéines, mais leur fonction n'est pas connue actuellement.

L'activation de la transcription par des facteurs de type GATA qui se fixent par des doigts de zinc à la même séquence consensus est, nous l'avons vu, un mécanisme très conservé à travers l'évolution. En témoignent les résultats obtenus à la même époque chez la drosophile par une équipe du Cnrs à Strasbourg [6, 7]. Les auteurs y démontrent que la régulation des gènes responsables de la répartition des poils sensoriels de la drosophile est contrôlée par un gène de type GATA, *Pannier*, et que la protéine pour laquelle ce gène interagit avec un facteur protéique à doigts de zinc, Ush, de structure semblable à celle de FOG (*figure 2*). La sélection de mutants dominants a permis de démontrer que cette interaction se fait, là aussi, de façon spécifique par l'intermédiaire du doigt N-f

de *Pannier*, mais que, contrairement à ce qu'on observe dans le cas de GATA-1, Ush n'agit pas de façon synergique, mais exerce un contrôle négatif sur *Pannier*. L'effet transcriptionnel de ce type d'interaction s'avère donc n'être pas univoque.

Au moins deux arguments plaident en faveur de l'existence d'autres protéines apparentées à FOG : l'extraordinaire conservation évolutive du rôle du doigt N-f, et l'absence de FOG dans certains organes, dont le cœur, qui expriment GATA-4, 5, 6 alors qu'*in vitro* FOG interagit avec tous les facteurs GATA connus. De fait, deux équipes américaines, de Boston et de Chicago, ont, en exploitant des bases de séquences EST (*expressed sequence tag*) identifié puis cloné un ADNc codant pour une protéine de 1151 acides aminés appelée FOG-2 [8, 9]. FOG-2, exprimé chez l'adulte et pendant le développement de certains tissus dont le cœur, le tissu nerveux et les gonades, possède huit doigts de zinc, dont la structure globale est très semblable à celle de FOG, bien que les séquences primaires aient divergé (*figure 2*). L'expression de FOG-2 est complexe et la protéine interagit sans doute avec plus d'un facteur GATA. Son rôle semble important dans le développement du cœur, et les régions régulatrices de plusieurs gènes spécifiques du muscle cardiaque, en particulier *Nkx2-5*, possèdent des sites de fixation à l'ADN. Ce rôle dans la cardiomyogenèse a été plus particulièrement étudié par le groupe de Chicago. Les auteurs ont mis en évidence la co-expression de FOG-2 et de GATA-4 dans le cœur adulte, son expression précoce dès le jour E8,5 dans le cœur embryonnaire et le septum transverse, puis, un peu plus tard (E11,5) dans le neuro-épithélium et le sillon urogénital. FOG-2 s'associe avec le doigt N-f de GATA-4, dont il module l'activité transcriptionnelle, mais, dans les cardiomyocytes, le complexe GATA-4/FOG-2 est un répresseur de la transcription, comme l'est Ush pour *Pannier* chez la drosophile. Les résultats du groupe de Boston, en revanche, sont apparemment paradoxaux. FOG-2 n'est pas normalement exprimé dans la lignée érythroïde, mais les auteurs

montrent qu'il peut se substituer à FOG dans la restauration de la différenciation de lignées pro-érythroblastiques *FOG*<sup>-/-</sup>. Cette interchangeabilité souligne donc un mode générique de couplage de GATA sur les sites cibles de l'ADN, et démontre une communauté des propriétés fonctionnelles comme des propriétés structurales. Dans cette famille de cofacteurs, FOG et FOG-2 ne sont pas superposables dans leur profil d'expression et on peut penser que leurs fonctions *in vivo* ne sont pas redondantes.

Il est donc probable que les interactions entre protéines GATA et FOG soient spécifiques de tissus et, selon le tissu, le complexe peut se comporter en répresseur ou en transactivateur. Des facteurs GATA existent pour lesquels aucun partenaire FOG n'a encore été identifié, ce qui ne saurait tarder.

1. Weiss MJ, Yu C, Orkin SH. Erythroid-cell-specific properties of transcription factor GATA-1 revealed by phenotypic rescue of a gene targeted cell line. *Mol Cell Biol* 1997; 17: 1642-51.
2. Tsang AP, Visvader JE, Turner CA, et al. FOG, a multiple zinc finger protein, acts as a cofactor for transcription factor GATA-1 in erythroid and megakaryocytic differentiation. *Cell* 1997; 90: 109-19.
3. Tsang AP, Fujiwara Y, Hom DB, Orkin SH. Failure of megakaryopoiesis and arrested erythropoiesis in mice lacking the GATA-1 transcriptional cofactor FOG. *Genes Dev* 1998; 12: 1176-88.
4. Wadman IA, Osada H, Grütz GG, et al. The LIM-only protein Lmo2 is a bridging molecule assembling an erythroid DNA-binding complex which includes the TAL1, E47, GATA-1 and Ldb1/NLI proteins. *EMBO J* 1997; 16: 3145-57.
5. Crispino JD, Lodish MB, MacKay JP, Orkin SH. Use of altered specificity mutants to probe a specific protein-protein interaction in differentiation: the GATA-1-FOG complex. *Mol Cell* 1999; 3: 219-28.
6. Cubadda Y, Heitzl P, Ray RP, et al. *u-shapped* encodes a zinc finger protein that regulates the proneural genes *achaete* and *scute* during the formation of bristles in *Drosophila*. *Genes Dev* 1997; 11: 3083-95.
7. Haenlin M, Cubadda Y, Blondeau F, et al. Transcriptional activity of *Pannier* is regulated negatively by heterodimerization of the GATA DNA-binding domain with a cofactor encoded by the *u-shapped* gene of *Drosophila*. *Genes Dev* 1997; 11: 3096-108.

8. Tevosian SG, Deconinck AE, Cantor AB, et al. FOG-2: a novel GATA-family cofactor related to multitype zinc-finger proteins Friend of GATA-1 and U-shaped. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 950-5.
9. Svensson EC, Tufts RL, Polk CE, Leiden JM. Molecular cloning of FOG-2: a modulator of transcription factor GATA-4 in cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 956-61.

#### Note ajoutée aux épreuves

Très récemment, le groupe de M. Crossley (*EMBO J* 1999; 18: 2812-22) a démontré que les doigts 1, 5 et 9 de FOG-1 interagissent aussi avec GATA-1; il en est de même pour les interactions FOG-2-GATA et u-shapped-GATA. Enfin, le complexe FOG-1-GATA-1 peut être un répresseur transcriptionnel.

#### Dominique Labie

*Inserm U. 129, ICGM Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75674 Paris Cedex 14, France.*

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **JunB: un acteur essentiel de la placentation.** Une des toutes premières étapes de différenciation cellulaire au sein du blastocyste produit, à partir du trophoctoderme, les cellules trophoblastiques. Ces cellules de type épithélial forment la composante embryonnaire de l'interface fœto-maternelle. Elles vont se différencier à leur tour, d'une part pour établir le contact avec la décidue maternelle lors de l'implantation, et d'autre part pour participer au développement placentaire. Les processus biologiques impliqués dépendent du type de placentation et notamment du degré d'invasivité du trophoblaste qui est maximal dans la placentation hémomonochoriale humaine. Cette invasion trophoblastique fait intervenir des facteurs solubles (facteurs de croissance et cytokines), des métalloprotéases (MMP) et leurs inhibiteurs, et une interaction spécifique avec la matrice extracellulaire *via* les

intégrines [1]. Des expériences d'inactivation génique chez la souris ont mis en évidence le rôle important, dans la formation du placenta, de facteurs de transcription tels Mash-2 [2], GATA-2 et GATA-3 [3], Ets2 [4]. Tout dernièrement, une équipe européenne vient d'apporter la première évidence génétique du rôle clé de JunB dans la régulation de nombreux gènes cibles impliqués dans l'implantation et le développement placentaire [5]. La délétion de *JunB* chez la souris provoque la mort de l'embryon avec un retard de croissance important sans modification apparente du potentiel prolifératif de l'embryon lui-même. Les embryons *JunB*<sup>-/-</sup> présentent une anomalie de la répartition des cellules trophoblastiques et une forte diminution de l'expression de gènes spécifiques, indispensables à l'implantation, tels que ceux de la proliférine, de la MMP-9 et de l'activateur du plasminogène uPA. Les

structures vasculaires du placenta sont présentes, mais les vaisseaux n'ont pas pénétré dans le trophoblaste labyrinthique. De ce fait, les échanges avec le sang maternel ne se font pas. JunB apparaît donc essentiel dans la régulation de nombreux gènes impliqués directement dans l'implantation et le développement du placenta, en particulier dans la mise en place de son système vasculaire. En outre, cette étude souligne clairement l'importance que revêt le développement placentaire pour la croissance fœtale.

- [1. Cross JC, et al. *Science* 1994; 226: 1508-18.]
- [2. Guillemot F, et al. *Nature* 1994; 371: 333-6.]
- [3. Ma GT, et al. *Development* 1997; 124: 907-14.]
- [4. Yamamoto H, et al. *Genes Dev* 1998; 12: 1315-26.]
- [5. Schorpp-Kistner M, et al. *EMBO J* 1999; 18: 934-48.]