

Plasticité chromatinienne, contrôle de l'expression génique et pathologie humaine

Marc Lipinski
Stéphanie Lorain
Filomena De Lucia

Dans la cellule eucaryote, l'ADN génomique s'associe à des protéines nucléaires pour former la chromatine, dans laquelle il est plus ou moins accessible selon les circonstances. La transcription génique, la réplication de l'ADN comme sa réparation impliquent une régulation extrêmement précise de cette accessibilité. Pour une large part, celle-ci dépend de diverses activités enzymatiques qui jouent un rôle essentiel dans la dynamique chromatinienne en modifiant ses composants nucléique et protéique. Or, des anomalies dans ces mécanismes de contrôle semblent susciter nombre de pathologies humaines comme le suggère une série d'observations publiées ces deux dernières années. C'est un assemblage nucléoprotéique particulier, le nucléosome – huit molécules d'histones autour desquelles l'ADN s'enroule – qui a été reconnu il y a un quart de siècle comme unité de base de la chromatine. Nous passons ici en revue quelques avancées majeures dans le domaine de la chromatine, avec un regard spécifique porté sur certaines machineries moléculaires très complexes qui utilisent l'énergie de l'ATP pour mobiliser le nucléosome et remodeler la structure locale de la chromatine.

ADRESSES

M. Lipinski, S. Lorain, F. De Lucia : Interactions moléculaires et cancer, Cnrs, UMR 1598, Institut Gustave-Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France.

Dans le noyau de la cellule eucaryote, l'ADN s'associe à diverses protéines très abondantes pour former la chromatine dont l'unité de base est le nucléosome. Dans chaque nucléosome, un octamère de petites protéines basiques, les histones H2A, H2B, H3 et H4 forment un cœur protéique autour duquel la double hélice d'ADN s'enroule pour accomplir presque deux tours complets. L'élucidation à haute résolution de la structure d'un cristal de nucléosome, réussie par l'équipe de Tim Richmond à Zurich [1], révèle la périodicité très régulière des contacts que la double hélice établit successivement avec un résidu basique dans chacune des huit histones. La struc-

ture ainsi décrite est-elle univoque? L'ADN contenu dans le cristal a été obtenu par amplification par PCR d'une séquence donnée; il est donc homogène. *In vivo*, la structure nucléosomale doit accommoder sur un support invariant – l'octamère d'histones – des fragments d'ADN génomique dont la séquence nucléotidique est éminemment variable. Une autre limite du modèle présenté tient au caractère non structuré – et donc non résolu en cristallographie – des extrémités des histones. Les extrémités amino-terminales des quatre histones sortent du cœur du nucléosome en formant des bras qui peuvent être orientés dans diverses directions (figure 1). Ce sont ces courts fragments peptidiques que les histones utilisent pour établir des interactions moléculaires à l'extérieur du nucléosome, soit avec des fragments d'ADN voisins, soit avec d'autres protéines nucléaires, soit encore à un niveau d'organisation supérieur avec d'autres particules nucléosomales. Ces interactions sont

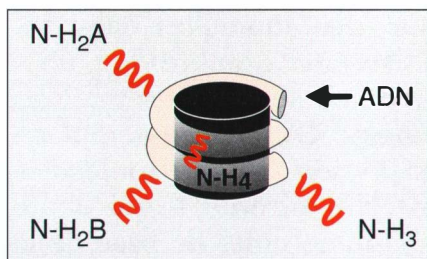


Figure 1. **Représentation schématique d'un nucléosome.** L'ADN est enroulé autour d'un cœur protéique (cylindre) formé de deux copies de chacune des quatre histones H2A, H2B, H3 et H4. Une multitude d'interactions faibles établies entre les histones d'une part et l'ADN d'autre part confèrent à cette structure une grande stabilité. Les extrémités amino-terminales des histones (quatre sont représentées, les quatre autres sont cachées) sont régulièrement réparties à la périphérie de la structure nucléosomique et disponibles pour l'établissement de contacts omnidirectionnels avec l'ADN ou d'autres protéines. Ces interactions sont modulées, en partie, par le biais de modifications post-traductionnelles portant sur l'état d'acétylation des extrémités amino-terminales de chacune des quatre histones.

largement modulées par une modification post-traductionnelle, l'acétylation, qui porte sur les résidus lysine présents en grand nombre dans chacune de ces extrémités amino-terminales d'histone (*m/s* 1997, n° 10, p. 1205).

La beauté intrinsèque de l'image du nucléosome présentée par l'équipe suisse [1] emporte facilement l'adhésion. Elle évoque également l'idée longtemps prévalente d'un caractère uniforme, car fortement contraint, de la structure chromatinienne, mais à cette vision largement statique s'est substitué peu à peu le concept d'une chromatine beaucoup plus dynamique, elle-même étant placée au cœur d'un noyau cellulaire en perpétuel remue-ménage. C'est en fait dans une véritable fourmilière nucléaire que se déroulent la réplication et la réparation de l'ADN comme la transcription génique. Ces processus cellulaires essentiels requièrent la mise en œuvre d'énormes machineries moléculaires, des complexes multiprotéiques dont la taille peut représenter plusieurs fois celle du nucléosome. Ceci cause à l'évidence des problèmes topologiques majeurs pour l'accès de ces complexes à l'ADN et lors des déplacements relatifs des structures protéiques et nucléiques les unes par rapport aux autres, mais à ce niveau d'analyse, peu de données sont actuellement disponibles.

En revanche, depuis quelques années, de nombreuses données s'accroissent portant sur des phénomènes de remodelage de la chromatine impliquant un nombre restreint de complexes protéiques. Ces phénomènes sont le plus souvent détectés par un changement dans l'accessibilité d'un fragment d'ADN chromatinien à des nucléases ou à des facteurs de transcription se liant sur une séquence nucléotidique spécifique – on parle alors d'« ouverture » ou de « fermeture » de la chromatine – ou encore par la modification du positionnement du nucléosome par rapport à la séquence d'ADN qu'il structure, ou bien encore par l'apparition (ou la disparition) d'un espacement régulier entre nucléosomes adjacents dans une série organisée de nucléosomes (figure 2A).

Les complexes de remodelage sont eux-mêmes réglés en grande partie

par une succession de modifications post-traductionnelles de leurs divers composants. Nombre de kinases et de phosphatases présentes dans le noyau cellulaire contribuent à une régulation fine de l'état de phosphorylation des protéines, induisant des changements conformationnels qui, à leur tour, peuvent se répercuter sur la composition des complexes et sur leur arrangement spatial. Un autre mécanisme de contrôle dépend probablement des activités enzymatiques portées par les acétylases et les désacétylases dont nous savons qu'elles peuvent modifier les extrémités amino-terminales des histones H2A, H2B, H3 et H4 *in vitro* et *in vivo*, mais qui n'ont probablement que les histones comme substrats [2]. Dans cet article, nous limiterons notre propos aux machineries protéiques qui utilisent l'ATP comme source d'énergie pour intervenir sur la structure locale de la chromatine. Nous passerons en revue quelques avancées significatives récentes sur les mécanismes des modifications observées de la chromatine, et sur l'implication de ces complexes à activité ATPase dans le contrôle de l'expression génique, et dans diverses maladies.

Remodelage de la chromatine par des complexes protéiques à activité ATPase: glissement d'octamère

Divers complexes nucléaires ont maintenant été purifiés biochimiquement qui, *in vitro*, voient leur activité ATPase stimulée en présence d'ADN nucléosomal (Tableau I). Plusieurs de ces complexes, isolés d'extraits embryonnaires de drosophile, diffèrent dans leurs propriétés respectives mais utilisent la même molécule, ISWI (figure 3), en guise d'ATPase [3-5]. La plupart des autres complexes, qu'ils aient été purifiés de la levure *S. cerevisiae* ou à partir d'organismes eucaryotes supérieurs, utilisent des molécules à activité ATPase dont le prototype est la protéine de levure Swi2/Snf2 (figure 3). Présente dans le complexe SWI/SNF de *S. cerevisiae*, celle-ci a un homologue, Brahma, dans le complexe équivalent de la mouche du vinaigre (figure 3). Chez l'homme, plusieurs complexes du

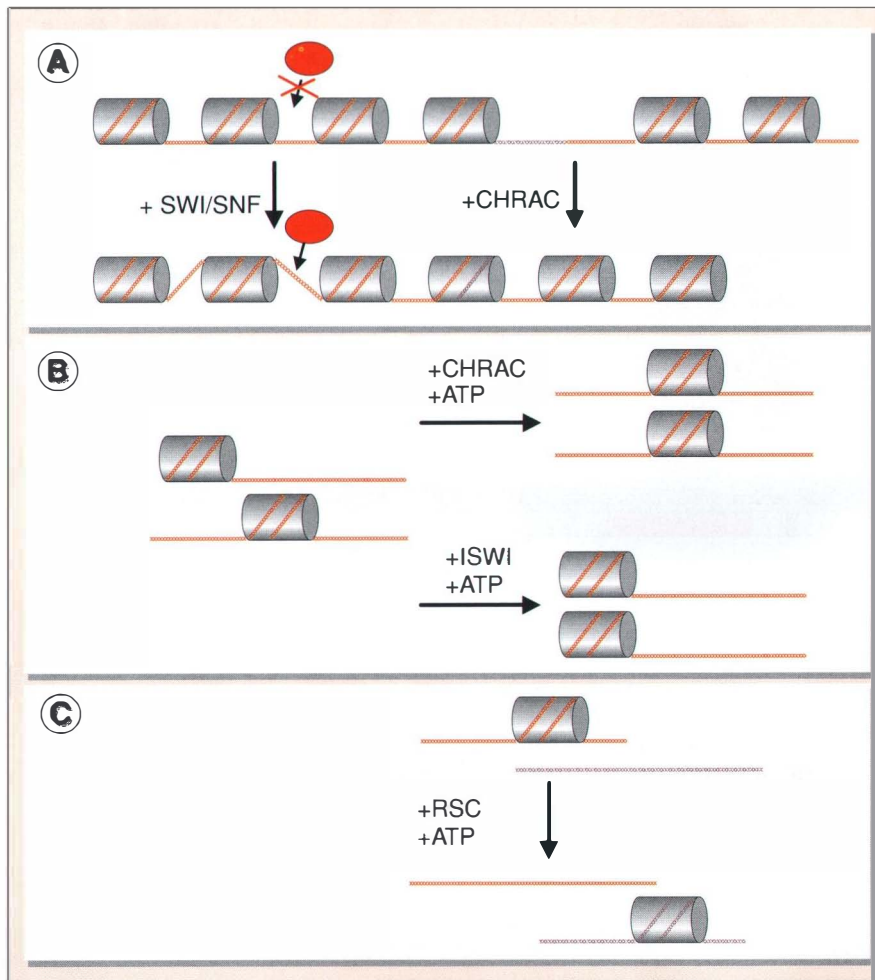


Figure 2. **Aspects de remodelage de la chromatine.** **A. Effet des complexes SWI/SNF et CHRAC.** L'ADN (double hélice en rouge) est enroulé autour d'octamères d'histones (cylindres gris) pour former les nucléosomes. Dans la forme « fermée » de la chromatine (partie supérieure gauche), un facteur de transcription (ovale rouge) ne peut accéder aux séquences nucléotidiques qu'il reconnaît spécifiquement et en conséquence ne se lie pas à l'ADN. Après action du complexe SWI/SNF, la chromatine est « ouverte » au cours d'un processus qui consomme l'énergie de l'ATP, la séquence d'ADN devient accessible et le facteur de transcription se lie à l'ADN (partie inférieure gauche). Dans la partie supérieure droite, les nucléosomes sont irrégulièrement espacés. Sous l'effet du complexe CHRAC et en présence d'ATP se produit un glissement des octamères d'histones sur l'ADN, résultant en une série régulièrement espacée de nucléosomes (partie inférieure droite). De ce fait, un fragment d'ADN (représenté en bistre) primitivement présent dans une région internucléosomique se retrouve situé dans un nucléosome et son accessibilité est, de ce fait, modifiée. **B. Remodelage de la chromatine par glissement d'octamère en cis.** Une population de mononucléosomes (un court fragment d'ADN porteur d'un seul octamère d'histones) hétérogène

du point de vue de la position de l'octamère par rapport à l'ADN (à gauche) est rendue homogène sous l'action du complexe CHRAC ou de l'ATPase ISWI en présence d'ATP [10]. Cependant, les effets diffèrent, le complexe CHRAC entier faisant glisser un octamère positionné à l'extrémité du fragment vers une position centrale (à droite en haut), l'ATPase utilisée seule ayant l'effet inverse (à droite, en bas). **C. Remodelage de la chromatine par transfert d'octamère en trans.** En présence de complexes de remodelage du type RSC ou SWI/SNF et d'ATP, un mononucléosome fluctue entre états « normal », « altéré » et « activé » [22]. Cette dernière forme permet le transfert en trans, sur un fragment d'ADN nu, de l'octamère d'histone, libérant ainsi un fragment d'ADN (rouge) initialement assemblé en nucléosome.

même type ont été caractérisés; leur activité ATPase est portée soit par hbm, soit par BRG1, deux molécules très semblables (figure 3). Quoique très étudiés, les complexes SWI/SNF ne sont exprimés qu'à un faible niveau et ne font probablement pas partie des systèmes majeurs de remodelage de la chromatine. Ainsi, dans la levure du boulanger, le complexe SWI/SNF semble intervenir principalement pour l'activation ou la répression de quelques gènes en réponse à des changements de l'environnement [6]; en outre, l'absence de son expression n'entrave pas la croissance de la levure. A l'inverse, un

autre complexe, appelé RSC, est à la fois plus abondant dans cette espèce et indispensable à sa croissance [7]. SWI/SNF et RSC sont tous deux des complexes de très grande taille (1 à 2 MDa), formés de nombreuses sous-unités (Tableau 1) souvent similaires entre les deux complexes. C'est particulièrement vrai dans le cas des molécules Sth1p et Swi2p/Snf2p qui portent les activités ATPases respectives de RSC et de SWI/SNF (figure 3). Le remodelage de la chromatine induit par ces complexes dépendant de l'hydrolyse de l'ATP, la question se pose de savoir quelles sous-unités

autres que l'indispensable ATPase sont également requises. Curieusement, il semble qu'il soit possible de reconstituer les activités du complexe SWI/SNF avec un nombre limité de ses sous-unités [8]. Mieux, la molécule ISWI, produite sous forme recombinante et utilisée de façon isolée, se révèle suffisante pour hydrolyser l'ATP – une activité qui est stimulée en présence de nucléosome, mais pas d'ADN nu ni d'histones libres – et pour reproduire l'essentiel de l'activité du complexe CHRAC (pour *CHR*omatin *Accessibility* *Complex*) de drosophile qui la contient [9]. Cette activité d'ISWI aboutit à la réorgani-

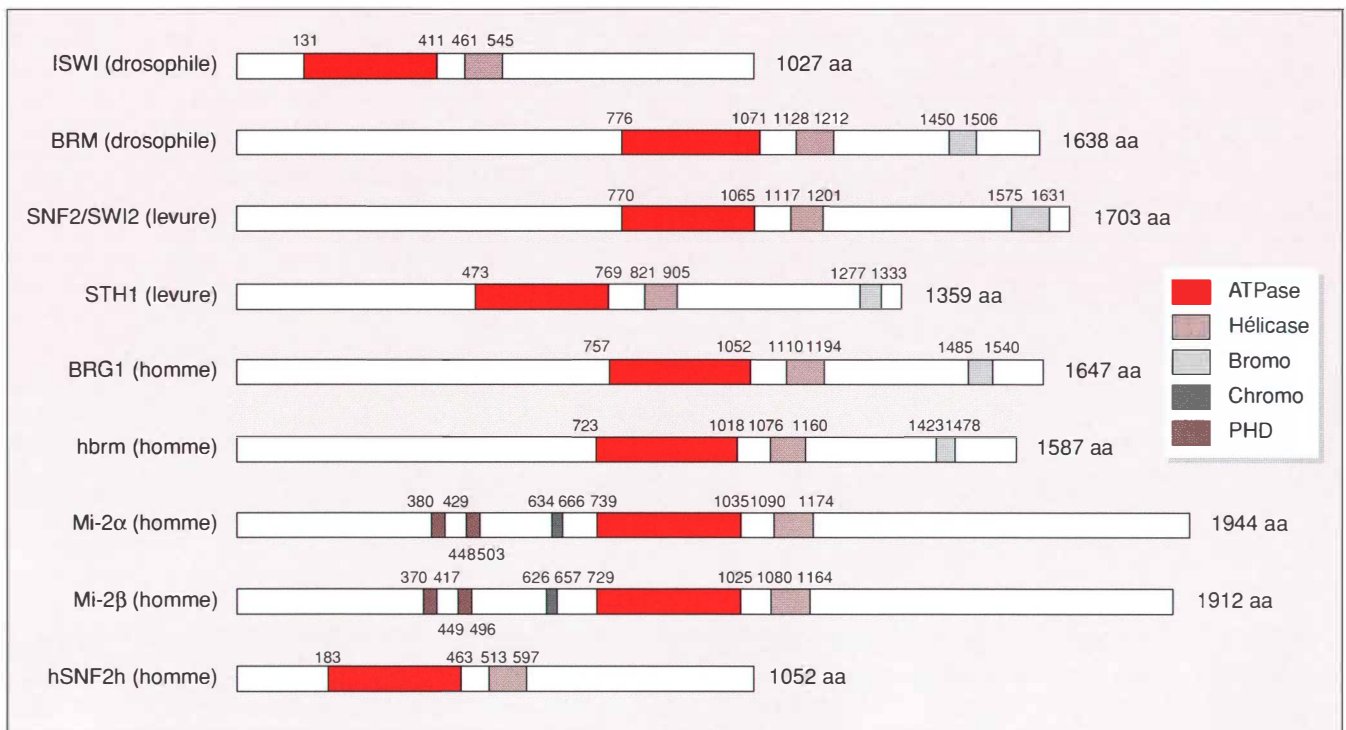


Figure 3. **Représentation schématique des protéines porteuses d'activité ATPase dans les principaux complexes de remodelage de la chromatine.** Les diverses ATPases sont représentées sous forme de rectangles dont la longueur reflète la taille, le nombre d'acides aminés (aa) étant indiqué à droite. Ces protéines contiennent un assemblage de divers domaines – ATPase, hélicase, bromo, chromo, PHD – fréquemment observés dans les protéines qui interagissent avec la chromatine.

sation du nucléosome en une structure plus accessible aux facteurs de transcription et aux nucléases. A quoi servent alors les partenaires moléculaires des ATPases dans les complexes de remodelage ? Sans doute à conférer à chaque complexe des propriétés distinctes. Les équipes de Peter Becker (Heidelberg) et de Carl Wu (Bethesda) viennent de montrer qu'*in vitro*, les complexes CHRAC [10] et NURF (*nucleosome remodeling factor*) [11] possédaient la même capacité à faire glisser un octamère d'histones d'une position vers une autre sur un court fragment d'ADN porteur d'un seul nucléosome. Cependant, l'activité des deux complexes n'est pas superposable: alors que NURF peut déplacer l'octamère d'histones dans un sens ou dans l'autre par rapport à l'ADN [11], CHRAC provoque le déplacement vers une position centrale d'un nucléosome initialement positionné à l'extrémité du fragment d'ADN

(figure 2B) [10]. De façon très surprenante, la molécule ISWI, qui porte l'activité ATPase de chacun des deux complexes, n'a pas le même effet lorsqu'elle est utilisée seule: dans le système expérimental utilisé par Becker *et al.*, ISWI provoque un déplacement du nucléosome du centre vers l'extrémité [10], à l'opposé de l'activité de CHRAC (figure 2B), tandis que dans le modèle d'étude de l'activité de NURF, ISWI démontre une activité très inférieure à celle du complexe qui opère de façon catalytique [11], ce qui souligne encore l'importance des partenaires moléculaires avec lesquels ces ATPases fonctionnent. La cinétique de ces réactions qui consomment de l'ATP se mesure en minutes, ce qui suggère que le déplacement relatif de l'octamère d'histones pourrait s'effectuer par glissements successifs sur l'ADN, par tout petits sauts de quelques paires de bases ou peut-être même nucléotide après nucléotide.

Le remodelage de la chromatine à l'étape d'amorçage de la transcription

In vivo, et avant même que ne débute la transcription efficace d'un gène donné, de nombreuses protéines nucléaires doivent accéder à certains éléments critiques dans la région promotrice du gène. Chez les mammifères comme chez la levure, des complexes de remodelage de type SWI/SNF jouent un rôle à cette étape de l'activation transcriptionnelle. A cet égard, des résultats exemplaires ont été rapportés par l'équipe de Beverly Emerson à San Diego qui a reconstitué *in vitro* un système transcriptionnel étudié de longue date. *In vivo*, la transcription au locus de la β -globine humaine s'effectue spécifiquement dans la lignée érythropoïétique et ce, de façon très précisément contrôlée au cours du développement embryonnaire et après la naissance.

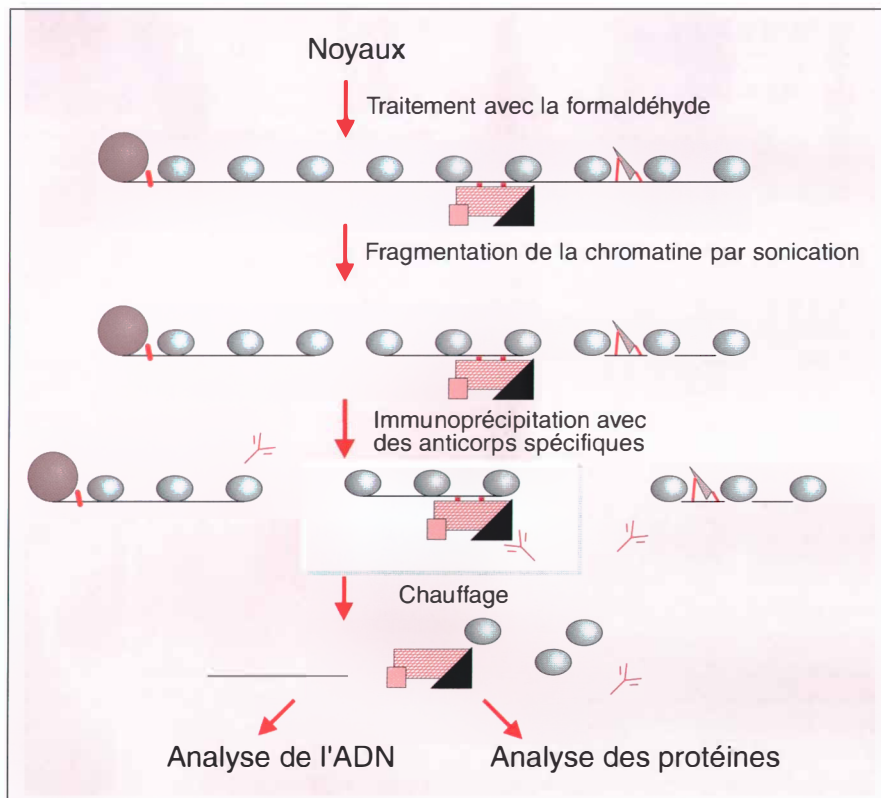


Figure 4. **Principe de la technique «CHIP» d'immunoprécipitation de la chromatine.** Les noyaux cellulaires sont isolés, traités par le formaldéhyde qui fige les interactions entre complexes protéiques (ronds, triangles et rectangles de couleur), nucléosomes (ovales gris) et ADN (traits noirs). Après traitement par sonication, les fragments de chromatine sont soumis à précipitation en présence d'anticorps. Le chauffage du précipité permet d'annuler l'action du formaldéhyde. L'ADN et les protéines peuvent être ensuite explorés séparément. L'analyse des fragments d'ADN spécifiquement précipités s'effectue de préférence par PCR pour rechercher une séquence particulière. Alternativement, les fragments d'ADN peuvent être clonés en masse, la banque obtenue étant ensuite soumise à un séquençage systématique qui peut conduire à une exploration plus ou moins exhaustive [36].

Dans le système expérimental mis en place dans le laboratoire de B. Emerson, le promoteur du gène de la β -globine a été reconstitué dans un contexte chromatinien et les chercheurs ont pu démontrer que l'ouverture de la chromatine et l'activation transcriptionnelle qui vont de pair requièrent en premier lieu la liaison à l'ADN d'un facteur de transcription spécifique, EKLF, qui se lie directement au promoteur, et en second lieu l'intervention d'un complexe de type SWI/SNF comprenant l'ATPase BRG1 [12].

Le remodelage local de la chromatine est susceptible de survenir très rapidement en réponse à une panoplie de signaux, même d'origine extracellulaire, comme le suggèrent les travaux

de l'équipe de Gerald Crabtree (Stanford CA, USA), qui a montré que la stimulation du récepteur pour l'antigène exprimé à la membrane plasmique des lymphocytes T provoquait, en moins de dix minutes, une association à la chromatine de BRG1 et du complexe nucléaire qui la contient [13]. Des processus du même type sont très probablement à l'œuvre dans de nombreux cas de réponse transcriptionnelle et des molécules autres que des facteurs de transcription transactivateurs peuvent fonctionner ainsi. A cet égard, des résultats très intéressants de l'équipe de Mary Ann Osley montrent que, chez *S. cerevisiae*, certains gènes d'histones sont réprimés sous l'effet des protéines Hir1 et Hir2 dont nous étudions l'homologue chez les mammifères [14, 15].

Or, ces deux co-répresseurs deviennent inactifs au moment – le début de la phase S du cycle cellulaire – où la levure commence à répliquer son ADN et à l'empaqueter sous forme de chromatine. A ce stade du cycle, une activité transcriptionnelle maximale est atteinte grâce au complexe SWI/SNF dont le recrutement dépend précisément des molécules Hir1p et Hir2p [16]. Ces données démontrent donc qu'un complexe de remodelage de la chromatine, dont l'effet sur un gène donné est d'activer la transcription, peut être recruté par des molécules dont la fonction principale au même locus est de concourir à sa répression transcriptionnelle.

Analyse séquentielle des interactions nucléo-protéiques par immunoprécipitation de chromatine

Des progrès importants dans la compréhension de ces événements vont à l'évidence résulter de la nouvelle technique dite «CHIP» (*chromatin immuno-precipitation*) (figure 4). L'idée est de figer les associations existant à l'instant t entre protéines et ADN chromatinien par traitement au formaldéhyde, un agent chimique créant des ponts intermoléculaires. Une précipitation est réalisée ensuite à l'aide d'anticorps spécifiquement dirigés contre une protéine soupçonnée d'intervenir au niveau de telle ou telle région génomique. Après séparation de l'ADN des composés protéiques présents dans le précipité, on procède à une amplification par PCR qui permet de tester la présence de la séquence génomique à laquelle on s'intéresse. Une réponse positive indique que la protéine reconnue par l'anticorps utilisé est associée – directement ou indirectement – avec le fragment d'ADN génomique qui a été amplifié. Quand l'interaction n'est pas directe, on ne parle pas de facteurs de transcription mais de co-régulateurs transcriptionnels. Ceux-ci interviennent en règle au sein de complexes multi-protéiques. Un des avantages offerts par la technique réside dans la possibilité d'examiner une succession rapide d'événements moléculaires survenant sur un même fragment de gène.

C'est de cette façon que l'équipe de Kim Nasmyth à Vienne (Autriche) a commencé à déchiffrer dans le détail l'enchaînement des événements déclenchant la transcription, étroitement réglée, du gène *HO* qui contrôle le type sexuel de la levure *S. cerevisiae* [17]. L'activation de ce gène particulièrement bien étudié repose sur la fixation de plusieurs facteurs de transcription et l'intervention d'au moins deux complexes à activité enzymatique, le complexe SWI/SNF et le complexe SAGA qui contient Gcn5p, une acétyl-transférase (*m/s* 1997, n° 10, p. 1205). A partir d'extraits de levures, synchronisées pour être au même point dans le cycle cellulaire, les auteurs ont procédé, à intervalles très rapprochés, à l'immunoprécipitation de la chromatine à l'aide de plusieurs anticorps aux spécificités distinctes. Ainsi, cette équipe a démontré qu'un premier facteur de transcription, la protéine Swi5, était recruté sur le promoteur à un instant précis de l'anaphase qui annonce la fin de la mitose. Quelques minutes plus tard, la présence de Swi5p sur le promoteur *HO* permet le recrutement du complexe SWI/SNF qui porte une activité ATPase mais dont aucun composant ne se fixe directement sur l'ADN. Immédiatement après, le deuxième complexe – SAGA – est recruté à son tour. A ce stade, la protéine Swi5 a disparu du promoteur où elle n'aura en définitive séjourné que quelques minutes. La fixation d'un deuxième facteur de transcription, SBF, sur une séquence du promoteur du gène *HO* plus proche du site d'initiation de la transcription, termine cette séquence événementielle. A son tour, SBF pourrait jouer un rôle dans le recrutement de l'ARN polymérase et de la machinerie transcriptionnelle qui lui est associée. Cette succession d'arrivées et de départs s'étend sur une très courte période en fin de mitose. Elle aura comme conséquence la transcription du gène *HO*, mais celle-ci ne surviendra qu'en fin de phase G1 suivante, avec un délai de plusieurs heures ou même plusieurs jours, et en tout cas à un moment où le facteur de transcription – Swi5p – initialement nécessaire à l'activation du gène aura disparu du promoteur depuis longtemps.

Intervention de complexes de remodelage à l'étape d'élongation de la transcription

A une étape ultérieure, celle de l'élongation, la machinerie transcriptionnelle va devoir «traverser» une série de nucléosomes pour synthétiser un ARN pré-messager complet mais le détail de ce parcours du combattant est loin d'être parfaitement élucidé. Le complexe contenant l'ARN polymérase progresse le long de l'ADN nucléosomal sans que les structures nucléosomales n'opposent de résistance majeure [18]. Toutefois, cette facilité n'est qu'apparente, car *in vitro*, elle nécessite l'action d'au moins deux complexes: FACT (*facilitates chromatin transcription*) qui ne contient pas lui-même d'activité ATPase [19], et RSF (*remodeling and spacing factor*) qui comprend l'homologue humain de l'ATPase ISWI de drosophile [20]. Le résultat net de la progression de l'appareil de transcription le long d'un fragment chromatinien est un transfert des structures nucléosomales de l'avant vers l'arrière de la machinerie de transcription. Des améliorations dans les techniques d'électrophorèse ont permis de suivre de façon extrêmement précise le déplacement du nucléosome relativement au fragment d'ADN en cours de transcription. Ce sont des avancées technologiques de même nature qui viennent d'éclairer la plasticité chromatinienne sous un jour nouveau.

Remodelage de la chromatine par des complexes protéiques à activité ATPase : transfert d'octamère

Grâce à la qualité de la résolution des différents complexes nucléo-protéiques obtenue par électrophorèse en gel d'acrylamide, plusieurs groupes américains qui s'interrogeaient sur les effets induits sur la structure nucléosomale par les complexes de remodelage RSC et SWI/SNF ont observé l'apparition d'espèces «nouvelles» de nucléosomes [21-23]. Ces nucléosomes sont «altérés» sous l'effet de l'action transitoire de l'un ou l'autre

de ces complexes en présence d'ATP. Sous l'influence de RSC, par exemple, apparaît un nucléosome au contenu en histones inchangé mais dont la migration électrophorétique, le coefficient de sédimentation et la stabilité en présence de sel sont profondément affectés [22]. Le processus est réversible puisque si l'on remet le nucléosome altéré en présence de complexe de remodelage et d'ATP, on récupère un nucléosome aux propriétés habituelles. Au cours du processus qui transforme le nucléosome standard en nucléosome altéré se forme, en outre, une structure intermédiaire dite «activée». Celle-ci contient le complexe de remodelage, les histones et l'ADN nucléosomal qui, dans cette configuration, montre une sensibilité accrue à la digestion par diverses exo- et endonucléases [22]. Dans cette forme activée, c'est le trajet de l'ADN nucléosomal autour du cœur protéique qui serait modifié. Les données obtenues avec le complexe SWI/SNF sont pour l'essentiel du même ordre qu'avec RSC [21, 23]. Poursuivant ces expériences réalisées *in vitro*, le groupe de Roger Kornberg à Stanford a maintenant démontré que si le nucléosome activé est mis en présence d'ADN nu, l'octamère d'histones est libéré de la structure nucléosomale préexistante et s'associe à l'ADN nu pour former un nouveau nucléosome (*figure 2C*) [24]. Il s'agit de la première démonstration directe de la capacité d'un complexe de remodelage à transférer un octamère d'histones d'un segment d'ADN sur un autre. Les implications *in vivo* concernent aussi bien les phénomènes d'ouverture/fermeture de la chromatine ou le contrôle du positionnement des nucléosomes le long de l'ADN, avec un transfert d'octamère en *trans* qui peut impliquer des fragments d'ADN distants sur la séquence linéaire du même chromosome s'ils sont voisins dans l'espace nucléaire. Il est à noter que ce type de transfert ne se produit pas en présence de complexes dont l'activité ATPase est portée par une molécule de type ISWI, l'effet de ces complexes se restreignant peut-être aux phénomènes de glissement d'octamères décrits plus haut. Au total, il semble qu'on puisse donc aujourd'hui classer les principaux complexes de remodelage de la chromatine en deux groupes, ceux qui autorisent un transfert d'octamères

sur de l'ADN nu d'une part et ceux qui les font glisser sur un même fragment d'ADN d'autre part. Dans ces deux types de remaniements, il n'existe pas d'indices suggérant que l'octamère puisse subir un démantèlement transitoire.

Les complexes à ATPase interviennent-ils sur la chromatine de façon indépendante de ceux qui modifient les histones par acétylation ou désacétylation? Plusieurs publications parues au cours des derniers mois suggèrent le contraire. Par exemple, une activité désacétylase, habituellement associée à un état de répression transcriptionnelle, est fréquemment retrouvée en association au sein d'un même complexe avec une activité ATPase dont nous avons vu l'importance aux étapes initiales de l'activation de la transcription [25-29]. Au total, la structure de la chromatine au niveau local paraît comme le résultat éminemment labile de l'intégration d'une série d'activités enzymatiques, elles-mêmes contrôlées en amont par une multitude de signaux d'origine aussi bien extra-qu'intracellulaire. En corollaire, il semble désormais difficile de négliger la variable *temps* dans les modèles d'analyse des mécanismes chromatinien de contrôle de l'expression génique.

Chromatine et pathologie

Quel est l'intérêt en médecine de ces données très fondamentales? Une série de résultats indiquent que des dysfonctionnements de complexes protéiques qui contrôlent la structure de la chromatine pourraient être étroitement liés à des dérégulations de l'expression génique et par là même, à certains mécanismes de transformation maligne. Par exemple, le gène *SNF5* qui code pour une des protéines du complexe SWI/SNF humain, se comporte comme un anti-oncogène, des altérations bi-alléliques du gène semblant directement associées à la survenue de tumeurs rhabdoïdes chez l'enfant [30]. Le produit d'un autre anti-oncogène, la protéine Rb, recrute une désacétylase pour réprimer la transcription [31, 32]. On connaît également la capacité des formes oncogéniques du récepteur de l'acide rétinoïque, produites dans la leucémie promyélocytaire aiguë, à recruter un complexe nucléaire

contenant une activité désacétylase [33, 34]. Par ailleurs, la protéine CBP – comme la protéine p300 qui lui est très similaire – est un co-régulateur transcriptionnel porteur d'activité acétyl-transférase; elle est impliquée à la fois dans des processus de transformation maligne au sein du système hématopoïétique et dans une anomalie du développement embryonnaire, le syndrome de Rubinstein-Taybi [35]. Cet exemple suggère fortement que des perturbations de l'expression génique déclenchées au niveau chromatinien au cours de l'embryogenèse pourraient susciter des anomalies congénitales. A l'évidence, l'avancée des connaissances sur les mécanismes de contrôle et de remaniement de la structure de la chromatine et l'élucidation moléculaire d'un nombre croissant de pathologies à composante génétique devraient définir une interface thématique particulièrement féconde au cours des années à venir ■

Remerciements

Le travail poursuivi dans notre laboratoire bénéficie du soutien de l'organisation Human Frontiers Science Program et de l'Association pour la Recherche sur le Cancer. Merci également à Michel Werner et Joëlle Wiels pour leurs commentaires sur ce manuscrit.

RÉFÉRENCES

- Luger K, Mäder AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 1997; 389: 251-60.
- Kuo M-H, Allis CD. Roles of histone acetyltransferase and deacetylases in gene regulation. *BioEssays* 1998; 20: 615-26.
- Ito T, Bulger M, Pazin MJ, Kobayashi R, Kadonaga JT. ACF, an ISWI-containing and ATP-utilizing chromatin assembly and remodeling factor. *Cell* 1997; 90: 145-55.
- Tsukiyama T, Daniel C, Tamkun J, Wu C. ISWI, a member of the SWI2/SNF2 ATPase family, encodes the 140 kDa subunit of the nucleosome remodeling factor. *Cell* 1995; 83: 1021-6.
- Varga-Weisz PD, Wilm M, Bonte E, Dumas K, Becker PB. Chromatin-remodeling factor CHRAC contains the ATPases ISWI and topoisomerase II. *Nature* 1997; 388: 598-602.
- Holstege FCP, Jennings EG, Wyrick JJ, et al. Dissecting the regulatory circuitry of a eukaryotic genome. *Cell* 1998; 95: 717-28.
- Cairns BR, Lorch Y, Li Y, et al. RSC, an essential, abundant chromatin-remodeling complex. *Cell* 1996; 87: 1249-60.
- Phelan ML, Sif S, Narlikar GJ, Kingston RE. Reconstitution of a core chromatin remodeling complex from SWI/SNF subunits. *Mol Cell* 1999; 3: 247-53.
- Corona DFV, Längst G, Clapier CR, Bonte EJ, Ferrari S, Becker PB. ISWI is an ATP-dependent nucleosome remodeling factor. *Mol Cell* 1999; 3: 239-45.
- Längst G, Bonte EJ, Corona DFV, Becker PB. Nucleosome movement by CHRAC and ISWI without disruption or trans-displacement of the histone octamer. *Cell* 1999; 97: 843-52.
- Hamiche A, Sandaltzopoulos R, Gdula DA, Wu C. ATP-dependent Histone Octamer sliding mediated by the chromatin remodeling complex NURF. *Cell* 1999; 97: 833-42.
- Armstrong JA, Bieker JJ, Emerson BM. A SWI/SNF-related chromatin remodeling complex, E-RCL, is required for tissue-specific transcriptional regulation by EKLF *in vitro*. *Cell* 1998; 95: 93-104.
- Zhao K, Wang W, Rando OJ, et al. Rapid and phosphoinositol-dependent binding of the SWI/SNF-like BAF complex to chromatin after T lymphocyte receptor signaling. *Cell* 1998; 95: 625-36.
- Lorain S, Quivy J-P, Monier-Gavelle F, et al. Core histones and HIRIP3, a novel histone-binding protein, directly interact with WD repeat protein HIRA. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 5546-56.
- Magnaghi P, Roberts C, Lorain S, Lipinski M, Scambler PJ. HIRA, a mammalian homologue of *Saccharomyces cerevisiae* transcriptional co-repressors, interacts with Pax3. *Nat Genet* 1998; 20: 74-7.
- Dimova D, Nackerdien Z, Eguchi S, Osley MA. Role for transcriptional repressors in targeting the yeast Swi/Snf complex. *Mol Cell* 1999; 4: 75-83.
- Cosma MP, Tanaka T, Nasmyth K. Ordered recruitment of transcription and chromatin remodelling factors to a cell cycle- and developmentally regulated promoter. *Cell* 1999; 97: 299-311.
- Studitsky VM, Kassavetis GA, Geiduschek EP, Felsenfeld G. Mechanism of transcription through the nucleosome by eukaryotic RNA polymerase. *Science* 1997; 278: 1960-3.
- Orphanides G, LeRoy G, Chang C-H, Luse DS, Reinberg D. FACT, a factor that facilitates transcript elongation through nucleosomes. *Cell* 1998; 92: 105-16.
- LeRoy G, Orphanides G, Lane WS, Reinberg D. Requirement of RSF and FACT for transcription of chromatin templates *in vitro*. *Science* 1999; 282: 1900-4.
- Schnitzler G, Sif S, Kingston RE. Human SWI/SNF interconverts a nucleosome between its base state and a stable remodeled state. *Cell* 1998; 94: 17-27.
- Lorch Y, Cairns BR, Zhang M, Kornberg RD. Activated RSC-nucleosome complex and persistently altered form of the nucleosome. *Cell* 1998; 94: 29-34.

RÉFÉRENCES

23. Côté J, Peterson CL, Workman JL. Perturbation of nucleosome core structure by the SWI/SNF complex persists after its detachment, enhancing subsequent transcription factor binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 4947-52.
24. Lorch Y, Zhang M, Kornberg RD. Histone octamer transfer by a chromatin remodeling complex. *Cell* 1999; 96: 389-92.
25. Kadosh D, Struhl K. Targeted recruitment of the Sin3-Rpd3 histone deacetylase complex generates a highly localized domain of repressed chromatin *in vivo*. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 5121-7.
26. Zhang Y, LeRoy G, Seelig HP, Lane WS, Reinberg D. The dermatomyositis-specific autoantigen Mi2 is a component of a complex containing histone deacetylase and nucleosome remodeling activities. *Cell* 1998; 95: 279-89.
27. Tong JK, Hassig CA, Schnitzler GR, Kingston RE, Schreiber SL. Chromatin deacetylation by an ATP-dependent nucleosome remodeling complex. *Nature* 1998; 395: 917-21.
28. Wade PA, Jones PL, Vermaak D, Wolffe AP. A multiple subunit Mi-2 histone deacetylase from *Xenopus laevis* cofractionates with an associated Snf2 superfamily ATPase. *Curr Biol* 1998; 8: 843-6.
29. Xue Y, Wong J, Moreno T, Young MK, Côté J, Wang W. NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell* 1998; 2: 851-61.
30. Versteegge I, Sévenet N, Lange J, *et al*. Truncating mutations of hSNF5/INI1 in aggressive paediatric cancer. *Nature* 1998; 394: 203-6.
31. Magnaghi-Jaulin L, Groisman R, Naguibneva I, *et al*. Retinoblastoma protein represses transcription by recruiting a histone deacetylase. *Nature* 1998; 391: 601-5.
32. Brehm A, Miska EA, McCance DJ, Reid JL, Bannister AJ, Kouzarides T. Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription [see comments]. *Nature* 1998; 391: 597-601.
33. Grignani F, De MS, Nervi C, *et al*. Fusion proteins of the retinoic acid receptor-alpha recruit histone deacetylase in promyelocytic leukaemia. *Nature* 1998; 391: 815-8.
34. Lin RJ, Nagy L, Inoue S, Shao W, Miller WHJ, Evans RM. Role of the histone deacetylase complex in acute promyelocytic leukaemia. *Nature* 1998; 391: 811-4.
35. Giles RH, Peters DJM, Breuning MH. Conjunction dysfunction: CBP/p300 in human disease. *Trends Genet* 1998; 14: 178-83.
36. Cohen-Kaminsky S, Maouche-Chrétien L, Vitelli L, *et al*. Chromatin immunoselection defines a TAL-1 target gene. *EMBO J* 1999; 17: 5151-60.

TIRÉS À PART

M. Lipinski.

Summary

Chromatin plasticity, control of gene expression and human disease

The nucleosome – an octamer of core histones surrounded by less than two turns of DNA – was recognized in the 1970s as the basic unit in chromatin, the highly organized nucleoprotein material that contains the genetic information in the nucleus of a eukaryotic cell. The accessibility of DNA in chromatin is of utmost importance for gene transcription, DNA replication and repair. Recently, protein complexes purified from nuclear extracts have been found endowed with the ability to remodel

chromatin structure at a local level. Each complex contains one molecule with ATPase activity. Using the energy of ATP, these complexes can modify the positioning and accessibility of nucleosomes, induce sliding of the histone octamer along the DNA or its transfer to a different DNA fragment, a likely basis for their regulatory role in gene transcription. Recent findings indicate that a variety of human diseases could result from abnormalities in control processes operating at the level of chromatin.