

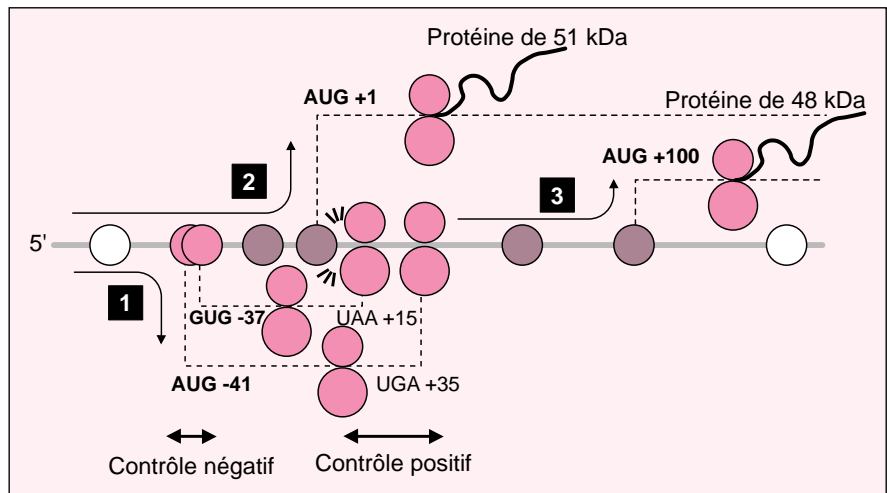
## Télescopage des ribosomes sur l'ARNm Fli-1

Le proto-oncogène *Fli-1* constitue l'une des cibles privilégiées des intégrations provirales observées dans de nombreux cas de leucémies induites par des rétrovirus chez la souris. Il code pour un facteur de transcription de la famille ETS dont l'expression forcée conduit au blocage de la différenciation érythrocytaire (*m/s* 1999, n° 6-7, p. 889). L'injection d'ARNm *Fli-1* dans des ovocytes de xénope induit d'importantes perturbations du développement embryonnaire précoce [1]. Il était donc fort probable que le contrôle de l'expression de ce facteur soit très précis, comme le confirme aujourd'hui la sophistication des mécanismes assurant le contrôle de la traduction des transcrits de *Fli-1* [2].

Deux isoformes de la protéine FLI-1 ont été décrites, l'une majoritaire de 51 kDa, l'autre de 48 kDa, toutes deux dotées de propriétés transactivatrices similaires [3]. Si la protéine de 48 kDa peut être produite spécifiquement par certains transcrits mineurs du gène *Fli-1* [3], les deux protéines peuvent aussi être synthétisées à partir du même transcrit. Dans ce cas, leur synthèse débute à partir de deux codons initiateurs, AUG +1 pour la protéine de 51 kDa et AUG +100 pour celle de 48 kDa, situés dans la même phase de lecture [2] (figure 1). Ces deux codons sont précédés, dans la région 5' non traduite, par deux autres codons initiateurs (AUG -41 et GUG -37), situés chacun à la tête d'une courte phase de lecture (ORF-*open reading frame*) chevauchante se terminant chacune par un codon stop situé entre les codons AUG +1 et AUG +100 (figure 1). La grande conservation, dans des espèces aussi variées que l'homme, la souris, le xénope ou la caille, de la position et du contexte

nucléotidique de tous ces codons a permis d'envisager leur rôle dans le contrôle de la synthèse des deux protéines FLI-1. Selon le modèle du balayage (*scanning*) [4], le complexe de préinitiation de la traduction scrute en effet la région 5' non traduite à partir de son extrémité 5' coiffée et déclenche la traduction préfé-

rentiellement au niveau du premier codon initiateur rencontré. Il était donc fort possible que la présence des ORF chevauchantes interfère avec la synthèse des deux protéines FLI-1. En accord avec ce modèle, la mutation des deux codons initiateurs, AUG -41 et GUG -37, augmente la synthèse de la protéine de



**Figure 1. Différentes étapes impliquées dans le contrôle de la traduction de l'ARNm Fli-1.** La synthèse des protéines FLI-1 débute sur les codons initiateurs AUG +1 pour la protéine de 51 kDa et AUG +100 pour celle de 48 kDa. Dans la région 5' non traduite, deux autres codons initiateurs, AUG -41 et GUG -37 sont à la tête de deux courtes phases de lecture chevauchantes se terminant respectivement par les codons stop UGA +35 et UAA +15. **Étape 1:** Reconnaissance préférentielle des premiers codons AUG -41 et GUG -37 par les petites sous-unités ribosomiques ayant initié leur balayage à partir de l'extrémité 5' coiffée de l'ARNm Fli-1. **Étape 2:** La reconnaissance de l'AUG +1 et la synthèse de la protéine de 51 kDa est favorisée par le télescopage des petites sous-unités ribosomiques n'ayant pas reconnu les codons AUG -41 et GUG -37 contre les ribosomes achevant la traduction sur les codons stop UAA +15 et UGA +35. **Étape 3:** La synthèse de la protéine de 48 kDa procède de deux mécanismes: d'une part la terminaison de la traduction sur les codons stop UAA +15 et UGA +35 suivie de la reconnaissance de l'AUG +100 par les mêmes ribosomes, appelé mécanisme de « terminaison-réinitiation »; d'autre part la reconnaissance de l'AUG +100 par les petites sous-unités ribosomiques ayant poursuivi leur balayage de 5' en 3' sans reconnaître aucun des autres codons initiateurs précédents (mécanisme de « balayage relâché »).

51 kDa dont le codon initiateur est situé en aval des deux autres. En contradiction apparente avec ce modèle, la synthèse de la protéine de 48 kDa est en revanche diminuée. Quant à la mutation des codons stop des deux ORF chevauchantes, elle diminue simultanément la synthèse des deux protéines FLI-1. Ces effets ont été observés aussi bien *in vitro* sur la traduction d'ARNm synthétiques en lysats de réticulocytes que dans des cellules transfectées [2].

L'ensemble de ces résultats s'explique par le contexte nucléotidique particulièrement défavorable de chacun des quatre codons initiateurs. Ainsi, une fraction des sous-unités 40S ayant amorcé leur balayage à partir de l'extrémité 5' des transcrits *Fli-1* reconnaît les codons AUG -41 et GUG -37 au détriment des codons AUG +1 et AUG +100 (figure 1). Ceci a pour conséquence une diminution de la synthèse des deux protéines FLI-1. Cependant, l'effet négatif sur la synthèse de la protéine de 48 kDa est en partie compensé par un mécanisme classique de terminaison-réinitiation, au cours duquel les mêmes ribosomes reprennent la traduction à partir de l'AUG +100 après avoir terminé la traduction sur les codons stop UAA +15 et UGA +35. De façon concomitante, la fraction des sous-unités ribosomiques n'ayant pas reconnu les premiers codons initiateurs des ORF poursuit son balayage et vient se télescoper contre les ribosomes terminant la traduction sur les codons stop UAA +15 et UGA +35, situés immédiatement en aval du codon AUG +1. Ce télescopage favorise alors la reconnaissance du codon AUG +1 et vient ainsi compenser, lui aussi, l'effet négatif des premiers codons sur la synthèse de la protéine de 51 kDa.

L'effet positif d'un codon stop sur le départ de la traduction à partir d'un codon initiateur situé en aval, appelé mécanisme de « terminaison-réinitiation », avait déjà été décrit pour plusieurs transcrits, en particulier celui du gène *GCN4* de la levure [5]. L'effet positif sur un codon initiateur situé quant à lui en amont n'avait été jusqu'à présent observé que dans quelques cas d'ARNm viraux [6]. Il apparaît donc que le

transcrit *Fli-1* est le premier exemple de transcrit dont le contrôle de la traduction fait intervenir à la fois ces deux mécanismes. L'ensemble de ces mécanismes de contrôle, positifs et négatifs, de la synthèse des protéines FLI-1 pourrait constituer une stratégie remarquablement bien adaptée permettant d'éviter les effets délétères d'une production trop élevée de ce facteur de transcription. Le contrôle de l'efficacité de terminaison de la traduction et/ou du mécanisme de « terminaison-réinitiation » permettrait en effet d'ajuster la synthèse des protéines aux besoins de la cellule. Elle pourrait aussi jouer un rôle dans le contrôle de la stabilité de l'ARNm de *Fli-1*. On sait en effet que la présence d'un codon de terminaison prématurée de la traduction stimule une voie de dégradation spécifique de certains transcrits anormaux [7]. Ce mécanisme de dégradation sélective ne paraît activé que si l'arrêt de la traduction n'est pas suivi d'une réinitiation entre 50 à 500 nucléotides en amont de la jonction exon-exon suivante [8]. Dans le cas de *Fli-1*, le codon stop UGA +35 est situé à moins de 500 nucléotides en amont de la jonction exon-exon suivante. Ainsi, les transcrits de *Fli-1* dont la traduction débute au codon AUG -41 et se termine au codon stop UGA +35 pourraient être dégradés par une telle voie si la traduction n'est pas amorcée à nouveau sur le codon AUG +100.

Ces résultats soulignent la complexité des mécanismes de contrôle de la synthèse du facteur de transcription FLI-1. Leur importance est certainement loin d'être négligeable... quand on sait que la plupart des intégrations provirales observées dans les leucémies induites par le virus Cas-Br-E se situent précisément en aval des codons initiateurs des deux ORF chevauchantes. Ces résultats offrent également de nouvelles perspectives pour la compréhension des mécanismes de régulation traductionnelle de la synthèse de certaines cytokines, telles que la thrombopoïétine, dont l'ARNm est aussi caractérisé par la présence d'une ORF chevauchante conservée au cours de l'évolution [9].

## Remerciements

Les auteurs remercient l'Association pour la Recherche contre le Cancer (ARC), la Ligue contre le Cancer (Comité national et Comités départementaux du Rhône, de la Drôme et de l'Yonne) et la Fondation de France pour leur soutien financier.

1. Remy P, Sénan F, Meyer D, Mager M, Hindelang C. Overexpression of the Xenopus XI-fl gene during early embryogenesis leads to anomalies in head and heart development and erythroid differentiation. *Int J Dev Biol* 1996 ; 40 : 577-89.
2. Sarrazin S, Starck J, Gonnet C, Doubeikovski A, Mélet F, Morlé F. Negative and translation termination-dependent positive control of FLI-1 protein synthesis by conserved overlapping 5' upstream open reading frames in Fli-1 mRNA. *Mol Cell Biol* 2000 ; 20 : 2959-69.
3. Dhulipala PD, Lee L, Rao VN, Reddy SP. Fli-b is generated by usage of differential splicing and alternative promoter. *Oncogene* 1998 ; 17 : 1149-57.
4. Kozak M. The scanning model for translation. *J Cell Biol* 1989 ; 108 : 229-41.
5. Hinnenbusch A. Translational regulation of yeast GCN4. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 21661-4.
6. Gunnery S, Maivali U, Mathews MR. Translation of uncapped mRNA involves scanning. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 21642-6.
7. Hentze MW, Kulozik A. A perfect message : RNA surveillance and non-sense-mediated decay. *Cell* 1999 ; 96 : 307-10.
8. Zhang J, Sun X, Qian Y, Laduca JP, Maquat LE. At least one intron is required for the nonsense-mediated decay of triosephosphate isomerase mRNA: a possible link between nuclear splicing and cytoplasmic translation. *Mol Cell Biol* 1998 ; 18 : 5272-83.
9. Cazzola M, Skoda RC. Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease. *Blood* 2000 ; 95 : 3280-8.

**Sandrine Sarrazin**  
**Joëlle Starck**  
**François Morlé**

Centre de génétique moléculaire et cellulaire, Cnrs UMR. 5534, 43, boulevard du 11-Novembre-1918, 69622 Villeurbanne, France.