

Acétylation des protéines GATA : une modification post-traductionnelle indispensable à l'effet biologique

La plus connue des réactions d'acétylation est celle des résidus lysine des histones, qui facilite la fixation des facteurs de transcription à la chromatine en configuration « ouverte », et donc la transcription des gènes. L'acétylation neutralise la charge positive des résidus et modifie leur taille, ce qui retentit sur la conformation des protéines, et/ou leurs interactions avec l'ADN ou d'autres cofacteurs. Diverses protéines ont une fonction d'acétyltransférase, dont CBP (*CREB-binding protein*) et p300, deux cofacteurs transcriptionnels très similaires. Or il s'avère que les histones ne sont pas les seuls substrats de CBP/p300. Ainsi, p53, EKLF (*erythroid krüppel like factor*), TFIIE et TFIIF E2F, Myb, MyoD, TCF, sont aussi acétylés par CBP/p300. On doit maintenant ajouter à cette liste deux membres de la famille GATA, GATA-1 et -3. Depuis 1999, en effet, plusieurs articles ont démontré l'acétylation par p300 et CBP de ces deux facteurs de transcription et souligné son importance pour la fonction biologique des protéines GATA, GATA-1 dans la différenciation érythroïde et très récemment GATA-3 dans la différenciation lymphoïde T. GATA-1 contient 7 lysines, groupées en deux motifs dits riches en lysine, localisés chacun en carboxy-terminal des deux doigts de zinc de GATA-1 et qui sont conservés dans les autres protéines GATA. Une petite séquence de ces motifs est commune à p53, elle aussi acétylée par CBP. La mutation en alanine des lysines présentes dans ces motifs entraîne en effet une hypoacétylation de la molécule, dont on connaît mal *in vivo* le retentissement sur sa liaison à l'ADN. En revanche, dans un contexte érythroïde, une hypoacétylation de GATA-1 a des conséquences biologiques importantes, puisque le facteur de trans-

cription est incapable d'induire une maturation érythroïde suffisante des proérythroblastes *GATA-1^{-/-}* pour entraîner leur hémoglobinisation (lignée G1E). Rappelons que le contexte cellulaire est important et que, dans les cellules érythroïdes, les deux motifs acétylés sont nécessaires à l'activité transcriptionnelle de la protéine, ce qui n'est pas le cas dans un système non physiologique, par exemple lors de l'expression de GATA-1 dans des fibroblastes NIH3T3, où la mutation dans le motif N est sans effet. Il n'est toutefois pas certain que l'acétylation soit indispensable à l'augmentation de l'activation transcriptionnelle de GATA-1 par CBP. Comment l'acétylation de GATA-1 contrôle-t-elle la différenciation érythroïde ? cela reste encore un mystère.... Comme pour GATA-1, la stratégie utilisée pour analyser les conséquences d'une hypoacétylation de

GATA-3 a consisté à muter les résidus lysine. Dans le cas de GATA-3, 6 mutants ont été étudiés, correspondant aux six résidus lysine, et le mutant le plus utilisé est le mutant KRR (*figure 1*) dans lequel les résidus lysine-arginine-arginine en position 305-307 sont substitués par trois alanines. Ces mutations, qui toutes entraînent une hypoacétylation, n'affectent pas, du moins *in vitro*, la fixation de GATA-3 à l'ADN, et peu, hormis pour le mutant KRR, l'activité transactivatrice. Ce mutant KRR se comporte comme un dominant-négatif, mais la compréhension de cet effet inattendu est encore très imparfaite. Lors de la parution de l'article de Zhang *et al.* en 1999, il n'y avait aucune explication moléculaire à cet effet dominant négatif de la seule mutation KRR. Curieusement, le défaut d'acétylation du mutant GATA-3-KRR est beaucoup plus prononcé que ne le voudrait la seule

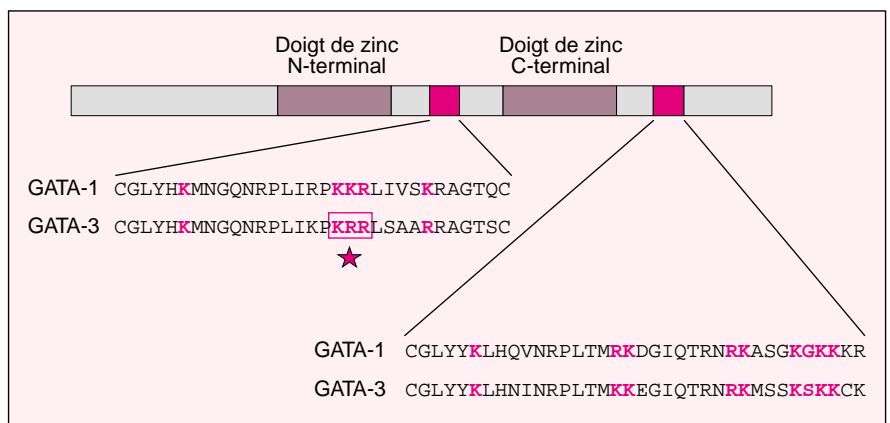


Figure 1. **Motifs d'acétylation dans la structure des protéines GATA-1 et GATA-3.** La structure des protéines GATA-1 et -3 est schématisée avec les deux doigts de zinc en position carboxy- et amino-terminale. Six des sept lysines (K) acétylées dans la structure de GATA-1 sont conservées dans la structure de GATA-3 (indiquées en rouge). Les mutants hypoacétylés sont obtenus en substituant les résidus lysine (K) par des alanines. L'étoile indique le motif qui a un effet dominant-négatif lorsque les lysines sont substituées.

absence d'acétylation de la lysine en position 305, et Yamagata *et al.* [4] montrent qu'il y a également une hypoacétylation sur les lysines adjacentes (non mutées) au site muté. Or puisque GATA-3 est physiologiquement acétylé *in vivo*, son hypoacétylation pourrait avoir des conséquences biologiques non négligeables. Cette hypothèse est difficile à prouver *in vivo*: le modèle des souris homozygotes *GATA-3^{-/-}* est inutilisable pour analyser la fonction lymphoïde T. En effet, GATA-3 est indispensable à la progression de la différenciation thymocytaire en aval du stade double-négatif CD4CD8, et les souris *GATA-3^{-/-}* sont dépourvues de lymphocytes T mûrs.

L'effet dominant négatif de cette mutation (créée comme les autres par une mutagenèse systématique) a été mis en évidence chez des souris transgéniques pour *GATA-3-KRR* dont l'expression, inducible par la tétracycline, est restreinte aux stades tardifs de la différenciation lymphocytaire T (vecteur d'expression *lck-rtTA*). On sait que GATA-3 joue un rôle clé dans l'acquisition d'un phénotype Th2 par des lymphocytes CD4⁺ en induisant la transcription des gènes codant pour les IL- (interleukines) -4, -13 et -5. Or, si l'on induit par la doxycycline l'expression du mutant *GATA-3-KRR* dans les lymphocytes T de souris transgéniques soumises à un stimulus allergique, ce qui devrait normalement induire une réponse de type Th2, cette réponse est inhibée comme en témoigne l'absence de synthèse des cytokines Th2.

Une seconde étude a analysé la distribution des transcrits mutants *GATA-3-KRR* présents dans la rate mais pas dans le thymus où seul GATA-3 sauvage endogène est détecté, ce qui est conforme à la spécificité d'expression tissulaire du pro-

moteur *lck*. Chez ces souris transgéniques *Lck-GATA-3-KRR*, la différenciation thymique est tout à fait normale ainsi que les proportions relatives de lymphocytes CD4⁺ et CD8⁺. La diminution de la réponse Th2 chez les souris *GATA-3-KRR* est effectivement confirmée ici par la diminution des transcrits codant pour l'IL-4 et l'IL-5. Cependant, le plus surprenant était l'anomalie de distribution des lymphocytes T: l'accumulation dans la rate de lymphocytes surtout CD4⁺ contrastait avec une très nette déplétion lymphocytaire dans les ganglions périphériques, surtout mésentériques et dans les plaques de Peyer. La production des lymphocytes n'était pas en cause, le nombre absolu de CD8⁺ restant inchangé et celui de CD4⁺ n'augmentant qu'à peine par rapport aux taux observés dans les souris sauvages. En revanche, la répartition des cellules était très anormale: des expériences de vidéomicroscopie après marquage fluorescent des cellules ont confirmé la diminution du flux des lymphocytes afférents dans les ganglions. C'est la première fois qu'un facteur de transcription est incriminé dans le contrôle d'une fonction de migration, mais le mystère reste entier quant au mécanisme car il n'y a aucune anomalie apparente des molécules connues (sélectines, chimiokines ou intégrines) contrôlant le *homing* des lymphocytes [5]. Une seconde anomalie est la survie prolongée des cellules T *GATA-3-KRR* activées, quel que soit l'antigène activateur, alors que normalement, les lymphocytes réactifs sont éliminés. On peut en partie expliquer ce retard par une diminution de l'activation des transcrits codant pour le TNF α et la LT α (*lymphotoxin α*), tous deux effecteurs des voies apoptotiques, ou par la persistance d'une

expression élevée de la chaîne α du récepteur à l'IL-2, s'opposant à l'apoptose physiologique.

Ces exemples font de l'acétylation une modification post-traductionnelle essentielle au contrôle de la fonction protéique et de l'expression génique. Si le mécanisme en est encore obscur, une hypothèse serait que l'acétylation induise un changement conformationnel qui peut démasquer un site activateur. Ces articles confirment, s'il en était besoin, que les modifications protéiques post-traductionnelles comme l'acétylation sont probablement aussi importantes dans le contrôle de la diversité des fonctions cellulaires que le contrôle transcriptionnel.

1. Boyes J, Byfield P, Nakatan Y, Ogrzyzko V. Regulation of activity of the transcription factor GATA-1 by acetylation. *Nature* 1998; 396: 594-8.
2. Hung HL, Lau J, Kim AY, Weiss MJ, Blobel GA. CREB-Binding protein acetylates hematopoietic transcription factor GATA-1 at functionally important sites. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 3496-505.
3. Zhang DH, Yang Y, Cohn L, *et al.* Inhibition of allergic inflammation in a murine model of asthma by expression of a dominant -negative mutant of GATA3. *Immunity* 1999; 11: 473-82.
4. Yamagata T, Mitani K, Oda H, *et al.* Acetylation of GATA-3 affects T-cell survival and homing to secondary lymphoid organs. *EMBO J* 2000; 19: 4676-87.
5. Dunon D, Imhof BA. Adressage et migration: le mouvement perpétuel des lymphocytes. *Med Sci* 2000; 16: 767-75.

Je remercie Annick Harel-Bellan et Paul-Henri Roméo pour la relecture du texte.

Laure Coulombel

*Inserm U. 474, Maternité Port-Royal,
123, boulevard du Port-Royal, 75014
Paris, France.*

ASSOCIATION POUR L'ÉTUDE DE LA PATHOLOGIE PÉDIATRIQUE

(Association déclarée par la loi du 1^{er} juillet 1901 - JO 21 mai 1970)

PRIX DE PATHOLOGIE PÉDIATRIQUE 2001

40 000 F - 20 000 F - 10 000 F

Madame Nicole Maraud / c/o Corinne Touzé

Laboratoire de Pathologie Pédiatrique - Pavillon François Lepage

Hôpital Cochin - Saint-Vincent-de-Paul - 74-82, avenue Denfert-Rochereau - 75674 PARIS Cedex 14 - Fax : 01 40 48 83 47

Date limite de dépôt des candidatures : le 2 avril 2001