

Domaine POU-homéo et facteurs de transcription

Les gènes homéotiques ont d'abord été décrits chez la drosophile ; leur altération modifie le schéma de développement de la mouche, avec remplacement de certaines parties du corps par d'autres (amenant par exemple au développement de pattes à la place d'antennes, ou d'un segment thoracique à la place d'un segment abdominal). Tous les gènes homéotiques possèdent une « boîte homéo » qui est un domaine protéique très conservé au cours de l'évolution et présentant des similitudes avec le domaine de fixation à l'ADN du répresseur du phage lambda, c'est-à-dire semblant correspondre au motif « hélice-tour-hélice » de ces facteurs de transcription (*m/s* n° 7, vol. 3, p. 428). D'autres gènes de développement de la drosophile ont ensuite été détectés qui, quoique ne correspondant pas à la définition d'un gène homéotique, contenaient néanmoins des « boîtes homéo » pouvant être classées en plusieurs types. La conservation au cours de l'évolution des espèces de ces différents types de « boîtes homéo » a permis, grâce à l'hybridation à l'aide de sondes d'ADN spécifiques de ce domaine, d'isoler de nombreux « homéogènes » chez les mammifères aussi bien que dans des organismes eucaryotes plus simples tel le ver *Caenorhabditis elegans*. Dans d'autres cas, c'est l'analyse de la séquence nucléotidique d'un gène cloné par d'autres moyens qui permet de retrouver des éléments ressemblant plus ou moins vaguement à des « boîtes homéo ». C'est ainsi qu'a été très récemment isolé et caractérisé le gène *unc-86* de *C. elegans* [1]. Les mutants *unc-86* ont un développement anormal de leurs précurseurs des cellules neuronales. Normalement, une cellule mère de cette lignée se différencie en deux cellules filles aux destins différents de celui de la cellule mère. Chez les mutants *unc-86*, la cellule mère donne deux cellules filles dont une lui ressemble complètement ; cette dernière aura

elle-même une de ses cellules filles qui lui sera identique. Le gène *unc-86* a été cloné par la technique de « marche sur le chromosome » qui consiste à partir d'un locus connu pour atteindre un gène inconnu situé à proximité (*m/s* n° 6, vol. 3, p. 363). Le gène *unc-86* peut coder pour une protéine de 467 acides aminés comportant, du côté carboxy-terminal, un domaine homéo de 60 bases assez différent des boîtes homéo des gènes de drosophile (de 27 à 38 % d'analogie).

Tout à fait indépendamment de ces travaux, les ADN complémentaires codant pour trois facteurs transcriptionnels de mammifères ont été isolés. GHF-1/Pit-1 (*growth hormone factor 1/pituitary specific factor 1*) a été décrit comme un facteur ayant la

capacité de se lier en des sites multiples des promoteurs des gènes de l'hormone de croissance [2] et de la prolactine [3]*. En fait, GHF-1 et Pit-1 ont été étudiés séparément, le premier par l'équipe de M. Karin (Université de Californie, San Diego, USA) travaillant sur le gène de l'hormone de croissance et le second par l'équipe de M.G. Rosenfeld (Howard Hughes Institute, également à San Diego) travaillant sur le gène de la prolactine. Les deux équipes utilisant des techniques différentes de criblage de banque d'ADNc, semblent bien avoir isolé des clones codant pour la même protéine de 33 kDa (kilodaltons), activateur transcriptionnel des gènes possédant dans leur promoteur des sites de fixation pour cette protéine. GHF-1/Pit-1 et son

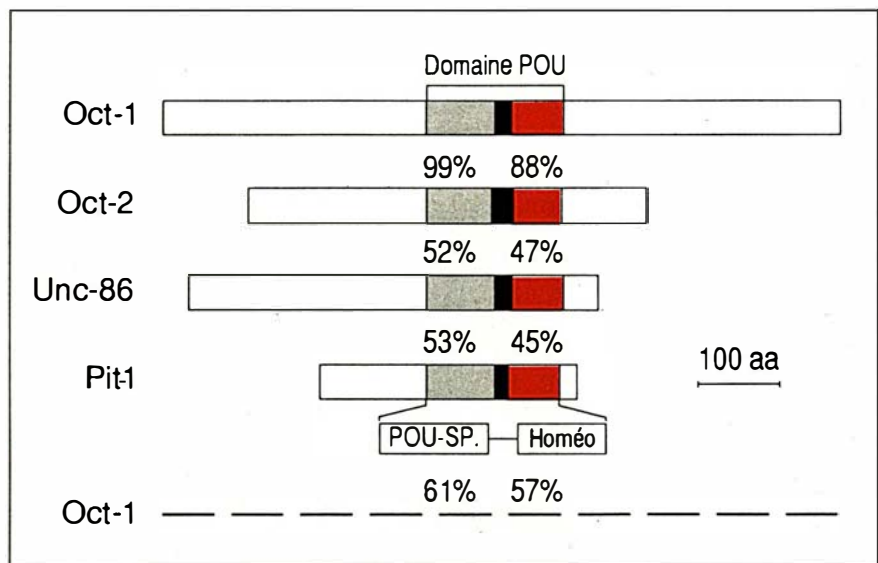


Figure 1. Le domaine POU dans trois facteurs transcriptionnels et le produit d'un gène de développement de *C. elegans*. En rouge, le domaine « homéo » ; en gris, le domaine « POU-spécifique ». Les pourcentages de similitudes entre les sous-domaines des protéines différentes sont indiqués entre les schémas correspondant à chacune d'entre elles (par exemple, le domaine POU-spécifique d'Oct-1 est à 99 % similaire à celui d'Oct-2 et à 61 % similaire à celui de Pit-1). (Tiré de [10].)

* En fait, le laboratoire de Michael Karin a montré que GHF-1 et le facteur stimulant le gène de prolactine pourraient être différents. Dans un très récent article (*Science*, 10 février 1989, vol. 243, p. 814), J.-L. Castrillo et al. indiquent que M.G. Rosenfeld et ses collaborateurs [3] auraient pu cloner l'ADNc correspondant au facteur du gène de l'hormone de croissance et non à celui du gène de la prolactine... ce qui expliquerait que Pit-1 = GHF-1 !

messager ne sont trouvés que dans les cellules corticotropes et lactotropes de l'hypophyse. Des cellules indifférenciées préalablement transfectées avec l'ADNc codant pour GHF-1/Pit-1 sont capables d'utiliser les promoteurs des gènes de prolactine et d'hormone de croissance, ce qui démontre le caractère essentiel de cette protéine dans l'activation spécifique de ces gènes. Cependant, le promoteur du gène de l'hormone de croissance est inactif dans des cellules lactotropes alors même qu'elles synthétisent GHF-1/Pit-1. Ce dernier résultat suggère que les cellules lactotropes n'expriment que le gène de la prolactine, et pas celui de l'hormone de croissance, parce que ce dernier est inhibé par un facteur particulier. L'inverse explique probablement que les cellules corticotropes, quoiqu'elles contiennent le facteur GHF-1/Pit-1 aussi bien que les cellules lactotropes, expriment le gène de l'hormone de croissance et non celui de la prolactine.

Oct-1 (encore appelé NFA-1, NF-3, OTF-1 et OBP 100!) et Oct-2 (connu sous le nom de NFA-2 et OTF-2) sont des protéines qui reconnaissent un élément d'ADN appelé octamère et présent au niveau de très nombreux promoteurs (notamment ceux des gènes d'immunoglobuline) et *enhancers* (notamment celui du gène des chaînes lourdes d'immunoglobuline).

Oct-1 est de distribution ubiquitaire alors que Oct-2 (et son messager) ne sont détectés que dans les cellules lymphocytaires B. Des répétitions de l'élément « octamère » se comportent comme des « *enhancers* » spécifiquement actifs dans les lymphocytes B. On considère ainsi que Oct-2 est un activateur transcriptionnel très spécifique des cellules B alors que Oct-1 serait un facteur transcriptionnel ubiquitaire actif en coopération avec d'autres protéines se fixant au niveau de certains promoteurs.

Les ADNc codant pour Oct-1 [4] et Oct-2 [5-9] ont été isolés en utilisant des oligonucléotides de synthèse qui soit ont été déduits de la séquence protéique, soit contenaient plusieurs versions de l'élément « octamère ». Dans le premier cas, les sondes oligonucléotidiques hybridait avec l'ADNc cloné alors que dans le second elles se fixaient aux protéines

synthétisées par les clones bactériens contenant l'ADNc dans un « vecteur d'expression ». GHF-1/Pit-1, Oct-1 et Oct-2, comme la protéine Unc-86, ont un domaine homéo d'une soixantaine de bases qui est bien plus similaire entre ces différents gènes qu'il ne l'est à ceux des gènes de drosophile (les similitudes vont de 45 % à 88 % entre les domaines « homéo » des protéines étudiées ici). A une distance variable du domaine homéo, on trouve un autre bloc de 75 acides aminés, de 50 % à 99 % identique dans les quatre protéines (figure 1). L'ensemble de cette région, d'environ 150 bases, a été appelé POU (Pit-1-Oct-Unc) [10]. De nombreux arguments indiquent que le domaine POU correspond à la région de ces protéines spécialisées dans la fixation aux éléments cibles d'ADN : les analogies entre les domaines « homéo » et la région du répresseur du phage λ se liant à l'ADN ; la conservation presque totale de la séquence des deux domaines « homéo » et « POU spécifique » des protéines Oct-1 et Oct-2 qui reconnaissent le même élément d'ADN ; plus directement, enfin, la démonstration que la modification des deux domaines de POU dans Oct-1 altère l'aptitude de cette protéine à se lier à l'élément d'ADN « octamère » [11]. Le modèle qui émerge de ces résultats est celui d'une région protéique contactant spécifiquement l'ADN par un domaine basique reproduisant un motif « hélice-tour-hélice » (domaine « homéo ») et par un autre domaine protéique plus acide (« POU spécifique ») relié au précédent par une charnière variable et faisant contact avec l'ADN d'une manière indéterminée.

Plusieurs questions... et plusieurs voies de recherche émergent de cette masse de résultats nouveaux. Tout d'abord, comment peut-on concevoir qu'un même type de domaine protéique de liaison avec l'ADN intervienne dans des processus de régulation aussi différents que le développement embryonnaire, l'activation de gènes particuliers au cours de la différenciation cellulaire et la stimulation transcriptionnelle de gènes d'expression ubiquitaire ? Il semble que les protéines Oct soient capables de reconnaître une très

grande diversité de séquences d'ADN ne ressemblant parfois que vaguement au motif « octamère » habituel [12]. Symétriquement, ce motif octamère peut être reconnu par des protéines multiples... notamment des produits de gènes homéotiques de drosophile [13]. La rationalité de tout ceci est probablement que l'information donnée à un promoteur doit toujours être le résultat d'une « combinatoire » engendrée par les interactions variables entre des protéines actives sur la transcription. Un même facteur complexé avec des protéines différentes va transmettre au promoteur une commande différente ; il pourra aussi, selon la nature du complexe auquel il participe, reconnaître des cibles d'ADN variant légèrement. Évidemment, une famille de protéines reconnaissant le même type de séquence d'ADN mais possédant des régions d'interactions protéine-protéine et de modulation transcriptionnelle variées vont pouvoir intervenir dans des processus extrêmement différents.

Un très bon exemple de cela est constitué par la « reprogrammation » de Oct-1 lorsqu'il fixe la protéine Vmw65 codée par le virus *Herpes simplex*. Vmw65 ne se fixe pas à l'ADN par elle-même. Elle active cependant en *trans* les promoteurs des gènes d'expression précoce du virus herpes et, plus généralement, des promoteurs contenant un motif « octamère ». Cette activation se fait grâce à la formation d'un complexe Oct-1/Vmw65 [14].

Un tel modèle du contrôle de l'expression des gènes par un ensemble de protéines interactives dont la nature et l'abondance changent progressivement au cours du développement rend probablement compte de la flexibilité nécessaire au bon déroulement du programme d'expression génétique. On conçoit comment ce mécanisme peut expliquer à la fois la progressivité de certains changements (la nature du contrôle assuré par une même protéine à deux stades successifs de la différenciation est modulée par son interaction avec d'autres facteurs), et la soudaineté d'autres modifications qui sont du type « commutation » avec extinction d'un gène et activation d'un autre. Dans ce cas, l'apparition ou la disparition d'un « différenciateur »

tel HNF-1 dans le foie (*m/s* n° 2, vol. 4, p. 119), et ici, peut-être GHF-1/Pit-1 et Oct-2 est probablement en cause.

Axel Kahn

RÉFÉRENCES

1. Finney M, Ruvkun G, Horvitz HR. The *C. elegans* cells lineage and differentiation gene *unc-86* encodes a protein with a homeo-domain and extended similarities to transcription factors. *Cell* 1988; 55: 757-69.
2. Bodner M, Castrillo JL, Theill LE, Deerinck T, Ellisman M, Karin M. The pituitary specific transcription factor GHF-1 is a homeobox-containing protein. *Cell* 1988; 55: 505-18.
3. Ingraham HA, Chen R, Mangalam HJ, et al. A tissue-specific transcription factor containing a homeodomain specifies a pituitary phenotype. *Cell* 1988; 55: 519-29.
4. Sturm RA, Das G, Herr W. The ubiquitous octamer-binding protein Oct-1 contains a POU domain with a homeo subdomain. *Genes Dev* 1988; 2: 1582-99.
5. Clerc RG, Carcoran L, Le Bowitz JH, Baltimore D, Sharp PA. The B-cell-specific Oct-2 protein contains POU-box and homeobox type domains. *Genes Dev*. 1988; 2: 1570-81.
6. Ko HS, Fast P, McBride W, Staudt LM. A human protein specific for the immunoglobulin octamer DNA motif contains a functional homeobox domain. *Cell* 1988; 55: 135-44.
7. Staudt LM, Clerc RG, Singh H, Le Bowitz JH, Sharp PA, Baltimore D. Cloning a lymphoid-specific cDNA encoding a protein binding the regulatory octamer DNA motif. *Science* 1988; 241: 577-80.
8. Scheidereit C, Cromlish JA, Gerster T, et al. A human lymphoid-specific transcription factor that activates immunoglobulin genes is a homeobox protein. *Nature* 1988; 336: 551-7.
9. Müllet MM, Ruppert S, Schaffner W, Matthias P. A cloned octamer transcription factor stimulates transcription from lymphoid-specific promoters in non-B-cells. *Nature* 1988; 336: 544-51.
10. Herr W, Sturm RA, Clerc RG, et al. The POU domain: a large conserved region in the mammalian *pit-1*, *oct-1*, *oct-2* and *C. elegans* *unc-86* gene products. *Genes Dev* 1988; 2: 1513-6.
11. Sturm RA, Herr W. The POU domaine is a bipartite DNA-binding structure. *Nature* 1988; 336: 601-4.
12. Boumruber T, Sturm R, Herr W. OBP 100 binds remarkably degenerate octamer motif through specific interactions with flanking sequences. *Genes Dev*. 1988; 2: 1400-13.
13. Thali M, Müller MM, De Lorenzi M, Matthias P, Bienz M. Drosophila homeotic genes encode transcriptional activators similar to mammalian OTF-2. *Nature* 1988; 336: 598-601.
14. O'Hare P, Goding CR. Herpes simplex virus regulatory elements and the immunoglobulin octamer domain bind a common factor and are both targets for virion transactivation. *Cell* 1988; 52: 435-45.

BRÈVES

Les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules suppressives sont peut-être une seule et même population. A côté des cellules T cytotoxiques et des cellules accessoires, une autre population a été définie depuis plusieurs années: celle des lymphocytes T suppresseurs, qui n'ont cependant jamais été caractérisés autrement que par leur fonction (la suppression d'une réponse immune); aucun clone de cellules suppressives n'a en effet pu être isolé, empêchant par conséquent de caractériser les « marqueurs » spécifiques de ces cellules. Une équipe américano-canadienne (Bethesda, MD, USA et Toronto, Ontario, Canada) vient de montrer que la stimulation de lymphocytes de souris par un antigène soluble contre lequel le donneur a été immunisé induit l'apparition de nombreuses cellules cytotoxiques portant les marqueurs CD4 ou CD8. Les deux types de cellule reconnaissent des épitopes de l'antigène immunisant, présentés dans le contexte de molécules du CMH de classe II, ce qui constitue une importante exception à la règle selon laquelle les cellules cytotoxiques CTL (*cytotoxic T lymphocytes*) sont « restreintes » par le CMH de classe I (c'est-à-dire reconnaissent des antigènes présentés par des molécules de classe I). Ces CTL lysent des lymphocytes B présentant l'épitope antigénique [1]. On peut donc concevoir que les cellules B fixent l'antigène au niveau de leur immunoglobuline de surface, internalisent le complexe et le dégradent, puis présentent à leur surface un peptide dérivé de l'antigène, par l'intermédiaire de leurs molécules de classe II. Ces lymphocytes B deviennent ainsi des cibles des CTL spécifiques de l'épitope considéré, présenté par les molécules de classe II; leur lyse aboutit à « supprimer » la réponse immune. Il est probable qu'un phénomène similaire puisse exister au niveau de lymphocytes T présentateurs d'antigènes [2] qui pourraient aussi devenir la cible de lymphocytes cytotoxiques qui

seraient en fait les élusives cellules suppressives décrites depuis longtemps.

[1. Shinohara N, et al. *Nature* 1988; 336: 481-4.]

[2. Lanzavecchia A, et al. *Nature* 1988; 334: 530-2.]

La délétion clonale des cellules T autoréactives au cours de l'établissement de la tolérance immunitaire se fait avant l'entrée des cellules dans la medulla thymique. Nous avons récemment discuté des mécanismes de la double sélection, positive puis négative, des cellules T dans le thymus au cours de l'« apprentissage » du système immunitaire (*m/s* n° 10 vol. 4, p. 656). Nous avons fait l'hypothèse, fondée sur les résultats du plus grand nombre d'équipes, que la délétion clonale des clones autoréactifs se produisait dans la medulla thymique. Cette hypothèse vient d'être infirmée par des équipes suisses de Zürich et de Lausanne [1]. Un anticorps monoclonal reconnaît spécifiquement l'idiotype correspondant à la partie variable V β 6 du gène de la chaîne β du récepteur $\alpha\beta$ des lymphocytes T. Le segment V β 6 est fonctionnellement réarrangé dans le gène β des lymphocytes T spécifiques d'un antigène particulier, Mls^a. Chez les souris qui expriment Mls^a, l'anticorps détecte de nombreuses cellules positives dans le cortex thymique, mais pas dans la medulla alors que, chez les souris qui n'expriment pas Mls^a, les cellules positives sont trouvées dans la medulla aussi bien que dans le cortex. Les auteurs [1] suggèrent que la délétion clonale pourrait intervenir à l'interface entre le cortex et la medulla, région riche en cellules dendritiques présentant l'antigène. Ces cellules dendritiques pourraient soit avoir un rôle actif, soit déclencher le déroulement d'un programme suicide dans les lymphocytes T reconnaissant l'antigène avec une forte affinité.

[1. Hengartner H, et al. *Nature* 1988; 336: 388-90.]