

N-CoR et SMRT sont des corépresseurs transcriptionnels des récepteurs des hormones thyroïdiennes et de l'acide rétinoïque

Les récepteurs des hormones thyroïdiennes (TR) et de l'acide rétinoïque (RAR) font partie d'une superfamille de facteurs transcriptionnels hormono-dépendants [1]. Ces récepteurs se lient à l'ADN, préférentiellement sous forme d'hétérodimères avec le récepteur de l'acide 9-cis rétinoïque (RXR), sur des séquences présentant généralement deux motifs AGGTCA en répétition directe (*direct repeat*) (DR) [2]. L'espacement entre les répétitions est variable (DR1 à 5) et il conditionne la nature du dimère capable de se fixer ainsi que la polarité de fixation dans le cas des hétérodimères RAR/RXR ou TR/RXR [3, 4] (*figure 1A*).

Une des particularités de TR et de RAR est la capacité à réprimer activement la transcription (*silencing*) en absence d'hormone [5]. Cette observation avait été initialement faite pour v-ErbA, la version oncogénique de TR, qui a perdu la capacité de lier l'hormone et fonctionne alors comme un répresseur constitutif de la transcription [6]. Cette activité inhibitrice localisée dans le domaine C-terminal des récepteurs est transférable, puisque la fusion des domaines correspondant de TR, RAR ou v-ErbA au domaine de liaison à l'ADN de Gal4 engendre des répresseurs transcriptionnels [5]. En fait, il a été montré que la région située en N-terminal du domaine de liaison de l'hormone (région charnière ou *hinge region*) est nécessaire pour l'activité répressive, probablement en permettant le recrutement de corépresseurs cellulaires [7].

Les groupes de Glass [8] et Evans [9] (La Jolla, Californie, USA) ont récemment publié le clonage de deux nouveaux facteurs, N-CoR (pour *Nuclear receptor Co-Repressor*) et SMRT (pour *Silencing Mediator for Retinoid and Thyroid hormone receptors*),

capables de relayer cette activité répressive en l'absence du ligand, et d'expliquer les différences d'activité des hétérodimères RAR/RXR observées en fonction de la nature du site de liaison. Ces deux facteurs ont été isolés en utilisant le système du double hybride, avec comme appât, soit le domaine de liaison de l'hormone de TR β pour N-CoR, soit RXR pour SMRT [10]. Dans la levure, ces protéines interagissent préférentiellement avec TR et RAR en l'absence d'hormone. Aucune interaction spécifique n'a été observée avec RXR ou d'autres membres de la superfamille des récepteurs nucléaires. *In vitro*, dans des expériences de précipitation à la GST ou par *far-western blot**, l'association de SMRT est aussi diminuée en présence de ligand. En revanche, il semble que la dissociation de N-CoR sous l'effet du ligand nécessite une conformation particulière du récepteur obtenue seulement après liaison à certains éléments de réponse (voir dernier paragraphe).

En introduisant dans la région charnière de TR une mutation ponctuelle, initialement caractérisée dans un variant de v-ErbA incapable de réprimer la transcription, il a été possible de corrélérer l'absence d'activité *trans*-répressive avec l'incapacité à lier SMRT. Pour N-CoR, des expériences de mutagenèse dirigée ont permis de cartographier le site de liaison, appelé « *CoR Box* », entre les acides aminés 203 et 230 sur le récepteur TR β 1. La mutation de plusieurs de ces résidus qui sont conservés entre TR et RAR abolit également la liaison de N-CoR sur TR et engendre un récepteur

dépourvu d'activité inhibitrice. Les structures de N-CoR (2 453 résidus; 270 kDa) et de SMRT (1 495 résidus; 168 kDa) semblent très peu conservées bien que, dans la région C-terminale, les deux protéines présentent environ 50 % d'analogie. Cette partie de la molécule est nécessaire à la fixation sur les récepteurs et pour N-CoR, le site a été localisé entre les résidus 2 255 et 2 300 (*figure 1B*).

Afin de démontrer que ces protéines avaient réellement le potentiel d'agir en tant que corépresseurs de TR et de RAR, il fallait prouver qu'elles contenaient une activité répressive intrinsèque. Cela a été obtenu en fusionnant diverses régions de N-CoR ou SMRT à un domaine hétérologue de liaison à l'ADN et en montrant que les protéines chimères ainsi produites sont capables d'inhiber la transcription de 15 à 25 fois. Pour N-CoR, il semble même qu'il existe deux domaines répresseurs situés en N-terminal de la molécule (acides aminés 1-312 et 752-1016; *figure 1B*).

Le groupe de Glass et Rosenfeld [11] a écrit une page supplémentaire de l'histoire de N-CoR en montrant que ce facteur corépresseur est vraisemblablement responsable des variations d'activité transcriptionnelle des hétérodimères RAR/RXR observées en fonction de la polarité de liaison à l'ADN [3, 4]. Les auteurs montrent d'abord que les coactivateurs potentiels que sont les protéines RIP140 et RIP160 [12] sont recrutés, en présence de ligand, de manière identique, que la séquence soit de type DR1 ou DR5. De plus, sur un élément DR5, qui permet la fixation de RAR en 3' du site et une stimulation de la transcription en réponse à des ligands de RAR, il y a dissociation de N-CoR sous l'effet du ligand. En revanche, lorsque RAR se lie sur la partie amont d'un élément de type DR1,

* Détection de protéines séparées par électrophorèse, puis transférées sur filtre, à l'aide d'une protéine-ligand marquée.

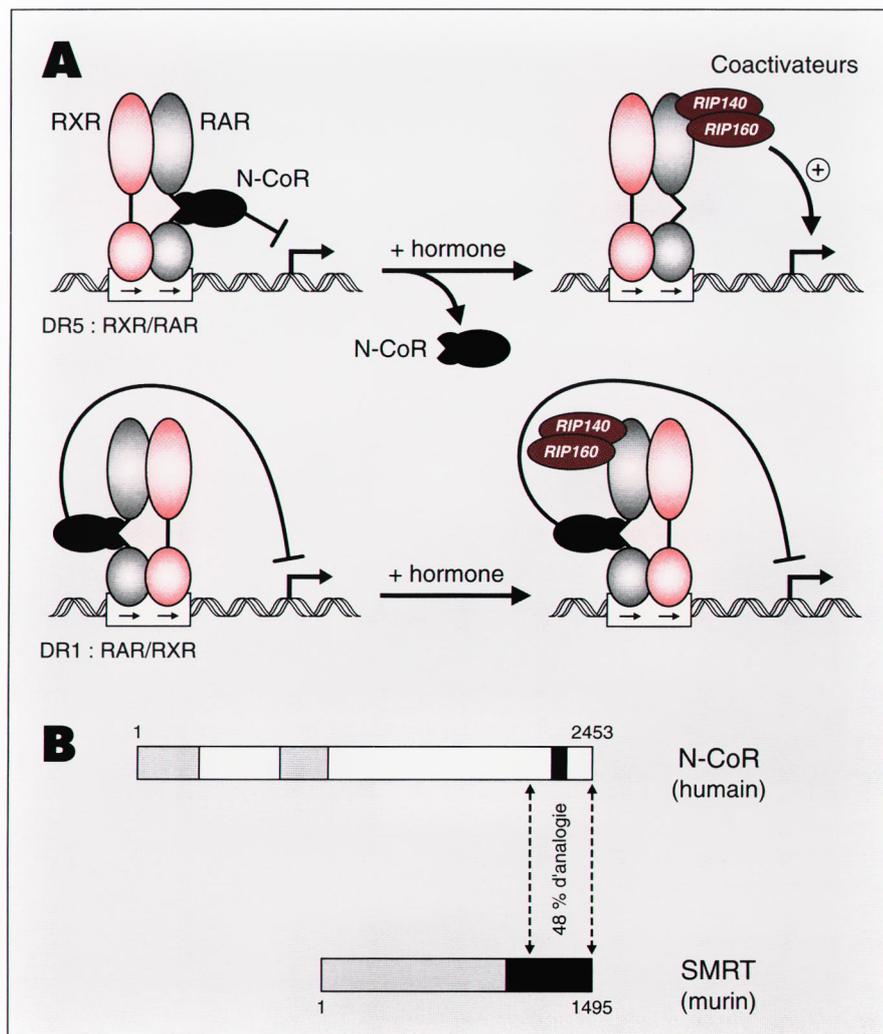


Figure 1. **A. Représentation schématique des interactions entre les hétérodimères RAR/RXR et les facteurs qui modulent leur activité transcriptionnelle (d'après [10]).** Les coactivateurs transcriptionnels potentiels que sont RIP140 et RIP160 sont recrutés seulement en présence de ligand de RAR et cela indépendamment de la nature de l'élément de réponse. En revanche, la dissociation de N-CoR (en noir) en présence du ligand n'a lieu que lorsque les récepteurs adoptent une conformation particulière obtenue après liaison sur un élément de type DR5 (où RAR est en position aval). La non-dissociation du corépresseur lorsque l'hétérodimère est fixé sur un élément DR1 (où RAR est alors positionné en amont) expliquerait l'absence de transactivation observée. **B. Structure des corépresseurs N-CoR et SMRT.** Les chiffres indiquent les coordonnées en acides aminés. Les domaines permettant la fixation sur les récepteurs sont représentés par les boîtes noires et ceux renfermant l'activité inhibitrice par les boîtes grises. La région qui présente des analogies de séquence entre N-CoR et SMRT est délimitée par les flèches.

l'hétérodimère RAR/RXR n'est alors que peu ou pas actif du point de vue transcriptionnel. Cette absence de transactivation s'expliquerait par le fait que, sur un site DRI, N-CoR reste associé au récepteur même en présence de ligand (figure 1A). Le fait qu'un mutant de RAR, incapable de lier N-CoR, puisse stimuler la transcription même après fixation sur un DRI confirme le rôle dominant de ce corépresseur sur l'activité du récepteur. Il est clair que la caractérisation des médiateurs de l'activité transcriptionnelle des récepteurs nucléaires (corépresseurs et coactivateurs) est une avancée importante dans la compréhension, au niveau moléculaire, des mécanismes de régulation hormonale de l'expression génique.

1. Parker MG. Steroid and related receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1993; 5: 499-504.
2. Glass CK. Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers, and heterodimers. *Endocrine Rev* 1994; 15: 391-407.
3. Kurokawa R, DiRenzo J, Boehm M, Sugarman J, Gloss B, Rosenfeld MG, Heyman RA, Glass CK. Regulation of retinoid signalling by receptor polarity and allosteric control of ligand binding. *Nature* 1994; 371: 528-31.
4. Zechel C, Shen XQ, Chen JY, Chen ZP, Chambon P, Gronemeyer H. The dimerization interfaces formed between the DNA-binding domains of RXR, RAR and TR determine the binding-specificity and polarity of the full-length receptors to direct repeats. *EMBO J* 1994; 13: 1425-33.
5. Baniahmad A, Kohne AC, Renkawitz R. A transferable silencing domain is present in the thyroid hormone receptor, in the v-erbA oncogene product and in the retinoic acid receptor. *EMBO J* 1992; 11: 1015-23.
6. Damm K, Thompson C, Evans RM. Protein encoded by v-erb A functions as a thyroid-hormone receptor antagonist. *Nature* 1989; 339: 593-7.

7. Baniahmad A, Leng X, Burris TP, Tsai SY, Tsai M, O'Malley BW. The T4 activation domain of the thyroid hormone receptor is required for release of a putative corepressor(s) necessary for transcriptional silencing. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 76-86.
8. Horlein AJ, Naar AM, Heinzl T, Torchia J, Gloss B, Kurokawa R, Ryan A, Kamei Y, Soderstrom M, Glass CK, Rosenfeld MG. Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor. *Nature* 1995; 377: 397-404.
9. Chen JD, Evans RM. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors. *Nature* 1995; 377: 454-57.
10. Plessis A, Camonis JH. Le système double hybride, mode d'emploi. *médecine/sciences* 1994; 10: I-IX.
11. Kurokawa R, Soderstrom M, Horlein A, Halachmi S, Brown M, Rosenfeld MG, Glass CK. Polarity-specific activities of retinoic acid receptors determined by a co-repressor. *Nature* 1995; 377: 451-4.
12. Cavaillès V. A la recherche de modulateurs de l'activité transcriptionnelle des récepteurs nucléaires. *médecine/sciences* 1996; 12: 229-33.

V.C.