

Le protéasome limite la transcription dans les cellules souches embryonnaires

Henrietta Szutorisz, Niall Dillon, Laszlo Tora



► La régulation précise de la transcription au cours du développement est cruciale pour l'établissement et le maintien du profil d'expression des gènes spécifiques de tissus chez les eucaryotes supérieurs. Les cellules souches embryonnaires (ES) ont la capacité d'activer tous les programmes d'expression de gènes somatiques pendant leur différenciation, et, par conséquent, sont capables de produire tous les types de cellules différenciées de l'organisme. Cette propriété, nommée pluripotence, soulève des questions importantes sur la façon dont la compétence transcriptionnelle des gènes spécifiques de tissus est maintenue dans les cellules ES. Plusieurs études montrent que, dans les cellules ES, des gènes spécifiques de tissus sont déjà « préparés » alors même que leur transcription ne se déroulera que plus tard au cours du développement. Cet état de compétence, où les gènes sont « préparés » mais ne sont pas encore exprimés, est important pour maintenir la pluripotence des cellules ES et empêcher leur différenciation [1, 2]. De plus, la chromatine des cellules ES est généralement considérée comme hyperdynamique [3]. Dans les cellules ES, certaines régions du génome contiennent des modifications dites « actives » des histones qui forment des marques précoces de compétence transcriptionnelle [4, 5]. Il a été montré que ces marques épigénétiques constituent des sites de recrutement de facteurs de transcription alors même que ces gènes ne sont pas encore transcrits [4, 5] (Figure 1).

Les modifications de la chromatine, le recrutement des facteurs généraux de transcription (GTF) comme TFIIA-H et l'assemblage du complexe de pré-initiation (PIC) à partir des GTF sont les points de régulation principaux de la transcription, parce qu'ils indiquent où et quand la transcription par l'ARN polymérase II (Pol II) sera initiée [6, 7]. Dans les cellules ES, caractérisées par un environnement chromatinien permissif, le contrôle de la formation du PIC est donc encore plus crucial que dans des cellules différenciées. De plus, l'environnement permissif de la chromatine dans des cellules ES suggère l'existence de mécanismes limitant la liaison non spécifique des facteurs de transcription. Le protéasome a été récemment impliqué dans le contrôle dynamique de la liaison des facteurs de transcription aux promoteurs des gènes actifs [8]. Le protéasome 26S est un complexe multiprotéique très conservé exerçant une activité protéasique et jouant un rôle central dans le contrôle de la stabilité des protéines dans les cellules eucaryotes. Le complexe 26S est organisé en deux sous-complexes, le noyau protéolytique 20S et la particule régulatrice 19S. Le complexe 19S est lui-même fait de deux composants, la base et le couvercle. La base contient des ATPases et des sous-unités non enzymatiques, et le couvercle les protéines qui semblent être responsables de la liaison spécifique des substrats [9]. Bien que leur chromatine soit largement ouverte et considérée comme

L. Tora : Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), CNRS UMR7104, Inserm U596, Université Louis Pasteur, 67400 Illkirch, France.

laszlo@igbmc.u-strasbg.fr

H. Szutorisz : Stowers Institute for Medical Research, 1000 East 50th Street, Kansas City, MO 64110, États-Unis.

hsz@stowers-institute.org

N. Dillon : Gene Regulation and Chromatin Group,

MRC Clinical Sciences Centre, Faculty of Medicine, Imperial College, Hammersmith Hospital Campus, Du Cane Road, London W12 0NN, Royaume-Uni.

niall.dillon@csc.mrc.ac.uk

permissive, les cellules ES ne permettent pas la transcription d'une variété de gènes codant pour des facteurs de différenciation cellulaire, ni l'initiation cryptique à partir de régions intergéniques. Ces observations nous ont incité à formuler l'hypothèse selon laquelle le protéasome pourrait contrôler, dans les cellules ES, les processus de transcription non désirés de régions intergéniques ou de gènes de différenciation [10]. Pour évaluer cette hypothèse, nous avons sélectionné le locus $\lambda 5$ -VpréB1¹, qui n'est pas actif dans les cellules ES, mais est activé pendant les phases précoces de différenciation des progéniteurs des lymphocytes B. Quand des inhibiteurs chimiques du protéasome, ou des ARN interférents inhibant l'expression des sous-unités du protéasome, sont ajoutés aux cellules ES, nous avons observé une augmentation de la transcription de certaines régions intergéniques dans le locus $\lambda 5$ -VpréB1 dans ces cellules. Nous avons également observé que l'inhibition du protéasome dans les cellules ES déclenche l'apparition de nouveaux sites d'initiation de la transcription [10]. Cet effet n'est pas vu dans des cellules diffé-

¹ Chez la souris, ce gène contrôle l'expression d'une protéine qui s'associe à la chaîne lourde μ des immunoglobulines, intracytoplasmique, et permet l'expression du pré-BCR à la surface des précurseurs B. En son absence, la différenciation est bloquée.



renciées, suggérant qu'il est spécifique aux cellules ES.

Pour explorer plus en détail le rôle du protéasome dans la transcription, nous avons examiné si l'inhibition de son activité aurait un effet direct sur la liaison du PIC ou des facteurs de remodelage de la chromatine au locus $\lambda 5$ -VpreB1, et plus particulièrement aux régions intergéniques dont la transcrip-

tion est anormale lorsque le protéasome est inhibé. En effet, nous avons constaté que les facteurs comme TBP (sous-unité du complexe TFIIID qui fait partie du PIC), Brg1 (*brahma-related gene 1*, sous-unité du complexe de remodelage de la chromatine SWI/SNF), TRRAP (*transformation/transcription domain-associated protein*, sous-unité des complexes de remodelage de la chromatine STAGA/

TFTC ou NuA4/TIP60), ainsi que la Pol II n'étaient liés à ces régions qu'après l'inhibition du protéasome. Nous avons ensuite démontré que les sous-unités du protéasome, aussi bien celles du 20S et du 19S, étaient liées au locus $\lambda 5$ -VpreB1 dans des conditions normales. De plus, nous avons constaté que ce processus était très dynamique et dépendant de l'activité du protéasome [10].

Nous avons également analysé, dans des cellules ES, les effets de l'inhibition du protéasome sur deux locus additionnels, ceux des gènes de la β -globine et de HoxD4, dont l'expression est régulée pendant le développement. Comme c'était le cas pour le locus $\lambda 5$ -VpreB1, l'inhibition du protéasome entraîne également une augmentation de la transcription de ces deux locus et de la liaison des facteurs de transcription, suggérant que ce mécanisme s'applique peut-être à beaucoup d'autres régions génomiques des cellules ES [10].

De plus, nos données indiquent que les activités des promoteurs sont sensiblement plus fortes dans les cellules ES que cela n'avait été précédemment décrit. Mais cette transcription est continuellement réprimée par le protéasome qui enlève les PIC assemblés sur des promoteurs cryptiques (*Figure 1*). Nous faisons l'hypothèse que, dans des régions inter- ou intragéniques des cellules ES, les PIC ont une conformation et/ou une composition modifiées par rapport à celles des PIC normaux; ces derniers peuvent être stabilisés par des activateurs spécifiques dans des cellules différenciées (*Figure 1*), alors que la structure anormale et non-spécifique de ces PIC dans les cellules indifférenciées de type ES en ferait des cibles pour la dégradation par le protéasome [11].

La répression de la transcription qu'exerce de façon non spécifique le protéasome ajoute une nouvelle dimension au contrôle de la pluripotence des cellules ES et identifie une fonction entièrement nouvelle pour le protéasome. Nos résultats suggèrent que les régions génomiques contenant des gènes spécifiques de lignées

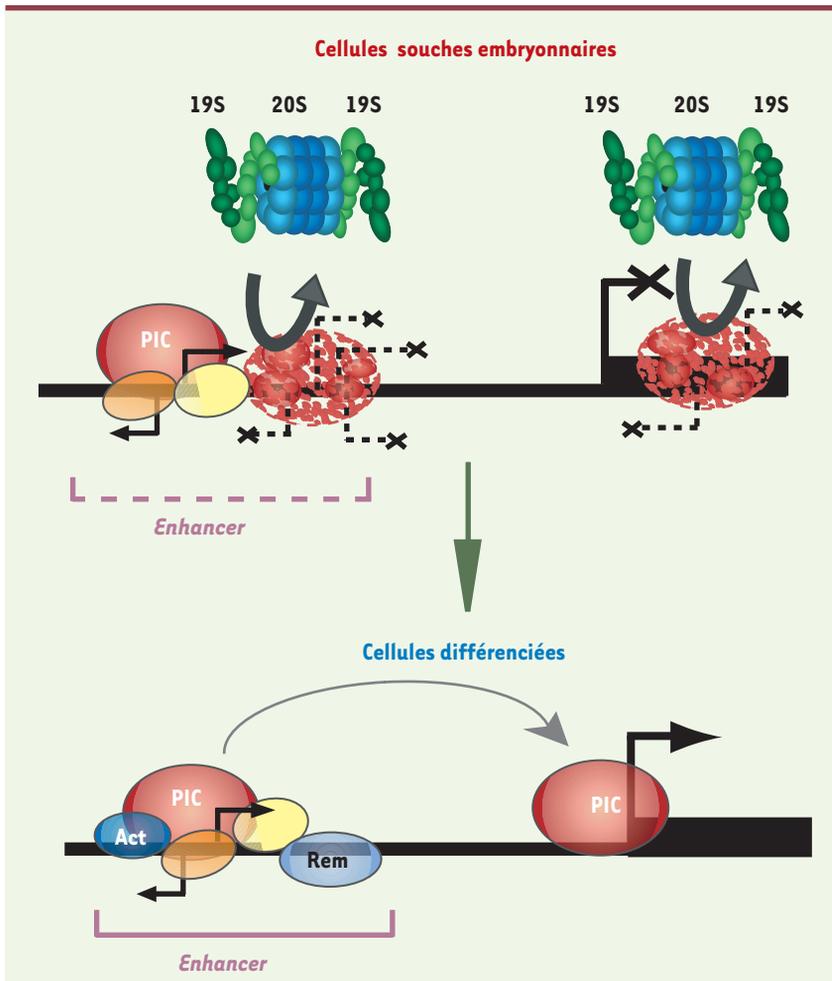


Figure 1. Modèle pour le contrôle de la transcription par le protéasome dans les cellules ES. Les gènes spécifiques de tissu contiennent des *enhancers* qui agissent comme centres de recrutement des facteurs de transcription [5]. Dans des cellules ES, le protéasome 26S (composé du noyau protéolytique 20S et du domaine régulateur 19S) cible les PIC non-spécifiques (rouge dégradé) assemblés sur des promoteurs cryptiques, pour empêcher la transcription inter- et intragénique (lignes pointillées). La conformation et/ou la composition anormale de ces PIC en ferait des cibles pour la dégradation par le protéasome. Dans les cellules différenciées, le recrutement des activateurs (Act) spécifiques de tissu au niveau des *enhancers* permet le remodelage de la chromatine par le recrutement des complexes de remodelage de la chromatine (Rem) et l'assemblage des PIC stables et normaux (rouge) sur les promoteurs des gènes spécifiques de tissus. Ceux-ci ne sont plus sujets à la dégradation par le protéasome.



de différenciation sont dans un état fortement dynamique dans les cellules ES : des facteurs se lient en permanence aux séquences régulatrices, mais sont enlevés par le protéasome. Ce contrôle est susceptible de maintenir les gènes spécifiques de tissus dans un état transcriptionnellement compétent, sans pour cela qu'ils soient transcrits, permettant ainsi leur activation rapide et efficace lors de la différenciation cellulaire. ♦

Suppression of non-specific transcription by the proteasome in embryonic stem cells

RÉFÉRENCES

1. Boyer LA, Lee TI, Cole MF, et al. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell* 2005 ; 122 : 947-56.
2. Szutorisz H, Dillon N. The epigenetic basis for embryonic stem cell pluripotency. *Bioessays* 2005 ; 27 : 1286-93.
3. Meshorer E, Yellajoshula D, George E, et al. Hyperdynamic plasticity of chromatin proteins in pluripotent embryonic stem cells. *Dev Cell* 2006 ; 10 : 105-16.
4. Szutorisz H, Canzonetta C, Georgiou A, et al. Formation of an active tissue-specific chromatin domain initiated by epigenetic marking at the embryonic stem cell stage. *Mol Cell Biol* 2005 ; 25 : 1804-20.
5. Szutorisz H, Dillon N, Tora L. The role of enhancers as centres for general transcription factor recruitment. *Trends Biochem Sci* 2005 ; 30 : 593-9.
6. Martinez E. Multi-protein complexes in eukaryotic gene transcription. *Plant Mol Biol* 2002 ; 50 : 925-47.
7. Muller F, Tora L. The multicoloured world of promoter recognition complexes. *EMBO J* 2004 ; 23 : 2-8.
8. Collins GA, Tansey WP. The proteasome: a utility tool for transcription? *Curr Opin Genet Dev* 2006 ; 16 : 197-202.
9. Groll M, Bochtler M, Brandstetter H, et al. Molecular machines for protein degradation. *ChemBiochem* 2005 ; 6 : 222-56.
10. Szutorisz H, Georgiou A, Tora L, et al. The proteasome restricts permissive transcription at tissue-specific gene loci in embryonic stem cells. *Cell* 2006 ; 127 : 1375-88.
11. Asher G, Reuven N, Shaul Y. 20S proteasomes and protein degradation "by default". *Bioessays* 2006 ; 28 : 844-9.

NOUVELLE

Nouveaux mécanismes régulateurs de Bcl10 Une avancée dans la compréhension de la survenue des lymphomes du MALT ?

Camille Lobry, Robert Weil

Unité de Signalisation Moléculaire et Activation Cellulaire,
URA 2582 Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Institut Pasteur,
25, rue du Docteur Roux,
75724 Paris Cedex 15, France.
rweil@pasteur.fr

> NF-κB et lymphomes du MALT

La voie de signalisation NF-κB (Figure 1) joue un rôle important dans les réponses immune, inflammatoire et anti-apoptotique, à la fois au cours des processus de différenciation (en particulier dans le système hématopoïétique) et de cancérogenèse [1]. Dans ce dernier cas, son implication est liée en grande partie à la présence, parmi ses gènes cibles, d'un grand nombre de gènes de résistance à l'apoptose, tels que *Bcl-XL*, *XIAP*, *AI1*, *lEX-1L* et *GADD45β* ainsi que de gènes impliqués dans la croissance tumorale, comme la cycline *D1* et le proto-oncogène *c-myc*.

Les lymphomes du MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*) sont un exemple de cancers impliquant NF-κB. Ce sont des formes hétérogènes de lymphomes non hodgkiniens impliquant une prolifération lymphoïde B dont l'origine est la zone marginale des follicules lymphoïdes associés aux muqueuses. Les lymphomes du MALT sont souvent

associés à une stimulation antigénique chronique impliquant les pathogènes suivants : *H. pylori* dans le lymphome du MALT gastrique, *C. jejuni* dans le lymphome du MALT intestinal, *B. burgdorferi* dans le lymphome du MALT cutané, et enfin très récemment *C. psittaci* dans le lymphome du MALT oculaire. Quatre translocations chromosomiques, t(11;18)(p21;q21), t(1;14)(p22q32), t(14;18)(q32;q21) et t(3;14)(p13;q32) sont spécifiquement associées aux lymphomes du MALT. Les translocations t(1;14)(p22q32) et t(14;18)(q32;q21) fusionnent respectivement le gène *BCL10* et le gène *MALT1* avec le promoteur des chaînes lourdes des immunoglobulines tandis que t(11;18)(p21;q21) fusionne les gènes *API2* et *MALT1*. Les produits des gènes *MALT1* et *BCL10* sont directement impliqués dans les voies de signalisation menant à l'activation de NF-κB par le récepteur des lymphocytes B (BCR) et le récepteur des lymphocytes T (TCR).

Des effecteurs communs aux voies du BCR (*B cell receptor*) et du TCR (*T cell receptor*) ont été identifiés [2] dont : (1) CARMA1, qui fait partie d'une famille caractérisée par la présence d'un domaine CARD (*caspase recruitment domain*) amino-terminal, d'un domaine *coiled-coil* et d'un motif carboxy-terminal « MAGUK » (*membrane-associated guanylate kinase*) contenant des motifs PDZ, SH3 et guanylate (GUK) ; (2) Bcl10, une protéine possédant un domaine homotypique CARD et un domaine riche en sérine et thréonine ; et (3) la paracaspase MALT1.

Différentes approches biochimiques et génétiques ont permis de déterminer l'ordre chronologique des événements conduisant à l'activation de NF-κB par le récepteur des lymphocytes T : dans un premier temps, CARMA1 est phosphorylée par PKCθ, ce qui permet le recrutement de Bcl10/MALT1 pour former le complexe CARMA1/Bcl10/MALT1 (CBM). Dans un deuxième temps, le complexe NEMO/IKK