



Formation du complexe d'initiation de la transcription : des facteurs généraux aux complexes qui déstabilisent la chromatine

**Frédéric Coin
Jean-Marc Égly**

F. Coin, J.M. Égly: Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Cnrs/Inserm, 1, rue Laurent-Fries, BP 163, 67404 Illkirch Cedex, Université Louis-Pasteur, Strasbourg, France.

► Il est désormais possible de décrire les composants qui permettent le démarrage de la transcription des gènes. Malgré le nombre et la diversité des sous-unités qui composent l'ARN polymérase II, le déclenchement spécifique de la transcription nécessite la présence de facteurs additionnels, pour aboutir à la formation du complexe de pré-initiation, responsable de la transcription de base du promoteur. L'expression des gènes est alors réglée par la reconnaissance de séquences spécifiques additionnelles par les facteurs correspondants. Ces activateurs, en association avec les co-activateurs, influent ainsi sur la machinerie transcriptionnelle de base. Enfin, l'ADN étant empaqueté sous forme de chromatine inerte dans le noyau, un ensemble de protéines modifiant ou remodelant le nucléosome est nécessaire pour transcrire un gène *in vivo*. ◀

Les réponses de notre organisme aux divers stimulus de l'environnement, le développement, la différenciation cellulaire et la transmission des signaux sont contrôlés par la réaction de transcription, l'une des étapes essentielles de l'expression des gènes. L'étude des mécanismes de régulation de la transcription a démarré en 1970 avec la découverte de l'ARN polymérase II (Pol II), l'enzyme responsable de la synthèse de l'ARN messager, et a bénéficié de l'essor des technologies de la biologie moléculaire. Les premiers travaux ont démontré que Pol II ne peut déclencher la synthèse de l'ARN qu'en présence d'un minimum de protéines additionnelles appelées facteurs généraux, et ont ainsi défini le système de la transcription de base. Au cours des années 1980, un niveau de complexité supplémentaire a été mis en évidence, faisant intervenir des mécanismes de régulation de cette transcription de base, il s'agit alors de la transcription réglée. Afin d'être spécifique, ce mode de régulation doit tenir compte de divers paramètres tels que le type cellulaire, la nature du gène à transcrire, ainsi que l'état environnemental. Le méca-

nisme de transcription, par ailleurs fort bien conservé de la levure à l'homme, nécessite donc un ensemble complexe d'interactions entre différents partenaires qui lui sont propres et/ou d'autres qui lui seront temporairement associés. Nous décrivons dans cet article ces différents partenaires et leur capacité d'interagir afin de permettre la formation du complexe de pré-initiation, étape préalable à la synthèse de l'ARN et par conséquent à l'expression d'une protéine.

Les promoteurs de classe II

La transcription des gènes de classe II démarre après la reconnaissance de séquences particulières de l'ADN, qui forment les éléments du promoteur, par des facteurs de transcription. Nous distinguerons, d'une part, un élément commun appelé promoteur minimal, reconnu par les facteurs généraux d'initiation de la transcription et, d'autre part, des éléments d'ADN spécifiques de certains gènes, reconnus par des facteurs de régulation de la transcription, qui, à leur tour, modulent la fonction des facteurs généraux.

TIRÉS À PART

J.M. Égly.

Les éléments du promoteur minimal sont définis comme les motifs d'ADN nécessaires et suffisants pour permettre un démarrage correct de la transcription par la Pol II, dans un système *in vitro*. Parmi ces éléments, la boîte TATA (dont la séquence consensus est TATAa/tAa/t) est l'un des plus communément retrouvés. Localisée à environ 30 nucléotides en amont du site d'initiation, la boîte TATA lie le facteur TFIID *via* l'une des sous-unités qui le composent, la protéine TBP (*TATA-binding protein*) (*m/s* 1998, n° 1, p. 93), et permet ainsi la formation du complexe de pré-initiation. L'initiateur (séquence consensus PyPyA₋₁N (T/A)PyPy) est composé d'une séquence peu conservée, contenant le site d'initiation, qui semble également être reconnue par le facteur TFIID. Dans ce cas, c'est un TAF (*TBP associating factor*), l'une des diverses protéines qui sont associées à TBP au sein de TFIID, qui reconnaît l'initiateur. En effet, TBP à lui seul est incapable de mettre en marche la transcription d'un promoteur ne contenant que la séquence Inr. Il semblerait qu'il existe également une séquence localisée en amont de la boîte TATA, appelée l'élément BRE (*TFIIB recognition element*) capable de fixer un autre facteur de transcription, appelé TFIIB. En l'absence de boîte TATA, certains promoteurs posséderaient une séquence faiblement conservée, appelée DPE (*downstream promoter element*), située à environ 30 nucléotides en aval du site d'initiation, et qui serait reconnue par TFIID.

La transcription mise en route *via* ce promoteur minimal peut être modulée par l'action de facteurs de transcription spécifiques, qui se fixent sur des séquences régulatrices situées *in cis*. Il existe deux classes de séquences régulatrices, les séquences proximales, localisées entre les positions -110 et -40 et les séquences distales, localisées à de très grandes distances du promoteur de base. Ces dernières peuvent activer (ce sont des *enhancers*) ou réprimer (ce sont des *silencers*) la transcription de base.

Les facteurs de base de la transcription des gènes de classe II

Comme nous venons de le voir, l'élément central de la transcription des

gènes de classe II est la RNA Pol II. Cette enzyme, constituée d'environ 12 sous-unités, n'est cependant pas capable de mettre en route la transcription de manière spécifique, sans la présence d'un certain nombre de facteurs de transcription de base, qui facilitent et règlent son action [1] (NB: sauf indications contraires, les informations suivantes concernent les facteurs généraux humains).

Le facteur TFIID est l'un des facteurs généraux les plus complexes, car il est impliqué dans différentes étapes liées au démarrage de la transcription, telles que la nucléation de la formation du complexe de pré-initiation *via* la reconnaissance de la boîte TATA, ou l'activation de la transcription de base *via* la liaison à divers facteurs d'activation. TFIID (composé de TBP et des TAF) est le premier facteur recruté lors du démarrage de la transcription. *In vitro*, TBP est suffisant pour transcrire un gène si son promoteur contient une boîte TATA. Les TAF, par leurs interactions avec les éléments Inr ou DPE, sont indispensables à la transcription de base des gènes dont les promoteurs ne contiennent pas de boîte TATA, mais ils participent également à la régulation de la transcription. La protéine TBP (38 kDa) possède un caractère ubiquitaire: c'est en effet le seul facteur de base impliqué dans la transcription des trois classes de gènes (ARN ribosomiques, ARN messagers et ARN de transfert). TBP est susceptible de s'associer à trois classes de TAF différents pour former les complexes SL1, TFIID ou TFIIB, qui participent à la transcription des gènes de classe I, II ou III, respectivement. Lors du démarrage de la transcription des gènes de classe II, TBP interagit avec différents facteurs généraux tels que TFIIB et TFIIA ainsi qu'avec le domaine CTD (*carboxy terminal domain*) non phosphorylé de Pol II. Nous verrons par la suite que TBP est également la cible de certains régulateurs de la transcription.

Le facteur TFIIB, d'un poids moléculaire de 35 kDa, interagit avec l'élément BRE du promoteur et le complexe TFIID/(TBP)-ADN pour permettre le recrutement de la Pol II. TFIIB semble également essentiel à la détermination du site +1 de la transcription [2]. Dans le cas de l'ARN polymérase III, un homologue de

TFIIB (Brf pour *TFIIB related factor*) est nécessaire à la transcription.

Le facteur TFIIA, dont la fonction est mal définie, a été purifié sous la forme d'un complexe contenant 3 polypeptides de poids moléculaire de 35, 19 et 12 kDa. Il pourrait accélérer la cinétique d'association de TBP/TFIID à l'ADN en empêchant la dimérisation de TBP/TFIID [3]. Cependant, *in vitro*, la présence de TFIIA, capable de stimuler la synthèse d'ARN, dépend fortement du système de transcription utilisé [4]. Il semblerait que TFIIA puisse contribuer à supprimer l'effet répressif de certaines protéines co-purifiées avec TFIID, ou de l'un des autres composants du système de transcription [5]. Le facteur TFIIIF est un hétérotétramère ($\alpha 2\beta 2$) composé de sous-unités de masse molaire 30 et 74 kDa. Initialement purifié en association avec la Pol II, il semblerait que son rôle consiste à recruter l'enzyme sur le complexe de pré-initiation, ainsi qu'à inhiber sa liaison non spécifique à l'ADN, empêchant ainsi la formation de complexes polymérase-ADN incapables de faire démarrer la transcription. TFIIIF interagit également avec un grand nombre de facteurs de transcription tels que TFIIB, TFIIIE, TBP, TAF_{II}250, TAF_{II}100 et TAF_{II}80. TFIIIF semble également stabiliser le complexe de pré-initiation en se liant, *via* sa sous-unité β , à une région de l'ADN située entre la boîte TATA et le site d'initiation de la transcription. TFIIIF pourrait également avoir un autre rôle et interagir avec différents activateurs transcriptionnels tels que le SRF (*serum response factor*), l'hétérodimère Fos-Jun et le récepteur des androgènes, afin de stabiliser l'association de TFIID sur le promoteur. En dehors de son rôle dans le démarrage de la transcription, TFIIIF est aussi un facteur d'élongation.

La Pol II est composée de 10 à 14 sous-unités, selon les espèces [6]. Ces sous-unités confèrent à l'enzyme ses capacités de fixation à l'ADN et à l'ARN, mais lui permettent également de fixer les nucléotides triphosphates qui seront incorporés dans la chaîne d'ARN. On peut distinguer trois classes de sous-unités: (1) les trois plus grosses, RPB1, RPB2 et RPB3 forment le cœur de la Pol II, fortement conservé par rapport à celui de l'ARN polymérase bactérienne; (2) les sous-

unités spécifiques de Pol II (RPB4, 7, 9 et 11); (3) les sous-unités présentes dans les trois ARN polymérase (RPB 5, 6, 8, 10 α et 10 β). La sous-unité RPB1 de la Pol II contient un élément essentiel au démarrage de la transcription, le CTD. Le CTD est constitué d'une répétition de la séquence Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser (cette séquence est répétée 26 fois chez la levure et 52 fois chez l'homme). Il semblerait que le CTD soit le substrat d'un grand nombre de sérine/thréonine kinases telles que les cyclines dépendantes des kinases cdk1, cdk7, cdk8, les caséines et les MAP-kinases de type ERK, la DNA-PK ou le facteur d'élongation p-TFEB. On distingue alors, selon l'état de phosphorylation du CTD, deux types de Pol II qui participeraient à des étapes différentes de la transcription. Ainsi, la forme hyperphosphorylée (Pol IIO) se trouve dans des complexes d'élongation, alors que

la forme hypo-phosphorylée (Pol IIA) intègre le complexe d'initiation. TFIIIE est un hétérotétramère composé de deux sous-unités (56 kDa et 34 kDa). TFIIIE interagit, par l'intermédiaire de sa sous-unité β , avec la sous-unité β de TFIIIF et *via* sa sous-unité α avec la sous-unité α de TFIIIF, ainsi qu'avec la forme non phosphorylée de Pol II, le facteur TBP/TFIID, et les sous-unités XPB et p62 de TFIIH. TFIIIE permet l'intégration de TFIIH dans le complexe de pré-initiation et pourrait moduler les activités enzymatiques associées à ce facteur [7]. Le facteur TFIIH est le plus complexe des facteurs généraux de transcription; sa purification chez l'homme [8] a permis de mettre en évidence neuf sous-unités dont certaines étaient déjà identifiées comme des facteurs essentiels dans d'autres processus cellulaires: les hélicases

XPB et XPD seraient impliquées dans la réparation de l'ADN, alors que le complexe CAK (*cdk activating kinase*, contenant cdk7, cycline H et MAT1) jouerait un rôle au niveau du cycle cellulaire. Ces diverses caractéristiques font de TFIIH un acteur essentiel participant à divers mécanismes cellulaires fondamentaux [9].

La formation du complexe de pré-initiation

Les mécanismes conduisant à l'assemblage du complexe de pré-initiation, qui permet ensuite la synthèse de l'ARN, font intervenir les différentes interactions décrites entre les facteurs de transcription. A l'heure actuelle, deux modèles opposés peuvent expliquer la formation de ce complexe: celui-ci pourrait se mettre en place soit après un assemblage séquentiel des facteurs généraux et de la Pol II sur le promoteur, soit après l'arrimage d'un complexe appelé holoenzyme (figure 1). Ce dernier est composé d'un certain nombre de facteurs de transcription associés à la Pol II en l'absence d'ADN. Quel que soit le modèle envisagé, l'étape préalable nécessaire est la fixation de TFIID sur le promoteur.

L'assemblage séquentiel

Après la liaison de TBP/TFIID sur la boîte TATA, et la formation d'un complexe stable, l'ADN adopte une structure courbée permettant de rapprocher, de part et d'autre de la boîte TATA, les séquences en amont reconnues par des facteurs de régulation de la machinerie transcriptionnelle de base [10]. Le facteur TFIIA peut alors se lier au complexe TFIID-ADN puisqu'il interagit avec TBP, mais également avec des séquences ADN situées en amont [11, 12]. Selon des études cristallographiques, TFIIIB s'associerait au complexe TFIID/TBP-ADN, par contact avec TBP d'une part, et avec des séquences ADN situées en amont et en aval de la boîte TATA d'autre part [13, 14]. De même que TFIIA, TFIIIB stabilise l'interaction entre TFIID/TBP et l'ADN. Il permet ensuite le recrutement du complexe Pol IIA-TFIIIF, en interagissant directement avec ces deux protéines [15]. TFIIIF participe à

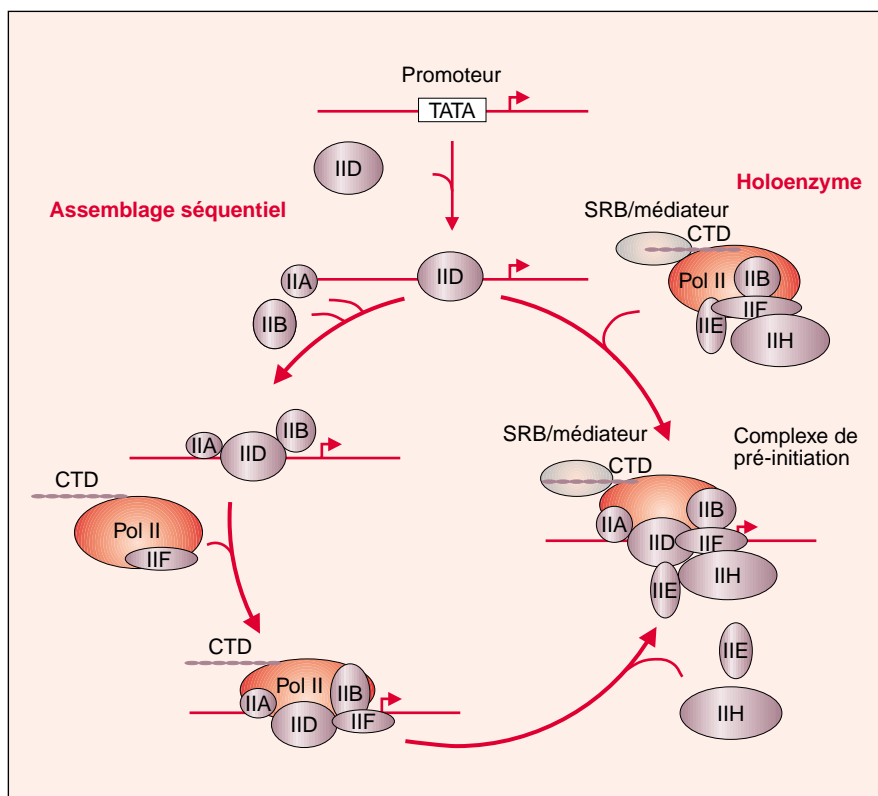


Figure 1. **Formation du complexe d'initiation.** Les facteurs généraux de transcription peuvent arriver sur le promoteur soit de façon séquentielle, soit sous la forme d'un complexe multiprotéique, l'holoenzyme qui contient également l'ARN polymérase II. Dans ce dernier cas, on trouvera associé à ce complexe des protéines du médiateur ainsi que d'autres facteurs impliqués dans des mécanismes associés à la transcription (réparation préférentielle du brin transcrit, polyadénylation).

l'inhibition de la liaison de la Pol II sur des séquences d'ADN non spécifiques [16]. La formation du complexe de pré-initiation s'achève avec la fixation de TFIIE sur Pol II, TFIIF et TBP [4] et l'arrivée de TFIIH [17]. Celui-ci va jouer plusieurs rôles, grâce à ses diverses activités enzymatiques. En premier lieu, TFIIH phosphoryle le CTD. Il semblerait que la forme non phosphorylée (Pol II A) de la Pol II s'associe au complexe de pré-initiation via les facteurs TBP [18] et TFIIE [17]. La phosphorylation du CTD stimulerait la synthèse de la liaison phosphodiester et permettrait l'éloignement de la Pol II (Pol II O) du promoteur, en déstabilisant les interactions entre le CTD et certains facteurs de transcription. L'élongation du transcrit se poursuivrait, la Pol II étant sous une forme phosphorylée. A ce stade, certains mécanismes de régulation, évitant des sites de pause et faisant intervenir des phosphatases et des kinases, pourraient se mettre en place [19]. Lorsque la transcription est terminée, le CTD est déphosphorylé par une phosphatase afin de régénérer la polymérase sous sa forme IIA. TFIIH ouvre également l'ADN autour du site d'initiation grâce à l'action de XPB [20]. A l'heure actuelle, il est difficile de préciser la chronologie des événements entre l'ouverture de l'ADN et la phosphorylation du CTD, même si nous avons pu montrer que la phosphorylation du CTD peut se faire indépendamment de l'étape d'ouverture, mais en présence de tous les facteurs de base.

Il semble aujourd'hui évident que la formation du complexe de pré-initiation induit des modifications structurales des facteurs généraux de transcription. Ainsi, TBP subit des modifications de conformation après son interaction avec TFIIA, et la configuration de TFIIB est différente après son intégration dans le complexe de pré-initiation. Ces modifications ne sont pas toutes bien comprises, mais elles pourraient représenter des étapes de régulation essentielles dans la formation du complexe de pré-initiation. Elles pourraient catalyser, par exemple, l'interaction entre certains facteurs de transcription à l'intérieur du complexe de pré-initiation. Enfin, des travaux récents ont montré que l'arrivée successive des différents facteurs de transcription sur le promoteur

modifiait les interactions de facteurs déjà présents avec l'ADN, induisant un enroulement du promoteur autour de la Pol II. Cette étape semble indispensable au démarrage de la transcription [21].

L'holoenzyme

Chez la levure, des délétions partielles du CTD de Pol II entraînent des défauts de croissance et une sensibilité au froid. Ces mutations peuvent être supprimées grâce aux protéines SRB (*suppressor of RNA pol B*), dont l'activité est extragénique [22]. Des tentatives de purification de ces protéines ont abouti à l'isolement de l'holoenzyme. La mise en évidence de ce très gros complexe, contenant la Pol II ainsi qu'un certain nombre de facteurs, dont certains sont essentiels à la transcription, permet de spéculer l'existence d'un autre modèle d'assemblage du complexe de pré-initiation, dans lequel Pol II et la majorité des facteurs généraux viennent s'associer en une étape sur le promoteur déjà reconnu par TFIIID [23]. L'holoenzyme humaine a été purifiée à partir de cellules HeLa et contient la Pol II, TFIIE, TFIIF, TFIIH, ainsi qu'un certain nombre de co-facteurs qui représentent les homologues des protéines SRB de levure [24, 25]. Ces co-facteurs (complexe médiateur, voir plus loin) interagissent avec les activateurs et/ou les facteurs spécifiques de séquence et permettent la transactivation des gènes. La composition même de l'holoenzyme est sujette à discussion, et reflète la diversité des méthodes de préparation des extraits cellulaires et des modes de séparation utilisés.

La transcription activée

La machinerie transcriptionnelle de base est soumise à l'influence des séquences proximales et distales et de leurs facteurs de reconnaissance qui modulent le taux d'expression d'un gène. Il a longtemps été postulé que les protéines de régulation positive, également appelées « activateurs » agissaient directement sur la transcription grâce à des contacts établis avec les facteurs de transcription de base [26]. Il semblerait en réalité que leurs effets soient indirects, et fassent intervenir des facteurs intermédiaires,

chargées de faire le lien entre les activateurs et les facteurs généraux; ce sont les co-activateurs. Les protéines activatrices peuvent régler la synthèse de l'ARNm: (1) en éliminant les répresseurs du promoteur; (2) en facilitant le recrutement des facteurs généraux et de la Pol II sur le promoteur; (3) en induisant un changement de conformation du complexe d'initiation; (4) en agissant sur la cinétique permettant la formation de la première liaison phosphodiester et en favorisant une échappée de la Pol II, qui permet le démarrage de la phase d'élongation (figure 2). Il est clair que ces divers mécanismes dépendent également des modes d'empaquetage de l'ADN autour des histones, ainsi que des facteurs liés à la chromatine.

Les activateurs et les facteurs de transcription de base

Les activateurs possèdent un domaine d'interaction soit avec des co-facteurs, soit avec des facteurs généraux de transcription (c'est le domaine activateur), ainsi qu'un domaine de liaison à l'ADN, qui reconnaît une séquence nucléotidique spécifique. Il existe plusieurs types d'activateurs: (1) acides (VP16, GAL4, p53); (2) riches en glutamine (Sp1); (3) riches en proline (CTF: *CAAT transcription factors*); ou (4) les récepteurs nucléaires (RAR: *retinoic acid receptor*; TR: *thyroid hormon receptor*; ER: *estrogen receptor*) et cette liste n'est évidemment pas exhaustive. *In vitro*, TBP peut interagir avec divers activateurs, tels que VP16, E1A, c-Rel, Tax1, p53, Sp1, Oct1 et Oct 2 [27, 28]. Cependant, certaines mutations de TBP inhibent son contact avec p53 ou VP16, alors qu'elles n'empêchent pas ces derniers de remplir leur fonction d'activateurs [29]. Le rôle précis des interactions entre TBP et ces activateurs reste donc obscur. Cependant, les interactions analysées *in vitro* ne font pas intervenir les TAF, qui pourraient moduler les contacts entre TBP et ces activateurs *in vivo*.

D'une manière analogue, TFIIB est la cible d'activateurs tels que VP16, Sp1 et Krüppel. Des mutations de TFIIB inhibant sa liaison avec VP16 empêchent la stimulation de la transcription [26]. Il semble que dans ce cas, le rôle de VP16 consiste à modifier la

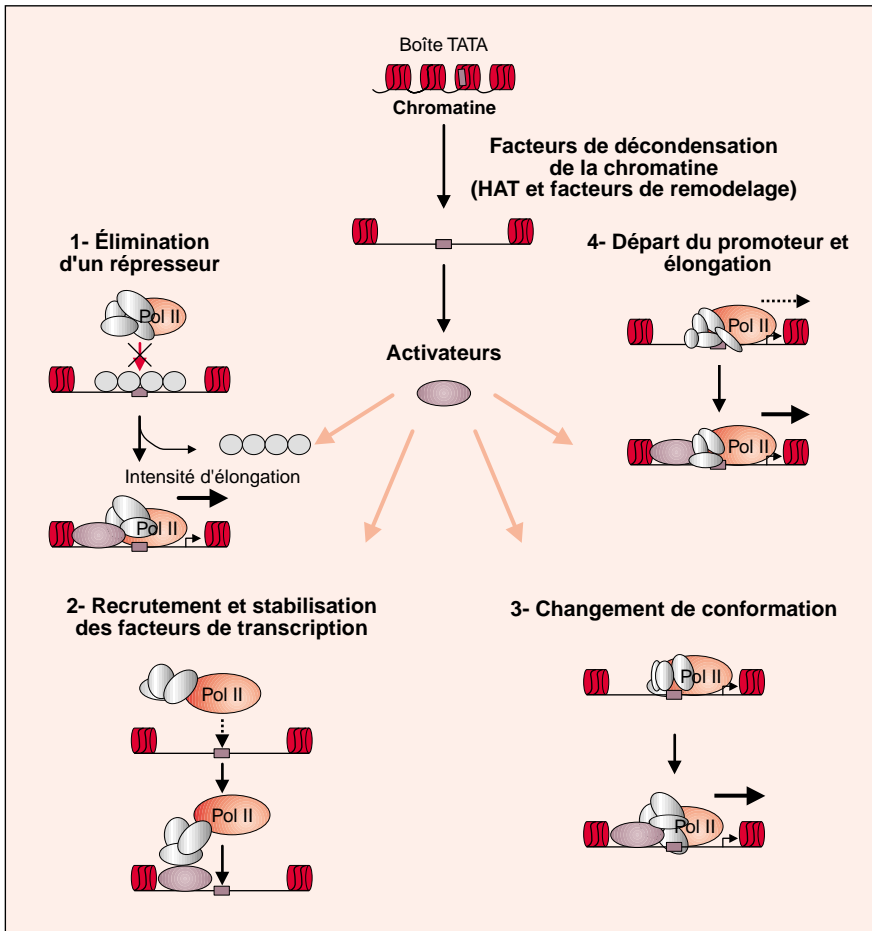


Figure 2. Effets des activateurs sur les différentes étapes de la transcription. Les protéines activatrices (ovale gris au centre) peuvent régler la synthèse de l'ARNm à différents niveaux: (1) en éliminant les répresseurs (ronds gris) du promoteur; (2) en facilitant le recrutement des facteurs généraux (ovales bistre associés à la Pol II) et de la Pol II sur le promoteur; (3) en induisant un changement de conformation du complexe d'initiation; (4) en agissant sur la cinétique permettant la formation de la première liaison phosphodiester et en favorisant l'étape d'élongation.

structure de TFIIB, en l'exposant ainsi au contact de TFIIF et de la Pol II au sein du complexe de transcription [30]. D'autres interactions ont été mises en évidence entre TFIIF et VP16 ou p53. Certaines mutations de VP16, qui empêchent son interaction avec TFIIF, sont responsables d'une inhibition de l'activation [31]. Les récepteurs nucléaires peuvent également être impliqués dans la régulation transcriptionnelle. Ces récepteurs sont modulés en premier lieu par leurs ligands, et pourraient également être la cible de modifications post-transcriptionnelles telles que des phosphorylations ou des déphosphorylations. Ainsi, le domaine d'activation AF1 du récepteur

nucléaire RAR α qui répond à l'action de l'acide rétinoïque, possède des sites de phosphorylation reconnus par diverses kinases [32]. Parmi celles-ci, cdk7 fait partie intégrante du facteur de transcription TFIIF. Ainsi, il existe à l'intérieur du complexe d'initiation de la transcription un mode de régulation selon lequel le récepteur nucléaire serait phosphorylé, *via* une interaction avec le facteur de base TFIIF, et activerait le gène qui contient son élément de réponse [33].

Les co-activateurs

In vitro, il est impossible de reconstituer un système de transcription acti-

vée en présence des seuls activateurs et de la machinerie de base. D'autres facteurs sont donc nécessaires, ce sont les co-facteurs. Il en existe trois types: (1) le complexe médiateur qui est associé à la Pol II pour former l'holoenzyme; (2) les TAF; (3) le complexe USA (*upstream stimulatory coactivator*) (figure 3).

• Le complexe médiateur

Le complexe médiateur, mis en évidence chez la levure, est composé de 16 polypeptides [34]. Il est capable d'induire l'activation de la transcription de la plupart des gènes mais également de stimuler la transcription de base et la phosphorylation du CTD par TFIIF. Il est associé au CTD de la Pol II et fait ainsi partie de l'holoenzyme. Il comporte, entre autres, les protéines Srb (2, 4, 5, 6, 7, 10 et 11) [35]. Srb4 (identifiée sur la base de son interaction avec GAL4) et Srb6 sont essentiels à la transcription de la majorité des gènes [36]. Des travaux récents montrent qu'une délétion de Srb4 affecte la transcription de l'ensemble des gènes, et pourrait indiquer le rôle central de cette sous-unité dans l'assemblage du médiateur [37]. Srb2 et Srb5 stabiliseraient la formation du complexe d'initiation par contact avec TBP. Des études préliminaires plaident en faveur de l'existence de complexes semblables chez les eucaryotes supérieurs. Ainsi, les complexes NAT (*negative regulator of activated transcription*) ou SMCC (*SRB/MED-containing cofactor complex*) contiennent plusieurs protéines homologues aux sous-unités Srb du médiateur de levure. SMCC a été initialement nommée TRAP (*thyroid hormone receptor associated protein*), et purifié grâce à sa capacité de moduler l'effet transactivateur de l'hormone thyroïdienne sur un certain nombre de gènes cibles [38].

• Les TAF

La découverte que TBP pouvait à elle seule initier la transcription de base mais était incapable de permettre l'activation de la transcription a conduit à attribuer aux TAF (il en existe huit de PM compris entre 18 et 250 kDa) [39] un rôle de co-activateurs. Cette hypothèse a été confortée par la mise en évidence d'un certain nombre d'interactions entre des TAF et des activateurs, à l'exemple de

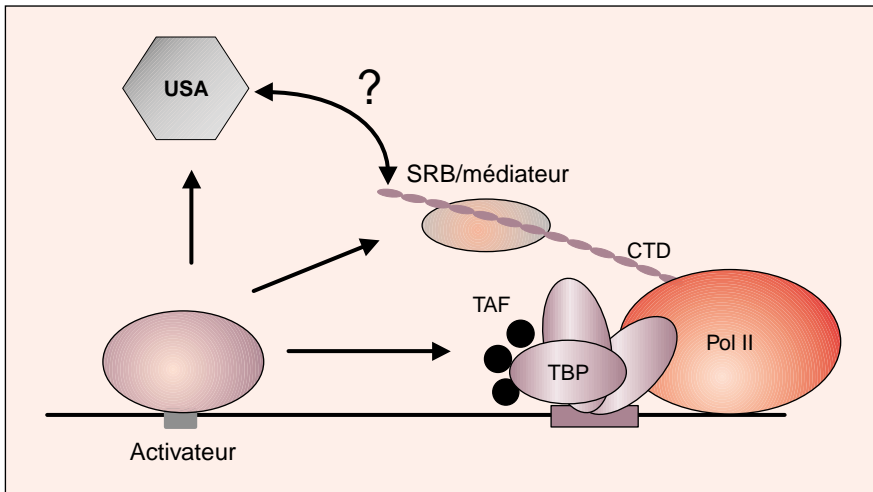


Figure 3. **Les co-activateurs de la transcription réglée.** Il existe trois types de co-activateurs : le complexe USA, le complexe médiateur (associé au CTD) et les TAF (associées à TBP) permettant de transmettre des signaux à la machinerie de transcription, par l'intermédiaire de facteurs activateurs fixés sur des séquences en amont.

dTAF₁₁₄₀ et VP-16 ou de dTAF₁₁₆₀ et p53 ainsi que de hTAF₁₁₃₀ et CTF ou de hTAF₁₁₅₅ et les récepteurs des œstrogènes [40]. Le rôle de TAF₁₁₂₈ ou TAF₁₁₁₃₅ dans la réponse aux récepteurs des acides rétinoïques ou de l'hormone thyroïdienne a également été démontré par des expériences de transfection [41, 42]. Il n'est pas exclu que chaque activateur possède un ou plusieurs TAF cibles, chacun pouvant intégrer un signal particulier et être ainsi responsable de l'activation de certains gènes spécifiques. Ainsi, à température non permissive, une mutation thermosensible dans TAF₁₁₂₅₀ de hamster conduit à l'inhibition de la transcription d'un certain nombre de gènes, mettant en évidence sa spécificité d'activation [43]. Récemment, le rôle des TAF dans l'activation de la transcription a été remis en question par des résultats montrant que TAF₁₁₁₄₅, le plus gros des TAF n'était nécessaire qu'à la transcription de 16 % des gènes [37]. Il reste cependant aujourd'hui admis que les activateurs fonctionnent en optimisant l'association de TFIID avec le promoteur [44]. Enfin, le rôle des TAF ne se limite pas à mettre en contact promoteur, facteurs généraux et activateurs de la transcription. Certains ont vraisemblablement un rôle de régulation grâce aux différentes activités enzymatiques qui leur sont associées. C'est le cas de TAF₁₁₂₅₀ qui possède à la fois une activité

kinase [45] et une activité histone acétyl transférase (HAT) [46].

• **Le complexe USA**

Le complexe USA est un co-activateur général de la transcription, qui fut initialement isolé sous la forme d'une fraction chromatographique complexe [5]. Nous savons aujourd'hui qu'il contient des co-facteurs positifs (PC1 à PC6), des co-facteurs négatifs (NC1 et NC2) ainsi que le co-facteur A et les co-facteurs d'activation ACF et HMG2. PC1 et PC3 correspondent respectivement à la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) et à la topo-isomérase I. PC4, le co-facteur positif le plus étudié, est un polypeptide de 15 kDa qui peut à la fois participer à l'activation de la transcription et, à des concentrations plus élevées, réprimer la transcription de base [47]. Le fonctionnement de PC4 dans l'activation de la transcription n'est pas encore bien établi. Il pourrait interagir avec TFIIA et VP-16, et favoriser ainsi le recrutement du complexe TFIID sur le promoteur. Ainsi, si TFIID est présent en concentration suffisante pour favoriser son association à l'ADN, l'effet de PC4 est moins important [48]. Le rôle des co-facteurs ne se limite cependant pas aux premières étapes de la formation du complexe d'initiation de la transcription. PC2 et PC5 ne semblent pas avoir d'influence sur l'arrimage de TFIID sur le promoteur, mais agi-

raient lors d'une étape ultérieure encore indéfinie. NC2, l'un des co-facteurs négatifs du complexe USA, interagit avec TBP et réprime la transcription de base en entrant en compétition avec TFIIA et TFIIB pour la fixation sur le complexe TBP/ADN [49].

Alors que la composition de ces différents complexes co-activateurs commence à être bien connue, peu d'efforts ont été entrepris pour comprendre leur fonctionnement. Il semble que ces complexes aient un rôle structural dans l'activation de la transcription, les co-activateurs faisant le lien entre les activateurs et la machinerie de transcription de base, mais il demeure possible que ces co-activateurs aient une action enzymatique sur la formation du complexe d'initiation de la transcription.

La chromatine et la régulation de la transcription

In vivo, l'ADN génomique est empaqueté autour des histones pour former la chromatine. Cette structure est inapte à la transcription *in vitro* [50], mais elle peut être déréprimée selon deux schémas. Tout d'abord, sous l'action des protéines à fonction HAT (*histone acetyl transférase*) capables de transférer un groupe acétylé de l'acétyl co-enzyme A sur un résidu lysine des histones de façon réversible. L'acétylation des histones conduit à une modification des interactions ADN/histones, et la structure décompactée devient alors transcriptionnellement active. Les HAT font partie de complexes dans lesquels se trouvent des protéines à fonction co-activatrice comme les TAF. La répression transcriptionnelle peut également être levée suivant un autre schéma, *via* des protéines capables de détruire les interactions histones-ADN en utilisant de l'ATP [51] (*m/s* 1999, n° 11, p. 1318).

Les complexes HAT

La première protéine caractérisée et possédant une activité HAT a été extraite de *Tetrahymena thermophila*. Cette protéine de 55 kDa présentait une certaine homologie avec Gcn5, une protéine de levure, indispensable

à l'activation de la transcription *in vivo* par l'activateur Gcn4 ou par VP16 [60]. Cette découverte mettait ainsi en évidence une relation entre acétylation et activation de la transcription. Gcn5 a ensuite été identifiée dans deux complexes appelés SAGA (*Spt-Ada-Gcn5-acetyltransferase*) et ADA (*alteration/deficiency in activation*). Le complexe SAGA contient des protéines Ada (Ada 1-5), Spt, ainsi qu'un certain nombre de TAF [53] alors qu'ADA contient Ada 2, 3 et Gcn5 mais pas de protéines Spt. La présence de deux complexes contenant Gcn5 demeure pour l'instant inexplicée. Cependant, étant donné la nature divergente des acides aminés acétylés par Gcn5 au sein des protéines SAGA ou ADA, sa fonction pourrait être différente dans ces deux complexes.

Chez les eucaryotes supérieurs, seuls deux des complexes ayant une activité HAT [54] semblent pouvoir correspondre à un équivalent du complexe SAGA de levure. Le complexe TFIC (*TBP-free TAFII-containing complex*) contient l'homologue de Gcn5 ainsi qu'un certain nombre de TAF [55, 56]. Le complexe PCAF (*p300/CBP associating factor*) contient également une unité catalytique à fonction HAT très homologue à Gcn5 [57], ainsi qu'un certain nombre de TAF. Les complexes SAGA, TFIC et PCAF partagent plusieurs propriétés telles que la présence d'une activité HAT ainsi que celle de certains TAF autres que TAFII250 précédemment identifié au sein du complexe TFIIID comme ayant une activité HAT. Ainsi, il existerait au sein de la cellule deux types de complexes HAT, ceux possédant Gcn5 ou un homologue proche et ceux possédant TBP et le TAFII250 [58].

Les complexes à activité ATPasique qui remodelent la chromatine

Les protéines remodelant la chromatine sont susceptibles de déstabiliser les liaisons établies entre les histones et l'ADN d'une manière dépendante de l'ATP. SWI2/SNF2 fait partie du complexe SWI/SNF (*switching mating type/sucrose non-fermenting*) isolé chez la levure [59], et composé d'environ 10 sous-unités. Différents homologues de SWI/SNF ont été iso-

Tableau I		
UTILITÉ DES FACTEURS DE TRANSCRIPTION OU DE REMODELAGE DE LA CHROMATINE DANS LA TRANSCRIPTION <i>IN VIVO</i>		
Complexe ou sous-unité	Fonction	Fraction des gènes dépendante de la sous-unité
ARN Polymérase II		
Rpb1	Contient le CTD	100 %
SRB/médiateur		
Srb4	Activation par Gal4	93 %
Srb5	Fonction inconnue	16 %
Med6	Activation de certains gènes	10 %
Swi/Snf		
Swi2	Remodelage de la chromatine	6 %
Facteurs généraux		
TFIID		
TAFII145	Histone acétylase	16 %
TAFII17	Appartient à TFIID et SAGA	67 %
TFIIE		
Tfa1	Ouverture du promoteur	54 %
TFIIH		
Kin 28	Phosphorylation du CTD	87 %
SAGA		
Gcn5	Histone acétylase	5 %
TAFII17	Appartient à TFIID et SAGA	67 %

D'après [43].

lés chez la drosophile (Brahma) et chez l'homme (complexe SWI/SNF et BRG-1), mettant de nouveau en évidence la conservation des mécanismes de régulation de la transcription chez les eucaryotes. D'autres complexes ont été isolés tels que RSC (*remodeling the structure of chromatin*) chez la levure, dont l'unité catalytique est Sth1 (*snf two homolog 1*), NURF (*nucleosome remodeling factor*), CHRAC (*chromatin accessibility complex*) et ACF (*ATP-dependent chromatin assembly and remodeling factor*) chez la drosophile, dont l'unité catalytique est Iswi (*imitation switch*) (pour revue, voir [60]). Malgré la présence de motifs très proches de ceux que l'on peut retrouver dans les hélicases à fonction dépendante de l'ATPase, SWI2/SNF2 n'a pas d'activité hélicase associée [61], bien qu'il possède une activité ATPasique. On lui attribue une fonction dans le

déroulement de l'ADN du nucléosome, conduisant à un état instable transitoire jusqu'à l'arrivée d'un facteur de transcription qui vient s'associer à sa séquence spécifique et permet la stabilisation de la forme décompactée de l'ADN [62]. Enfin, le complexe SWI/SNF est très intimement lié aux co-activateurs puisqu'il a été retrouvé dans l'holoenzyme [63]. Ainsi, l'acétylation des histones pourrait être une première étape visant à déstabiliser (décompacter) la chromatine, la seconde étape laissant les facteurs de remodelage agir plus finement en libérant l'ADN situé autour du promoteur de l'emprise des histones, permettant ensuite le recrutement des facteurs de transcription. Ce modèle séduisant demeure cependant à étayer sur le plan expérimental. L'importance des facteurs généraux, des facteurs d'activation ou des facteurs de remodelage dans la trans-

cription des gènes *in vivo* reste difficile à établir. Le *Tableau 1* résume une partie des données acquises à ce jour. Certains résultats sont surprenants, tels que l'implication de Gcn5 ou de Swi2 dans la transcription de seulement 5% des gènes. Il est possible que la faible participation de ces protéines à la transcription soit due à des redondances de fonction entre certains facteurs au sein de la cellule.

Conclusions

Les travaux rapportés dans cette revue permettent de constater la complexité du mécanisme de transcription et surtout d'évaluer le nombre de composants intervenant dans les premières étapes qui conduisent au démarrage de l'expression d'un gène. Ainsi, une simple séquence promotrice située en amont d'un gène à transcrire peut intégrer différents signaux. Après fixation à la séquence promotrice par l'intermédiaire de TBP, le facteur TFIID pourrait être en mesure de prendre en compte des signaux d'activation relayés par les TAF, remplissant leur rôle de co-activateurs. La coopération d'autres facteurs tels que TFIIB ou TFIIF peut également intervenir. Les schémas des mécanismes proposés ici découlent de travaux réalisés en grande partie *in vitro*, avec des ADN nus et souvent chimériques. Les résultats publiés à ce jour soulignent l'importance de la structure de la chromatine. En effet, afin de permettre une transcription adéquate, celle-ci doit être déréprimée par des interactions et/ou des modifications par des complexes qui modifient ou remodelent la chromatine.

Enfin, certains mécanismes post-transcriptionnels tels que la maturation des ARN néosynthétisés sont reliés à l'étape de transcription, alors qu'on imaginait qu'ils en étaient indépendants. Ainsi, des travaux ont récemment montré que le facteur CPSF (*cleavage and polyadenylation specificity factor*) responsable de la reconnaissance de la séquence de polyadénylation présente sur l'ARNm, est recruté au niveau du site d'initiation par TFIID. Au cours du démarrage de la transcription, CPSF est transféré sur la Pol II (certainement en association avec le CTD) et amené au site de polyadénylation de

la Pol II qui joue le rôle de « transporteur » [64]. Ce système n'est pas unique et d'autres protéines n'ayant pas de relation avec le déclenchement de la transcription pourraient être associées à Pol II sur le promoteur. C'est le cas de certaines protéines impliquées dans la réparation par excision de nucléotides, présentes dans l'holoenzyme humaine et qui pourraient participer à la réparation préférentielle du brin transcrit [65] ■

Remerciements

Nous remercions Étienne Bergmann pour ses critiques dans la lecture de ce manuscrit. Cette étude a été supportée par divers programmes: *the Human Frontier Science Program* (Nr: RG0193/97M), l'Inserm, le Cnrs, le ministère de la Recherche et de l'Enseignement supérieur et l'Association pour la Recherche sur le Cancer, et Électricité de France (RB99-23). FC est boursier de l'ARC et JME est directeur de recherche à l'Inserm.

RÉFÉRENCES

- Weil P, Luse D, Segall J, Roeder R. Selective and accurate initiation of transcription at the Ad2 major late promoter in a soluble system dependant on purified RNA polymerase II and DNA. *Cell* 1979; 18: 469-84.
- Pinto I, Ware DE, Hampsey M. The yeast *SUA7* gene encodes a homolog of human transcription factor TFIIB and is required for normal start site selection in yeast. *Cell* 1992; 68: 977-88.
- Coleman R, Taggart A, Burma S, Chicca J, Pugh B. TFIIA regulates TBP and TFIID dimers. *Mol Cell* 1999; 4: 451-7.
- Zawel L, Reinberg D. Common themes in assembly and function of eukaryotic transcription complexes. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 533-61.
- Kaiser K, Meisterernst M. The human general co-factors. *Trends Biochem Sci* 1996; 21: 342-5.
- Young RA. RNA Polymerase II. *Annu Rev Biochem* 1991; 60: 689-715.
- Ohkuma Y, Roeder RG. Regulation of TFIIF ATPase and kinase activities by TFIIE during active initiation complex formation. *Nature* 1994; 368: 160-3.
- Gerard M, Fischer L, Moncollin V, Chipoulet JM, Chambon P, Egly JM. Purification and interaction properties of the human RNA polymerase B(II) general transcription factor BTF2. *J Biol Chem* 1991; 266: 20940-5.
- Coin F, Egly JM. Ten years of TFIIF. *Cold Spring Harbor* 1998; LXIII: 105-10.
- Burley SK, Roeder RG. Biochemistry and structural biology of transcription factor IID (TFIID). *Annu Rev Biochem* 1996; 65: 769-99.

- Geiger JH, Hahn S, Lee S, Sigler PB. Crystal structure of the yeast TFIIA/TBP/DNA complex. *Science* 1996; 272: 830-6.
- Tan S, Hunziker Y, Sargent DF, Richmond TJ. Crystal structure of a yeast TFIIA/TBP/DNA complex. *Nature* 1996; 381: 127-34.
- Nikolov DB, Chen H, Halay HD, et al. Crystal structure of a TFIIB-TBP-TATA-element ternary complex. *Nature* 1995; 377: 119-28.
- Lagrange T, Kapanidis AN, Tang H, Reinberg D, Ebright R. New core promoter element in RNA polymerase-II dependent transcription: sequence-specific DNA binding by transcription factor IIB. *Genes Dev* 1998; 12: 34-44.
- Leuther KK, Bushnell DA, Kornberg RD. Two-dimensional crystallography of TFIIB- and IIE-RNA polymerase II complexes: implications for start site selection and initiation complex formation. *Cell* 1996; 85: 773-9.
- Conaway RC, Conaway JW. General initiation factor for RNA polymerase II. *Annu Rev Biochem* 1993; 62: 161-90.
- Maxon ME, Goodrich JA, Tjian R. Transcription factor IIE binds preferentially to RNA polymerase IIa and recruits TFIIF: a model for promoter clearance. *Genes Dev* 1994; 8: 515-24.
- Usheva A, Maldonado E, Goldring A, et al. Specific interaction between the nonphosphorylated form of RNA polymerase II and the TATA-binding protein. *Cell* 1992; 69: 871-81.
- Dahmus ME. Reversible phosphorylation of the C-terminal domain of RNA polymerase II. *J Biol Chem* 1996; 271: 19009-12.
- Tirode F, Busso D, Coin F, Egly J. Reconstitution of the transcription factor TFIIF: assignment of the functions for the three enzymatic subunits, XPB, XPD and cdk7. *Mol Cell* 1999; 3: 1-20.
- Robert F, Douziech M, Forget D, Egly J, Greenblatt J, Burton Z, Coulombe B. Wrapping of promoter DNA around the RNA polymerase II initiation complex induced by TFIIF. *Mol Cell* 1998; 2: 341-51.
- Nonet ML, Young RA. Intragenic and extragenic suppressors of mutations in the heptapeptide repeat domain of *Saccharomyces cerevisiae* RNA polymerase II. *Genetics* 1989; 123: 715-24.
- Koleske AJ, Young RA. The RNA polymerase II holoenzyme and its implications for gene regulation. *Trends Biochem Sci* 1995; 20: 113-6.
- Chao DM, Galbois EL, Lurray PJ, et al. A mammalian SRB protein associated with an RNA polymerase II holoenzyme. *Nature* 1996; 380: 82-5.
- Maldonado E, Shiekhattar R, Sheldon M, et al. A human RNA polymerase II complex associated with SRB and DNA-repair proteins. *Nature* 1996; 381: 86-9.
- Roberts S, Ha I, Maldonado E, Reinberg D, Green M. Interaction between an acidic activator and transcription factor TFIIB is required for transcriptional activation. *Nature* 1993; 363: 741-4.

RÉFÉRENCES

27. Zawel L, Reinberg D. Common themes in assembly and function of eukaryotic transcription complexes. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 533-61.
28. Ranish JA, Hahn S. Transcription: basal factors and activation. *Curr Opin Genet Dev* 1996; 6: 151-8.
29. Tansey W, Herr W. The ability to associate with activation domains *in vitro* is not required for the TATA box-binding protein to support activated transcription *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 10550-4.
30. Roberts S, Green M. Activator-induced conformational change in general transcription factor TFIIB. *Nature* 1994; 371: 717-20.
31. Xiao H, Pearson A, Coulombe B, *et al*. Binding of basal transcription factor TFIID to the acidic activation domain of VP16 and p53. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 7013-24.
32. Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *FASEB J* 1996; 10: 940-54.
33. Rochette-Egly C, Adam S, Rossignol M, Egly JM, Chambon P. Stimulation of RAR α activation function AF-1 through binding to the general transcription factor TFIID and phosphorylation by CDK7. *Cell* 1997; 90: 1-20.
34. Myers LC, Gustafsson CM, Bushnell DA, *et al*. The Med proteins of yeast and their function through the RNA polymerase II carboxy-terminal domain. *Genes Dev* 1998; 12: 45-54.
35. Koleske AJ, Young RA. An RNA polymerase II holoenzyme responsive to activators. *Nature* 1994; 368: 466-9.
36. Koh S, Ansari A, Ptashne M, Young R. An activator target in the RNA polymerase II holoenzyme. *Mol Cell* 1998; 1: 895-904.
37. Holstege FC, Jennings EG, Wyrick JJ, *et al*. Dissecting the regulatory circuitry of a eukaryotic genome. *Cell* 1998; 95: 717-28.
38. Ito M, Yuan C, Malik S, *et al*. Identity between TRAP and SMCC complexes indicates novel pathways for the function of nuclear receptors and diverse mammalian activators. *Mol Cell* 1999; 3: 361-70.
39. Dynlacht B, Hoey T, Tjian R. Isolation of coactivators associated with the TATA-binding protein that mediate transcriptional activation. *Cell* 1991; 66: 563-76.
40. Verrijzer PC, Tjian R. TAFs mediate transcriptional activation and promoter selectivity. *Trends Biochem Sci* 1996; 21: 338-41.
41. May M, Mengus G, Lavigne A, Chambon P, Davidson I. Human TAF(II)28 promotes transcriptional stimulation by activation function 2 of the retinoid X receptors. *EMBO J* 1996; 15: 3093-104.
42. Mengus G, May M, Carre L, Chambon P, Davidson I. Human TAF(II)135 potentiates transcriptional activation by the AF-2s of the retinoic acid, vitamin D3, and thyroid hormone receptors in mammalian cells. *Genes Dev* 1997; 11: 1381-95.
43. Wang E, Tjian R. Promoter-selective transcriptional defect in cell cycle mutant ts13 rescued by hTAFII250. *Science* 1994; 263: 811-4.
44. Colgan J, Manley J. TFIID can be rate limiting *in vivo* for TATA-containing, but not TATA-lacking, RNA polymerase II promoters. *Genes Dev* 1992; 6: 304-15.
45. Dikstein R, Ruppert S, Tjian R. TAFII250 is bipartite protein kinase that phosphorylates the basal transcription factor RAP74. *Cell* 1996; 84: 781-90.
46. Moqtaderi Z, Keaveney M, Struhl K. The histone H3-like TAF is broadly required for transcription in yeast. *Mol Cell* 1998; 2: 675-82.
47. Ge H, Roeder RG. Purification, cloning and characterization of a human coactivator, PC4, that mediates transcriptional activation of class II genes. *Cell* 1994; 78: 513-23.
48. Kaiser K, Stelzer G, Meisterernst M. The coactivator p15 (PC4) initiates transcriptional activation during TFIIA-TFIID-promoter complex formation. *EMBO J* 1995; 14: 3520-7.
49. Meisterernst M, Roy AL, Lieu HM, Roeder RG. Activation of class II gene transcription by regulatory factors is potentiated by a novel activity. *Cell* 1991; 66: 981-3.
50. Felsenfeld G. Chromatin unfolds. *Cell* 1996; 86: 13-9.
51. Tsukiyama T, Wu C. Chromatin remodeling and transcription. *Curr Opin Genet Dev* 1997; 7: 182-91.
52. Brownell J, Zhou J, Ranalli T, *et al*. Tetrahymena histone acetyltransferase A: a homolog to yeast Gcn5p linking histone acetylation to gene activation. *Cell* 1996; 84: 843-51.
53. Grant P, Schieltz D, Pray-Grant M, *et al*. A subset of TAF(II)s are integral components of the SAGA complex required for nucleosome acetylation and transcriptional stimulation. *Cell* 1998; 94: 45-53.
54. Kuo M, Allis C. Roles of histone acetyltransferase and deacetylases in gene regulation. *BioEssays* 1998; 20: 615-26.
55. Wieczorek E, Brand M, Tora L. RNA polymerase II transcription without TBP: a novel endogenous TBP-free TAFII-containing multiprotein complex is also able to function as TFIID. *Nature* 1998; 393: 187-91.
56. Brand M, Yamamoto K, Staub A, Tora L. Identification of TATA-binding protein-free TAFII-containing complex subunits suggests a role in nucleosome acetylation and signal transduction. *J Biol Chem* 1999; 274: 18285-9.
57. Ogryzko V, Kotani T, Zhang X, *et al*. Histone-like TAFs within the PCAF histone acetylase complex. *Cell* 1998; 94: 35-44.
58. Bell B, Tora L. Regulation of gene expression by multiple forms of TFIID and other novel TAFII-containing complexes. *Exp Cell Res* 1999; 246: 11-9.
59. Cote J, Quinn J, Workman J, Peterson C. Stimulation of GAL4 derivative binding to nucleosomal DNA by the yeast SWI/SNF complex. *Science* 1994; 265: 53-60.
60. Kornberg RD, Lorch Y. Chromatin-modifying and remodeling complexes. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 148-51.
61. Tsukiyama T, Wu C. Chromatin remodeling and transcription. *Curr Opin Genet Dev* 1997; 7: 182-91.
62. Owen-Hughes T, *et al* Workman J. Experimental analysis of chromatin function in transcription control. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1994; 4: 403-41.
63. Wilson CJ, Chao DM, Imbalzano AN, Schnitzler GR, Kingston RE, Young RA. RNA polymerase II holoenzyme contains SWI/SNF regulators involved in chromatin remodeling. *Cell* 1996; 84: 235-44.
64. Dantoni JC, Murthy KGK, Manley JL, Tora L. Transcription factor TFIID recruits CPSF for formation of 3' end of mRNA. *Nature* 1997; 389: 399-402.
65. Maldonado E, Shiekhattar R, Sheldon M *et al*. A human RNA polymerase II complex associated with SRB and DNA-repair proteins. *Nature* 1996; 381: 86-9.

m/s 2000

Summary

Formation of the transcriptional initiation complex: from general factors to chromatin remodeling complexes

The description of the gene transcription machinery is now possible at the molecular level. Despite the high level of complexity of RNA polymerase II, this enzyme requires additional components for accurate transcription. These general transcription factors, together with RNA polymerase II, assemble on the promoter in order to form the pre-initiation complex, and allow for basal transcription. Gene expression is then regulated through the binding of proteins to specific sequences. The activators then bind other proteins in cooperation with intermediary factors, and convey signals to the basal transcription machinery. This complicated mechanism of gene expression is further complicated by the machinery responsible for modulating the chromatin structure, which includes histones acetylation and chromatin remodeling.