

Le rôle des snRNP dans l'épissage des ARN pré-messagers

Zoi Lygerou
Stefanie Kandels-Lewis
Bertrand Séraphin

La maturation des ARN pré-messagers, qui s'effectue dans le noyau, comprend notamment l'épissage des introns. Les snRNP (*small nuclear ribonucleoproteins*) sont des facteurs d'épissage composés d'un ou plusieurs ARN associés à des protéines. Il est maintenant clair que ces snRNP sont nécessaires à la reconnaissance des introns et à la sélection des sites d'épissage. La voie d'association des snRNP avec l'ARN pré-messager est ordonnée et aboutit à la formation d'un complexe d'épissage ou *spliceosome*. A l'intérieur du *spliceosome*, les snRNP pourraient participer à la catalyse de l'excision des introns.

ABRÉVIATIONS

snRNP : *small nuclear ribonucleoprotein*.

Complexe C : *commitment complex*.

ADRESSE

Z. Lygerou : étudiante en thèse à l'EMBL.S.
Kandels-Lewis : technicienne à l'EMBL.B.
Séraphin : Staff Scientist à l'EMBL et chargé de recherche au CNRS. Laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL). Programme Gene Expression, Meyerhofstrasse 1, Postfach 10.2209, D6900 Heidelberg, Allemagne.

TIRÉS A PART

B. Séraphin.

Contrairement aux gènes bactériens, la plupart des gènes des eucaryotes supérieurs sont interrompus par des segments de séquences non codantes qui ont été appelés introns. Les introns sont transcrits simultanément aux exons qui les bordent, mais, contrairement à ces derniers, ils sont retirés des ARN messagers avant que ceux-ci soient transportés du noyau vers le cytoplasme [1]. Le mécanisme permettant la soustraction des introns des ARN pré-messagers est appelé excision-épissage ou plus brièvement épissage. Celui-ci a une importance considérable chez les eucaryotes. L'extrême précision de l'épissage est essentielle à la synthèse d'ARN messagers fonctionnels et contribue donc à l'expression du génome. On observe d'ailleurs que de nombreuses maladies génétiques résultent d'une altération de signaux d'épissage qui empêche l'expression correcte du

gène muté. Parmi les exemples connus sont comprises certaines thalassémies et certaines formes de mucoviscidose [2, 3]. Chez les organismes multicellulaires, l'épissage est aussi un moyen de contrôle de l'expression génique. En effet, grâce à l'épissage alternatif, des protéines ayant des fonctions différentes et parfois même opposées sont produites à partir d'un seul gène. L'épissage alternatif peut être réglé en fonction du stade de développement ou de la différenciation tissulaire. C'est le cas, notamment, de nombreuses protéines du cytosquelette, de certains facteurs de transcription ou de facteurs contrôlant la différenciation sexuelle chez la drosophile [4] (voir aussi la *mini-synthèse* de J. Marie *et al.* parue dans *médecine/sciences* [5]). Afin de comprendre les bases exactes des maladies génétiques impliquant l'épissage ainsi que le contrôle de l'épissage alternatif, on conçoit la nécessité de définir les mécanismes de base de l'excision des

RÉFÉRENCES

1. Green M. Biochemical mechanisms of constitutive and regulated pre-mRNA splicing. *Annu Rev Cell Biol* 1991 ; 7 : 559-99.
2. Treisman R, Proudfoot J, Shander M, Maniatis T. A single-base change at a splice-site in a β -thalassemic gene causes abnormal RNA splicing. *Cell* 1982 ; 29 : 903-11.
3. Zielenski J, Bozon D, Kerem B, et al. Identification of mutations in exons 1 through 8 of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics* 1991 ; 1 : 229-35.
4. Smith CWJ, Patton JG, Nadal-Ginard B. Alternative splicing in the control of gene expression. *Annu Rev Genet* 1989 ; 23 : 527-77.
5. Marie J, Clouet d'Orval B, d'Aubenton-Carafa Y, Sirand-Pugnet P, Gallego M, Brody E. Structure secondaire et contrôle de l'épissage alternatif. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 953-5.
6. Lührmann R, Kastner B, Bach M. Structure of spliceosomal snRNPs and their role in pre-mRNA splicing. *Biochem Biophys Acta* 1990 ; 1087 : 265-92.
7. Maniatis T, Reed R. The role of small nuclear ribonucleoprotein particles in pre-mRNA splicing. *Nature* 1982 ; 325 : 673-8.
8. Lamm GM, Blencowe BJ, Sproat BS, Iribarren AM, Ryder U, Lamond AI. Antisense probes containing 2-aminoadenosine allow efficient depletion of U5 snRNP from HeLa splicing extracts. *Nucleic Acids Res* 1991 ; 19 : 3193-8.
9. Patterson B, Guthrie C. An essential yeast snRNA with a U5-like domain is required for splicing *in vivo*. *Cell* 1987 ; 49 : 613-24.
10. Séraphin B, Abovich N, Rosbash M. Genetic depletion indicates a late role for U5 snRNP during *in vitro* spliceosome assembly. *Nucleic Acids Res* 1991 ; 14 : 3857-60.
11. Zhuang Y, Weiner AM. A compensatory base change in U1 snRNA suppresses a 5' splice site mutation. *Cell* 1986 ; 46 : 827-35.
12. Rosbash M, Séraphin B. Who's on first ? The U1 snRNP-5' splice site interactions and splicing. *Trends Biochem Sci* 1991 ; 16 : 187-90.
13. Reich CI, VanHoy RW, Porter GL, Wise JA. Mutations at the 3' splice site can be suppressed by compensatory base changes in U1 snRNA in fission yeast. *Cell* 1992 ; 69 : 1159-69.
14. Séraphin B, Rosbash M. Exon mutation uncouples 5' splice site selection from U1 snRNA pairing. *Cell* 1990 ; 63 : 619-29.

introns. Dans cette revue, nous résumons les connaissances actuelles concernant le rôle des snRNP (*small nuclear ribonucleoprotein*, prononcé *snurp*) dans l'épissage et plus particulièrement dans la reconnaissance des introns et la sélection des sites d'épissage.

Structure des snRNP

Les snRNP sont des complexes contenant un ou deux ARN de petite taille (100-200 nucléotides) associés à des protéines [6]. Elles sont localisées dans le noyau des cellules. Les ARN sont riches en résidus uraciles et les différentes snRNP ont été nommées U1, U2, etc. Il existe deux groupes de protéines associées aux snRNP : les protéines spécifiques d'une particulière et celles qui sont communes à plusieurs snRNP. Parmi ces dernières, un groupe de huit protéines, dénommées protéines Sm, est reconnu par des anticorps produits par des patients souffrant de maladies auto-immunes [6]. Les snRNP sont impliquées dans divers processus biologiques tels que la maturation de l'ARN ribosomique, la synthèse des télomères, l'épissage des introns, etc.

snRNP et épissage

L'étude de l'épissage dans des systèmes acellulaires a révélé que celui-ci s'effectuait en deux étapes (*figure 1*). Dans un premier temps, on observe une coupure de la jonction exon-intron 5' avec, simultanément, la formation d'une structure en lasso contenant l'intron et l'exon aval. L'extrémité 5' de l'intron se retrouve alors liée de façon covalente à un groupement 2'OH d'un résidu adénosine situé près de l'extrémité 3' de l'intron. Ce résidu est appelé point de branchement (*figure 1*). Au cours de la deuxième étape, il y a coupure de la liaison intron-exon 3' couplée à la formation de l'ARN mature. L'intron est libéré sous forme de lasso [1]. Une telle voie d'épissage laisse présager de l'existence d'un complexe pour maintenir ensemble l'exon 1 et la structure en lasso résultant de la première étape de l'épissage. En effet, en l'absence d'un tel complexe, n'importe quel exon amont aurait en principe la possibilité de

s'épisser à n'importe quel exon aval. De tels complexes ont été observés et appelés *spliceosomes*. Les techniques de chromatographie d'affinité et de sédimentation ont permis l'identification des facteurs présents dans les *spliceosomes*. Ces études, réalisées avec des extraits de cellules de mammifères ou de levure, ont indiqué que cinq snRNP (U1, U2, U4, U5 et U6) s'associaient spécifiquement avec l'ARN pré-messager au cours de la réaction d'épissage [1, 7]. Ces snRNP sont-elles nécessaires à la réaction d'épissage ? Pour répondre à cette question, il a été possible d'utiliser les anticorps anti-protéines Sm qui reconnaissent des protéines présentes dans les snRNP U1, U2, U4 et U5. Lorsqu'ils sont mélangés à des extraits cellulaires, ces anticorps bloquent l'épissage. Cela suggère qu'au moins une des snRNP reconnues par ces anticorps est nécessaires à l'épissage [7]. La nature des snRNP requises pour la réaction d'épissage a été déterminée après digestion spécifique de snRNP en présence d'un oligodésoxyribonucléotide complémentaire et de ribonucléase H. Ces études ont démontré que les ARN U1, U2, U4 et U6 sont indispensables à l'excision des introns [7]. Malheureusement, l'ARN U5 étant pratiquement entièrement double-brin, et donc insensible à la dégradation par la RNase H en présence d'un oligonucléotide spécifique, il a fallu attendre le développement de nouvelles techniques pour pouvoir analyser son rôle au cours de l'épissage. Grâce à de nouveaux oligonucléotides contenant des résidus 2' O-méthyl, il a été possible de préparer des extraits de cellules de mammifères dépourvus d'ARN U5 pour montrer que cet ARN était aussi requis pour l'épissage [8]. Dans le cas de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, les outils génétiques disponibles chez cet organisme ont été utilisés pour construire des souches de levure contenant un gène de l'ARN U5 dont l'expression peut être réglée *in vivo*. En réprimant la transcription de l'ARN U5 *in vivo*, on a alors pu montrer que celui-ci était nécessaire à l'épissage [9]. De plus, on a pu produire de extraits d'épissage dépourvus d'ARN U5 à partir de ces souches pour démontrer le rôle de ce dernier dans l'épissage *in vitro* [10].

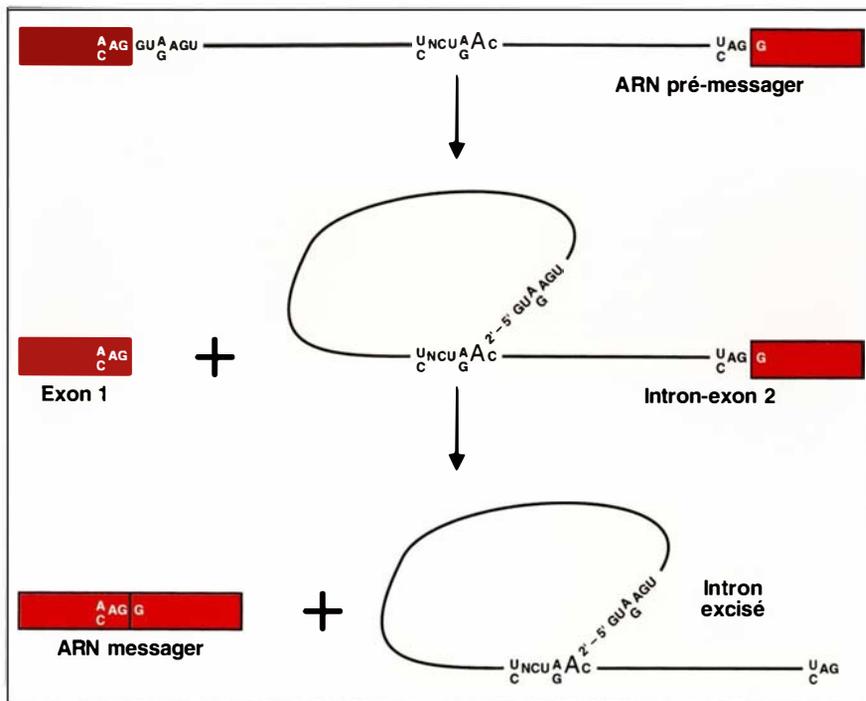


Figure 1. **Les deux étapes de la réaction d'épissage.** Les exons sont représentés par des rectangles rouges et l'intron par une ligne. Les séquences conservées chez les eucaryotes supérieurs sont indiquées, de même que le résidu adénosine servant de point de branchement (par un caractère de grande taille). (Voir le texte pour les détails.)

L'ensemble de ces études permet de conclure que les cinq snRNP qui s'associent à l'ARN pré-messager lors de la réaction d'épissage sont indispensables à cette réaction. Le rôle des snRNP dans la sélection des sites d'épissage et l'assemblage du *spliceosome* ont ensuite été des sujets de recherches intenses.

Sélection des sites d'épissage

Bien avant la démonstration du rôle de la snRNP U1 dans l'épissage, il avait été suggéré que l'extrémité 5' de cet ARN pourrait s'apparier aux séquences conservées trouvées aux extrémités en amont et en aval des introns (figure 2). Cette prédiction a été confirmée expérimentalement par des expériences de génétique effectuées dans des lignées de cellules humaines et chez les levures *S. cerevisiae* et *Schizosaccharomyces pombe* ([11-13], S. Kandels-Lewis et B. Séraphin, non publié). Ces expériences ont consisté à inactiver un intron en introduisant une mutation ponctuelle à l'une de ses extrémités puis

à montrer qu'il était possible de restaurer l'épissage de cet intron en exprimant un ARN U1 contenant à son extrémité 5' une mutation complémentaire. Ces données ont été corroborées par des expériences biochimiques qui indiquent que la snRNP U1 se lie aux extrémités 5' et 3' des introns. Il était donc tentant de suggérer que la snRNP U1 était responsable de la sélection des sites d'épissage par appariement avec l'ARN pré-messager. Cependant, cette hypothèse a été démentie par des expériences chez la levure *S. cerevisiae*, qui ont indiqué qu'il était possible génétiquement de séparer le site d'appariement de l'ARN U1 sur l'ARN pré-messager et le site de coupure en amont de l'intron [14]. En effet, dans certains mutants, l'épissage s'effectue 4 à 12 nucléotides en amont de l'appariement de l'ARN U1. D'autres facteurs sont donc impliqués dans la sélection du site d'épissage en 5'. Un de ces facteurs a été identifié en recherchant chez la levure des mutations compensatoires permettant l'épissage d'un intron dont le premier

nucléotide a été changé de G en A. Le gène suppresseur ainsi identifié est celui de l'ARN U5. Des expériences de mutagenèse dirigée de l'ARN U5 et des extrémités de l'intron ont alors permis de démontrer que l'ARN U5 peut participer à la sélection des deux sites d'épissage [15] en s'appariant avec les séquences exoniques flanquant l'intron (figure 2, p. 168). Cependant, les appariements exons-ARN U5 ne sont probablement pas requis pour la sélection de tous les sites d'épissage. En effet, dans de nombreux cas, les séquences des extrémités des exons 5' et 3' ne présentent pas de complémentarité avec l'ARN U5. Il reste donc à savoir si les interactions ARN U5-exons reflètent simplement la proximité spatiale de ces séquences (l'appariement ne s'effectuant que dans les cas favorables) ou si, au contraire, des interactions non canoniques se substituent aux appariements en l'absence de complémentarité parfaite. La détermination de la structure du *spliceosome* permettra de résoudre ce dilemme.

Le site de liaison de l'ARN U2 sur l'ARN pré-messager a d'abord été cartographié biochimiquement. Des réactions d'épissage *in vitro* ont été traitées avec des ribonucléases, puis la snRNP U2 a été immunoprécipitée avec des anticorps reconnaissant des polypeptides spécifiques de cette snRNP. Les fragments de l'ARN pré-messager liés à la snRNP U2 sont alors analysés pour déterminer de quelle région de l'ARN pré-messager ils proviennent [7]. Ces expériences ont indiqué que l'ARN U2 contacte les séquences entourant le point de branchement. Il a alors été possible de démontrer génétiquement, chez les eucaryotes supérieurs comme chez la levure, un appariement entre l'ARN U2 et l'ARN pré-messager ([1, 16], figure 2). Cependant, comme pour la reconnaissance des sites d'épissage, d'autres facteurs, en plus de l'ARN U2, sont sans doute impliqués dans la sélection du point de branchement.

A l'heure actuelle, aucune interaction précise entre l'ARN pré-messager et les snRNP U4 et U6 n'a été formellement identifiée. Récemment cependant, des expériences de pontage ont indiqué que l'ARN U6 devait se trouver à proximité du site d'épissage

RÉFÉRENCES

15. Newman AJ, Norman C. U5 snRNA interacts with exon sequences at 5' and 3' splice sites. *Cell* 1992 ; 68 : 743-54.
16. Parker R, Siliciano PG, Guthrie C. Recognition of the TACTAAC box during mRNA splicing in yeast involves base pairing to the U2-like snRNA. *Cell* 1987 ; 229-39.
17. Sawa H, Shimura Y. Association of U6 snRNA with the 5'-splice site region of pre-mRNA in the spliceosome. *Genes Dev* 1992 ; 6 : 244-54.
18. Séraphin B, Kretzner L, Rosbash M. A U1 snRNA : pre-mRNA base pairing interaction is required early in yeast spliceosome assembly but does not uniquely define the 5' cleavage site. *EMBO J* 1988 ; 7 : 2533-8.
19. Legrain P, Séraphin B, Rosbash M. Early commitment of yeast pre-mRNA to the spliceosome pathway. *Mol Cell Biol* 1988 ; 8 : 3755-60.
20. Séraphin B, Rosbash M. Identification of functional U1 snRNA-pre-mRNA complexes committed to spliceosome assembly and splicing. *Cell* 1989 ; 59 : 349-58.
21. Séraphin B, Rosbash M. The yeast branchpoint sequence is not required for the formation of a stable U1 snRNA-pre-mRNA complex and is recognized in the absence of U2 snRNA. *EMBO J* 1991 ; 10 : 1209-16.
22. Michaud S, Reed R. An ATP-independent complex commits pre-mRNA to the mammalian spliceosome assembly pathway. *Genes Dev* 1991 ; 5 : 2534-46.
23. Blencowe BJ, Sproat BS, Ryder U, Barabino S, Lamond AI. Antisense probing of the human U4/U6 snRNP with biotinylated 2'-OMe RNA oligonucleotides. *Cell* 1989 ; 59 : 531-9.
24. Guthrie C, Patterson B. Spliceosomal snRNAs. *Annu Rev Genet* 1988 ; 22 : 387-419.
25. Shannon KW, Guthrie C. Suppressors of a U4 snRNA mutation define a novel U6 snRNP protein with RNA-binding motifs. *Genes Dev* 1991 ; 5 : 773-85.
26. Wu J, Manley JL. Base pairing between U2 and U6 snRNAs is necessary for splicing of a mammalian pre-mRNA. *Nature* 1989 ; 352 : 818-21.
27. Datta B, Weiner AM. Genetic evidence for base pairing between U2 and U6 snRNA in mammalian mRNA splicing. *Nature* 1991 ; 352 : 821-4.
28. Behrens SE, Lührmann R. Immunoaffinity purification of a [U4/U6.U5] tri-snRNP from human cells. *Genes Dev* 1991 ; 5 : 1439-52.
29. Guthrie C. Messenger RNA splicing in yeast : clues to why the spliceosome is a ribonucleoprotein. *Science* 1991 ; 253 : 157-63.
30. Tani T, Oshima Y. mRNA-type introns in U6 small nuclear RNA genes : implications for the catalysis in pre-mRNA splicing. *Genes Dev* 1991 ; 5 : 1022-31.
31. Vankan P, McGuigan C, Mattaj IW. Roles of U4 and U6 snRNAs in the assembly of splicing complexes. *EMBO J* 1992 ; 11 : 335-43.

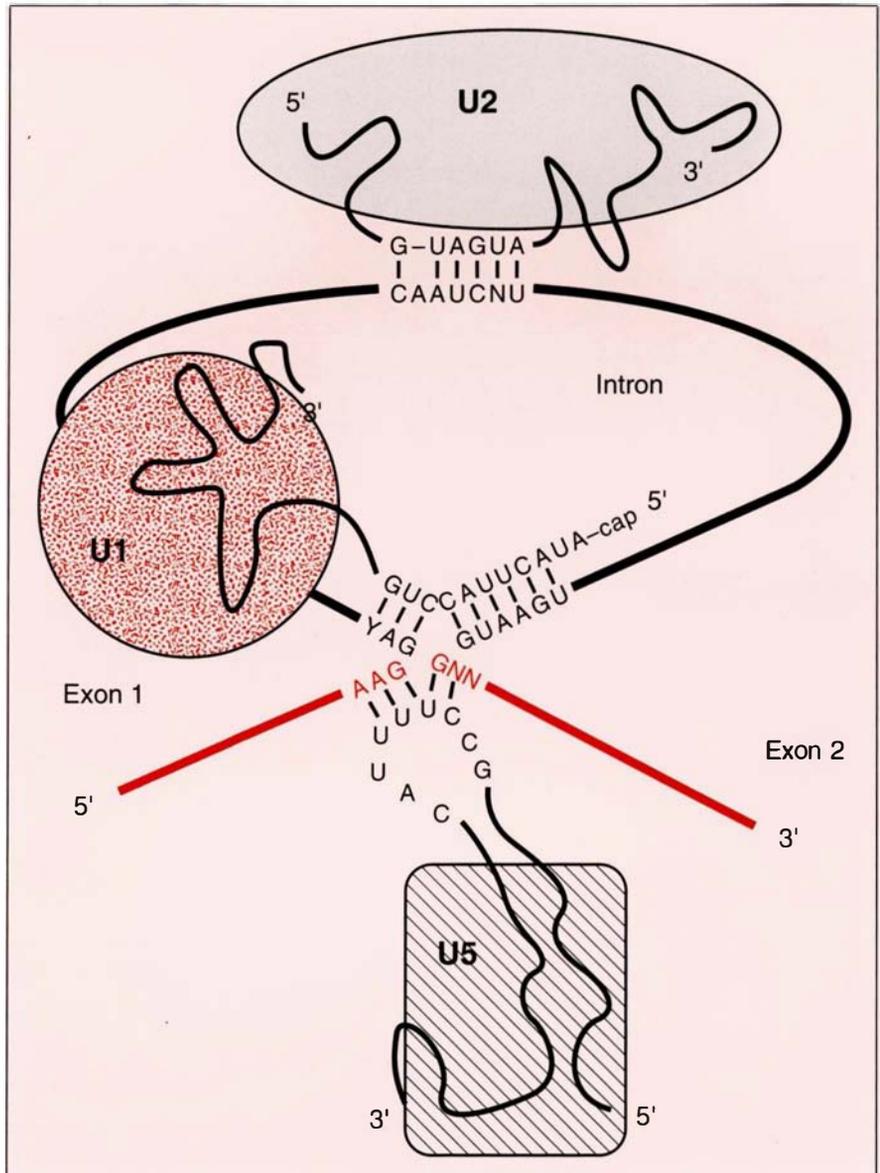


Figure 2. **Appariements entre l'ARN pré-messager et les ARN des snRNP U1, U2 et U5.** Les séquences indiquées sont dérivées des séquences conservées chez les eucaryotes supérieurs. L'appariement entre l'ARN U1 et le site d'épissage en 3' a été observé chez *Schizosaccharomyces pombe* [13] mais n'existe pas chez *Saccharomyces cerevisiae* (S. Kandels-Lewis et B. Séraphin, non publié).

en 5' et qu'il pourrait donc aussi intervenir dans la sélection des sites d'épissage [17].

L'assemblage du spliceosome

Le rôle de la snRNP U1 dans l'assemblage des *spliceosomes* a été élucidé chez la levure. Une première indication a été apportée par l'utilisation d'extraits dérivés de levures

exprimant un ARN U1 muté de C vers U à la position 4. Cet ARN U1 mutant restaure la formation des *spliceosomes* et l'épissage *in vitro* d'un ARN pré-messager qui contient une mutation complémentaire en position 5 de l'intron (figure 1). Or, cet ARN pré-messager mutant est incapable de former un pré-*spliceosome* contenant la snRNP U2 (figure 3) dans un extrait dérivé d'une souche de levure sauvage. On peut donc conclure que

l'appariement ARN U1-ARN pré-messager intervient avant ou simultanément à l'entrée en jeu de la snRNP U2 [18]. Ces expériences ont été confortées par des expériences de chasse isotopique dans des extraits de levure qui ont mis en évidence l'existence de complexes précédant le pré-spliceosome. Ces complexes engagent l'ARN pré-messager dans la voie

d'épissage et ont été appelés complexes C (pour complexes de *commitment*) [19]. Grâce à des extraits dépourvus de la snRNP U1, on a pu démontrer que la formation des complexes C nécessite la présence de la snRNP U1 et que ces complexes sont des précurseurs fonctionnels des *spliceosomes*. Finalement, deux complexes C ont

été observés directement grâce à un gel natif approprié [20]. Chez la levure, le premier de ces deux complexes se forme sur des ARN pré-messagers ne contenant qu'un site d'épissage en 5' tandis que le second nécessite en sus la présence d'un point de branchement ([21], *figure 3*). Tous deux contiennent la snRNP U1. Les complexes C ne sont pas spécifiques à la levure ; plus récemment, ils ont aussi été observés dans des extraits de cellules de mammifères [22]. Les étapes ultérieures de la formation des *spliceosomes* ont été déduites de la cinétique de formation de complexes observés sur gels natifs [1]. La snRNP U2 se lie aux complexes C en présence d'ATP pour donner le pré-*spliceosome* (*figure 3*). Lors d'une nouvelle étape, les snRNP U4, U5 et U6 se joignent à ce complexe pour donner le *spliceosome* complet (*figure 3*). La snRNP U4 semble alors subir un changement conformationnel et n'est plus que faiblement associée au reste du *spliceosome* [23]. Les deux réactions chimiques de l'épissage ont alors lieu, libérant l'ARN messager tandis que l'intron reste associé aux snRNP. La dissociation de ce dernier complexe en présence d'ATP permet la régénération des snRNP pour de nouveaux cycles de formation de *spliceosomes* [1]. En inactivant spécifiquement les snRNP U2, U4 ou U6, on a pu vérifier que l'ordre d'addition des snRNP lors de la formation des *spliceosomes* ne reflétait pas simplement des différences d'affinité de ces snRNP pour l'ARN pré-messager, mais qu'il traduisait bien la nécessité d'une association ordonnée des snRNP. Ainsi l'inactivation de la snRNP U2 empêche l'association des snRNP U4, U5 et U6 tandis que l'inactivation des snRNP U4 ou U6 bloque l'addition de la snRNP U5 [1]. De même, les snRNP U4 et U6 n'entrent pas dans le *spliceosome* lorsque l'on utilise des extraits dont l'ARN U5 a été soustrait [8, 10].

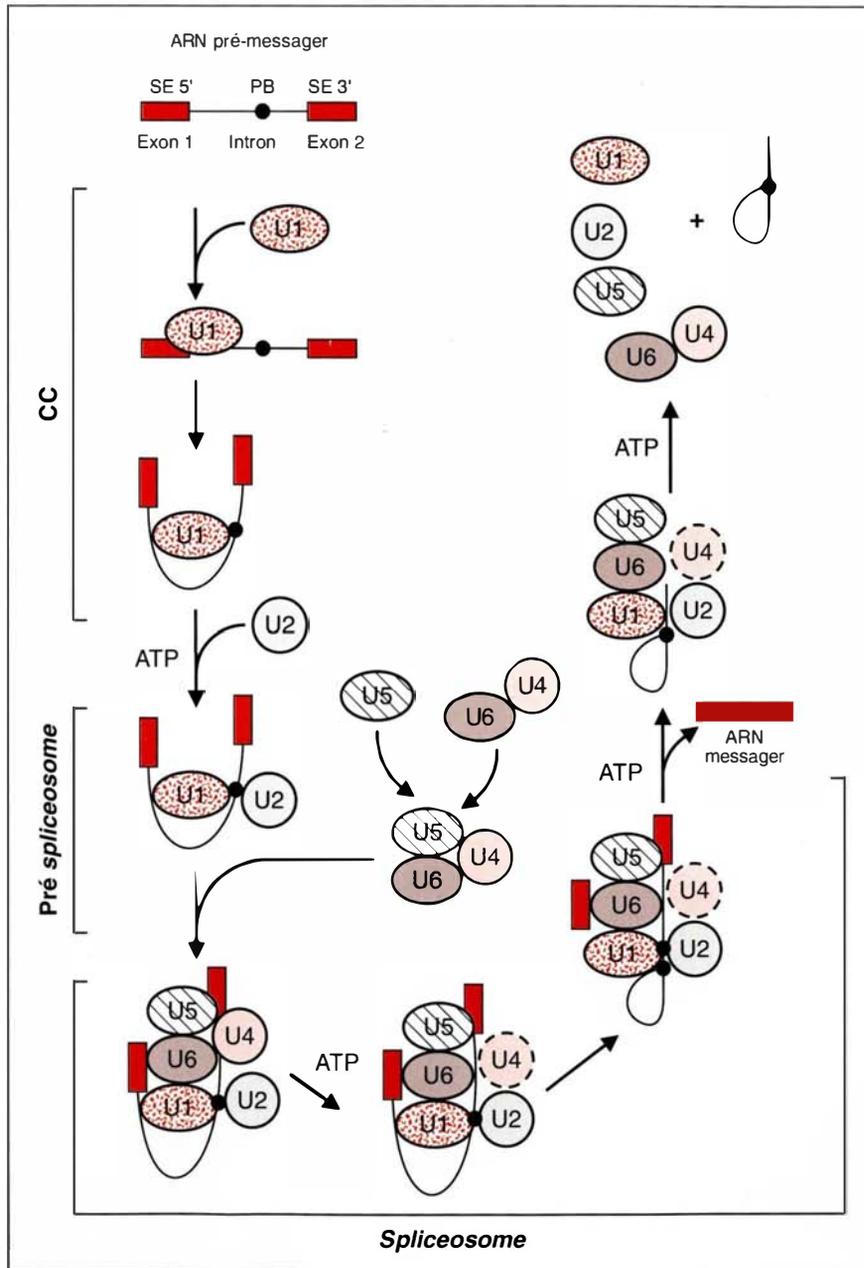


Figure 3. **La voie d'assemblage des spliceosomes.** Les complexes C (CC), pré-spliceosome et spliceosome sont indiqués. Les diverses snRNP sont symbolisées par des disques portant leur nom. Les sites d'épissage (SE) en 5' et 3' ainsi que le point de branchement sont indiqués sur l'ARN pré-messager. Les étapes nécessitant de l'ATP sont marquées.

Les interactions entre snRNP

L'étude de la formation des *spliceosomes* a indiqué l'existence de nombreuses interactions entre snRNP. Deux de ces interactions résultent d'appa-

riements entre des ARN de snRNP. En effet, la grande majorité de l'ARN U4 présent dans un extrait se trouve associée à l'ARN U6 sous forme d'une double snRNP U4/6 [24, 25]. Cette association, catalysée par diverses protéines ([25], Z. Lygerou et B. Séraphin ; non publié), est probablement nécessaire à l'interaction avec la snRNP U5, mais elle disparaît avant la catalyse proprement dite de l'épissage (figure 3). Plus récemment, une interaction entre l'ARN U2 et l'ARN U6 a été mise en évidence lors d'expériences de pontage chimique. On a ensuite pu démontrer génétiquement, dans des cellules de mammifères, qu'il s'agissait d'un appariement entre l'extrémité 5' de l'ARN U2 et la partie 3' de l'ARN U6, et que cette interaction est nécessaire à l'épissage [26, 27]. Cependant, on ne sait pas à quelle étape de l'assemblage des *spliceosomes* cette interaction a lieu. Une autre interaction se produit entre les snRNP U5 et U4/6 avant l'entrée de celles-ci dans le *spliceosome*. Il est clair que cette association dépend de l'action de nombreuses protéines, mais on ne sait pas si des interactions ARN-ARN entrent aussi en jeu [28].

snRNP et catalyse

Du fait de l'existence d'introns autocatalytiques, il a été suggéré que la catalyse de l'épissage des introns nucléaires était aussi accomplie par les molécules d'ARN des snRNP. De nombreux arguments ont été avancés en faveur du rôle catalytique de l'ARN U6 : (1) découverte de mutations dans l'ARN U6 de levure bloquant la seconde étape de l'épissage [29] ; (2) découverte d'introns potentiellement inséré dans le centre catalytique de l'ARN U6 par épissage inverse chez trois champignons [30] ; (3) similitude de séquence entre l'ARN U6 et la séquence catalytique du brin (-) du virus du tabac [30]. Cependant, ces arguments peuvent être remis en question : (a) des données récentes indiquent que des mutations identiques à celles bloquant la seconde étape de l'épissage chez la levure n'ont pas d'effets lorsqu'elles sont transférées chez le xénope [31] ; (b) les insertions d'introns dans les ARN U6 de champignons ont eu lieu

dans six sites différents dont certains ne font probablement pas partie du centre catalytique ; (c) les réactions chimiques catalysées par le brin (-) du virus du tabac sont totalement différentes de celles se produisant lors de l'épissage. Des expériences supplémentaires vont être nécessaires afin de déterminer si les ARN participent effectivement à la catalyse. Le rôle potentiel des protéines de snRNP, dans la catalyse de cette réaction, est aussi étudié génétiquement chez la levure (B. Séraphin et Z. Lygerou, non publié).

Conclusion

En résumé, notre vue actuelle de l'épissage est la suivante : la snRNP U1 va reconnaître les transcrits contenant des introns parmi l'ensemble des ARN présents dans le noyau. La snRNP U1 est probablement aidée dans son rôle de tri par des protéines, notamment dans les cas d'épissage alternatif. Les introns liés à la snRNP U1 sont ensuite reconnus par les snRNP U2, puis U4, U5 et U6 qui vont établir de nouvelles interactions entre snRNP et avec les séquences introniques. La multitude de ces interactions va permettre l'extraordinaire précision de la réaction d'épissage qui est peut-être catalysée par les ARN des snRNP elles-mêmes.

Il est fondamental de comprendre les règles qui gouvernent la sélection des séquences introniques. En effet, ces règles seront indispensables pour pouvoir déchiffrer l'information contenue dans le génome humain. Elles seront aussi utiles pour comprendre les déficits observés dans certaines maladies héréditaires qui peuvent être les conséquences de mutations bloquant en *cis* l'excision des introns ou la rendant imprécise ■

Remerciements

Nous tenons à remercier F. Mauxion pour ses suggestions sur le manuscrit, M. Kimmins pour la dactylographie et I. Mattaj pour son encouragement constant. Ce travail a été rendu possible grâce au soutien financier de l'EMBL.

Summary

Function of snRNPs in pre-mRNA splicing

Splicing of intron sequence is a pre-mRNA processing step that occurs in the cell nucleus. snRNPs (small nuclear RiboNucleoProteins) are splicing factors made of one or more RNAs associated with proteins. It is now clear that snRNPs are required for intron recognition and splice site selection. The assembly pathway of snRNPs on the pre-mRNA is ordered and results in the formation of a splicing complex or spliceosome. Inside the spliceosome, snRNAs could catalyze the splicing reaction.

Un colloque international sur le thème « Anxiété : neurobiologie, clinique et perspectives thérapeutiques » se tiendra les 20 et 21 septembre 1993 à Dinard (Ille-et-Vilaine) avec, entre autres, le soutien de l'INSERM. Organisateur : M. Hamon et M.-H. Thiebot (INSERM U.288), H. Ollat (ANPP-Association pour la Neuro-Psycho-Pharmacologie).

Au programme : Aspects cliniques des différentes formes d'anxiété pathologique ; Modèles animaux ; Comportements sociaux (agression, défense) ; Implications des systèmes mono-aminergiques, GABA-ergiques, et autres ; Implications neuro-endocriniennes et immunitaires ; Mécanismes d'action des anxiolytiques (aspects moléculaires et pharmacologiques des récepteurs du GABA, de la sérotonine, de la cholécystokinine, des acides aminés excitateurs, etc.) ; Nouvelles perspectives thérapeutiques.

Conférenciers : R. Balster (Richmond, USA), J.-C. Baron (INSERM U.320, Caen), G. Biggio (Cagliari, Italie), J.-Ph. Boulanger (INSERM, Sherbrooke, Canada), M. Bourin (Nantes), R. Dantzer (INSERM U.176, Bordeaux), V. Daugé (INSERM U.266, Paris), A. Depaulis (INSERM, Strasbourg), H. Gozlan (INSERM U.288, Paris), W. Haefely (Bâle, Suisse), F. Héry (INSERM U.297, Marseille), H. Lüddens (Heidelberg, Allemagne), C.A. Marsden (Nottingham, G.B.), M.-J. Millan (Puteaux), D. Sanger (Bagneux), J.-P. Tassin (INSERM U.114, Paris), M.-H. Thiebot (INSERM U.288, Paris).

Ce colloque réunira une centaine de participants. Les actes paraîtront pour le colloque, sous forme d'une co-édition INSERM/John Libbey Eurotext dans la collection des Colloques de l'INSERM.

Date limite d'inscription : 15 mars 1993. Pour tout renseignement complémentaire et proposition de communication affichée, s'adresser à l'A.N.P.P., 25, rue de la Plaine, 75020 Paris - Tél. : 43.79.95.42 - Télécopie : 43.79.34.34.