médecine/sciences 1997; 13: 97-8

# La voie de transmission du signal TGFβ : le partenaire de MAD se lie à l'ADN

Dans une toute récente mini-synthèse de médecine/sciences, nous avons commencé de détailler la voie de transmission du signal provenant des facteurs de la famille TGF $\beta$  en direction de la machinerie transcriptionnelle [1]. Nous avons vu que, dans différentes espèces, des protéines MAD (également désignées par le sigle SMAD) sont impliquées, mais que leur mécanisme d'action restait incertain puisqu'elles ne semblent pas capables de se lier par ellesmêmes à l'ADN; on leur imaginait donc un partenaire. Aujourd'hui, tout va très vite en biologie, et l'élucidation de cette énigme était attendue à brève échéance. De fait, le laboratoire de Malcolm Whitman (Boston, MA, USA) vient d'isoler un tel partenaire chez le xénope. Il s'agit d'un facteur de transcription appartenant à la famille HNF3 (m/s  $n^{\circ}1$ , vol. 11, p. 134). L'élément caractéristique de liaison à l'ADN des membres de cette famille est un motif de type «hélice ailée » (winged helix). Ce résultat a été obtenu de manière aujourd'hui assez traditionnelle en génétique moléculaire. Les auteurs savaient que deux gènes à homéoboîtes, dénommés Mix. 1 et Mix. 2, étaient transcriptionnellement activés très précocement dans des embryons de xénope sous l'action de membres de la famille TGFB tels l'activine et le Vg-1. En amont du gène Mix. 2, une séquence du promoteur d'environ 50 pb se comporte comme un élément de réponse à l'activine, dénommée ARE (activin response element). Cette ARE, reconnaît, dans des expériences d'interaction avec des protéines (expérience appelée retardement sur gel) un complexe protéique détecté après activation par des facteurs de

type TGFβ, même lorsque la stimulation est faite en présence d'un inhibiteur de la synthèse protéique. Cela signifie que le TGFβ active la fixation à l'élément ARE d'une protéine préexistante. A l'aide d'un anticorps contre la protéine de la famille MAD dénommée XMAD2, les auteurs démontraient ensuite que ce complexe fixé à l'ARE contenait effectivement le facteur XMAD2. L'hypothèse simple était alors que le TGFβ se fixant à ses récepteurs, et activant probablement une activité de protéine kinase, induisait la phosphorylation de XMAD2, amenant cette dernière à interagir, dans le noyau, avec un partenaire capable de se fixer à l'ADN, sur l'élément ARE. Pour cloner l'ADNc codant pour le partenaire, les auteurs utilisèrent alors la levure. Ils préparèrent des levures dans lesquelles des gènes de sélection étaient mis sous le contrôle d'une répétition de séquence ARE, et introduisirent dans ces levures ainsi modifiées des clones formés d'ADNc de Xénope couplés en phase à une séquence codant pour un domaine d'activation transcriptionnelle. Les levures dans lesquelles les gènes de sélection sont activés sont donc censées contenir une protéine capable de se fixer aux ARE. Ainsi furent identifiés deux clones qui ont le potentiel de coder pour une protéine dénommée FAST-1 (Forkhead activin signal transducer-1). Comme indiqué plus haut, il s'agit d'une protéine possédant le domaine winged helix, appartenant donc à la famille HNF-3/ Forkhead.

Un anticorps dirigé contre FAST-1 devait révéler que cette protéine fait bien partie du complexe qui se fixe à l'ARE. Le messager de FAST-1 est

présent dans les ovocytes et dans les embryons très jeunes. Tous ces résultats permettent de proposer le schéma relativement simple de transmission du signal activine et TGFβ résumé dans la figure 1. Maintenant, il s'agira de déterminer si les différentes protéines MAD ont, comme il est probable, différents types de partenaires leur permettant de se fixer aux séquences de régulation des gènes cibles des facteurs de la famille TGFβ, et si ces partenaires appartiennent tous à la famille winged helix, ou bien si différents types de partenaires permettent de cibler les protéines MAD vers des séquences de régulation toutes différentes. Cette dernière hypothèse semble la plus probable car d'autres éléments de réponse au TGFB et à ses semblables n'ont révélé aucune similitude avec l'ARE étudiée par le laboratoire de Whitman. De plus, les protéines MAD pourraient aussi se dimériser entre elles, formant des homo- ou des hétérodimères. Le laboratoire de Ali Hemmati-Brivanlou et de J. Massagué (New York, USA) vient en effet de montrer que l'action de BMP4 (bone morphogenic protein 4), relayée par MAD1 (ou SMAD1), aussi bien que celle de l'activine ou de TGFβ, relayée par MAD2 (SMAD2) comme rappelé par Chen et al. chez l'embryon de xénope [2], requiert l'action de DPC4, un membre de la famille MAD dont l'homologue humain est altéré dans des cancers, notamment du pancréas (m/s n° 4, vol. 12, p. 525) [1]. Un mutant négatif de DPC4 dominant en trans inhibe l'action de BMP4 et de TGF\(\beta\) chez le x\(\epsi\)nope aussi bien que sur des cellules épithéliales mammaires en culture, alors qu'un mutant positif constitutif

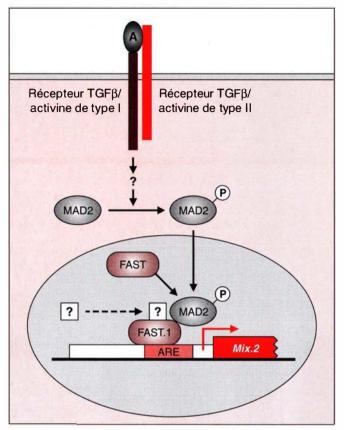


Figure 1. Modèle d'action de l'activine, du TGFβ et d'autres membres de la famille sur les gènes Mix. Un récepteur formé de sous-unités de type 1 et de type 2 fixe les membres de la famille TGFβ, activant probablement une activité de protéine kinase spécifique des sérines et thréonines. MAD2 est l'une des cibles de cette phosphorylation; phosphorylée, elle serait alors transportée dans le noyau où elle pourrait interagir avec le facteur de transcription FAST-1, et peut-être avec d'autres partenaires (par exemple la protéine MAD DPC4), formant un complexe se fixant sur l'élément de réponse ARE (activin response element). Ce complexe fixé à l'élément de réponse activerait alors la transcription des gènes Mix.

mime leur action. De ce fait, le réseau de signalisation auquel appartiennent les protéines MAD (SMAD) pourrait être également perturbé dans les cancers avec mutation de DPC4. Cette protéine n'est donc pas sans rappeler le rôle que jouent les récepteurs RXR, partenaires obligatoires de nombreux membres de la superfamille des récepteurs nucléaires. Sans doute, les prochaines informations qui seront données sur le système nous indiqueront-elles si ce « ménage à trois » MAD/DPC4/FAST-1 existe réellement, s'il peut s'adjoindre d'autres partenaires et en quoi cela explique la spécificité des actions de différents membres de la famille TGFβ sur différents gènes.

A.K.

GROUPE DE RÉFLEXION SUR LA RECHERCHE CARDIOVASCULAIRE

### CONGRÈS BIOLOGIE ET PATHOLOGIE DU CŒUR ET DES VAISSEAUX

Sous le parrainage de l'Inserm et de la Société Française de Cardiologie

#### ARCACHON 29 et 30 AVRIL 1997

Comité local d'organisation (secrétariat scientifique résumés)

#### Alain-Pierre GADEAU

Inserm U. 441, avenue du Haut-Lévêque

33600 Pessac, France. Tél.: 05.57.89.19.79

Fax: 05.56.36.89.79

E-mail: alain.gadeau@bordeaux.inserm.fr http://www.bordeaux.inserm.fr/grrc.html

## Administration (inscriptions et réservations hôtelières)

Palais des Congrès Boulevard Veyrier-Montagnères, 33120 Arcachon, France.

> Tél.: 05.56.22.47.22 Fax: 05.56.22.55.55

<sup>1.</sup> Rouayrenc JF. La famille des facteurs TGFβ et leur connexion au noyau. *Med Sci* 1996; 12:1265-

<sup>2.</sup> Chen X, Rubock MJ, Whitman M. A transcriptional partner for MAD proteins in TGF $\beta$  signalling. *Nature* 1996; 383: 691-6.

<sup>3.</sup> Lagna G, Hata A, Hemmati-Brivanlou A, Massagué J. Partnership between DPC4 and SMAD proteins in TGFβ signalling pathway. *Nature* 1996; 383: 832-6.