

SRF, un régulateur transcriptionnel contrôlant l'activation de deux voies antagonistes : la prolifération et la différenciation cellulaire

Les événements majeurs du devenir cellulaire tels que l'induction de la prolifération ou de la différenciation requièrent la modulation de l'expression génique. Cette modulation fait intervenir la liaison/interaction de facteurs protéiques spécifiques, régulateurs transcriptionnels, à des séquences d'ADN consensus présentes à proximité des gènes à activer ou à réprimer. Ces facteurs sont souvent des phosphoprotéines nucléaires dont l'activité transcriptionnelle peut être contrôlée par des événements de phosphorylation. L'un de ces régulateurs transcriptionnels, SRF (*serum response factor* ou p67^{SRF}) se lie à la séquence d'ADN SRE (*serum response element*), contenant la séquence CC(A/T)₆ GG ou CarG box et contrôle l'expression de gènes impliqués aussi bien dans la prolifération cellulaire que dans la mise en place du programme de différenciation musculaire.

Cécile
Gauthier-Rouvière
Marie Vandromme
Jean-Claude Cavadore
Ned Lamb
Anne Fernandez

ADRESSE

C. Gauthier-Rouvière : boursière post-doctorale, ligue nationale contre le cancer. M. Vandromme : allocataire de recherche. J.-C. Cavadore : directeur de recherche à l'Inserm. N. Lamb : directeur de recherche au Cnrs. A. Fernandez : chargée de recherche au Cnrs. CRBM, Cnrs-Inserm, route de Mende, BP 5051, 34033 Montpellier Cedex, France.

Initialement, la mise en évidence de la séquence SRE (*serum response element*) a découlé de l'étude des événements qui interviennent lors de la stimulation mitogénique d'une cellule au repos. La stimulation par des facteurs de croissance induit l'expression d'un groupe de gènes dits « précoces », dont une caractéristique commune à certains d'entre eux — une vingtaine recensés à ce jour — est la présence, généralement en amont du gène, d'une séquence consensus de type CC(A/T)₆GG alors appelée *serum response element* : SRE (ou aussi *dyad symmetry element* : DSE, du fait de sa structure pseudosymétrique) (figure 1) [1]. La séquence SRE est suffisante pour conférer l'inductibilité

par le sérum à tout promoteur minimal qui lui est accolé et relaye également les effets de certains facteurs de croissance (EGF, PDGF, IGF...), d'oncogènes à expression cytoplasmique (*ras*, *mos*, *src*, *raf*) et des esters de phorbol [2, 3]. Deux autres particularités caractérisent ces gènes précoces : (a) leur expression ne nécessite pas de synthèse préalable de protéines, les facteurs transcriptionnels nécessaires, déjà présents dans la cellule au repos, sont activés par des modifications post-traductionnelles ; (b) leur expression, rapide et transitoire, est détectée dans une grande variété de types cellulaires en réponse à de nombreux inducteurs (hormones ou facteurs de croissance). Appartenant à cette famille de gènes précoces

ces, le gène *c-fos* est un des exemples les plus documentés de régulation transcriptionnelle *via* la séquence SRE [4]. Mais on retrouve la séquence SRE en amont de gènes divers tels les gènes *krox-20*, *Zif-268* qui, tout comme la protéine codée par le gène *c-fos*, sont eux-mêmes des régulateurs transcriptionnels contrôlant l'expression d'une seconde vague de gènes vraisemblablement responsables de l'engagement de la cellule dans le cycle de division cellulaire ou dans une voie de différenciation [5]. La séquence SRE est également présente en 5' de gènes codant pour des récepteurs d'hormones stéroïdiennes (gène N-10) ou de l'interleukine 2, et pour des protéines du cytosquelette (β -actines, tropomyosine...) ou de la matrice extracellulaire (fibronectine, sous-unités α ou β du récepteur à la fibronectine) [1].

La séquence similaire à SRE, CC(A/T)₆GG, appelée aussi séquence CArG, est retrouvée dans les promoteurs de gènes exprimés au cours de la différenciation myogénique (l' α -actine cardiaque et squelettique, les chaînes lourdes et légères de la myosine cardiaque, la chaîne légère de la myosine squelettique, la créatine kinase musculaire, la dystrophine, la myogénine [6]).

Il a été montré qu'aussi bien la séquence SRE que la séquence CArG sont capables de fixer une même protéine, appelée *serum response factor* : SRF, initialement mise en évidence et purifiée à partir de cellules fibroblastiques comme l'activité protéique, contrôlant l'activité transcriptionnelle de la séquence SRE du gène *c-fos* [7-8]. Cette protéine est un transactivateur puissant dans des cellules non transformées, transfectées avec un vecteur d'expression de SRF, activité corrélée à sa fixation, sous forme d'un homodimère, sur la séquence SRE [9]. La recherche d'une activité protéique liant la séquence CArG de l' α -actine cardiaque et squelettique a permis d'isoler une protéine, alors dénommée *CArG-binding factor* (CBF) [10], qui, présente dans des extraits d'origine musculaire et non musculaire, s'est en fait avérée analogue biochimiquement et immunologiquement à SRF [11]. Outre la protéine SRF, d'autres protéines, capables de se lier à SRE, ont été mises en évi-

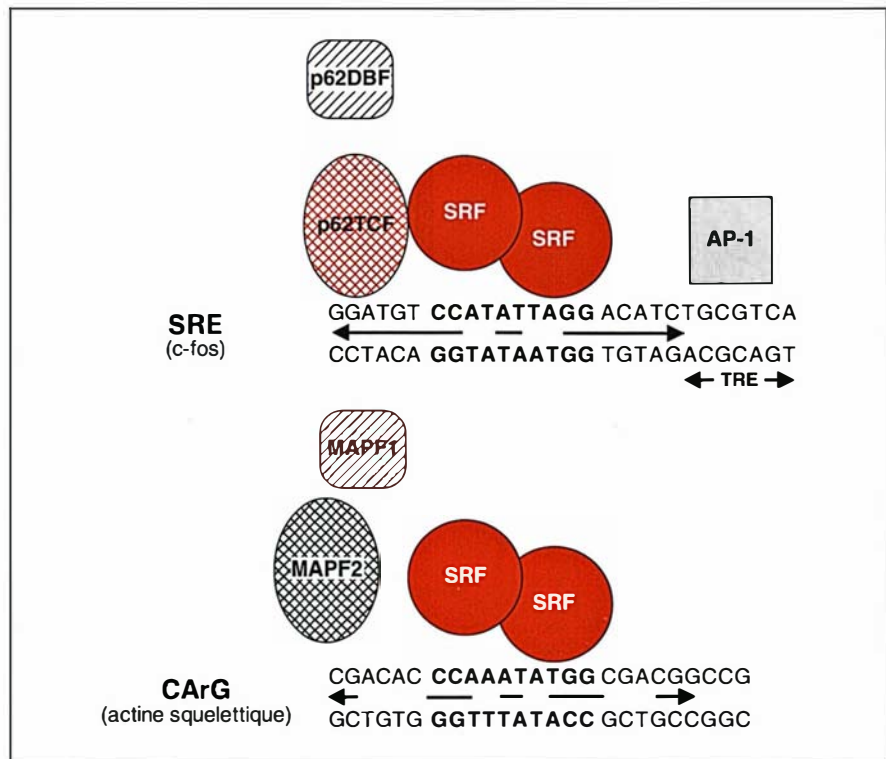


Figure 1. **Schéma récapitulatif des interactions protéiques sur la séquence consensus SRE/CArG du gène *c-fos* et du gène de l'actine squelettique.** SRE : serum response element, TRE : TPA-response element, CArG : CC(A/T)₆GG. SRF : serum response factor, se lie toujours sous forme d'un homodimère, p62TCF : ternary complex factor, p62DBF : direct binding factor, AP-1 : hétérodimère *fos/jun*, MAPF1 et 2 : muscle actin promoter factor 1 et 2. La séquence CArG présente dans les deux cas est indiquée en caractères gras. La symétrie palindromique est indiquée pour chaque séquence par une flèche entre les deux brins d'ADN.

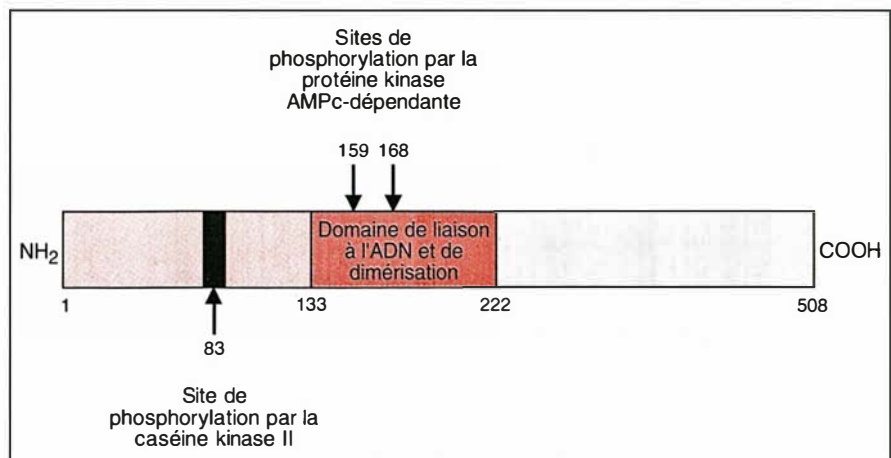


Figure 2. **Représentation schématique de la protéine SRF, détaillant les domaines de liaison à l'ADN, de dimérisation et les sites de phosphorylation.**

RÉFÉRENCES

1. Bravo R. Genes induced during the G₀/G₁ transition in mouse fibroblasts. *Semin Cancer Biol* 1990 ; 1 : 37-46.
2. Treisman R. Identification of a protein-binding site that mediates transcriptional response of the *c-fos* gene to serum factors. *Cell* 1986 ; 46 : 567-74.
3. Gauthier-Rouvière C, Fernandez A, Lamb NJC. Ras-induced *c-fos* expression and proliferation in living rat fibroblasts involves C-kinase activation and the serum response element pathway. *EMBO J* 1990 ; 9 : 171-80.
4. Blanchard JM. Le proto-oncogène *c-fos* : un « entremetteur » moléculaire. *médecine/sciences* 1992 ; 5 : 455-70.
5. Treisman R. The SRE : a growth factor responsive transcriptional regulator. *Semin Cancer Biol* 1990 ; 1 : 47-58.
6. Taylor A, Erbo HP, Muscat GEO, Kebes L. Nucleotide sequence and expression of the human skeletal actin gene : evolution of functional regulatory domains. *Genomics* 1988 ; 3 : 323-36.
7. Prywes R, Roeder RG. Purification of the *c-fos* enhancer binding protein. *Mol Cell Biol* 1987 ; 7 : 3482-9.
8. Treisman R. Identification and purification of a polypeptide that binds to the *c-fos* serum response element. *EMBO J* 1987 ; 6 : 2711-7.
9. Norman C, Runswick M, Pollock R, Treisman R. Isolation and properties of cDNA clones encoding SRF, a transcription factor that binds to the *c-fos* serum response element. *Cell* 1988 ; 55 : 989-1003.
10. Boxer LM, Miwa T, Gustafson TA, Kedes L. Identification and characterization of a factor that binds to two human sarcomeric actin promoters. *J Biol Chem* 1988 ; 264 : 1284-92.
11. Boxer LM, Prywes R, Roeder RG, Kedes L. The sarcomeric actin CArG binding factor is indistinguishable from the *c-fos* serum response factor. *Mol Cell Biol* 1989 ; 9 : 515-22.
12. Herrera RE, Shaw PE, Nordheim A. Occupation of the *c-fos* serum response element *in vivo* by a multi-protein complex is unaltered by growth factor induction. *Nature* 1989 ; 340 : 68-70.



Figure 3. **Localisation de la protéine SRF sur des chromosomes métaphasiques.** La protéine SRF, reconnue par un anticorps dirigé contre cette protéine, est visualisée sur des chromosomes métaphasiques murins colorés au Propidium Iodine observés en microscopie confocale (CLMS Leica).

dence. En effet, la liaison de la protéine SRF constitue le premier maillon de la formation de structures multiprotéiques sur la séquence SRE. La protéine p62^{TCF} ou SAP-1 (pour *ternary complexe factor* ou *SRF accessory protein-1*) ne peut se fixer, sous forme monomérique, sur la séquence SRE du gène *c-fos* qu'en présence de SRF [12]. En revanche, une autre protéine appelée p62^{DBF} pour *direct binding factor* lie la séquence SRE de manière exclusive vis-à-vis de la protéine SRF [13] (figure 1). De même, l'étude des facteurs liant la séquence CArG de l' α -actine a révélé la présence de deux protéines dénommées *muscle actin promoter factor* (MAPF1) (vraisemblablement analogue à p62^{DBF}) et MAPF2, trouvée spécifiquement dans les extraits nucléaires de différentes lignées musculaires (L6, C2, Sol8) [14]. Plus récemment, l'étude du développement musculaire dans des

embryons d'amphibiens a permis d'identifier quatre facteurs, distincts de SRF, liant la séquence CArG, appelés *embryo CArG box binding factor* (ECF) [15].

Il semble donc bien que plusieurs facteurs protéiques interagissent au site SRE/CArG — la protéine SRF y occupant probablement un rôle central — cela aussi bien lors de l'activation proliférative induite en réponse aux facteurs de croissance qu'au cours du processus de différenciation myogénique.

SRF et l'expression de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire

Si la protéine SRF est impliquée dans la régulation de l'expression de divers gènes précoces induits lors de l'entrée dans le cycle de division cellulaire, celui pour lequel son rôle est le

mieux documenté est le gène *c-fos*. La protéine SRF, tout comme la plupart des régulateurs transcriptionnels connus, est une phosphoprotéine nucléaire [16] (figure 2). L'utilisation d'anticorps reconnaissant spécifiquement la protéine SRF a permis de montrer que cette protéine est présente dans tous les types cellulaires quelle que soit leur position dans le cycle de division cellulaire, c'est-à-dire G₀, G₁, S, G₂, et M (voir [17]

pour la description du cycle cellulaire) [18]. En particulier, sur des chromosomes métaphasiques, cette protéine est localisée sur des régions précises de l'ADN, correspondant vraisemblablement à différents gènes contenant une séquence SRE ou CC(A/T)₆GG (figure 3). La présence continue de la protéine SRF au cours du cycle de division cellulaire nous a conduits à examiner le rôle *in vivo* de la protéine

SRF à diverses étapes du cycle de division cellulaire. L'approche utilisée consiste à neutraliser la protéine SRF grâce à la micro-injection d'anticorps spécifiques dans des fibroblastes de mammifères en culture. Nous avons ainsi pu montrer que la micro-injection de ces anticorps, dans des cellules en G₀, inhibe l'expression du gène *c-fos* (figure 4, A et B) [19]. Cette incapacité des cellules injectées à exprimer ce gène précoce est dépen-

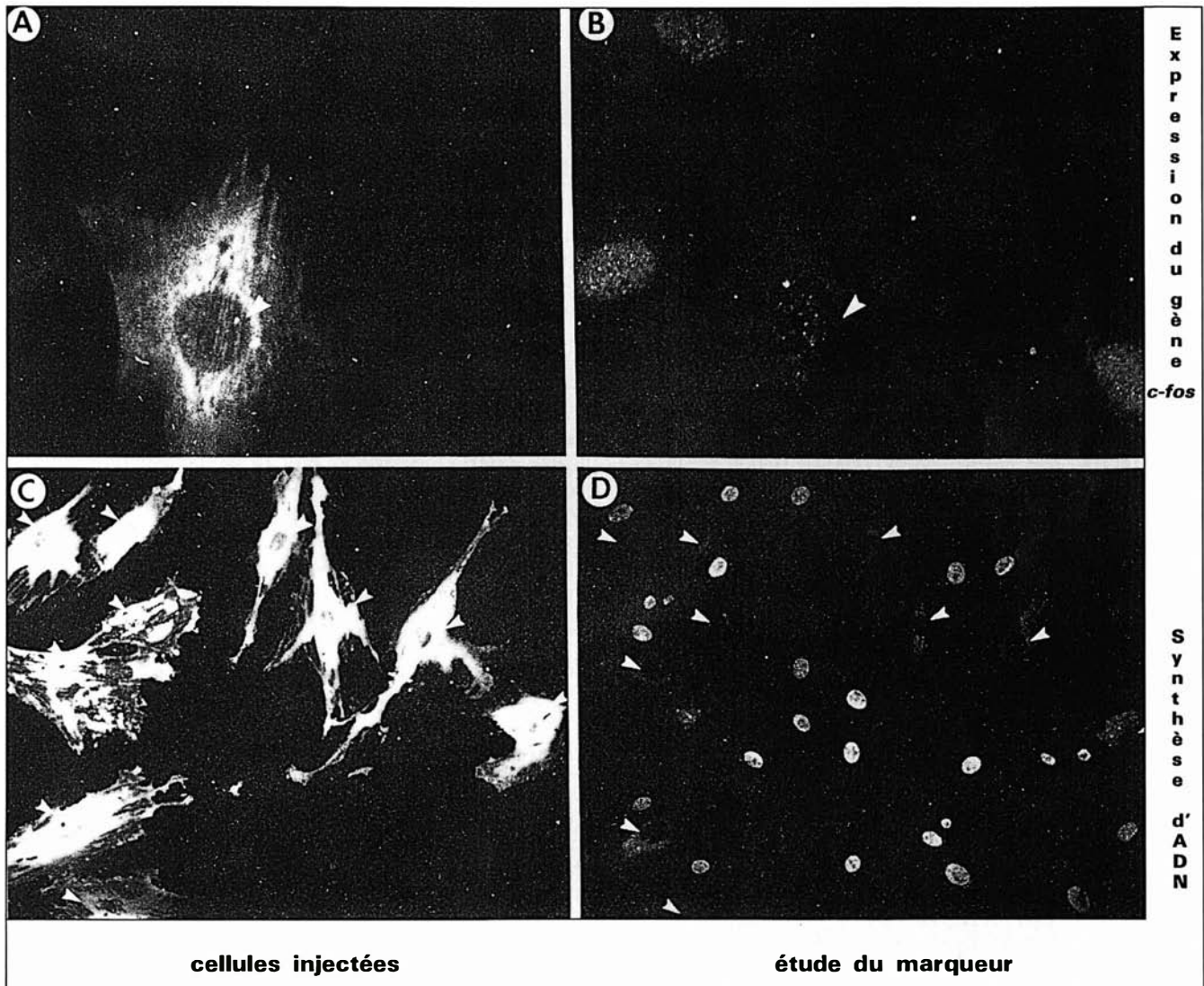


Figure 4. **Implication de la protéine SRF dans deux étapes de la prolifération cellulaire, l'expression du gène *c-fos* et la synthèse d'ADN.** Les fibroblastes embryonnaires de rat (REF-52) quiescents, micro-injectés avec l'anticorps dirigé contre la protéine SRF 10 heures avant l'addition des facteurs de croissance (A) ou 8 heures après avoir été placés dans du milieu contenant des facteurs de croissance (C), n'expriment pas le gène *c-fos* (B) et n'atteignent pas la phase de réplication de l'ADN (D). Ces deux événements sont visualisés en immunocytochimie à l'aide d'un anticorps reconnaissant la protéine Fos ou d'un anticorps reconnaissant le 8-bromo-désoxyuridine, analogue de la thymidine, incorporé par les cellules au cours de la phase S. Les cellules environnantes non injectées expriment le gène *c-fos*, la protéine est détectée 90 minutes après l'addition des facteurs de croissance à des cellules quiescentes. De même, 24 heures après la stimulation mitogénique, les cellules non injectées ont répliqué leur matériel génétique.

RÉFÉRENCES

- Ryan WA, Franza BR, Gilman MZ. Two distinct cellular phosphoproteins bind to the *c-fos* serum response element. *EMBO J* 1989 ; 8 : 1785-92.
- Walsh K. Cross-binding of factors to functionally different promoter elements in *c-fos* and skeletal actin genes. *Mol Cell Biol* 1989 ; 9 : 2191-201.
- Taylor MJ, Treisman R, Garret N, Mohun TJ. Muscle specific (CArG) and serum-responsive (SRE) promoter elements are functionally interchangeable and bind serum response factor *in vitro*. *Development* 1989 ; 106 : 67-78.
- Prywes R, Dutta A, Cromlish JA, Roeder RG. Phosphorylation of serum response factor, a factor that binds to the serum response element of the *c-fos* enhancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 7206-10.
- Girard F, Lamb N, Fernandez A. Le cycle cellulaire analysé par micro-injection dans les cellules somatiques des mammifères : rôles distincts des cyclines A et B. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 375-8.
- Gauthier-Rouvière C, Cavadore JC, Blanchard JM, Lamb NJC, Fernandez A. p67^{SRF} is a constitutive nuclear protein implicated in the modulation of genes required throughout the G₁ period. *Cell Reg* 1991 ; 2 : 575-88.
- Gauthier-Rouvière C, Basset M, Blanchard JM, Cavadore JC, Fernandez A, Lamb NJC. Casein kinase II induces *c-fos* expression via the serum response element pathway and p67^{SRF} phosphorylation in living fibroblasts. *EMBO J* 1991 ; 10 : 2921-30.
- Manak JR, Prywes R. Mutation of serum response factor phosphorylation sites and the mechanism by which its DNA-binding activity is increased by casein kinase II. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 3652-9.
- Sommercorn J, Mulligan JA, Lozman FJ, Krebs EG. Activation of casein kinase II in response to insulin and to epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987 ; 84 : 8834-8.
- Marais RM, Hsuan JJ, McGuigan C, Wynne J, Treisman R. Casein kinase II phosphorylation increases the rate of serum response factor-binding site exchange. *EMBO J* 1992 ; 11 : 97-105.
- dante d'une déplétion préalable de la protéine SRF. Par une approche similaire, nous avons observé que la neutralisation de SRF, cette fois-ci après l'expression des gènes précoces, inhibe l'entrée en phase S (*figure 4, C et D*) [18]. Ces résultats suggèrent un rôle possible de la protéine SRF, à la fois dans le contrôle de gènes précoces, tels le gène *c-fos*, et de gènes exprimés plus tardivement et nécessaires à la poursuite du cycle de division cellulaire.
- La présence de la protéine SRF dans des cellules arrêtées à l'état quiescent (G₀) reflète son rôle d'activateur transcriptionnel des gènes précoces. En effet, la rapidité des événements mis en jeu lors de l'entrée dans le cycle de division cellulaire, requiert la présence préalable de ces protéines et implique un contrôle de leur activité grâce à des modifications post-traductionnelles. A cet égard, de nombreuses études se sont intéressées à la régulation potentielle par phosphorylation de SRF, événement post-traductionnel bien connu pour moduler l'activité des protéines et plus particulièrement celles des facteurs transcriptionnels. La protéine SRF est riche en acides aminés, sérine et thréonine, et contient des sites de phosphorylation potentiels pour la caséine kinase II et la protéine kinase A, dépendante de l'AMPc (*figure 2*) [9]. Une corrélation entre l'état de phosphorylation de la protéine et son activité de liaison à la séquence SRE a été mise en évidence. Dans les cellules épidermiques de carcinomes humains (cellules A431), la fixation de SRF à la séquence SRE est inductible par les facteurs de croissance alors qu'un traitement par la phosphatase alcaline empêche sa fixation [16]. Bien que ce résultat soit controversé dans le cas d'autres types cellulaires (cellules Hela, NIH3T3 où la protéine non phosphorylée peut se fixer à la séquence SRE ; [12]), d'autres investigations étayaient l'hypothèse d'une phosphorylation activatrice de la protéine. Effectivement, il apparaît que SRF est phosphorylée *in vitro* [20] mais aussi *in vivo* par la caséine kinase II [19], protéine kinase dont l'activité est accrue rapidement après l'addition de facteurs de croissance à des cellules au repos [21] et dont la micro-injection induit l'expression du gène *c-fos* [19]. Cette phosphorylation du côté N-terminal de la protéine, en propageant son effet au domaine de liaison à l'ADN, pourrait soit entraîner une augmentation de la fixation de SRF à sa séquence cible SRE [20], soit accélérer les vitesses d'interaction sur la séquence SRE [22]. Ces diverses observations suggèrent que, *in vivo*, la phosphorylation par la caséine kinase II permettrait le remplacement, sur la séquence SRE, de complexes inactifs (contenant SRF non phosphorylée) par des complexes actifs (contenant SRF phosphorylée). Récemment, nous avons observé la phosphorylation *in vitro* et *in vivo* de la protéine SRF par la protéine kinase cAMP-dépendante. Nos résultats préliminaires indiquent que cette phosphorylation, bien que située dans le domaine de liaison à l'ADN (*figure 2*), ne modifie pas la liaison de SRF à SRE *in vitro* (observations non publiées).
- Par ailleurs, si la protéine SRF, par le biais de modifications de son état de phosphorylation, joue un rôle central dans l'induction du gène *c-fos* en contrôlant l'activation de la séquence SRE, elle est également requise pour la liaison à la séquence SRE, d'une autre protéine, p62^{TCF} [12, 23]. Cette protéine se fixe au complexe SRE/SRF sous forme d'un monomère et établit des contacts à la fois avec la séquence SRE (avec les bases présentes en 5' de la structure CC(A/T)₆GG) et avec la protéine SRF. Si sa fixation n'apparaît pas être modifiée avec l'activité transcriptionnelle du gène *c-fos*, elle semble être un maillon indispensable à la transmission des signaux induits par la protéine kinase C stimulée par le Ca²⁺ et les phospholipides conduisant à l'induction du gène *c-fos* [24]. Bien que le rôle d'une troisième protéine, p62^{DBF} qui peut se fixer directement à la séquence SRE, ne soit pas encore connu, la formation de différents types de complexes protéiques sur la séquence SRE pourrait engendrer un niveau de régulation supplémentaire de l'activation de cette séquence. Il semble donc que l'orchestration de différents événements qui accompagnent l'activation de la séquence SRE, fasse appel non seulement à la phosphorylation de la

protéine SRF et de ses associés, mais aussi à l'établissement de complexes multiprotéiques sur ce site.

La séquence CArG et l'expression de gènes spécifiques du muscle

La séquence CC(A/T)₆GG (ou CArG) est aussi présente dans les promoteurs de gènes exprimés spécifiquement dans le tissu musculaire squelettique différencié. A l'inverse des gènes précoces, ces gènes dits « musculaires » ne s'expriment pas dans les myoblastes prolifératifs, cellules précurseurs de la fibre musculaire,

mais uniquement dans la cellule différenciée. Leur expression requiert l'arrêt de la prolifération cellulaire et est inhibée par les facteurs de croissance tels EGF, FGF, TGF β . Malgré cette apparente contradiction, de nombreux travaux ont démontré un rôle fonctionnel important de la séquence CArG lors de la transcription spécifique de tissu de ces gènes musculaires, rôle plus particulièrement étudié dans le cas des α -actines cardiaque et squelettique [6, 25, 26]. Les parties centrales des séquences SRE et CArG sont fonctionnellement interchangeables et cela dans les différents systèmes cellulaires étudiés

(embryons d'amphibiens, fibroblastes murins ou humains...), toutes deux étant capables de fixer le même facteur protéique : SRF [10, 15, 27]. Cette protéine contrôle aussi bien l'expression des gènes musculaires lors du développement de l'embryon de xénope, que la transcription des gènes induits par le sérum dans les cellules d'amphibien en culture [28]. Dans le système de différenciation en culture, la protéine SRF est exprimée aussi bien au stade myoblaste qu'au stade myotube. Cette expression constitutive est associée à une localisation strictement nucléaire de la protéine dans les deux cas [29]. De plus,

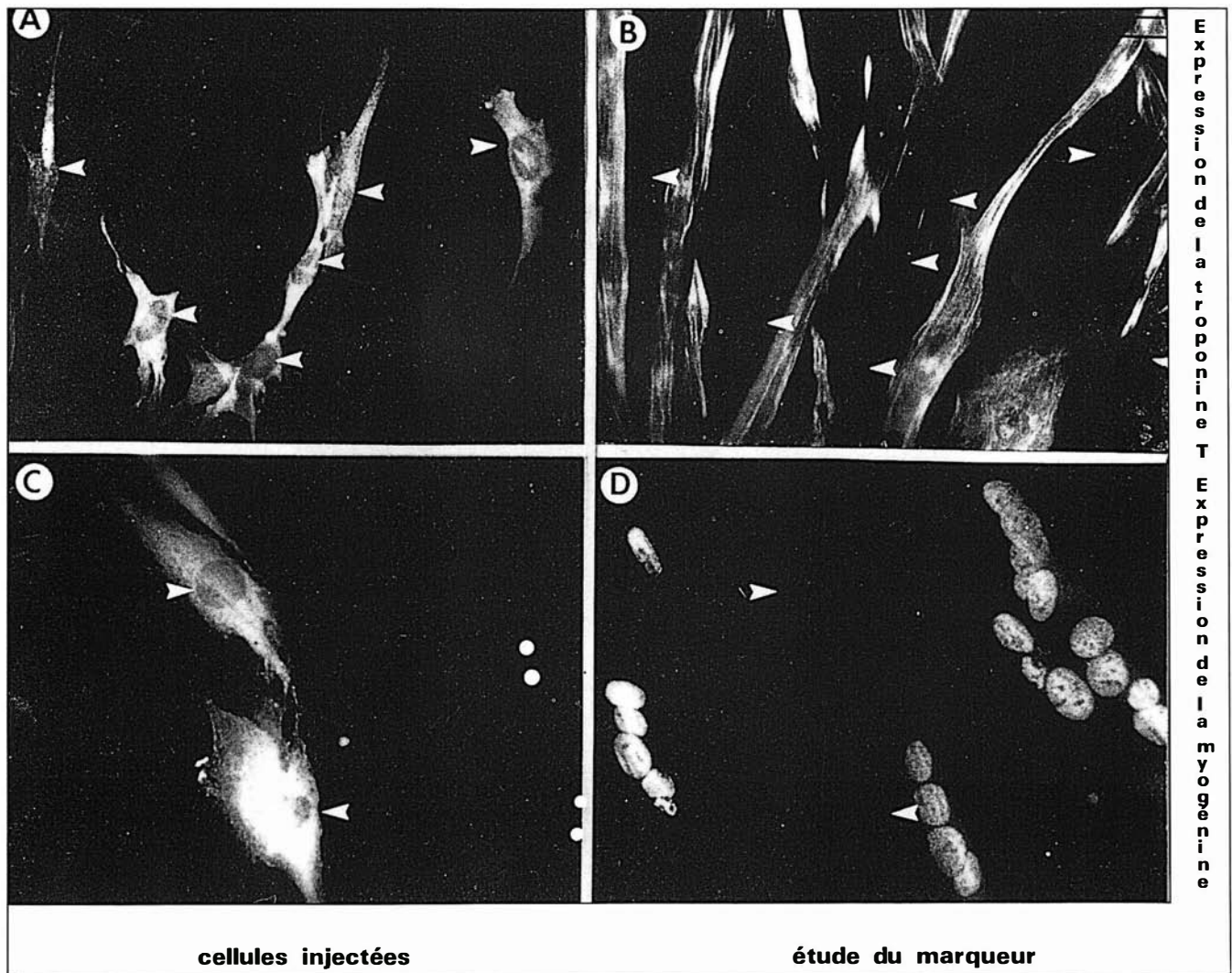


Figure 5. **Implication de la protéine SRF dans l'expression de deux marqueurs de la différenciation musculaire.** Les myoblastes (A, B : lignée C₂ ; C, D : lignée L₆) micro-injectés avec l'anticorps dirigé contre la protéine SRF (A et C), puis, placés dans des conditions de différenciation, n'expriment ni la troponine T (B) ni la myogénine (D). En revanche, les cellules non injectées expriment ces deux protéines, témoignant de leur engagement dans la voie de différenciation.

RÉFÉRENCES

23. Shaw PE, Schröter H, Nordheim A. The ability of a ternary complex to form over the serum response element correlates with serum inducibility of the human *c-fos* promoter. *Cell* 1989 ; 56 : 563-72.
24. Graham MZ, Gilman M. Distinct protein targets for signals acting at the *c-fos* serum response element. *Science* 1991 ; 251 : 189-91.
25. Chow K, Sharwt R. A combination of closely associated positive and negative *cis*-acting promoter elements regulates transcription of the skeletal α -actine gene. *Mol Cell Biol* 1990 ; 10 : 528-38.
26. Miwa T, Kedes L. Duplicated CArG box domains have positive and mutually dependant regulatory roles in expression of the human α -cardiac actin gene. *Mol Cell Biol* 1987 ; 7 : 2803-13.
27. Tuil D, Clergue N, Montarras D, Pinset C, Kahn A, Pan-Dinh-Tuy F. CCArGG boxes, *cis*-acting element with a dual specificity. Muscle-specific transcriptional activation and serum responsiveness. *J Mol Biol* 1990 ; 213 : 677-86.
28. Mohun TJ, Chambers AE, Towers N, Taylor MV. Expression of genes encoding the transcription factor SRF during early development of *Xenopus laevis* : identification of a CArG box-binding activity as SRF. *EMBO J* 1991 ; 10 : 933-40.
29. Vandromme M, Gauthier-Rouvière C, Carnac G, Lamb N, Fernandez A. Serum response factor, p67^{SRF}, is expressed and required during myogenic differentiation of both mouse C2 and rat L6 muscle cell lines. *J Cell Biol* 1992 ; 6 : 1489-500.
30. Santoro IM, Walsh K. Natural and synthetic DNA elements with the CArG motif differ in expression and protein-binding properties. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 6296-305.
31. Alonso S. Des facteurs de régulation spécifiques de la myogenèse. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 635-44.
32. Sartorelli V, Webster KA, Kedes L. Muscle-specific expression of the cardiac α -actin gene requires MyoD1, CArG-box binding factor and Sp1. *Genes Dev* 1990 ; 4 : 1811-22.
33. Gilgenkrantz H, Hugnot JP, Lambert M, Chafey P, Kaplan JC, Kahn A. Positive and negative regulatory DNA elements including a CCArGG box are involved in the cell type-specific expression of the human muscle dystrophin gene. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 10823-30.
- la déplétion de la protéine SRF des cellules myoblastiques, grâce à la micro-injection d'anticorps dirigés contre cette protéine, inhibe la transition myoblaste-myotube ainsi que l'expression de la troponine T et de la myogénine (deux marqueurs de différenciation) (*figure 4, p. 961*) témoignant d'un rôle précoce de la protéine SRF dans le processus de différenciation musculaire [29]. Ces différentes études montrent la présence continue de la protéine SRF à la fois dans des cellules prolifératives et différenciées ainsi que son implication dans l'activation transcriptionnelle des gènes précoces comme *c-fos* ou la β -actine et dans l'expression au cours d'événements de différenciation des gènes spécifiques du muscle comme les α -actines cardiaque et squelettique. Différents mécanismes pourraient expliquer qu'une même protéine, SRF, soit impliquée à la fois dans la réponse proliférative et dans la différenciation musculaire.
1. Tout d'abord, SRF est une phosphoprotéine dont la régulation par la caséine kinase II, discutée dans la première partie de l'article, joue un rôle important dans son interaction avec la séquence SRE. Le phénomène de différenciation est obtenu en culture par l'élimination des facteurs de croissance, ce qui entraîne des modifications considérables de l'activité des protéine kinases intracellulaires. Il est donc possible que, selon le type d'activation cellulaire, la protéine SRF subisse des modifications post-traductionnelles lui conférant une spécificité transcriptionnelle différente. Bien que l'état de phosphorylation de la protéine SRF dans des cellules différenciées n'ait jamais été décrit, il est en effet possible qu'un tel événement entraîne un changement de son affinité pour la CArG *box* et/ou sa fixation à d'autres protéines.
2. La protéine SRF s'associe à d'autres facteurs, comme la protéine p62^{TCF} au niveau de la séquence SRE du gène *c-fos*. De ce fait, l'association de la protéine SRF avec d'autres types de protéines pourrait être responsable de l'expression spécifique de tissu. A ce niveau, les séquences adjacentes à l'élément central SRE ou CArG pourraient conférer la spécificité en *cis* et ainsi participer à la spécificité tissulaire. Plusieurs observations viennent à l'appui d'une telle hypothèse. D'une part, la protéine p62^{TCF} se fixe en 5' de la partie centrale de la séquence SRE [23], fixation importante pour l'induction du gène *c-fos*. De plus, il apparaît que la séquence SRE ainsi que la séquence immédiatement adjacente en 3', TRE (*TPA response element* ou *FAP fos-AP1 binding sequence*) (*figure 1*) sont toujours sous forme complexée à des facteurs protéiques *in vivo* [12]. D'autre part, des séquences chimères contenant la moitié 5' de la séquence CArG de l' α -actine squelettique et la moitié 3' du SRE confèrent l'expression spécifique de muscle alors que les chimères inverses n'induisent qu'une expression constitutive [30].
3. Finalement, la séquence SRE et la CArG *box* pourraient agir de concert avec d'autres séquences promotrices, séquences responsables de l'expression spécifique de tissu. En particulier, la séquence CANNTG appelée *E-box* est la cible pour la fixation des facteurs myogéniques de la famille MyoD, facteurs spécifiquement impliqués dans la différenciation musculaire [31]. Ce type de séquence est retrouvé à proximité de la CArG *box* dans plusieurs gènes spécifiques du muscle [32] et pourrait être responsable d'une régulation transcriptionnelle spécifique du muscle alors que la CArG *box* isolée serait plutôt un élément promoteur constitutif. Cependant, cette hypothèse, envisageable dans le cas du gène de l' α -actine cardiaque humaine [31], ne semble pas s'appliquer au gène de la dystrophine musculaire humaine. En effet, l'expression musculaire de ce dernier semble dépendre en majeure partie de la CArG *box* présente dans la région promotrice du gène sans implication de la *E box* à proximité [33]. Mais il n'est pas exclu que d'autres séquences régulatrices, présentes dans le *locus* du gène de la dystrophine, interviennent *in vivo*.
- Quoi qu'il en soit, il est intéressant de constater que le cours de l'évolution a conservé un même facteur protéique, SRF, pour jouer un rôle dans la régulation génique de processus apparemment aussi antinomiques que la prolifération cellulaire et la différenciation myogénique ■

Summary

SRF, a transcription factor controlling two distinct pathways : cell proliferation and differentiation

Cellular response to growth or differentiation factors triggers a complex cascade of signals which modulate gene expression. Transcription factors are the key regulatory proteins coupling cellular activation to specific gene expression. One such factor, SRF (serum response factor), by acting at a promoter sequence termed SRE (serum response element)/CArG (CC(A/T)₆GG), regulates the transcription of genes implicated in both proliferation and muscle differentiation. SRF is a nuclear phosphoprotein present throughout the cell cycle in all cell lines. Inhibition of SRF activity *in vivo*, through microinjection of anti-SRF antibodies into quiescent cells, specifically suppresses *c-fos* expression and DNA synthesis induced after growth factor stimulation of these cells. These data imply that SRF is required for the activation of genes involved in proliferation. Similarly, the specific inhibition of SRF in C2 or L6 myoblasts, prevents the myoblast-myotube transition and the expression of two muscle specific genes, troponin T and myogenin, showing that SRF is also required in the process of muscle differentiation. Taken together, these data imply that the same transcription factor, SRF, is involved in two distinct pathways by controlling both mitogen stimulated gene and muscle specific gene expression. Potential mechanisms involving differential phosphorylation of SRF and/or interaction with other specific factors are discussed to account for the dual implication of SRF in these pathways.

TIRÉS A PART

C. Gauthier-Rouvière.

m/s n° 9 vol. 8, novembre 92