

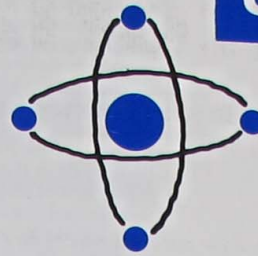
82 / Février

LA VIE
DES
UNITÉS

B

unité 184

Biologie moléculaire et génie génétique



■ PAR PIERRE CHAMBON, directeur

Les thèmes de recherche du laboratoire se rattachent au même objectif général : élucider l'organisation des génomes des organismes eucaryotes et les mécanismes normaux et pathologiques du contrôle de l'expression génétique au cours du développement embryonnaire et de la différenciation terminale.

De facto, l'unité est un laboratoire mixte INSERM-CNRS hébergé dans les locaux de la faculté de médecine de l'université Louis Pasteur de Strasbourg. La cinquantaine de chercheurs statutaires (INSERM, CNRS, EN) et les quelques 150 autres chercheurs (en année sabbatique, post-doctoraux, en cours de thèse ou de DEA) sont répartis en 12 équipes, dont certaines sont constituées de sous-groupes. Ils bénéficient de services communs : génie génétique, microscopie électronique et traitement d'images, informatique, culture de cellules, triage de cellules, production d'anticorps monoclonaux, souris transgéniques, synthèse chimique d'oligonucléotides et de peptides, microséquençage des protéines.

Mécanisme et régulation de la transcription

L'initiation correcte de la transcription exige des séquences promotrices dont l'activité est modulée par des séquences « enhancer ». C'est ce qui a été démontré au laboratoire par l'utilisation de divers systèmes modèles : le virus-simien 40 (SV40), l'adénovirus-2, les chaînes lourdes d'immunoglobulines. L'analyse fonctionnelle des éléments promoteurs et enchancers, notamment par mutagenèse, a permis la localisation précise des séquences actives. La structure de certains enchancers apparaît comme très complexe et leur activité dans diverses circonstances paraît résulter d'une combinatoire très sophistiquée.

Les séquences ainsi définies sont reconnues par des facteurs protéiques, généraux ou spécifiques d'un système donné. La purification de certains de ces facteurs est achevée ainsi que le clonage de leur gène. D'autres facteurs sont en cours d'étude. Ces recherches ouvrent la possibilité, à terme, d'une reconstitution totale, en tube à essais, d'un système contrôlant l'initiation de la transcription, permettant ainsi d'en analyser un à un les mécanismes.

L'activité des enchancers peut elle-même être régulée par d'autres facteurs tels les oncogènes. L'analyse de régulation est activement poursuivie.



L'utilisation de la microscopie électronique (TEM et STEM), de la cryomicroscopie, la mise en oeuvre de l'immunomicroscopie électronique, du traitement d'images, de la cristallisation bidimensionnelle ont permis l'analyse de nombreuses structures. En particulier, l'analyse du minichromosome de SV40, utilisé comme modèle de chromatine, a conduit à définir la structure nucléosomale de la chromatine active. Les RNA polymérases, des complexes formés par interactions du DNA et de facteurs spécifiques ont été également caractérisés.

Régulation de la transcription par les hormones stéroïdes et l'acide rétinolique. Récepteurs nucléaires

Les modalités de la transcription de gènes-cibles (codant pour les protéines du blanc d'oeuf) par les hormones stéroïdes ont été étudiées par le passé et sont

82/fer90

poursuivies (dissection des régions promotrices, structure de la chromatine active). Plus généralement, nous avons montré que les hormones stéroïdes -oestrogènes, progestatifs, glucocorticoïdes- interviennent dans la transcription des gènes-cibles par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires. De tels récepteurs, humains et aviaires ont été clonés. Ce sont en fait des facteurs enhanceurs dont l'activité est induite par le ligand.

L'acide rétinoïque, un dérivé de la vitamine A, stimule lui aussi la transcription de gènes-cibles par l'intermédiaire d'un récepteur nucléaire. Nous avons montré que ce récepteur appartient à la même famille multigénique que celui des hormones stéroïdes. En fait, nous avons découvert qu'il existait au moins trois récepteurs de l'acide rétinoïque qui sont exprimés différemment dans le temps ou dans l'espace pendant le développement embryonnaire. Ces résultats ouvrent des champs d'exploration intéressants en embryologie moléculaire. Le gène pS2 est un autre système modèle étudié. L'oestradiol induit la transcription de ce gène dans des cellules MCF-7, dérivées d'un cancer du sein. L'organisation du gène et les modalités de son expression ont été établies. La présence de la protéine correspondante dans les cancers du sein hormono-dépendants pourrait être un marqueur de pronostic particulièrement favorable.

Souris transgéniques

Nous utilisons le système de souris transgéniques pour répondre à un certain nombre de questions spécifiques :

- quelles sont les séquences nécessaires au criblage et à la régulation de l'expression de certains gènes dans les cellules lymphocytaires et les cellules épithéliales de la glande mammaire ?
- quel est l'effet de l'expression de séquences oncogènes ?

Divers gènes sont aussi étudiés en collaboration avec des équipes du laboratoire ou extérieures.

Génétique moléculaire humaine : le chromosome X

Plus de 100 loci, définis par une maladie génétique ont été assignés au chromosome X humain. Nous participons à l'établissement de cartes génétiques et physiques détaillées de ce chromosome et nous nous attachons à l'étude de la localisation fine et au clonage de certains gènes, principalement ceux liés à la myopathie de Duchenne, au retard mental avec X-fragile, à l'adrénoleucodystrophie, etc. De nombreuses collaborations nationales et internationales permettent d'élargir notre champ d'investigation à d'autres maladies génétiques.

Développement chez la drosophile et la souris

Le développement embryonnaire de la Drosophile est sous le contrôle de nombreux gènes. Un des axes de nos recherches consiste en une approche génétique permettant l'identification de gènes responsables de la formation du pattern. L'accent est mis actuellement sur les gènes impliqués dans la formation du système nerveux. Par ailleurs, les gènes K10, snail et twist nécessaires à la mise en place de la polarité dorso-ventrale de l'oeuf ont été clonés et leur unité génique fonctionnelle a été totalement ou partiellement définie. La recherche d'autres gènes nécessaires à l'expression du gène étudié ou des gènes sur lesquels il pourrait exercer une fonction régulatrice est en cours. Les homologues de certains de ces gènes sont également étudiés chez la souris au cours du développement embryonnaire (homeogènes, twist). Enfin le gène de la glu Sgs-3 est utilisé comme modèle pour l'étude de la régulation de la transcription par les ecdystéroïdes au niveau chromatinien.

Les gènes Ir qui contrôlent la réponse immunitaire

Ce sont les gènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité murin qui sont étudiés. Ils contrôlent le déroulement de la réponse immunitaire en régissant les rapports inter-cellulaires. Les rapports structure-fonction des gènes et de leur expression sont étudiés dans les cellules normales et chez des souris transgéniques qui permettent d'examiner et de manipuler la fonction des gènes de l'intérieur du système immunitaire.

Les gènes de classe II sont impliqués dans des pathologies de caractère souvent auto-immunitaire. Des travaux en cours doivent permettre de préciser les rapports entre ces gènes et certaines maladies (encéphalomyélite allergique expérimentale, diabète insulino-dépendant).

Maturation des RNA prémessagers

Les produits primaires de la transcription ou RNA prémessagers doivent subir une série de modifications pour être transformés en RNA messagers fonctionnels. Grâce à des maturations différentielles, soit au niveau de l'excision des introns (ou épissage), soit au niveau de la polyadénylation, on peut obtenir des séries de messagers différents à partir d'un même gène. L'expression des gènes peut être ainsi considérablement modulée à ce niveau post-transcriptionnel. En utilisant des unités de transcription de l'adénovirus comme modèle, nous avons établi diverses modalités de l'épissage et mis en évidence des voies alternatives de maturation in vivo. Des études in vitro se poursuivent actuellement pour déterminer les mécanismes de sélection des sites d'épissage ou de polyadénylation et pour rechercher les séquences en cis et les facteurs en trans impliqués.

Retombées bio-médicales

Les résultats obtenus par certaines équipes ont des retombées bio-médicales évidentes. Ainsi deux types de service ont été mis en place, qui bénéficient au fur et à mesure des progrès réalisés par les équipes qui les ont initiés.

- Diagnostic d'hormono-dépendance et pronostic des cancers du sein. Les études sur pS2 (et d'autres gènes analogues) montrent que pS2 représente un nouveau marqueur d'hormono-dépendance pour le cancer du sein.
- Diagnostic génétique par sonde ADN. Les recherches de génétique moléculaire humaine ont permis la création d'un service de diagnostic prénatal et de diagnostic des vectrices (hémophilie A et B, myopathie de Duchenne, X-fragile). Signalons encore la création de modèles animaux de vaccination anti-tumorale qui semble prometteuse.

Les diverses équipes ont tissé tout un réseau de collaborations locales, nationales et internationales avec des fondamentalistes de diverses disciplines, des cliniciens et des entreprises. Signalons aussi la participation importante du laboratoire dans la création et le fonctionnement de l'Ecole nationale d'ingénieurs en biotechnologie.

**Pour tout renseignement,
s'adresser à**

**Monique Jacob,
directeur de recherche au CNRS,
unité INSERM U. 184,
11 rue Humann,
67085 Strasbourg Cedex,
tél : 88 37 12 55**