

## La riche union de l'ADN et des protéines

La régulation de la transcription des gènes implique, dans toutes les cellules vivantes, des interactions entre l'ADN des séquences régulatrices et des protéines qui contrôlent, *in fine*, la fixation sur le promoteur de l'ARN polymérase. Plus généralement, d'ailleurs, de tels contacts entre des protéines et des acides nucléiques interviennent aussi dans la réplication de l'ADN, les réactions d'excision-épissage, la maturation des extrémités 5' et 3' des transcrits, le stockage et la traduction des ARN messagers, la formation des ribosomes et des autres particules ribonucléoprotéiques... c'est-à-dire dans la totalité des réactions mettant en jeu des acides nucléiques.

La mieux étudiée des interactions entre une protéine et un double brin d'ADN concerne le répresseur et la protéine Cro du phage lambda et leurs sites opérateurs de fixation [1-5]. La fixation alternative de ces deux protéines aux sites opérateurs du phage contrôle soit le maintien de l'ADN phagique à l'état intégré dans le chromosome bactérien (phénomène de lysogénie), soit le déclenchement du cycle lytique.

La figure 1 montre un schéma des interactions entre un dimère de répresseur et la double hélice d'ADN : chaque monomère de répresseur est composé de quatre hélices  $\alpha$  reliées par des feuillets  $\beta$  (hélice  $\alpha$  et feuillets  $\beta$  correspondent à deux des conformations usuelles des protéines). Une hélice  $\alpha$  se positionne dans le grand sillon de la double hélice d'ADN, parallèlement à ses berges, établissant des contacts étroits et spécifiques avec certaines des bases. Une autre hélice  $\alpha$ , perpendiculaire à la précédente, établit des contacts avec le squelette de ponts phosphodiester de l'ADN. Les deux monomères sont fixés de façon identique sur la même face de l'ADN, à un tour de spire de distance de la dou-

ble hélice (c'est-à-dire 10 paires de bases) (figures 1 et 2A).

Des dimères liés à des sites proches sur la même face de l'ADN établissent entre eux de puissantes liaisons hydrogènes et hydrophobes, de telle sorte que leur fixation sur l'ADN est hautement coopérative (figure 2B) : la fixation d'une molécule de répresseur interagissant avec une autre molécule augmente la concentration locale de ces protéines et donc l'affinité pour elles du site d'ADN non encore occupé. Cette coopérativité se manifeste encore lorsque les sites de reconnaissance sont éloignés l'un de l'autre, à condition cependant qu'ils soient toujours situés sur une même face

de l'ADN, c'est-à-dire qu'ils restent séparés d'un nombre entier de tours de spire.

La figure 2C montre que la conséquence d'une telle fixation est une courbure imposée au double brin d'ADN, amenant un « baillement » du grand sillon à l'extérieur de la courbure et son pincement à l'intérieur [1]. Une telle courbure de l'ADN n'est d'ailleurs pas forcément la conséquence de la fixation d'une protéine : elle peut au contraire la précéder et la faciliter [2, 5]. Le site d'ADN reconnu par la protéine est alors un double brin incurvé. Les séquences séparant deux points de contact de la protéine et de l'ADN, séquences

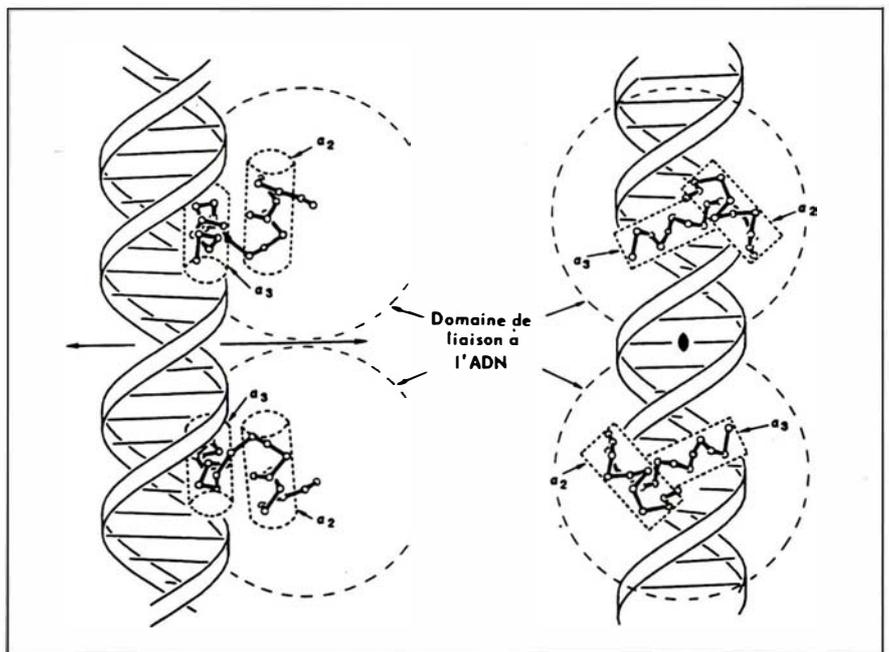


Figure 1. Interactions entre le répresseur et un opérateur du phage lambda : modèle « hélice-tour-hélice ». Deux des quatre hélices  $\alpha$  de chaque monomère,  $\alpha_2$  et  $\alpha_3$ , établissent des contacts avec, respectivement, le squelette de ponts phosphodiester et les bases du grand sillon du double brin d'ADN. Deux monomères sont ainsi fixés sur une même face de l'ADN, liés à des séquences situées à un tour d'hélice de distance. La flèche (schéma de gauche) et l'ovale (schéma de droite) indiquent le centre de symétrie des sites de fixation. Les deux monomères sont liés entre eux par des interactions hydrogènes et hydrophobes.

n'ayant elles-mêmes aucune interaction directe avec la protéine, peuvent ainsi influencer sur l'affinité pour cette protéine (figure 2) [2, 5]. Il existe probablement une correspondance assez étroite entre les acides aminés et les bases au niveau des sites de reconnaissance et, dans des cas très privilégiés, on a pu rétablir l'affinité d'un site muté pour sa protéine spécifique en mutant également celle-ci au niveau du résidu interagissant avec la base modifiée de l'ADN [6].

Le modèle d'interaction que je viens de décrire, appelé « hélice-tour-hélice », se retrouve dans bien d'autres systèmes que celui du phage lambda, dans la levure comme chez des eucaryotes supérieurs. L'interaction de « l'homéoboxe » des gènes homéotiques avec l'ADN serait de ce type. La particularité des sites d'ADN participant à ce type de contact est d'être « palindromiques », c'est-à-dire d'avoir une symétrie en miroir et de comporter ainsi des séquences identiques sur les deux brins (figure 2A) interagissant avec deux monomères de la protéine spécifique, également symétriques l'un par rapport à l'autre.

Un second modèle de liaison d'une protéine à une séquence spécifique d'ADN est celui des protéines dactyles dont l'archétype est TFIII-A, un facteur de transcription se fixant à un promoteur spécifique de l'ARN polymérase III et initialement caractérisé chez une espèce d'amphibien, le xénope. Le promoteur des gènes transcrits par l'ARN polymérase III a la particularité remarquable d'être localisé dans la séquence transcrite elle-même. La séquence de TFIII-A comporte un domaine N-terminal de 30 kDa, composé de 9 répétitions de 30 acides aminés, parmi lesquels 2 cystéines et 2 histidines placées en des positions invariantes. Miller *et al.* [7] ont suggéré que ces répétitions correspondaient à des structures en doigts, stabilisées par un atome de zinc échangeant 4 liaisons de coordination, 2 avec les cystéines et 2 avec les histidines (figure 3) [7, 8]. Différentes méthodes de

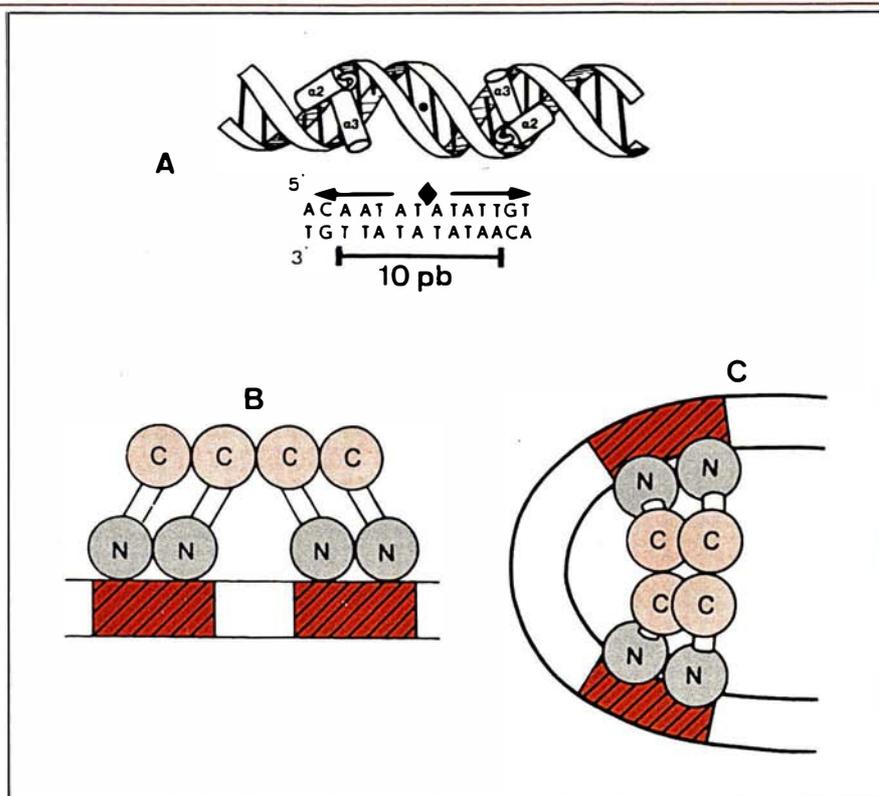


Figure 2. **Coopérativité dans la fixation du répresseur du phage lambda à l'opérateur et induction de courbures de l'ADN.** La figure 2A montre un opérateur « canonique », constitué d'une séquence palindromique, dont les centres de chaque hémi-site sont espacés de 10 paires de bases, c'est-à-dire d'un tour d'hélice. Les séquences des hémi-sites de fixation sont symétriques, de même que les monomères interagissant avec eux. Le centre de symétrie est symbolisé par un point noir au niveau du double brin et un losange au niveau de la séquence. La figure 2B montre la fixation de deux dimères à des sites proches (en rouge hachuré) du double brin d'ADN : les extrémités N-terminales des monomères forment la région de liaison à l'ADN, alors que les extrémités C-terminales interagissent entre elles, entraînant un phénomène de coopérativité dans la fixation des molécules. En 2C, si les sites opérateurs sont éloignés l'un de l'autre tout en demeurant sur une même face de l'ADN, l'interaction entre les molécules de répresseur entraînera une courbure du double brin... et la fixation restera coopérative.

protection du complexe TFIII-A-ADN contre la digestion par des nucléases ont indiqué que la zone d'interaction était de 50 bases et n'intéressait qu'un seul des deux brins, avec des points de contact toutes les 5 bases, soit tous les 1/2 tours de spire de l'ADN [9], selon l'un des deux modèles proposés par Fairall *et al.* [10] (figure 3). Les particularités de la liaison de TFIII-A à l'ADN apportent un élément d'explication à la manière dont cette protéine, fixée dans le gène lui-même, peut ne pas inter-

rompre la transcription par l'ARN polymérase III : on peut supposer que les doigts proximaux se détachent de leur site lors du « passage » de la polymérase, puis se fixent à nouveau, alors que la dissociation des doigts distaux laisse le champ libre à cette polymérase. L'intérêt pour les protéines dactyles a été considérablement renforcé par la découverte récente de possibles structures en doigts au niveau de nombreuses protéines nucléaires [11-13], notamment des produits de gènes

intervenant dans le développement de la drosophile et au niveau des récepteurs des hormones stéroïdes et de facteurs transcriptionnels ubiquitaires, tel Sp1 [14]. Il existe, cependant, d'importantes différences entre ces dernières protéines et TFIII-A, touchant au nombre et à la nature des « doigts ». De plus, les récepteurs des hormones stéroïdes se fixent en général en amont des gènes transcrits par l'ARN polymérase II et n'ont pas à être « déplacés » par le passage de la polymérase, si bien que leur ressemblance

structurale et fonctionnelle avec TFIII-A pourrait être en fait assez lointaine. Le fait que ces récepteurs, contrairement à TFIII-A, interagissent avec les deux brins d'ADN, va dans le même sens. De ce qui précède, il faut retenir qu'il existe des interactions très spécifiques entre l'ADN et des protéines jouant un rôle essentiel de régulation de la réplication et de la transcription. L'anatomie des complexes ADN-protéine est mieux connue dans le cas du modèle « hélice-tour-hélice », dont un exemple, l'interaction du

répresseur et des opérateurs du phage lambda, a pu bénéficier de l'apport de la cristallographie des complexes. Des courbures de l'ADN interviennent dans la constitution du site de reconnaissance de la protéine et sont provoquées ou amplifiées par la fixation de cette protéine. Nous envisagerons ultérieurement le mécanisme de l'effet transcriptionnel des protéines qui sont impliquées dans ce phénomène et de la régulation de leur activité.

A. K.

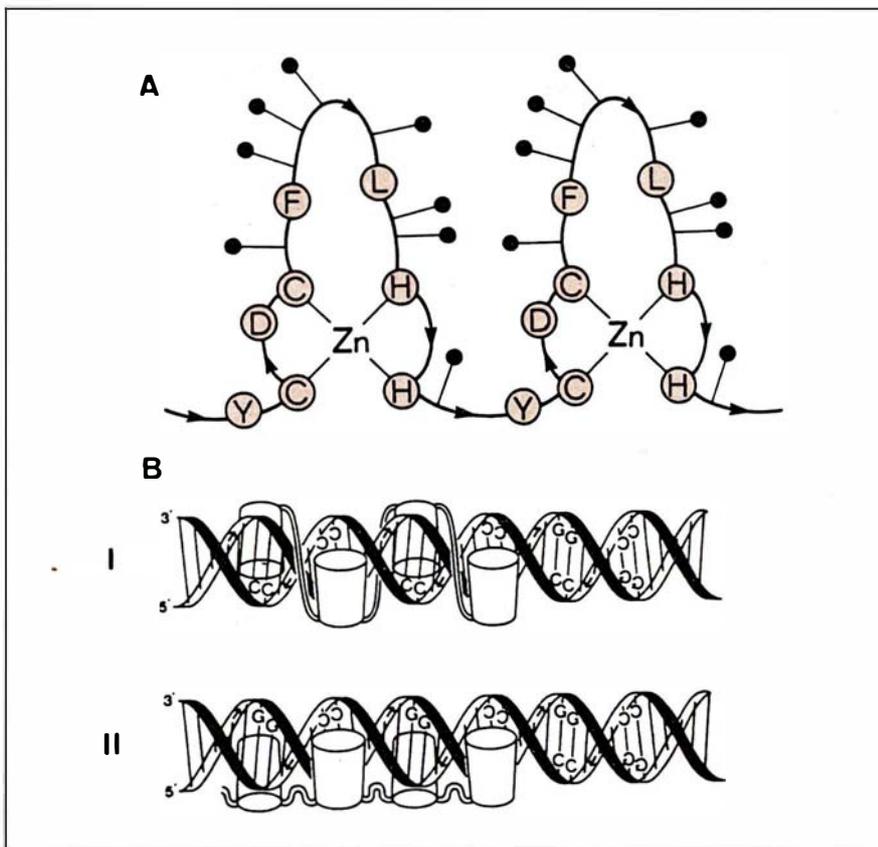


Figure 3. **Protéines dactyles et modèle de leur interaction avec l'ADN.** En 3A sont représentés, selon Miller et al. [7], deux « doigts » protéiques stabilisés par des liaisons de coordination entre un atome de zinc d'une part, 2 cystéines (C) et 2 histidines (H) d'autre part. Ces doigts sont constitués au niveau d'éléments répétitifs contenant, outre les cystéines et histidines invariantes, des acides aminés (D = acides aspartiques) et hydrophobes (F = phénylalanine, L = leucine, Y = tyrosine). Les points noirs indiquent les contacts probables avec l'ADN. La figure 3B présente, selon Fairall et al. [10] deux modèles possibles d'interaction entre le facteur TFIII-A et l'ADN. Les doigts sont représentés par les cylindres. Selon le modèle I, la protéine est enroulée le long d'un des brins d'ADN, les doigts établissant des contacts avec lui tous les 1/2 tours de spire. Selon le modèle II, la protéine est parallèle au double brin, les doigts établissant des contacts alternativement sur l'une et l'autre face du double brin.

1. Anderson JE, Ptachne M, Harrison SC. Structure of the repressor-operator complex of bacteriophage 434. *Nature* 1987 ; 326 : 846-52.
2. Koudelka GB, Harrison SC, Ptachne M. Effect of non-contacted bases on the affinity of 434 operator for 434 repressor and cro. *Nature* 1987 ; 326 : 886-8.
3. Robertson M. Specificity and flexibility. *Nature* 1987 ; 327 : 464-6.
4. Takeda Y, Ohlendorf DH, Anderson WF, Matthews BW. DNA-binding proteins. *Science* 1983 ; 221 : 1020-6.
5. Zahn K, Blattner FR. Direct evidence for DNA bending at the lambda replication origin. *Science* 1987 ; 236 : 416-22.
6. Wharton RP, Ptachne M. A new-specificity mutant of 434 repressor that defines an amino acid base pair contact. *Nature* 1987 ; 326 : 888-91.
7. Miller J, Mc Lachlan AD, Klug A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor IIIA from xenopus oocytes. *EMBO J* 1985 ; 4 : 1609-14.
8. Berg JM. Potential metal binding domains in nucleic acid binding proteins. *Science* 1986 ; 232 : 485-7.
9. Rhodes D, Klug A. An underlying repeat in some transcriptional control sequences corresponding to half a double helical turn of DNA. *Cell* 1986 ; 46 : 123-32.
10. Fairall L, Rhodes D, Klug A. Mapping of the sites of protection on a 5S RNA gene by the xenopus transcription factor IIIA-A model for the interaction. *J Mol Biol* 1986 ; 192 : 577-91.
11. Chowdhury K, Deutsch U, Gruss P. A multigenic family encoding several finger structures is present and differentially active in mammalian genomes. *Cell* 1987 ; 48 : 771-8.
12. Tautz D, Lehmann R, Schnürch H, et al. Finger protein a novel structure encoded by Hunchback, a second member of the gap class of drosophila segmentation genes. *Nature* 1987 ; 327 : 383-9.
13. Vincent A. TFIII-A and homologous genes. The « finger » proteins. *Nucleic Acids Res* 1986 ; 14 : 4385-91.
14. Briggs MR, Kadonaga JT, Bell SP, Tjian R. Purification and biochemical characterization of the promoter-specific transcription factor, Sp1. *Science* 1986 ; 234 : 47-52.