

## LxxLL, une signature des co-activateurs de récepteurs hormonaux nucléaires

Les récepteurs nucléaires sont des facteurs de transcription capables de lier et d'être activés par des ligands liposolubles tels que les hormones stéroïdes ou thyroïdiennes, des dérivés des vitamines A et D, certains acides gras ou prostaglandines [1]. Ces récepteurs forment une superfamille de plus de 60 membres dont la plupart sont toutefois dits « orphelins » car les ligands capables de les activer, si tant est qu'ils existent, n'ont pas à ce jour été identifiés [2]. Le contrôle de la transcription des gènes cibles par les récepteurs nucléaires fait intervenir deux fonctions d'activation de la transcription, AF-1 située dans la portion amino-terminale de la molécule et AF-2 localisée dans le domaine carboxy-terminal qui renferme aussi la poche de liaison du ligand et les régions nécessaires à la dimérisation et à la localisation nucléaire des récepteurs. Le domaine AF-2, qui ne fonctionne qu'en présence d'hormone, requiert une région appelée AF2-AD, très conservée entre les différents membres de la superfamille, située à l'extrémité carboxy-terminale de la molécule. Les données structurales obtenues en 1995 sur plusieurs récepteurs ont mis en évidence les modifications de conformation induites par la fixation du ligand qui conduisent, en particulier, au repliement de l'hélice contenant AF2-AD sur le reste du domaine de liaison du ligand [3]. Ce changement de conformation crée alors une interface de liaison pour des facteurs de transcription intermédiaires qui relaient l'effet des récepteurs activés. Plusieurs co-facteurs transcriptionnels ont été identifiés par des approches *in vitro* ou à l'aide du système double hybride [4, 5]. Certains, comme CBP (pour *CREB-binding pro-*

*tein*) qui possède la capacité d'acétyler les histones, semblent jouer un rôle sur la structure de la chromatine, alors que d'autres pourraient servir de pont entre les récepteurs et la machinerie de transcription. Pour ces différents co-facteurs, les domaines nécessaires à la fixation sur les récepteurs nucléaires ont été cartographiés avec plus ou moins de précision par délétion et mutagenèse dirigée (*figure 1A*). L'étude de la liaison des récepteurs nucléaires sur la protéine CBP (*in vitro* et dans le système double hybride) a fait apparaître un site prédominant situé dans les 101 premiers acides aminés de la molécule [6]. En outre, il semblerait qu'un autre fragment (356-395) puisse aussi interagir avec le récepteur de l'acide 9-*cis*-rétinoïque RXR [7]. Dans le cas d'un autre co-activateur appelé RIP140 (pour *receptor interacting protein*), il est apparu assez rapidement que deux régions de la molécule étaient capables d'interagir avec différents récepteurs de manière dépendante du ligand [8]. Ces deux sites (27-241 et 753-981) lient isolément et de manière comparable les récepteurs des œstrogènes, de l'acide rétinoïque ou des hormones thyroïdiennes. Il semble toutefois que la liaison de RXR se fasse préférentiellement *via* le site amino-terminal, tout au moins *in vitro*. Dans le cas de TIF1 murin (pour *transcription intermediary factor*), le groupe de Régine Losson à Strasbourg a utilisé la technique du double hybride dans la levure pour montrer qu'un fragment de 10 résidus seulement (acides aminés 726 à 735) permettait l'interaction avec différents récepteurs nucléaires tels que RAR $\alpha$  ou RXR $\alpha$  [9]. Nous avons confirmé que la région correspondante sur TIF1 humain (séquence de

26 acides aminés) était suffisante pour lier *in vitro* le récepteur des œstrogènes en présence de l'hormone [10].

Un article très récent du groupe de Malcolm Parker (Londres, Grande-Bretagne) a mis en évidence l'existence d'un motif commun aux divers co-facteurs des récepteurs nucléaires [11]. Cette courte séquence est riche en leucine (séquence consensus: L<sub>1</sub>xxL<sub>2</sub>L<sub>3</sub>) et est détectée en un nombre variable d'exemplaires selon les protéines, depuis une copie pour TIF1 jusqu'à neuf copies pour RIP140 (*figure 1*). L'analyse à l'aide de programmes de prédiction de la structure secondaire des protéines suggère que les neuf copies présentes dans RIP140 sont situées dans des structures en hélices  $\alpha$ . Chacun de ces motifs est capable de fixer les récepteurs en présence d'hormone et un peptide contenant cette séquence (14 acides aminés) déplace la liaison *in vitro* du co-facteur SRC-1 (pour *steroid receptor coactivator*) sur le domaine de liaison de l'hormone du récepteur des œstrogènes. Par mutagenèse dirigée, l'importance relative des différents résidus a pu être précisée: le remplacement de chacune des leucines (L<sub>1</sub> à L<sub>3</sub>) par des alanines abolit complètement l'interaction avec les récepteurs, alors que le remplacement de ces leucines par un autre résidu hydrophobe (valine) est toléré en position 1 mais pas en position 2 ou 3. Ces résultats confirment ceux obtenus sur TIF1 quant à l'importance des leucines L<sub>2</sub> et L<sub>3</sub> [8]. Par ailleurs, lorsque ces deux acides aminés sont mutés sur les quatre motifs que possède SRC-1, la protéine produite n'est plus capable d'augmenter l'activité transcriptionnelle du récepteur des œstrogènes dans des expériences de transfection transitoire.

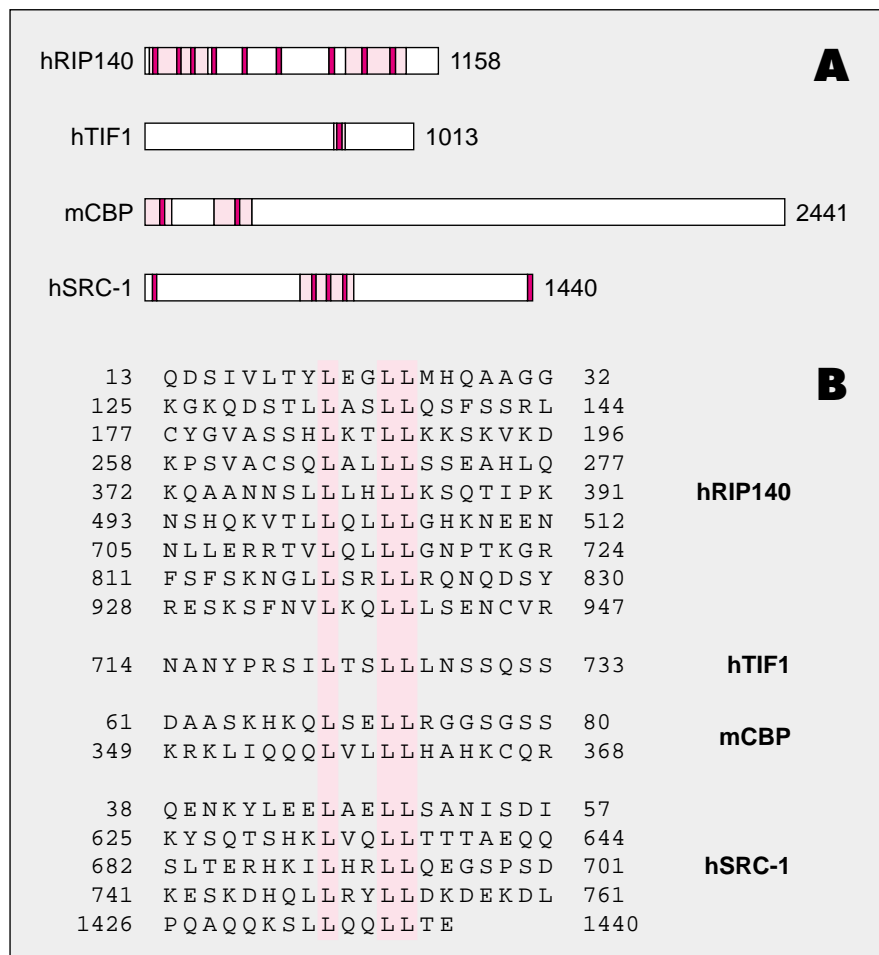


Figure 1. **A. Représentation schématique de la structure des co-facteurs hRIP140, hTIF1, mCBP et hSRC-1.** Les chiffres indiquent la taille des protéines en acides aminés. Les domaines permettant la fixation sur les récepteurs sont représentés par les boîtes roses et les motifs LxxLL sont représentés par les boîtes rouges. **B. Alignement des différents motifs LxxLL identifiés dans les facteurs représentés précédemment.** Les positions des résidus sont données et les leucines critiques sont encadrées.

Ces observations sont confirmées par le groupe de Glass et Rosenfeld (La Jolla, CA, USA) [12] qui suggèrent en outre que certains de ces motifs LxxLL (ou LCD pour *leucine charge domain*) pourraient également intervenir dans la liaison entre différents composants d'un même complexe co-activateur (interaction CBP avec SRC-1, p/CIP ou TIF2).

Ces résultats indiquent donc qu'il existe un motif commun aux différents facteurs capable de se lier aux récepteurs nucléaires et de moduler leur activité transcriptionnelle. Ce motif est nécessaire et suffisant pour la liaison de ces facteurs aux récepteurs dans leur configuration

« active ». Il est intéressant de noter que pour d'autres protéines (TBP\*, TFIIIB\*\*, TAFII30\*\*\*, c-Jun, cycline D1), également capables de se fixer aux récepteurs nucléaires [13] mais de manière indépendante de la présence de l'hormone ou de l'intégrité du domaine AF2-AD, le motif LxxLL est absent.

La recherche dans les banques de séquences fait évidemment apparaître un grand nombre de protéines possédant la séquence LxxLL. Dans

\* TBP: *Tata box binding protein.*

\*\* TFIIIB: *transcription factor dependent on RNA polymerase II, B.*

\*\*\* TAFII30: *TBP associated factor.*

de nombreux cas, la protéine en question ne devrait pas se lier aux récepteurs nucléaires, soit parce que le motif n'est pas présent dans une structure hélicoïdale, soit parce qu'il est enfoui à l'intérieur de la molécule, soit enfin parce que la protéine correspondante n'est pas nucléaire. Il semble également fort probable que d'autres résidus encore non identifiés puissent intervenir pour stabiliser ou empêcher la liaison. La co-cristallisation du domaine de liaison de l'hormone d'un récepteur avec la région contenant un motif à leucine apportera vraisemblablement une vision plus précise de cette interaction.

V.C.

1. Gronemeyer H, Laudet V. Transcription factors 3: nuclear receptors. *Protein Profile* 1995; 2: 1173-308.
2. Giguère V. Les récepteurs nucléaires orphelins: régulateurs essentiels du développement, de l'organogenèse et de l'homéostasie. *Med Sci* 1997; 13: 459-66.
3. Laudet V, Delannoy S. Comment mettre en route un récepteur nucléaire? Apport des données structurales. *Med Sci* 1996; 12: 528-32.
4. Cavaillès V. A la recherche des modulateurs de l'activité transcriptionnelle des récepteurs nucléaires. *Med Sci* 1996; 12: 229-33.
5. Gelman L, Staels B, Auwerx J. Rôle des co-facteurs transcriptionnels dans la transduction des signaux hormonaux par les récepteurs nucléaires. *Med Sci* 1997; 13: 961-70.
6. Kamei Y, Xu L, Heinzel T, Torchia J, Kurokawa R, Glass CK, Rosenfeld MG. A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors. *Cell* 1996; 85: 403-14.
7. Chakravarti D, LaMorte V, Nelson MC, Nakajima T, Schulman IG, Juguilon H, Montminy M, Evans RM. Role of CBP/p300 in nuclear receptor signalling. *Nature* 1996; 383: 99-103.
8. L'Horset F, Dauvois S, Heery DM, Cavaillès V, Parker MG. RIP140 interacts with multiple nuclear receptors by means of two distinct sites. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 6029-36.
9. Le Douarin B, Nielsen AL, Garnier JM, Ichinose H, Jeanmougin F, Losson R, Chambon P. A possible involvement of TIF1a and TIF1b in the epigenetic control of transcription by nuclear receptors. *EMBO J* 1996; 15: 6701-15.
10. Thénou S, Henriquet C, Rochefort H, Cavaillès V. Differential interaction of nuclear receptors with the putative human transcriptional coactivator hTIF1. *J Biol Chem* 1997; 272: 12062-8.
11. Heery DM, Kalkhoven E, Hoare S, Parker MG. A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors. *Nature* 1997; 387: 733-6.
12. Torchia J, Rose DW, Inostroza J, Kamei Y, Westin S, Glass CK, Rosenfeld MG. The transcriptional co-activator p/CIP binds CBP and mediates nuclearreceptor function. *Nature* 1997; 387: 677.
13. Beato M, Sanchez-Pacheco A. Interaction of steroid hormone receptors with the transcription initiation complex. *Endocrine Rev* 1996; 17: 587-609.