

Régulation dans le temps de l'expression des gènes

par Michel Morange

Unité de Génétique Moléculaire, UMR 8541, Département de Biologie, École Normale Supérieure, 46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05.

Tél : 01 44 32 39 46 – Fax : 01 44 32 39 41 – e-mail : morange@wotan.ens.fr

Reçu le 2 novembre 1999

RÉSUMÉ

La vision actuellement donnée par la biologie moléculaire des mécanismes régulant l'expression des gènes est statique et non dynamique. Pourtant le temps joue un rôle majeur, tant dans la modification de l'expression des gènes en réponse à des signaux venus de l'extérieur de la cellule et dans les variations d'activité pendant le développement et/ou le vieillissement que lors des modifications de profil d'expression qui prennent place au cours de l'évolution des formes vivantes.

Cette absence du temps était déjà observable en

génétique. Elle s'explique en grande partie par la prépondérance de techniques donnant une vision figée du vivant. Depuis peu, sont apparues de nouvelles technologies, permettant de suivre en temps réel les événements qui se produisent à l'intérieur d'une cellule, en particulier au niveau de l'expression des gènes. Une nouvelle vision dynamique se met peu à peu en place : il est encore trop tôt pour savoir si elle révolutionnera autant la biologie que la vision moléculaire l'a fait au cours du dernier demi-siècle.

SUMMARY The temporal regulation of gene expression

Molecular biology gives a static – not a dynamic – vision of the mechanisms regulating gene expression. Genetics already gave to time a limited place in the explanation of living phenomena. Such a static vision is supported by the techniques – such as X-ray crystallography – used by the biologists.

However time is an important parameter in the control of gene expression during the cellular response to external signals, during life and aging of

organisms or even in the succession of living forms which takes place in evolution.

Models are slowly moving, due to the irruption of new technologies giving access to the fast events which occur inside living cells. A new dynamic vision is progressively replacing the old one. The consequences of these changes on the form of the future biology remain still unknown.

INTRODUCTION

Si la régulation de l'expression des gènes occupe, depuis le début des années 60, une place importante dans les recherches des généticiens et des biologistes moléculaires, le problème du temps n'y est abordé que de manière marginale, périphérique : par exemple, à travers les variations d'expression des gènes au cours du cycle cellulaire.

Que le problème du temps soit ainsi évacué s'explique par l'histoire de la biologie moléculaire. Pourtant, la

durée s'insinue dans l'action des gènes quelle que soit l'échelle de temps à laquelle les phénomènes sont étudiés. L'historien Fernand Braudel avait montré la superposition dans tout événement de plusieurs temps différents (Braudel, 1949). Il en est de même pour l'action des gènes : on peut distinguer le temps rapide qui permet aux cellules de s'adapter à leur environnement, le temps moyen qui accompagne le développement puis le vieillissement de l'organisme ou le temps long qui est celui des variations de l'expression des gènes au cours de l'évolution des formes vivantes.

C'est par l'invention de nouvelles techniques d'étude « en temps réel » des organismes et cellules que le temps s'introduit peu à peu dans les recherches des biologistes. L'ampleur des changements qui en résulteront reste encore difficile à apprécier.

L'IRRUPTION TARDIVE DU TEMPS DANS LES CONCEPTIONS ET LES MODÈLES DES GÉNÉTICIENS

La notion de temps d'action – temps d'expression, comme le disent aujourd'hui les biologistes – des gènes était clairement absente des interrogations des premiers généticiens. Ceux-ci voyaient la relation entre les gènes (les facteurs comme on les appelait à l'époque) et les caractères comme une relation intemporelle. Les premiers généticiens ont même été accusés, non sans quelque raison, d'avoir renoncé à une vision épigénétique du développement embryonnaire, où les caractères des organismes se construisent pas à pas, pour une vision préformationniste où ces caractères sont déjà tout entiers contenus dans les gènes qui en permettent la formation.

Morgan était lui-même conscient de cette faiblesse de la génétique. Il tenta, dans l'ouvrage "Embryology and Genetics" qu'il publia en 1934, de rapprocher les deux disciplines et d'aborder directement le problème de l'action des gènes dans le temps du développement de l'organisme (Morgan, 1934). Comme il le reconnut lui-même, ce projet n'aboutit pas et le livre resta la juxtaposition de deux visions différentes des êtres vivants.

Même les opposants à la génétique classique, qui lui reprochaient d'avoir négligé la question du rôle des gènes dans le développement des organismes vivants, tels Richard Goldschmidt ou Conrad Waddington, n'abordèrent pas non plus directement le problème du temps d'expression des gènes. Tout juste peut-on deviner la trace du temps dans le mouvement proposé par Conrad Waddington de différenciation des cellules à travers le paysage épigénétique (Waddington, 1939).

C'est par l'étude génétique des micro-organismes, et en particulier les travaux sur les phénomènes d'adaptation enzymatique, que le temps d'action des gènes devint un problème expérimental pour les généticiens.

L'expérience réalisée en 1957 par Arthur Pardee, François Jacob et Jacques Monod (expérience appelée Pajamo) visait, en croisant des bactéries ayant des caractères génétiques différents, à distinguer l'effet de différentes mutations affectant la synthèse de β -galactosidase, enzyme induite par l'addition de lactose (Pardee *et al.*, 1959). Cette expérience conduisit à l'élaboration du modèle de régulation de l'expression des gènes connu sous le nom de modèle de l'opéron. Elle fut à l'origine de la découverte de l'ARN messager en montrant que l'action des gènes était rapide : dès que le gène codant pour la β -galactosidase pénétrait dans la bactérie réceptrice, la synthèse de l'enzyme démarrait. La transcription des gènes, devenue grâce aux travaux de l'équipe française, le niveau principal de contrôle de l'expression des

gènes, se révélait être un phénomène rapide, quasi-instantané : le temps se trouvait ainsi à nouveau exclu de l'action des gènes.

Depuis ces travaux et le modèle de l'opéron, quarante années se sont écoulées. Les biologistes moléculaires ont découvert la complexité de la régulation de l'expression des gènes chez les organismes eucaryotes : là où les bactéries utilisaient des répresseurs à action inhibitrice forte, les organismes supérieurs utilisent des agrégats – pour reprendre l'expression de F. Jacob (Jacob, 1993) – de facteurs de transcription au pouvoir activateur individuel faible. Ces études ont, comme nous allons le voir, subrepticement réintroduit le temps, tant au niveau de la cellule élémentaire qu'à celui de l'organisme ou de l'évolution.

LA RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES : UN PHÉNOMÈNE NON-IMMÉDIAT

La meilleure manière de découvrir la place que le temps occupe dans le contrôle de l'expression des gènes est d'étudier un système modèle, tant par le nombre d'études qui lui ont été consacrées que par le fait que ce système a été progressivement amélioré au cours de l'évolution pour répondre vite aux signaux venus de l'extérieur : les gènes codant pour les protéines de choc thermique (Morimoto, 1992)

La transcription de ces gènes est déclenchée par un ensemble de stress dits protéotoxiques, c'est-à-dire ayant pour effet de dénaturer les protéines et d'en provoquer l'agrégation. Le plus anciennement décrit de ces stress est le choc hyperthermique – encore appelé, plus simplement, choc thermique – qui continue de donner son nom à la réponse et aux protéines induites. Celles-ci agissent comme chaperons pour aider au repliement et/ou à la dégradation des protéines dénaturées.

La synthèse des protéines de choc thermique en réponse à un stress est rapide : chez les eucaryotes, quelques minutes après le début d'une hyperthermie modérée, le facteur de transcription HSF se fixe sur les séquences dites HSE situées en amont des promoteurs des gènes codant pour les protéines de choc thermique et active le démarrage de leur transcription. Les ARN synthétisés ne possèdent pas (ou peu) d'introns et sont rapidement transportés vers le cytoplasme où ils sont traduits, préférentiellement par rapport aux autres ARN messagers présents dans le cytoplasme, en protéines de choc thermique.

La rapidité et l'efficacité de la réponse – la synthèse des protéines de choc thermique est un phénomène majeur – s'expliquent par un ensemble de caractéristiques qui font de ce système inductible un cas exceptionnel. *A contrario*, son étude permet de mettre en évidence toutes les étapes et, par conséquent, les délais importants associés à l'expression d'autres systèmes génétiques.

– Le facteur HSF est déjà présent, sous une forme inactive, en l'absence de stress. Si le mécanisme d'acti-

vation est complexe et reste encore imparfaitement connu, il semble, dans certains cas au moins, que le facteur puisse s'activer directement en réponse au stress, hyperthermie (Goodson & Sarge, 1995) ou stress oxydatif (Zhing *et al.*, 1998). Quelle différence avec la grande majorité des systèmes inductibles où l'activation du facteur de transcription nécessite la mise en route d'une très longue voie de signalisation (telle la voie ras-MAP kinase pour les facteurs de croissance).

– La séquence HSE est libre de nucléosomes et directement accessible aux facteurs de transcription. Cela est dû à l'action, chez la *Drosophile*, d'un facteur, appelé GAGA (Tsukiyama *et al.*, 1994) qui, en présence d'une protéine déstabilisant les nucléosomes (Tsukiyama *et al.*, 1995) repositionne ceux-ci à distance de la séquence HSE.

– Pour la majorité des gènes codant pour les protéines de choc thermique de *Drosophile* – probablement, il en est de même chez les eucaryotes supérieurs – l'ARN polymérase est déjà fixée, en l'absence de facteur HSF, sur le promoteur et a même initié la transcription qui s'arrête après la synthèse d'une trentaine de nucléotides (Rougvié & Lis, 1988). La fixation d'un facteur HSF activé va lever cette pause de la polymérase et contribuer à déplacer les nucléosomes positionnés en aval du site de démarrage de la transcription (Brown & Kingston, 1997). Dans le cas des gènes de choc thermique, le temps nécessaire au remodelage de la chromatine, à la fixation des facteurs de transcription, à l'assemblage du complexe de transcription et au démarrage de celle-ci a donc été effacé.

– Les gènes codant pour les protéines de choc thermique ne contenant pas (ou peu) d'introns, et leur séquences 5' et 3' non traduites étant relativement courtes, leur transcription ne demande qu'une à deux minutes. Cela distingue nettement ces gènes d'autres gènes cellulaires, comme celui de la dystrophine dont la transcription des millions de paires de bases qui le forment requiert plusieurs heures !

– Comme nous l'avons vu, le temps de la synthèse protéique est aussi raccourci par la traduction préférentielle, après choc thermique, des ARN messagers codant pour les protéines de choc thermique, probablement grâce à des signaux situés dans la partie 5' de ces ARN messagers.

A l'opposé, l'expression de la majorité des gènes implique des délais importants, trop souvent méconnus. Ces délais « expliquent » que, dans un certain nombre de situations, les organismes vivants aient opté pour une régulation traductionnelle et pré-stockent les ARN messagers. Prenons le cas d'un embryon d'amphibien dont l'œuf fécondé est de grande taille : il faudrait plusieurs heures pour que la transcription du noyau fécondé puisse modifier le taux de n'importe quelle protéine exprimée à un niveau moyen ou fort. D'où la solution retenue : multiplication rapide (qui, par reproduction des gènes, augmente la vitesse potentielle de transcription) par utilisation et modification post-traductionnelle d'une information maternelle stockée sous forme d'ARN messagers.

Enfin, il ne faut pas oublier que le temps d'expression des gènes peut être celui de la dégradation des protéines codées par ces gènes : c'est le cas des cyclines, protéines essentielles au déroulement du cycle cellulaire, dont le niveau est contrôlé par phosphorylation et dégradation.

RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES AU COURS DE LA VIE DE L'ORGANISME

L'expression des gènes varie au cours de la vie de l'organisme. Cette variation est un élément essentiel du programme génétique de développement. Deux hypothèses peuvent être envisagées : soit les mécanismes qui contrôlent l'expression des gènes au cours du développement de l'organisme sont de même nature que ceux qui régulent l'expression des gènes en réponse, par exemple, aux signaux de l'environnement, soit ils sont de nature différente.

J. Monod et F. Jacob avaient opté pour la première hypothèse et tenté d'adapter le modèle de l'opéron aux exigences de fonctionnement des gènes des organismes supérieurs (Monod & Jacob, 1961). A la fin des années 60 et au début des années 70, le pendule se déplaça vers la deuxième hypothèse : l'étude des organismes supérieurs révélait ou confirmait l'existence de phénomènes – états différents de la chromatine, méthylation de l'ADN, positionnement des gènes dans le génome en fonction de leur ordre d'expression – qui suggéraient l'intervention de mécanismes spécifiques du contrôle de l'expression des gènes au cours du développement. Il paraissait raisonnable que le contrôle coordonné de centaines ou de milliers de gènes au cours du développement nécessitât des mécanismes distincts de ceux qui permettent la régulation de l'activité d'un ou de quelques gènes en réponse à un signal extérieur.

Ces dernières années, le balancier s'est à nouveau déplacé, en partie, sans doute à cause des résultats des expériences de clonage qui ont démontré que la « remise à zéro » du génome était relativement facile : sans nier l'existence des phénomènes précédemment décrits, leur importance a été réduite. Rien ne semble distinguer la régulation « normale » des gènes au cours de la vie de celle qui contrôle le développement embryonnaire :

– il existe bien une relation entre le degré de méthylation des gènes et leur degré d'activité, ou plus exactement d'inactivité (Razin, 1998). Mais la méthylation n'existe que chez certains organismes où elle ne concerne qu'une petite partie des gènes. De plus, elle sanctionne l'inactivation des gènes bien plus qu'elle n'en est la cause ;

– l'état de la chromatine joue bien un rôle essentiel dans l'expression des gènes. Mais la régulation de la transcription par l'état chromatinien ne semble pas être de nature distincte de la régulation par l'action des facteurs de transcription : de nombreux travaux ont récemment montré que beaucoup de facteurs de transcription agissent en « recrutant » des enzymes, acétylases ou désacétylases, qui modifient les histones et donc la structure des nucléosomes (Struhl, 1999). Cet effet des fac-

teurs de transcription peut être leur seul mécanisme d'action ou venir s'ajouter à un effet activateur direct sur l'ARN polymérase ;

– enfin, il est vrai que, dans le cas des gènes globines comme dans celui du complexe des gènes homéotiques, il existe une relation remarquable entre la position des gènes dans le génome et leur temps d'expression au cours de l'embryogenèse, qui, dans le cas des gènes homéotiques, se rajoute à un profil d'expression différent le long des axes de l'embryon. Ces cas ont été très bien étudiés : n'oublions cependant pas qu'ils constituent des exceptions et non la règle, comme le montrent les très nombreuses expériences de transgénèse. La grande majorité des gènes n'a pas besoin d'être située à une position particulière du génome pour agir en temps et lieu voulus. Dans les deux cas précités, ce positionnement a permis la mise en place d'une régulation d'expression fine, résultant d'effets activateurs et inhibiteurs dont on commence tout juste à percevoir la complexité (Van der Hoeven *et al.*, 1996 ; Mann, 1997 ; Kondo & Duboule, 1999). Il s'agit probablement d'un "frozen accident" de l'évolution, d'une formation due au hasard – et aux mécanismes de duplication des gènes – qui a été ensuite utilisée au mieux par l'organisme. Les mécanismes de régulation mis en jeu ne sont pas de nature différente de ceux contrôlant l'expression des autres gènes. Aucune nouvelle logique de régulation n'a été révélée par l'étude de ces complexes géniques.

L'expression de nombreux gènes varie aussi au cours du vieillissement. Des modifications de l'état de la chromatine pourraient être impliquées dans de telles variations. La synthèse des gènes codant pour les protéines de choc thermique est particulièrement affectée au cours du vieillissement : certaines protéines de choc thermique sont exprimées constitutivement de manière forte tandis que l'inductibilité des autres diminue (Fargnoli *et al.*, 1990). Dans ce dernier cas, il a été montré qu'il n'y avait pas de variations dans la quantité du facteur activateur de la transcription HSF, mais que les mécanismes d'activation de ce facteur après un stress semblaient moins efficaces, sans que l'on puisse précisément déterminer les raisons de cette moindre efficacité (Heydari *et al.*, 1993). De manière intéressante, le traitement hypocalorique, connu pour ralentir le vieillissement, limite aussi la perte d'inductibilité des gènes codant pour les protéines de choc thermique (Heydari *et al.*, 1996).

S'il n'existe pas de mécanismes propres de régulation de l'expression des gènes au cours de la vie de l'organisme, toute cellule vivante module l'expression de ses gènes en fonction de son état, en particulier des différentes phases de la division cellulaire. A la mitose, les gènes ne sont pas transcrits et la majorité des facteurs de transcription se détachent de leur promoteurs (Martinez-Balbas *et al.*, 1995).

LA RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES AU COURS DE L'ÉVOLUTION

La structure des gènes a été très conservée au cours de l'évolution, bien plus qu'on ne l'imaginait il y a quelques

décennies. Cela est particulièrement vrai des gènes jouant un rôle-clé dans le développement, tels les gènes homéotiques. Cette conservation n'a pas empêché ce que F. Jacob a appelé le bricolage de l'évolution, l'utilisation des mêmes structures moléculaires pour assurer des fonctions différentes (Jacob, 1977 ; Duboule & Wilkins, 1998).

Une forme particulière de bricolage, à laquelle S. J. Gould attribue une grande importance dans l'évolution des formes vivantes, est la modification du *temps d'expression* des gènes du développement (Gould, 1977). Les études du groupe de Denis Duboule à Genève sur l'évolution des profils d'expression des gènes homéotiques en relation avec les modifications de structure des membres ont conforté cette hypothèse (Duboule & Sor-dino, 1996). Nul doute que de nombreux autres exemples vont apparaître où l'évolution des formes vivantes pourra être corrélée à des modifications du profil d'expression dans le temps des gènes du développement.

LES GÈNES DU TEMPS

Avant de conclure, ajoutons quelques mots sur les gènes qui contrôlent le temps de l'organisme, ses rythmes. Ces dernières années, les mécanismes moléculaires du rythme circadien ont été décryptés, aussi bien chez la *Drosophile* que chez les mammifères (Dunlap, 1999). Ces mécanismes ont été conservés au cours de l'évolution et les protéines qui représentent les engrenages de cette horloge moléculaire, comme PER et CLOCK, sont très semblables chez ces deux organismes. Il existe cependant de nombreuses différences dans le détail des mécanismes moléculaires mis en jeu. Certains organismes, comme les champignons, ont élaboré une horloge de nature totalement différente de celle des animaux. Il n'existe rien de remarquable dans les composants moléculaires de ces horloges : la nature a simplement utilisé le temps de l'expression des gènes – temps de la transcription, de la traduction, de la modification puis du retour des protéines dans le noyau – pour fabriquer des boucles auto-régulées capables d'engendrer des rythmes réguliers.

CONCLUSION

Nous avons passé en revue les différents temps d'expression des gènes. Il est clair que l'étude dynamique de l'expression des gènes est encore dans les limbes : la vision des biologistes moléculaires est essentiellement structurale, et donc figée. Le niveau d'activité d'un promoteur est expliqué simplement par la présence ou l'absence de facteurs particuliers, non par la dynamique d'interaction de ces facteurs avec leurs cibles. Le temps n'occupe certainement pas dans la biologie contemporaine la place qui devrait être la sienne.

Cette faiblesse de la biologie moléculaire est le fruit d'une histoire que nous avons évoquée dans l'introduc-

tion. Mais elle s'explique surtout par l'absence de techniques permettant de suivre « en temps réel » le ballet des molécules à l'intérieur d'une cellule. Les techniques structurales les plus performantes utilisées par les biologistes, comme la diffraction des rayons X sur des cristaux, donnent *par nature* une vision figée des macromolécules. Ajoutons d'ailleurs, pour répondre à la critique adressée aux biologistes moléculaires de négliger le paramètre temps, qu'une vision dynamique du vivant ne pouvait apparaître avant que les composants structuraux aient été caractérisés, tâche qui n'est pas encore achevée.

La situation est en train de changer, comme le montrent les deux exemples suivants. Il est possible aujourd'hui d'observer directement, au niveau même de la molécule (Femino *et al.*, 1998), la formation et l'accumulation des transcrits dans le noyau cellulaire. Appliquées à Grenoble par Michel Robert-Nicoud aux gènes codant pour les protéines de choc thermique (Jolly *et al.*, 1998), ces techniques ont confirmé la rapidité d'accumulation des ARNs, mais en même temps montré l'existence d'étapes ultérieures qui limitent la diffusion de ces ARNs ainsi produits vers le cytoplasme.

De même, à la vision « classique » qui expliquait l'activation d'une cellule en réponse à un signal extérieur, par l'enchaînement d'étapes irréversibles, se substitue aujourd'hui une vision plus dynamique où le signal extérieur ne fait que moduler un ensemble d'équilibres préexistants et où l'effet du signal résulte plus de son rythme et de sa forme temporelle que de sa nature ou de son intensité : mentionnons par exemple les travaux sur l'effet des oscillations de la concentration en calcium sur l'activation de la transcription (Dolmetsch *et al.*, 1998; Li *et al.*, 1998). La réponse cellulaire dépendra, non de la simple présence du signal inducteur, mais de la dynamique des événements cellulaires que ce signal induira. Nul doute que cette dynamique sera essentielle lorsqu'il s'agira pour une cellule de choisir entre la survie ou l'engagement dans la voie de l'apoptose.

Une telle vision dynamique du vivant ne pourra, au contraire de la vision structurale, être directement appréhendée par l'observateur. Elle nécessitera une modélisation des processus mis en jeu. Ces modèles devront être ensuite confrontés à l'expérience. Il est encore trop tôt pour savoir si la mise au point de ces modèles conduira à une révolution dans les sciences du vivant analogue à celle que représenta l'essor de la biologie moléculaire.

Remerciements. – Nous tenons à remercier M. Ladislav ROBERT qui nous a proposé ce sujet. La difficulté que nous avons eu à le traiter est bien le signe de l'absence actuelle d'une vision dynamique des phénomènes moléculaires prenant place au sein du vivant.

BIBLIOGRAPHIE

- Braudel F., *La Méditerranée et le monde méditerranéen à l'époque de Philippe II*. Armand Colin, Paris, 1949.
- Brown S.A. & Kingston R.E., Disruption of downstream chromatin directed by a transcriptional activator. *Genes & Development*, 1997, 11, 3116-3121.
- Dolmetsch R.E., Xu K. & Lewis R.S., Calcium oscillations increase the efficiency and specificity of gene expression. *Nature*, 1998, 392, 933-936.
- Duboule D. & Sordino P., Des nageoires aux membres : l'apport de la génétique moléculaire du développement dans l'étude de l'évolution des morphologies chez les vertébrés. *Médecine/Sciences*, 1996, 12, 147-154.
- Duboule D. & Wilkins A.S., The evolution of 'bricolage'. *Trends in Genetics*, 1998, 14, 54-59.
- Dunlap J.C., Molecular bases for circadian clocks. *Cell*, 1999, 96, 271-290.
- Fagnoli J., Kunisada T., Fornace A.J. Jr., Schneider E.L. & Holbrook N.J., Decreased expression of heat shock protein 70 mRNA and protein after heat treatment in cells of aged rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 846-850.
- Femino A.M., Fay F.S., Fogarty K. & Singer R.H., Visualization of single RNA transcripts in situ. *Science*, 1998, 280, 585-590.
- Goodson M.L. & Sarge K.D., Heat-induced DNA binding of purified heat shock transcription factor 1. *J. Biol. Chem.*, 1995, 270, 2447-2450.
- Gould S.J., *Ontogeny and phylogeny*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge Mass., 1977.
- Heydari A.R., Wu B., Takahashi R., Strong R. & Richardson A., Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription. *Mol. Cell. Biol.*, 1993, 13, 2909-2918.
- Heydari A.R., You S., Takahashi R., Gutschmann A., Sarge K.D. & Richardson A., Effect of caloric restriction on the expression of heat shock protein 70 and the activation of heat shock transcription factor 1. *Dev. Genet.*, 1996, 18, 114-124.
- Jacob F., Evolution and tinkering. *Science*, 1977, 196, 1161-1166.
- Jacob F., Du répresseur à l'agrégat. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1993, 316, 331-333.
- Jolly C., Robert-Nicoud M. & Vourc'h C., Contribution of the growing RNA molecules to the nuclear transcripts foci observed by FISH. *Exp. Cell Res.*, 1998, 238, 299-304.
- Kondo T. & Duboule D., Breaking colinearity in the mouse *HoxD* complex. *Cell*, 1999, 97, 407-417.
- Li W.-H., Llopis J., Whitney M., Zlokarnik G. & Tsien R.Y., Cell-permeant caged InsP_3 ester shows that Ca^{2+} spike frequency can optimize gene expression. *Nature*, 1998, 392, 936-941.
- Mann R.S., Why are *Hox* genes clustered? *BioEssays*, 1997, 19, 661-664.
- Martinez-Balbas M.A., Dey A., Rabindran S.K., Ozato K. & Wu C., Displacement of sequence-specific transcription factors from mitotic chromatin. *Cell*, 1995, 83, 29-38.
- Monod J. & Jacob F., General conclusions : teleonomic mechanisms in cellular metabolism, growth and differentiation. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1961, 26, 389-401.
- Morgan T.H., *Embryology and Genetics*. Columbia University Press, New York, 1934.
- Morimoto R.I., Transcriptional regulation of heat shock genes. *J. Biol. Chem.*, 1992, 267, 21987-21990.
- Pardee A.B., Jacob F. & Monod J., The genetic control and cytoplasmic expression of "Inducibility" in the synthesis of β -galactosidase by *E. coli*. *J. Mol. Biol.*, 1959, 1, 165-178.
- Razin A., CpG methylation, chromatin structure and gene silencing – a three-way connection. *The EMBO J.*, 1998, 17, 4905-4908.
- Rougvié A.E. & Lis J.T., The RNA polymerase II molecule at the 5' end of the uninduced *hsp70* gene of *D. melanogaster* is transcriptionally engaged. *Cell*, 1988, 54, 795-804.
- Struhl K., Fundamentally different logic of gene regulation in eukaryotes and prokaryotes. *Cell*, 1999, 98, 1-4.
- Tsukiyama T., Becker P.B. & Wu C., ATP-dependent nucleosome disruption at a heat-shock promoter mediated by bin-

- ding of GAGA transcription factor. *Nature*, 1994, 367, 525-532.
28. Tsukiyama T., Daniel C., Tamkun J. & Wu C., *ISWI*, a member of the *SWI2/SNF2* ATPase family, encodes the 140 kDa subunit of the nucleosome remodeling factor. *Cell*, 1995, 83, 1021-1026.
29. Van der Hoeven F., Zakany J. & Duboule D., Gene transpositions in the *HoxD* complex reveal a hierarchy of regulatory controls. *Cell*, 1996, 85, 1025-1035.
30. Waddington C.H., *An Introduction to modern genetics*. Macmillan, New York, 1939.
31. Zhing M., Orosz A. & Wu C., Direct sensing of heat and oxidation by *Drosophila* heat shock transcription factor. *Molecular Cell*, 1998, 2, 101-108.
-