

Le recyclage des protéines

ALFRED GOLDBERG • STEPHEN ELLEDGE • WADE HARPER

Des structures cellulaires, les protéasomes, détruisent en permanence des protéines. Diverses maladies apparaissent quand ces « usines d'incinération » fonctionnent trop ou, au contraire, pas assez.

Sans cesse, notre organisme est le lieu de combats dignes d'un film d'Indiana Jones. Il est fréquent qu'une protéine, s'efforçant d'accomplir sa mission, soit vouée à la destruction et aspirée dans un trou noir, où elle est rapidement mise en pièces. Contrairement à Indiana Jones, elle n'a aucune chance d'en réchapper. Dans la chambre de la mort, la protéine passe, tel un prisonnier médiéval, sur la table d'exécution ; elle y est soumise à mille et une lames enzymatiques qui l'achèvent. Quelques secondes plus tard, les morceaux sont éjectés pour être attaqués et digérés plus avant par d'autres enzymes.

Ce drame intracellulaire est sans doute insignifiant (sauf peut-être pour l'infortunée protéine), mais de nombreuses équipes, dont la nôtre, estiment aujourd'hui que ces abattoirs moléculaires, nommés protéasomes, jouent un rôle fondamental dans les mécanismes cellulaires. Une cellule contient près de 30 000 protéasomes. Quand ils fonctionnent mal, soit qu'ils englobent trop de protéines vitales, soit qu'ils ne détruisent pas les protéines endommagées ou anormales, des maladies risquent d'apparaître. Certains virus, tel le virus de l'immunodéficience humaine, le VIH, ont même acquis la capacité de détourner à leur profit la chambre de dégradation des protéines. Les prochains médicaments contre le cancer et d'autres maladies graves agiront peut-être sur les protéasomes et sur les voies d'acheminement des protéines vers ces organites.

Un renouvellement bénéfique

Les cellules sont essentiellement constituées de protéines, dont certaines agissent comme des enzymes, les moteurs moléculaires des réactions chimiques de la vie. Les protéines produites par une cellule dépendent des gènes activés à un moment donné. Les gènes imposent la façon dont les 20 sous-unités élémentaires des protéines, les acides aminés, sont assemblées. Les chaînes se replient en boucles plus ou moins compactes ; chaque protéine a une fonction spécifique qui est déterminée par sa composition chimique, mais aussi par sa forme géométrique.

Que se passe-t-il lorsque les protéines ne servent plus à rien ou s'enroulent mal ? On a longtemps supposé que les lysosomes, de petits sacs d'enzymes digestives présents dans la plupart des cellules de l'organisme, étaient les lieux privilégiés de la dégradation des protéines. Toutefois, au début des années 1970, l'un de nous (Alfred Goldberg) a montré que les cellules dépourvues de lysosomes, tels les bactéries ou les globules rouges immatures, sont néanmoins capables de détruire leurs protéines anormales, ce mécanisme de dégradation nécessitant de l'énergie, contrairement aux autres.

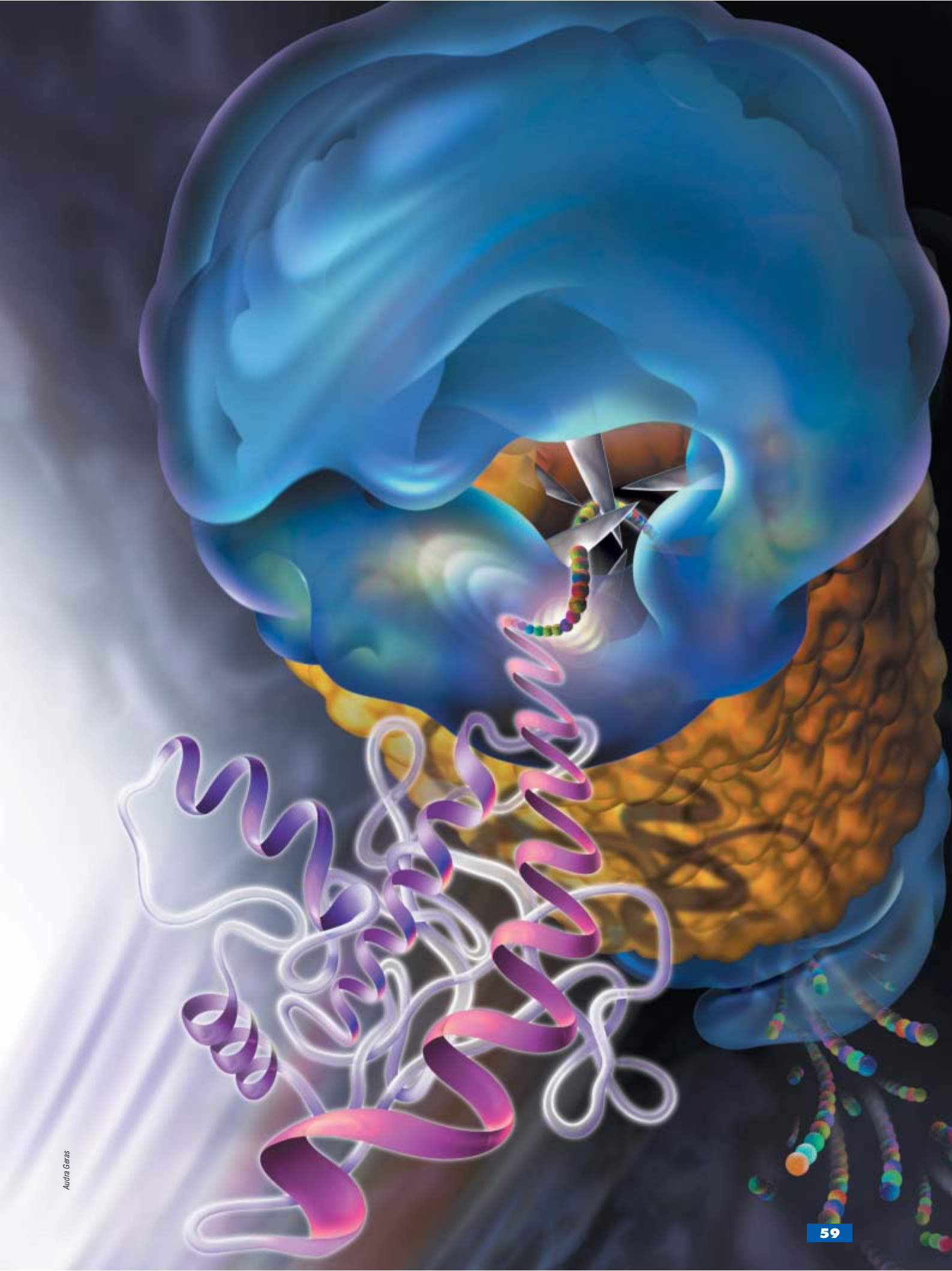
Nous avons réussi à étudier ce nouveau type de dégradation en laboratoire, et, à la fin des années 1970 et durant les années 1980, plusieurs enzymes ont été découvertes. En 1988, le groupe de A. Goldberg et celui de Martin Rechsteiner, de l'Université de l'Utah, montrèrent que les protéines

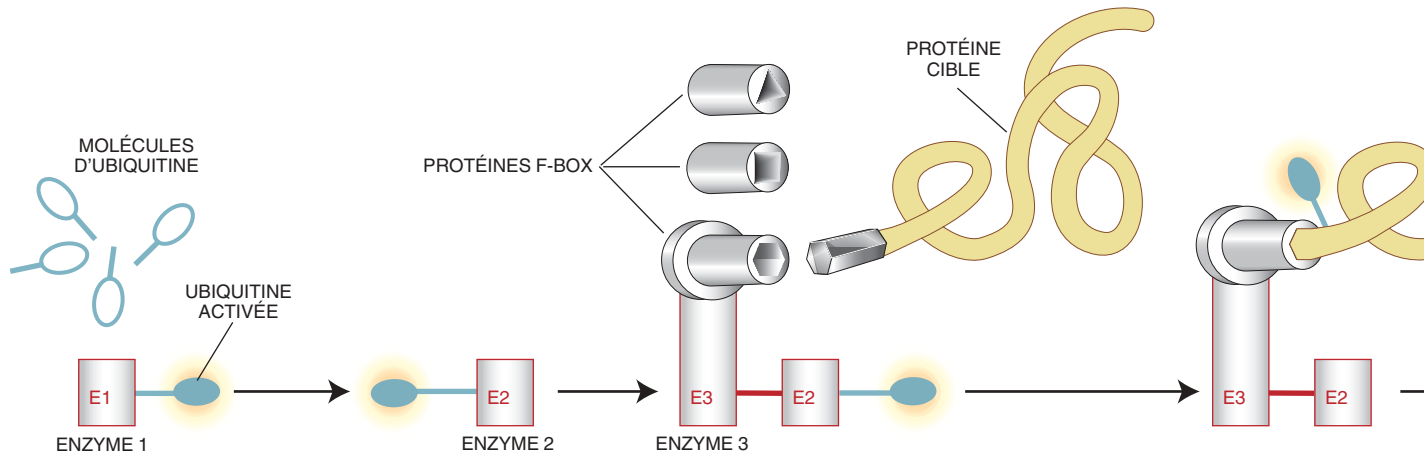
sont dégradées par de grands complexes constitués de plusieurs enzymes, qui ont été nommés protéasomes.

Les protéasomes contiennent de nombreuses protéases, des enzymes qui découpent les protéines en morceaux. Toutefois, les protéasomes sont 100 fois plus grands et plus complexes que les autres protéases. Quand une protéine s'approche du seuil d'un protéasome, elle est aspirée et déchiquetée en acides aminés, lesquels seront réassemblés pour former de nouvelles protéines. La durée de vie de la plupart des protéines n'excède pas quelques jours, même dans des cellules qui se divisent peu, telles les cellules du foie ou du système nerveux. Les vitesses de dégradation varient : certaines ont une demi-vie d'une vingtaine de minutes, d'autres dans la même cellule subsistent pendant des jours, voire des semaines (la demi-vie représente le temps qu'il faut pour que la moitié de la quantité initiale de protéines soit dégradée). Qui plus est, les vitesses de dégradation peuvent varier notablement selon l'état de l'organisme.

A priori, la destruction continue des constituants cellulaires semble être un énorme gaspillage, mais elle a, pourtant, diverses fonctions. La dégradation

1. UN PROTÉASOME attire une protéine (structure en ruban, en bas à gauche) dans sa gueule pour la détruire à l'aide de six enzymes spécifiques, représentées ici par six lames de couteau. Chaque cellule contient des milliers de protéasomes, qui découpent les protéines à éliminer en fragments de différentes tailles ; ces derniers sont ensuite dégradés par d'autres enzymes en constituants élémentaires des protéines, les acides aminés, lesquels sont recyclés pour former de nouvelles protéines.





d'une protéine indispensable, une protéine de régulation, par exemple, sert souvent à ralentir ou à bloquer une réaction biochimique. Par ailleurs, de nombreux mécanismes cellulaires sont activés par la dégradation de protéines inhibitrices. Une élimination rapide des protéines régulatrices est indispensable au bon enchaînement des différentes phases du cycle de la division cellulaire (voir l'encadré page 62).

La dégradation des protéines intervient aussi dans la régulation du métabolisme de l'organisme. En cas de malnutrition ou de maladie, par exemple, l'activité des protéasomes s'intensifie dans les muscles, fournissant ainsi des acides aminés qui peuvent être convertis en glucose et produire de l'énergie. Cette accélération de la dégradation des protéines explique la fonte musculaire et la faiblesse des personnes qui souffrent de la faim ou qui sont atteintes de cancer, du SIDA ou de diabète non traité.

Le système immunitaire cherche en permanence à éliminer des cellules infectées par un virus ou les cellules cancéreuses ; il est sans cesse à l'affût des « balises » que les protéasomes plantent sur ces cellules dangereuses pour les repérer. Le système immunitaire se comporte à cette occasion comme une logeuse qui, dévorée par les soupçons, vérifierait tous les jours le contenu de la boîte à ordures de ses locataires, pour s'assurer qu'ils ne font rien de répréhensible. En général, les protéines cellulaires sont totalement dégradées en acides aminés, mais, parfois, quelques fragments de huit à dix acides aminés sont libérés par les protéasomes, exposés à la surface des cellules, où ils sont examinés par le système immunitaire qui vérifie qu'ils sont normaux. Durant certains états pathologiques, des pro-

téasomes particuliers, nommés immunoprotéasomes, sont produits dans certains tissus, tels la rate et les ganglions lymphatiques, et améliorent l'efficacité de ce mécanisme de surveillance.

La dégradation des protéines par les protéasomes est également un système cellulaire de contrôle de la qualité, qui empêche l'accumulation de protéines anormales et potentiellement toxiques. Les bactéries et les cellules de mammifères détruisent sélectivement les protéines dont les anomalies notables ont été engendrées par des mutations, par des erreurs lors de la synthèse ou par des lésions.

La dégradation des protéines anormales joue un rôle important lors de diverses maladies génétiques. Dans certaines anémies héréditaires, les molécules d'hémoglobine sont anormales, car le gène qui les code est muté : les protéines se replient mal et sont rapidement détruites par les protéasomes, peu après leur synthèse. De même, la mucoviscidose est due à une mutation sur le gène codant une protéine canal qui assure le passage des ions chlorure à travers la membrane externe des cellules. Ces protéines-canal sont légèrement déformées, de sorte que les protéasomes les dégradent avant qu'elles n'atteignent la membrane cellulaire. Le mucus épais qui s'accumule dans les poumons et dans d'autres organes des personnes atteintes de mucoviscidose résulte du manque de transporteurs normaux d'ions chlorure.

Au contraire, d'autres maladies seraient partiellement dues à une dégradation insuffisante de protéines anormales par les protéasomes. Ainsi, des agrégats de protéines mal repliées, associés à des protéasomes, s'accumulent dans certains neurones, dans le cerveau des personnes atteintes de

maladies neurodégénératives, telles les maladies de Parkinson, de Huntington ou d'Alzheimer. Plusieurs équipes recherchent activement pourquoi les neurones de ces personnes ne parviennent pas à dégrader les protéines anormales.

Dans le ventre du monstre

Vue d'une protéine, les protéasomes sont des structures énormes. La masse d'une protéine moyenne est comprise entre 40 000 et 80 000 fois celle d'un atome d'hydrogène, tandis que la plupart des protéasomes des organismes supérieurs sont 50 fois plus lourds. Au milieu des années 1990, Wolfgang Baumeister, Robert Huber et leurs collègues de l'Institut de biochimie Max Plank, à Martinsried, ont utilisé la diffraction des rayons X et la microscopie électronique pour déterminer l'architecture moléculaire des protéasomes. Chacune de ces structures comprend une particule centrale formant un tunnel, et une ou deux particules régulatrices plus petites, placées à l'une ou à l'autre des extrémités (ou aux deux), comme des capuchons. La partie centrale est constituée de quatre anneaux empilés, chacun comprenant sept sous-unités, entourant un canal central qui constitue le « tube digestif » du protéasome. Les deux anneaux externes serviraient de portails, empêchant les protéines passant à proximité de pénétrer par erreur dans la chambre de dégradation.

De même, les « capuchons » régulateurs seraient des gardiens surveillant attentivement l'entrée dans la partie centrale. Ces particules régulatrices reconnaissent les protéines vouées à la destruction et s'y fixent, puis consomment de l'énergie pour dérouler les protéines et les injecter



dans la particule centrale, où elles sont découpées en morceaux.

Plusieurs équipes ont réussi à synthétiser ou à isoler des composés capables d'inhiber sélectivement les protéasomes sans perturber les autres enzymes cellulaires (en cas d'inhibition totale, des effets secondaires néfastes pourraient se produire). Ces inhibiteurs ont permis aux biologistes de préciser le mode d'action des protéasomes. À fortes doses, ces inhibiteurs détruisent les cellules, ce qui n'est guère surprenant étant donné le rôle des protéasomes. On constate que les cellules cancéreuses (aussi bien en culture que chez l'animal) semblent plus sensibles à l'effet des inhibiteurs que les cellules normales. Un inhibiteur de protéasomes, de la Société *Millenium Pharmaceuticals*, à Cambridge, testé chez l'homme, a prouvé son innocuité, et sera évalué dans le traitement de divers cancers, notamment le myélome multiple, dans le cadre d'un essai clinique qui devrait commencer bientôt. Un autre inhibiteur de protéasomes est en cours d'essai préliminaire, et pourrait agir contre les accidents vasculaires cérébraux et contre l'infarctus du myocarde.

Le baiser de la mort

Les protéasomes n'agissent pas au hasard. Ce sont les cellules elles-mêmes qui indiquent lesquelles de leurs protéines sont condamnées. Ces protéines sont d'abord marquées par une autre protéine, nommée ubiquitine, qui, comme son nom l'indique, est ubiquitaire, c'est-à-dire présente dans de nombreux organismes vivants. L'ubiquitine est une petite protéine (76 acides aminés), qui peut se fixer sur les grosses protéines. Plusieurs sous-unités d'ubi-

2. LE PROCÉDÉ DE MARQUAGE d'une protéine qui est condamnée à être détruite dans un protéasome nécessite trois enzymes qui travaillent de concert pour marquer la protéine à l'aide d'une chaîne de molécules d'ubiquitine. La première enzyme (E1) se lie à une molécule d'ubiquitine, l'active et la fixe à une autre enzyme (E2). Cette dernière se lie à une troisième enzyme (E3). Les enzymes E3 sont des «clés à douille» qui s'adaptent à différentes protéines cibles. Lorsqu'une enzyme E3 se lie à une protéine, la molécule d'ubiquitine que porte E2 se détache et est transférée à la protéine. Le cycle se répète jusqu'à ce que la protéine soit marquée par une chaîne de molécules d'ubiquitine. Cette chaîne se fixe à un protéasome ; les enzymes proches de l'«entrée» du protéasome déroulent la protéine et la font entrer dans l'ancre du protéasome, où d'autres enzymes la mettent en pièces.

quitine s'assemblent à la façon d'un code postal qui accélère l'acheminement des protéines condamnées vers les protéasomes.

Le signal de la destruction est donné par la fixation des chaînes d'ubiquitine, l'ubiquitination, qui consomme de l'énergie, comme l'ont montré Avram Hershko et Aaron Ciechanover, de l'Institut de technologie Technion, à Haïfa, et Irwin Rose, du centre anticancéreux *Fox Chase*, à Philadelphie.

L'ubiquitination se déroule en plusieurs étapes et fait intervenir trois enzymes, nommées E1, E2 et E3 (voir la figure 2). L'enzyme E1 active l'ubiquitine, qui se lie à E2. La troisième enzyme, E3, facilite ensuite le transfert de l'ubiquitine activée de E2 vers la protéine. L'opération se répète jusqu'à ce qu'une longue chaîne de molécules d'ubiquitine pende de la protéine. Dès qu'un protéasome détecte une telle chaîne, il aspire la protéine.

Comment une protéine est-elle «choisie» pour subir une ubiquitination ? Avec d'autres biologistes, nous

avons récemment découvert qu'il y a des centaines de protéines E3 différentes qui reconnaissent les informations contenues dans les séquences d'acides aminés des protéines, et qui choisissent les cibles de l'ubiquitination. Quand les conditions physiologiques changent, par exemple lors d'une infection ou d'un manque de nutriments, les cellules modifient leurs protéines en leur ajoutant des groupes phosphate. Cette phosphorylation influence sur l'activité des protéines et sur leur capacité à fixer les protéines E3. Ces dernières détectent les protéines qui ne sont pas correctement repliées ou qui sont endommagées, elles vont à leur rencontre et leur apposent une marque, afin qu'elles soient happées par les protéasomes.

En contrôlant la stabilité de diverses protéines critiques, les molécules E3 régulent de nombreux mécanismes, tels le développement des membres, les réactions immunitaires, la

division cellulaire et la communication entre cellules. Les rythmes circadiens et la floraison des plantes sont également dictés par des enzymes E3. Qui plus est, certaines protéines E3 ont des propriétés antitumorales ; d'autres, au contraire, favoriseraient l'apparition des cancers : ubiquitination et apparition de cancers semblent liées

Ainsi, le facteur antitumoral VHL est une protéine E3 souvent mutée dans les tumeurs du rein. Normalement, VHL retarde la croissance cellulaire en entravant le développement des vaisseaux sanguins dans les tissus ; lorsqu'il est muté, les tumeurs nouvellement formées sont capables de déclencher une

vascularisation importante qui favorise leur croissance. Par ailleurs, on a découvert qu'une forme héréditaire de la maladie de Parkinson est due à une mutation dans le gène codant une des enzymes E3 : l'enzyme E3 étant anormale, des protéines s'accumulent dans certaines cellules cérébrales, entraînant leur mort.

Les virus, qui détournent la machinerie cellulaire à leur profit, ont acquis la capacité d'éviter l'ubiquitination et, par conséquent, la dégradation de leurs protéines. Les papillomavirus responsables de verrues, du cancer du col de l'utérus ou du cancer de l'anus ont acquis ces mécanismes d'évitement. La transformation vers la croissance can-

céreuse est généralement inhibée par la protéine de défense p53, l'une des protéines antitumorales de l'organisme. Pour déjouer ce dispositif de défense, les papillomavirus produisent une protéine qui se lie à la fois à la protéine p53 et à une enzyme E3. Ainsi, c'est la protéine p53 qui subit l'ubiquitination et qui est vouée à la destruction dans les protéasomes (et non les protéines virales). Les cellules infectées par les papillomavirus perdent un moyen de lutte efficace contre le cancer et risquent davantage de devenir tumorales.

Le virus de l'immunodéficience humaine, le VIH, utilise un stratagème similaire pour détruire la protéine de

Division cellulaire et mort des protéines

L'un des meilleurs exemples de l'importance que revêt la capacité des cellules à détruire les protéines est celui de la division cellulaire chez *Saccharomyces cerevisiae*, la levure de boulanger. Avant de se diviser, une cellule de levure (tout comme une cellule humaine) doit d'abord recopier son ADN. Pour que la synthèse de l'ADN commence, une classe particulière de protéines cellulaires, nommées Cdk de phase S, doit d'abord s'activer ; ces protéines sont constituées de deux protéines, une cycline et une sous-unité Cdk.

Normalement, les protéines Cdk de phase S sont inactives, car elles sont liées à des protéines inhibitrices, nommées CKI, produites durant la division cellulaire précédente. Pour activer les Cdk de phase S, une cellule doit se débarrasser de ces protéines inhibitrices en les envoyant vers un protéasome pour qu'elles y soient détruites.

Pour que les protéines inhibitrices soient détruites par un protéasome, elles doivent d'abord être marquées par l'« empreinte » de la condamnation, l'ubiquitine. Ce marquage est étroitement régulé, mais, quand il fonctionne mal, les cellules se divisent de façon incontrôlée, et certains cancers peuvent apparaître.

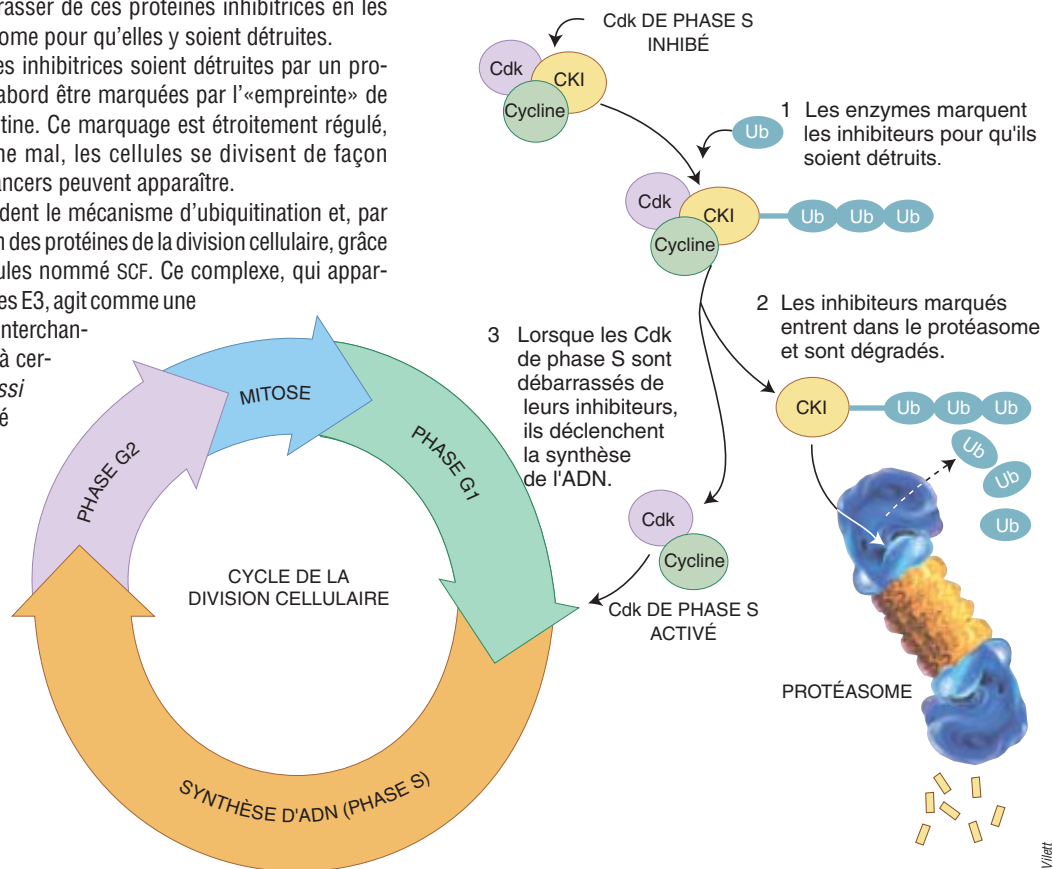
Les cellules commandent le mécanisme d'ubiquitination et, par conséquent, la dégradation des protéines de la division cellulaire, grâce à un complexe de molécules nommé SCF. Ce complexe, qui appartient au groupe des enzymes E3, agit comme une

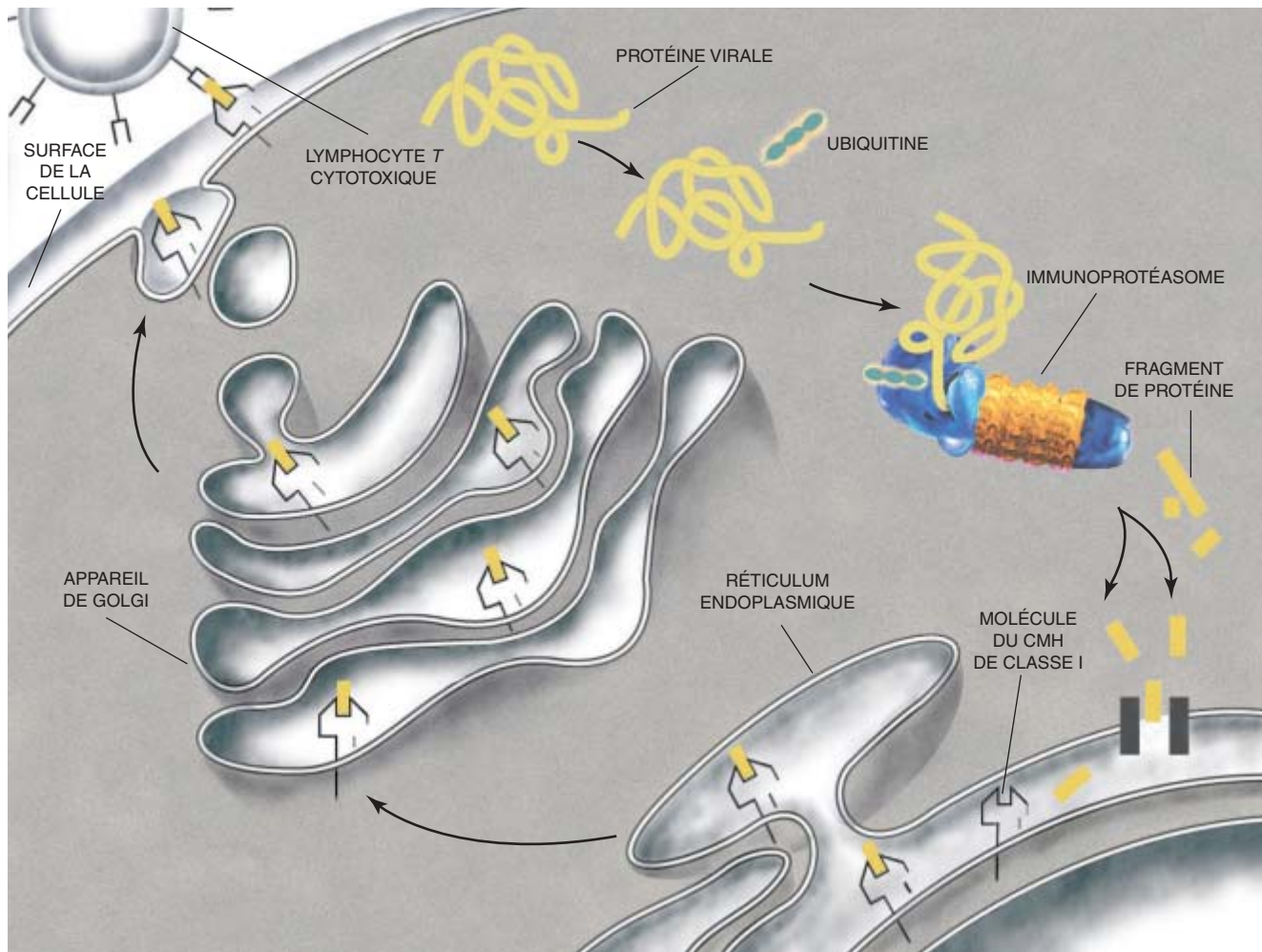
clé à douille dont la tête interchangeable se lie uniquement à certaines protéines (voir aussi la figure 2). On a identifié plus de 217 de ces « têtes interchangeables », les protéines F-box, chez le ver nématode *Caenorhabditis elegans* ; on en compte déjà plusieurs dizaines découvertes dans les cellules humaines, et leur nombre ne cesse d'augmenter.

Le complexe SCF utilise son jeu spécifique de têtes interchangeables pour reconnaître les protéines que le protéasome

doit dégrader. En fait, les cellules choisissent les protéines à dégrader en leur ajoutant un groupe phosphate ; elles peuvent alors se lier aux protéines du complexe SCF, lequel sert également d'intermédiaire pour rapprocher les protéines condamnées des enzymes qui leur colent l'étiquette de mort, l'ubiquitine.

La variété de ses complexes SCF permet à une cellule de contrôler à tout moment le type et la quantité des protéines disponibles. Les protéines régulées par les complexes SCF sont notamment celles qui déclenchent ou arrêtent le cycle de la division cellulaire, et celles qui activent les gènes.





Cleo Viret

3. LE SYSTÈME IMMUNITAIRE est aidé par des protéasomes spécialisés, les immunoprotéasomes, pour distinguer les cellules saines d'avec les cellules cancéreuses ou infectées par un virus. Ici, une protéine virale est marquée à l'ubiquitine pour être détruite par un immunoprotéasome. Les fragments de la protéine virale d'une dizaine d'acides aminés qui sont expulsés de l'immunoprotéasome pénètrent ensuite dans le réticulum endoplasmique, où ils

sont pris en charge par des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe 1. Ces molécules traversent l'appareil de Golgi et parviennent à la surface de la cellule, où elles ont entraîné des fragments de protéine virale. Des cellules immunitaires, les lymphocytes T cytotoxiques, reconnaissent comme étrangers les fragments de virus présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, et tuent la cellule infectée.

surface CD4, porte d'entrée du virus dans les cellules qu'il infecte, mais qui limite la production de nouvelles particules virales. La protéine CD4 est le site d'amarrage du VIH sur ses cibles, les lymphocytes T du système immunitaire. Le contact s'établit entre la protéine CD4 du lymphocyte et la protéine gp120 présente à la surface du virus. Toutefois, l'affinité entre ces protéines est telle que, lorsque le VIH produit des protéines pour former de nouvelles particules virales, les protéines CD4 adhèrent aux protéines gp120 nouvellement synthétisées et les empêchent de s'assembler aux autres protéines virales. Pour éviter cela, le VIH a sélectionné une protéine nommée Vpu, qui accélère l'élimination des protéines CD4 : elle se fixe à la fois à CD4 et à un complexe contenant une enzyme E3, de sorte que les protéines CD4 subissent

une ubiquitination et sont englouties par les protéasomes.

L'importance des protéines E3 dans l'apparition de certaines maladies se confirme tous les jours, et ces enzymes seront sans doute la cible de futurs médicaments. Chaque protéine E3 étant responsable de la destruction de quelques protéines seulement, des inhibiteurs de ces enzymes E3 devraient être très

spécifiques et, par conséquent, quasi dépourvus d'effets secondaires. Comme on a identifié plusieurs grandes familles d'enzymes E3, on devrait bientôt découvrir plusieurs familles de médicaments. À mesure que nous découvrons les secrets des protéasomes et des mécanismes de sélection par l'ubiquitine, nous mesurons combien la vie dépend de la mort des protéines.

Alfred GOLDBERG est professeur de biologie cellulaire à la Faculté de médecine de Harvard. Stephen ELLEDGE est professeur de biochimie à la Faculté de médecine Baylor, où Wade HARPER est professeur de physiologie et de biophysique.

Deanna KOEPP, Wade HARPER et Stephen ELLEDGE, *How the Cyclin Became*

a Cyclin : Regulated Proteolysis in the Cell Cycle, in *Cell*, vol. 97, n° 4, pp. 431-434, 14 mai 1999.

Stu BORMAN, *Intricacies of the Proteasome*, in *Chemical and Engineering News*, vol. 78, n° 2, pp. 43-47, 20 mars 2000.

Alfred GOLDBERG, *Probing the Proteasome Pathway*, in *Nature Biotechnology*, vol. 18, n° 5, pp. 494-496, 18 mai 2000.