

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.

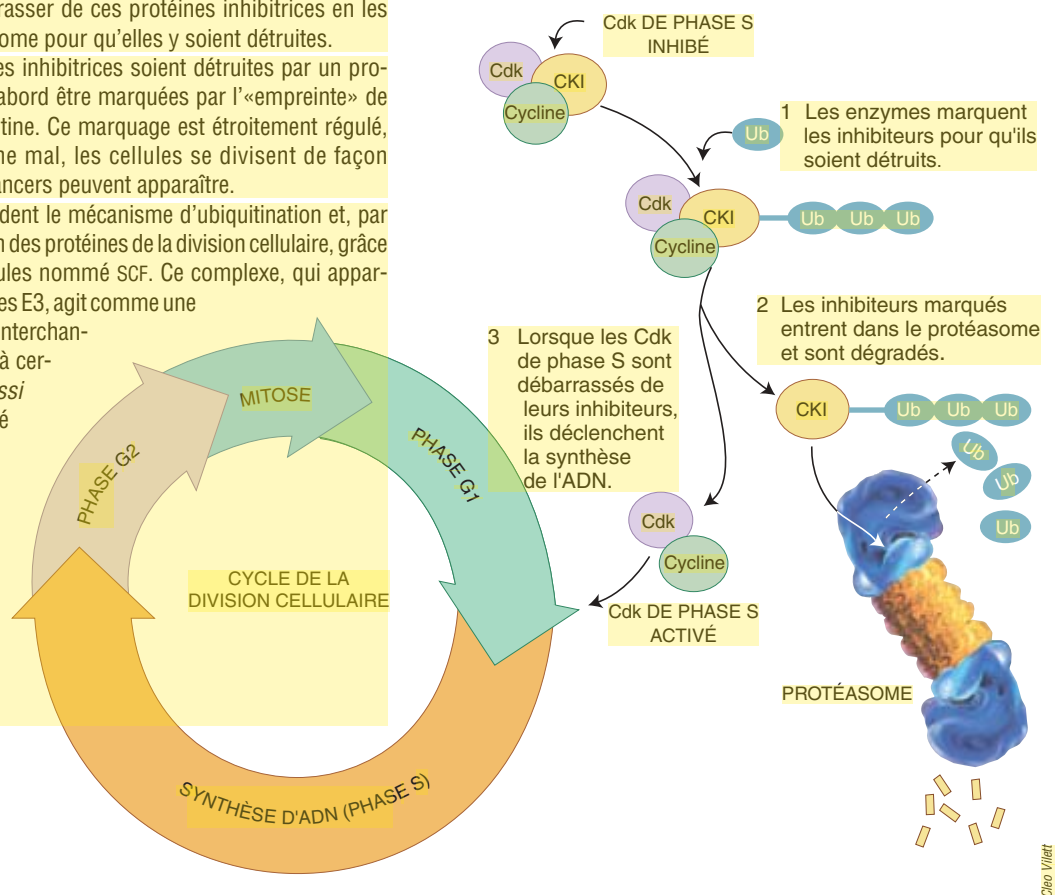
Pour que les protéines inhibitrices soient détruites par un protéasome, elles doivent d'abord être marquées par l'« empreinte » de la condamnation, l'ubiquitine. Ce marquage est étroitement régulé, mais, quand il fonctionne mal, les cellules se divisent de façon incontrôlée, et certains cancers peuvent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

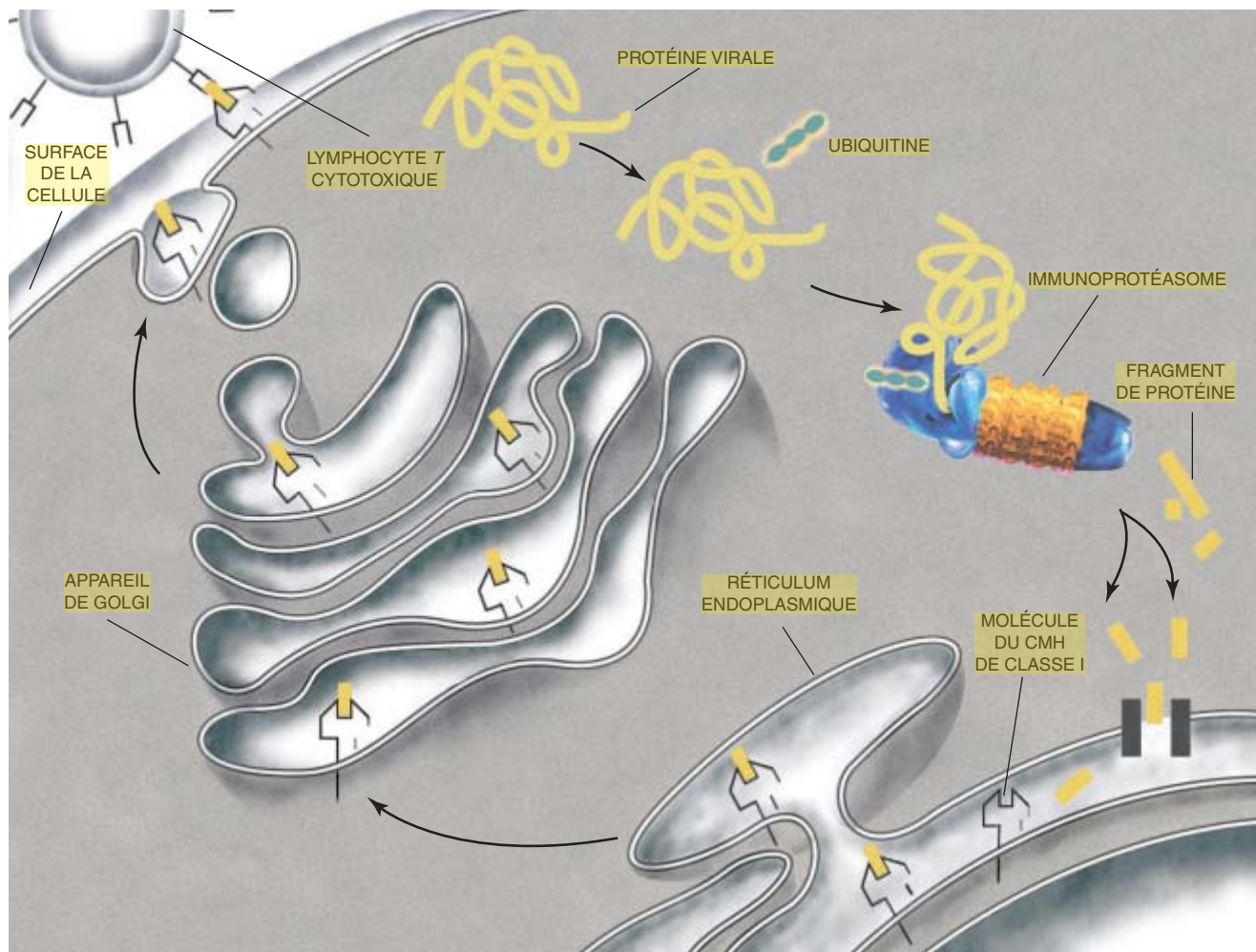
Les cellules commandent le mécanisme d'ubiquitination et, par conséquent, la dégradation des protéines de la division cellulaire, grâce à un complexe de molécules nommé SCF. Ce complexe, qui appartient au groupe des enzymes E3, agit comme une clé à douille dont la tête interchangeable se lie uniquement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

L'effet tunnel et les protéines

MARK JOHNSON • GORDON KEARLEY

Une sonde à effet tunnel explore les interactions au sein des molécules biologiques. Elle devrait révéler les mécanismes de repliement des protéines, qui commandent l'activité de ces molécules.

Un organisme humain est une énorme «machine» : des réactions biochimiques s'y déroulent en continu. Les protéines sont des acteurs essentiels de ces réactions et des mécanismes cellulaires. Ces longues chaînes constituées de milliers d'atomes présentent une étonnante propriété : pour être actives, elles doivent être repliées correctement sinon, leur fonction est perturbée. La forme d'une protéine est imposée par les interactions entre les atomes.

Dans une protéine, les liaisons interatomiques fortes assurent l'«ossature» de la molécule, mais les interactions faibles régissent leur conformation, leur dynamique et, par conséquent, leur activité biologique. Grâce à la croissance incessante de la puissance informatique, on obtient des simulations de telles molécules, mais, à cause de la taille des protéines, les interactions faibles sont difficiles à évaluer.

En outre, à température ambiante, l'agitation thermique est si élevée que la mesure des interactions faibles équivaut à la détermination des forces déployées par une fourmi qui se fraye un chemin parmi une horde d'éléphants. En raison de cette agitation thermique, les atomes oscillent autour de leur position d'équilibre, et cette énergie masque les interactions faibles que nous étudions. Pourtant, nous l'avons souligné, ces forces faibles imposent la forme et la dynamique des protéines. Dans ces conditions, quelle fiabilité pouvons-nous accorder aux simulations des protéines? Pour le savoir, nous avons mis au point une méthode d'évaluation des interactions

faibles. Nous étudions des molécules simples (moins de 30 atomes) à basse température, plus précisément à 4,2 kelvins, la température de l'hélium liquide. À ces températures proches du zéro absolu, l'agitation thermique est presque inexistante. En figeant les éléphants dans leur position, ne paralyse-t-on pas également la fourmi? Non, car, même au zéro absolu, les effets quantiques subsistent et nous nous servons de l'un d'eux, l'effet tunnel des protons – nos fourmis – pour déterminer les interactions faibles.

Des milliards de formes pour une protéine

Les protéines sont composées d'une succession de plusieurs centaines d'acides aminés. Lors d'un repliement, certains de ces acides se rapprochent et créent des «sites actifs», constitués de groupes éloignés sur la molécule dépliée, mais proches dans la conformation biologiquement active. Ces sites actifs sont des lieux d'interaction avec d'autres molécules : ainsi, un antigène agit avec le site actif de son anticorps spécifique, à condition que ce dernier soit dans sa conformation active. Dans le cas contraire, l'interaction n'a pas lieu, l'anticorps ne neutralise pas son antigène, viral par exemple, et une maladie peut survenir. Chaque protéine, selon les séquences d'acides aminés qui la composent, prend une conformation unique et bien définie dans l'espace : les chaînes s'enroulent et forment des boucles, des hélices ou des feuillettes (voir la figure 1). Il existe 20 acides aminés différents, ce qui

confère aux protéines une extraordinaire variété de structures et de formes : le nombre de conformations possibles est gigantesque. Les protéines adoptent les conformations les plus stables, c'est-à-dire celles qui ont les énergies les plus faibles. Or, on ne sait pas calculer avec précision ces énergies, ni prévoir les conformations des protéines : on ignore le plus souvent pourquoi une protéine prend une forme plutôt qu'une autre, tant les interactions sont difficiles à évaluer (voir la figure 2).

Les liaisons intramoléculaires qui soudent les atomes les uns aux autres et assurent la cohésion de l'ossature de la protéine sont de trois types : la liaison covalente, la plus forte de toutes, provient de l'appariement d'électrons périphériques célibataires des atomes ; la liaison ionique, de nature électrostatique, s'établit entre deux atomes portant des charges opposées ; et la liaison hydrogène, de nature électrostatique, établit un pont entre un atome d'hydrogène et un atome électronégatif, d'oxygène ou d'azote par exemple (doté d'un doublet libre).

L'ossature d'une protéine n'est pas immobile, et les atomes bougent les uns par rapport aux autres. Leurs déplacements engendrent d'autres interactions intramoléculaires, plus faibles que les liaisons atomiques. Une liaison covalente, qui a une longueur moyenne stable, s'allonge ou se raccourcit en raison des fluctuations de l'ossature. Elle se comporte comme un ressort, et les atomes subissent une importante force de rappel, nommée interaction d'élongation. Deux liaisons