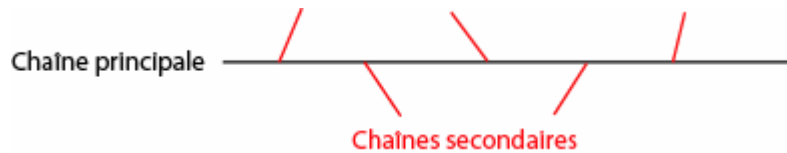


ANNEXE X RAMIFICATION DES PROTÉINES

Les protéines sont toujours synthétisées sous forme linéaire. Toutefois, certaines d'entre elles sont ramifiées, parce qu'une ou de plusieurs chaînes secondaires sont fixées sur la chaîne principale :



Suivant la nature et le nombre de chaînes qu'elles reçoivent, les protéines modifiées sont vouées à la destruction ou acquièrent de nouvelles propriétés. Plusieurs types d'étiquette ont été identifiés. Les mieux connues sont l'ubiquitine, une petite protéine comportant 76 acides aminés, **Sumo⁺** et **NEDD8⁺**.

Il existe plusieurs points communs entre les trois types de marquage, appelés respectivement ubiquitination, sumoylation et neddylation. Les trois protéines modificatrices ont des séquences similaires et sont presque toujours fixées à une lysine de la cible. Mais il y a aussi de nombreuses différences. Ainsi, l'ubiquitine peut être liée à la protéine cible suivant deux modalités : en série ou individuellement. En revanche, Sumo et NEDD8 sont fixées en une seule unité.

La poly-ubiquitination entraîne le plus souvent la destruction des protéines marquées. La destruction concerne principalement les protéines à vie courte. La mono-ubiquitination a des conséquences moins dramatiques, car elle modifie tout au plus leur localisation dans la cellule ou leur activité. La sumoylation et la neddylation contrôlent seulement l'activité des protéines. On trouvera plus loin une liste (très partielle) des protéines cibles et des conséquences des modifications qu'elles subissent (*section E*).

X.A. MÉCANISME DE L'UBIQUITINATION

La fixation de l'ubiquitine sur une protéine cible se fait en trois étapes, catalysées par trois enzymes (*fig. X*). Le premier active l'ubiquitine. Le deuxième, appelé ubiquitine conjugase ou **UBC⁺**, fixe l'ubiquitine sur lui-même. Le troisième, appelé ubiquitine ligase, transfère l'ubiquitine à la protéine cible.

Remarquons cependant que l'ubiquitination est un processus réversible. Il existe des hydrolases qui enlèvent les ubiquitines de leurs cibles et permettent de les recycler.

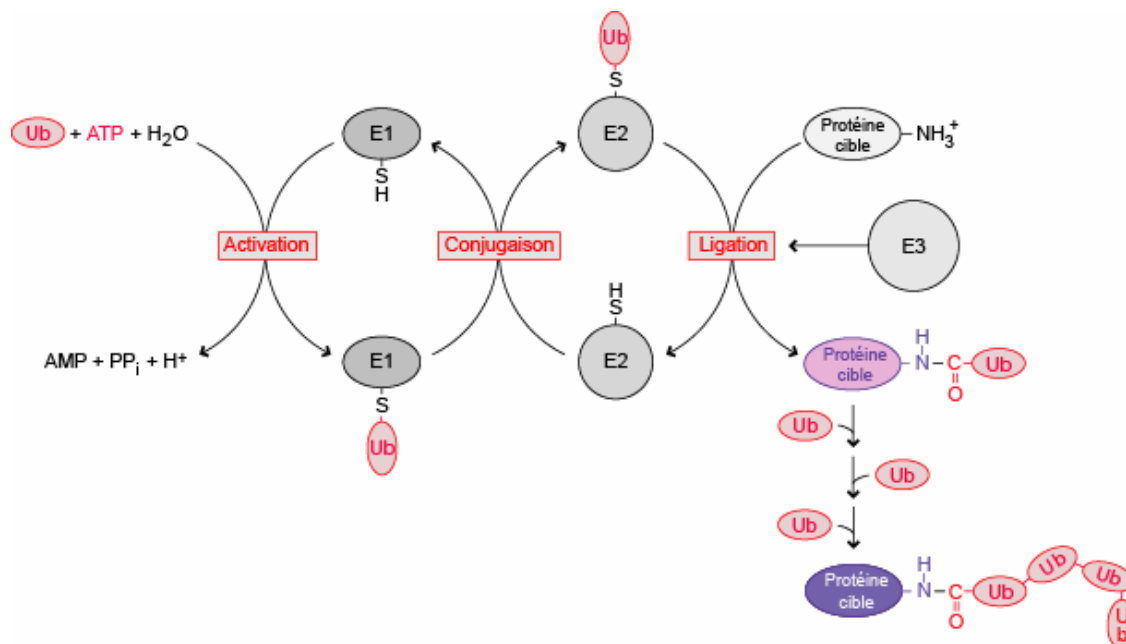


Fig. X. Marquage des protéines par l'ubiquitine.

L'ubiquitine (Ub) est d'abord activée par un enzyme (E1), qui la fixe sur le groupement thiol (-SH) de l'un de ses acides aminés (la cystéine). Cette réaction réclame l'hydrolyse d'une molécule d'ATP en AMP et PP_i . Un deuxième enzyme (E2) prend en charge l'ubiquitine et un troisième (E3) facilite le transfert à la protéine cible, en formant une liaison isopeptidique entre une lysine de la cible et le groupement carboxyle appartenant à la glycine terminale de l'ubiquitine.

D'autres molécules d'ubiquitine peuvent être ajoutées à la protéine cible par une même série de réactions. Elles sont attachées les unes aux autres par une lysine interne. Il peut y avoir des ramifications, car les ubiquitines ont la possibilité de s'attacher les unes aux autres par plusieurs lysines différentes.

Les cellules ne contiennent qu'une seule activase, mais plusieurs conjuguases et de nombreuses ligases (environ 600 chez l'homme). Les ligases ont une structure très variable. Plusieurs d'entre elles, et en particulier les protéines MDM2**, Cop1**, MKRN1** et BRCA1**, possèdent un domaine riche en cystéines, appelé *Ring* (*Really interesting new gene*), qui interagit avec les enzymes de type E2 activés. Certaines ligases ne sont pas à proprement parler des enzymes, mais des adaptateurs, qui se contentent de rapprocher les conjuguases des protéines cibles, parce qu'ils sont capables de se lier à ces deux substrats. Il existe aussi des conjuguases qui peuvent transférer l'ubiquitine qu'elle portent à des protéines cibles sans qu'une ligase intervienne.

X.B. POLY-UBIQUITINATION

Ce sont les ubiquitine ligases qui choisissent les protéines à détruire. Nous nous contenterons d'en citer quelques-unes, qui influencent l'apoptose (Diap1), la prolifération des cellules (MKRN1, SCF**, APC**, MDM2, Cop1, E6-E6AP**), la stabilité des chromosomes (NEDD4-1) et la durée de la vie (RLE1**).

La protéine Diap1 de la drosophile amorce la dégradation de la caspase Dronc, ce qui empêche la cellule de se suicider (*annexe III.B.2 et B.3*). Chez les mammifères, la protéine MKRN1 déclenche la destruction de la télomérase. Elle pourrait donc restreindre la capacité de prolifération des cellules. Les complexes SCF et APC provoquent la destruction des cyclines*, ce qui fait progresser le cycle cellulaire

(*annexe XIII.B*). Au moins cinq protéines ou complexes de protéines entraînent la disparition de P53** et stimulent donc la prolifération des cellules. Mentionnons les protéines MDM2 et Cop1 (*annexe XIV.A, B, D et G*), ainsi que le complexe E6-AP6**. MDM2 peut aussi déclencher la destruction de RB** et s'autodétruire en fixant des ubiquitines sur elle-même. Le complexe E6-E6AP amorce non seulement la dégradation de P53, mais aussi celle de NFX-91**, qui est un répresseur du gène de la télomérase *HTERT***. En agissant sur P53 et NFX-91, le complexe E6-E6AP immortalise les cellules humaines infectées par le papillomavirus de type 16 (*chapitre 2, section 2.5.8*). La protéine NEDD4-1 favorise la destruction de la phosphatase PTEN** et l'empêche de remplir sa fonction, qui consiste à déphosphoryler le lipide PIP3** (*annexe XXII.B*). Enfin, la protéine RLE1 tend à accélérer la sénescence métabolique de *C. elegans* en déclenchant la destruction du facteur Daf16/FoxO** (*chapitre 3, section 3.7.8*).

Les protéines marquées par l'ubiquitine sont détruites par le protéasome*. Le système ubiquitine-protéasome présente deux caractéristiques essentielles, qui le distinguent du mode de dégradation assuré par de simples protéases : il requiert pour fonctionner la fourniture d'énergie sous la forme d'ATP et ne détruit qu'une partie des protéines, variable suivant les cellules et les circonstances.

Le protéasome est une protéase de très grande taille, comprenant une cinquantaine de sous-unités. Il reconnaît les protéines poly-ubiquitinées, les séquestre dans une cavité, les coupe en petits fragments et relargue finalement l'ubiquitine, qui peut servir à nouveau. Ces opérations s'accompagnent de l'hydrolyse de l'ATP en ADP et P_i. Toutefois, le protéasome peut détruire certaines protéines sans qu'elles soient ubiquitinées.

X.C. MONO-UBIQUITINATION

Certaines protéines marquées par l'ubiquitine changent de localisation dans la cellule. C'est par exemple le cas pour la protéine P53, qui se concentre normalement dans le noyau parce qu'elle porte deux signaux d'adressage nucléaire, comportant de courtes séries d'acides aminés basiques (arginine et lysine). Les signaux sont perçus par un système d'importation sélectif, localisé dans les pores de l'enveloppe nucléaire. L'ubiquitination de la protéine P53 par la ligase MDM2 l'autorise à quitter le noyau, vraisemblablement parce que ses deux sites d'adressage nucléaire sont masqués. Curieusement, l'ubiquitination de la protéine PTEN la fait migrer dans le noyau, où elle pourrait contribuer à maintenir l'intégrité des chromosomes, peut-être en stimulant le système de réparation des coupures db** dans l'ADN (*annexe VII.B*).

L'ubiquitination favoriserait également l'internalisation des protéines transmembranaires, et en particulier des récepteurs localisés dans la membrane plasmique. Les récepteurs ubiquitinés seraient reconnus par des protéines adaptatrices, qui facilitent la formation de vésicules à partir de la membrane, entraînant ainsi les récepteurs au sein du cytoplasme.

L'ubiquitination renforce aussi l'efficacité de certains facteurs de transcription. L'ubiquitine, fixée à un domaine d'activation du facteur, est reconnue par une protéine coactivatrice, qui accroît l'affinité de l'ensemble pour l'ADN du promoteur.

X.D. SUMOYLATION

Le marquage des protéines par Sumo ressemble au marquage par l'ubiquitine (*fig. X*). Cependant, il n'existe qu'une seule conjugase pour Sumo, appelée UBC9. Plusieurs ligases ont été identifiées, dont **Pias1⁺**, mais il n'est pas certain qu'elles fonctionnent comme enzymes. Ce seraient plutôt des adaptateurs.

Plus de 150 protéines peuvent être marquées par Sumo. Environ la moitié d'entre elles sont des facteurs ou des cofacteurs de transcription, comme P53 et P300** (*annexe XIV.B*). Les protéines MDM2, DRP1 et Sirt1 peuvent aussi être sumoylées. Le marquage a des conséquences diverses. En ce qui concerne les facteurs de transcription, il renforce le plus souvent leur activité, mais a quelquefois l'effet inverse. Il peut aussi provoquer un changement de localisation des protéines dans la cellule, et notamment les conduire à s'associer avec les pores nucléaires ou avec la membrane mitochondriale, comme c'est le cas pour DRP1 (*annexe III.A.1*). La sumoylation joue également un rôle au cours de la mitose. Elle semble indispensable à la séparation des centromères et à leur attachement aux fibres du fuseau mitotique.

La sumoylation a pour la protéine P53 des conséquences incertaines, qui font l'objet d'une controverse entre différents groupes de chercheurs. Celle de l'ubiquitine ligase MDM2 l'empêche de fixer des ubiquitines sur elle-même, ce qui évite qu'elle s'autodétruisse. La sumoylation des protéines DRP1 et Sirt1 tend à favoriser l'apoptose (*annexe III.C.3* et *chapitre 3, section 3.9.7*).

X.E. NEDDYLATION

La neddylation concerne un nombre assez restreint de protéines. Elle se fait par le même mécanisme que le marquage par l'ubiquitine (*fig. X*). La modification a un effet inhibiteur sur les protéines P53 et MDM2. Ces deux modifications ont des effets contradictoires : la protéine P53 devient moins active en tant que facteur de transcription, mais plus stable, parce que la ligase MDM2 déclenche moins efficacement sa destruction.

X.F. SYSTÈMES DÉRIVÉS

Les protéines Sumo et NEDD8 ne sont pas les seules à pouvoir être fixées à d'autres protéines. Les protéines ATG8 et ATG12 en sont deux autres. Toutes deux contribuent à l'exécution de l'autophagie (*annexe IV.C*). Dans ce système, des enzymes de type E1 et E2 fixent l'étiquette ATG12 sur un substrat de nature protéique, et l'étiquette ATG8 sur un lipide membranaire.

X.G. RÉCAPITULATION

Il ressort clairement des observations résumées ci-dessus que l'ubiquitination remplit des fonctions plus variées que tous les autres types d'étiquetage (*tabl. X*). Cette diversité se manifeste par l'existence de nombreux types d'ubiquitine ligases.

Tabl. X. Modifications introduites par l'ubiquitine et d'autres protéines de fonction similaire

Protéine modificatrice	Ligase(s)	Protéine modifiée	Processus modifié	Conséquence au niveau cellulaire
Ubiquitine (poly-ubiquitination)	Diap1	Dronc	Protéolyse ↗	Apoptose ↘
	MKRN1	Téломérase	Protéolyse ↗	Prolifération ↘
	SCF et APC	Cyclines	Protéolyse ↗	Prolifération ↗
	MDM2, Cop1 et E6-E6AP	P53	Protéolyse ↗	Prolifération ↗
	MDM2	RB	Protéolyse ↗	Prolifération ↗
	MDM2	MDM2	Protéolyse ↗	Prolifération ↗
	E6-E6AP	NFX-91	Protéolyse ↗	Prolifération ↗
	NEDD4-1	PTEN	Protéolyse ↗	Prolifération ↗
	RLE1	Daf16/FoxO	Protéolyse ↗	Sénescence ↗
Ubiquitine (mono-ubiquitination)	MDM2	P53	Sortie du noyau ↗	Prolifération ↗
	NEDD4-1	PTEN	Entrée dans le noyau ↗	Stabilité des chromosomes ↗
Sumo	-	P53	?	?
	-	MDM2	Stabilité ↗	Prolifération ↗
	-	DRP1	Fragmentation des mitochondries ↗	Apoptose ↗
	-	Sirt1	Activité ↗	Apoptose ↗
NEDD8	-	P53	Activité ↘	Prolifération ↗
	-	MDM2	Catalyse ↘	Prolifération ↘

SIGNIFICATION DES SIGLES ET ACRONYMES

***NEDD8**. *Neural precursor cell-Expressed, Developmentally Down-regulated protein 8*.

***Sumo**. *Small ubiquitin-related modifier*.

***Pias1**. *Protein inhibitor of activated Stat 1*.

***UBC**. *Ubiquitin Conjugating enzyme*.

BIBLIOGRAPHIE

Baker SJ. PTEN enters the nuclear age. *Cell* 2007; **128**: 25-8.

Baumeister W, Waltz J, Zühl F, Seemüller E. The proteasome: paradigm of a self-compartmentalizing protease. *Cell* 1998; **92**: 367-80.

Benrroudj N. Le protéasome, une machinerie cellulaire qui dégrade les protéines. *Med Sci* 2005; **21**: 115-6.

Gill G. SUMO and ubiquitin in the nucleus: different functions, similar mechanisms? *Genes Dev* 2004; **18**: 2046-59

Lee MH, Lee SW, Lee EJ, Choi SJ *et al*. SUMO-specific protease SUSP4 positively regulates p53 by promoting Mdm2 self-ubiquitination. *Nature Cell Biol* 2006; **8**: 1424-31.

Marx J. SUMO wrestles its way to prominence in the cell. *Science* 2005; **307**: 836-9.

Mukhopadhyay D, Riezman H. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signalling. *Science* 2007; **315**: 201-5.

Sorkin A. Ubiquitination without E3. *Mol Cell* 2007; **26**: 771-3.

Tyers M, Jorgensen P. Proteolysis and the cell cycle: with this RING do thee destroy. *Curr Opin Genet Dev* 2000; **10**: 54-64.