

ANNEXE XVI STRUCTURE, SYNTHÈSE ET ACTIVITÉ DE LA PROTÉINE P53

Les chercheurs qui découvrirent la protéine P53 en 1979 ne pouvaient pas prévoir qu'il en existe de nombreuses formes, ce qui complique les mécanismes contrôlés par ce régulateur central de la prolifération et de la survie des cellules, tout au moins chez les vertébrés. Ils ne pouvaient pas imaginer non plus que la protéine P53 influence une multitude de processus cellulaires.

Divers mécanismes permettent de produire de multiples variétés de la protéine P53 à partir d'un seul gène. La concentration intracellulaire de P53 est également soumise à une régulation complexe. La protéine contrôle non seulement la prolifération cellulaire et l'apoptose, mais aussi l'autophagie, le métabolisme et la recombinaison.

XVI.A. STRUCTURE DE LA PROTÉINE

La protéine P53 humaine comporte plusieurs domaines, qui ont été définis en déterminant quelle fonction est affectée par les mutations qui modifient la structure de la protéine (*fig. XVI.A*).

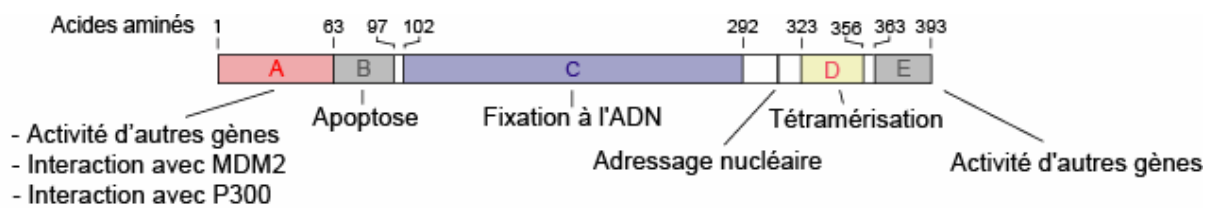


Fig. XVI.A. Domaines de la protéine P53.

La protéine contient 393 acides aminés, répartis en cinq domaines principaux. Les domaines **A** et **E** modulent l'activité transcriptionnelle de plusieurs gènes cibles, le premier ayant un effet stimulateur, tandis que le second a plutôt un effet inhibiteur. Le domaine de transactivation (**A**) sert également de site de fixation pour les protéines MDM2 et P300. Le domaine **B** gouverne l'apoptose. Le domaine **C** permet à la protéine de se lier à l'ADN des gènes dont il gouverne la transcription. Le domaine **D** est indispensable à la formation de tétramères, elle-même indispensable à l'activité de la protéine. Deux petits domaines d'adressage nucléaires permettent à la protéine de migrer dans le noyau, où elle remplit sa fonction en tant que facteur de transcription.

XVI.B. STRUCTURE DU GÈNE P53

Le gène *P53* (souvent appelé *TRP53*) est morcelé, comme presque tous les gènes humains. Il possède trois promoteurs (P1, P1' et P2). Les deux premiers se trouvent à proximité ou à l'intérieur de l'exon 1, et le troisième dans l'intron 4 (*fig. XVI.B*).

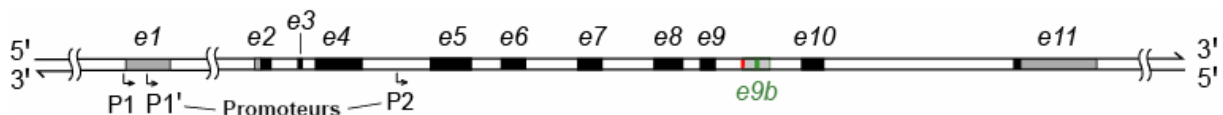


Fig. XVI.B. Organisation interne du gène P53.

Le gène est situé sur le bras court du chromosome 17 et couvre environ 20 kb. Il comporte trois promoteurs, 10 introns et 11 exons qui contiennent tous, à l'exception du premier, une phase ouverte de lecture, spécifiant les acides aminés de la protéine. La phase ouverte est représentée par des rectangles foncés. Les rectangles clairs correspondent à la séquence qui ne sera pas traduite en protéine. L'intron 9 contient un exon facultatif (*e9b*), qui renferme deux petites phases ouvertes.

XVI.C. TRANSCRIPTION DIFFÉRENTIELLE

La transcription peut démarrer à partir de l'un des trois promoteurs. Si les promoteurs P1 ou P1' sont utilisés, l'ARN messager réunit tous les exons que contient le gène (sauf l'exon E9b). Si c'est le promoteur P2 qui est employé, l'ARN réunit seulement les exons 5 à 11. Dans le premier cas, la protéine comporte 393 acides aminés. Dans le second, elle n'en comporte que 260 (*fig. XVI.C*).

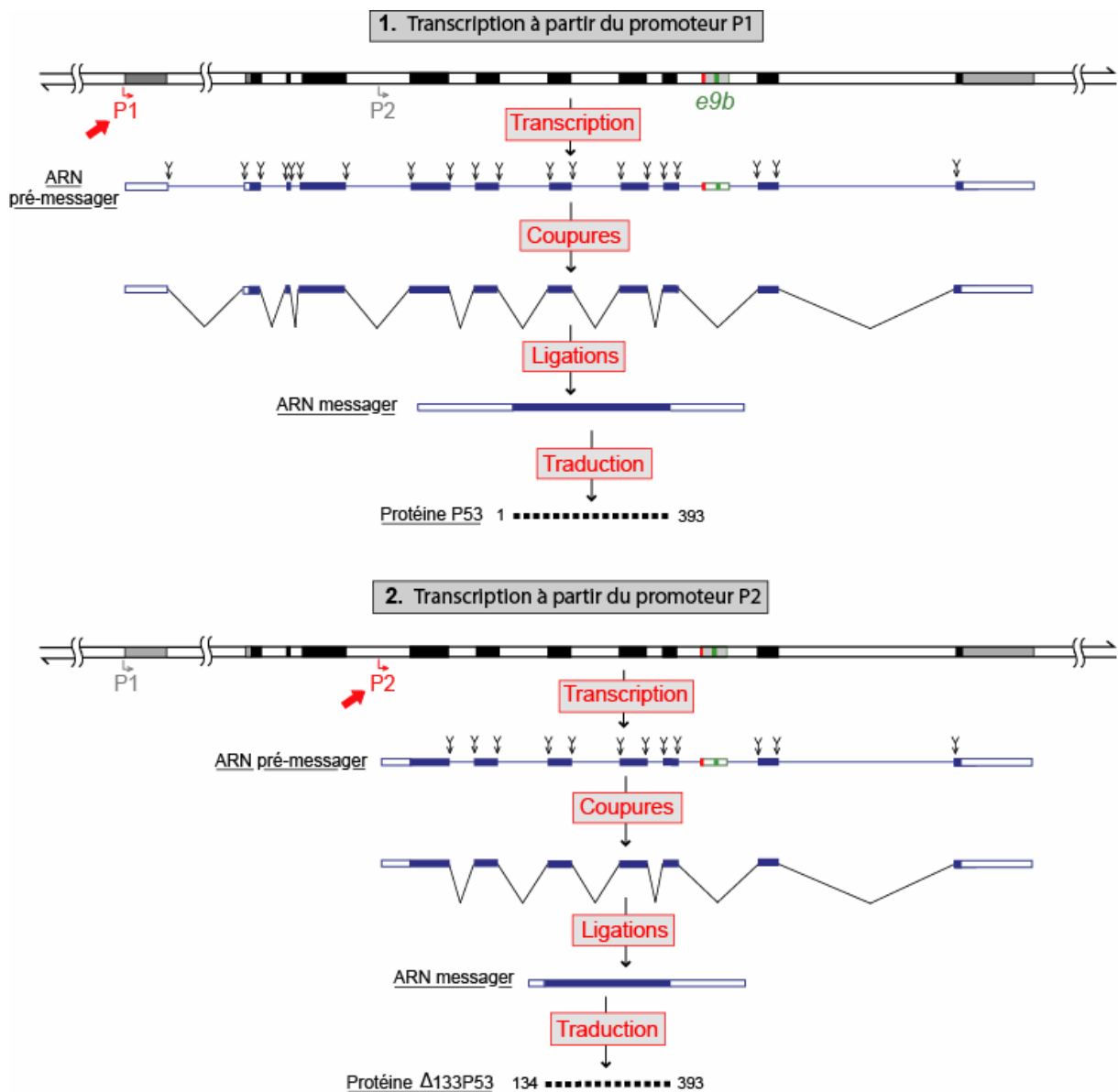


Fig. XVI.C. Transcription du gène P53.

1. Si c'est le promoteur P1 ou P1' qui amorce la transcription, l'ARN messager p53 réunit les exons 1 à 11 et la version complète de la protéine est synthétisée.
2. Si c'est le promoteur P2 qui fonctionne, les exons 1 à 4 sont éliminés et une version de la protéine amputée de ses 133 acides aminés initiaux ($\Delta 133$ P53) est synthétisée.

L'ARN est représenté par des rectangles pleins ou vides. Les rectangles pleins délimitent la phase ouverte de lecture. Les rectangles vides représentent les régions non traduites.

XVI.D. ÉPISSAGE DIFFÉRENTIEL

Plusieurs modes d'épissage produisent des ARN messagers plus courts que la version complète. Le mode α élimine l'exon facultatif *e9b* (fig. XVI.C). Le mode β inclut la totalité de cet exon dans l'ARN messenger. Le mode γ n'en inclut qu'une partie (fig. XVI.D.2). L'exon *e9b* complet comporte une phase de lecture de 30 bases, qui ajoute 10 unités aux 331 acides aminés initiaux de la protéine, spécifiés par les exons 4 à 8. L'exon tronqué possède une phase ouverte de 45 bases, qui ajoute 15 unités aux 331 acides aminés initiaux. Les deux séquences ajoutées n'ont rien de commun.

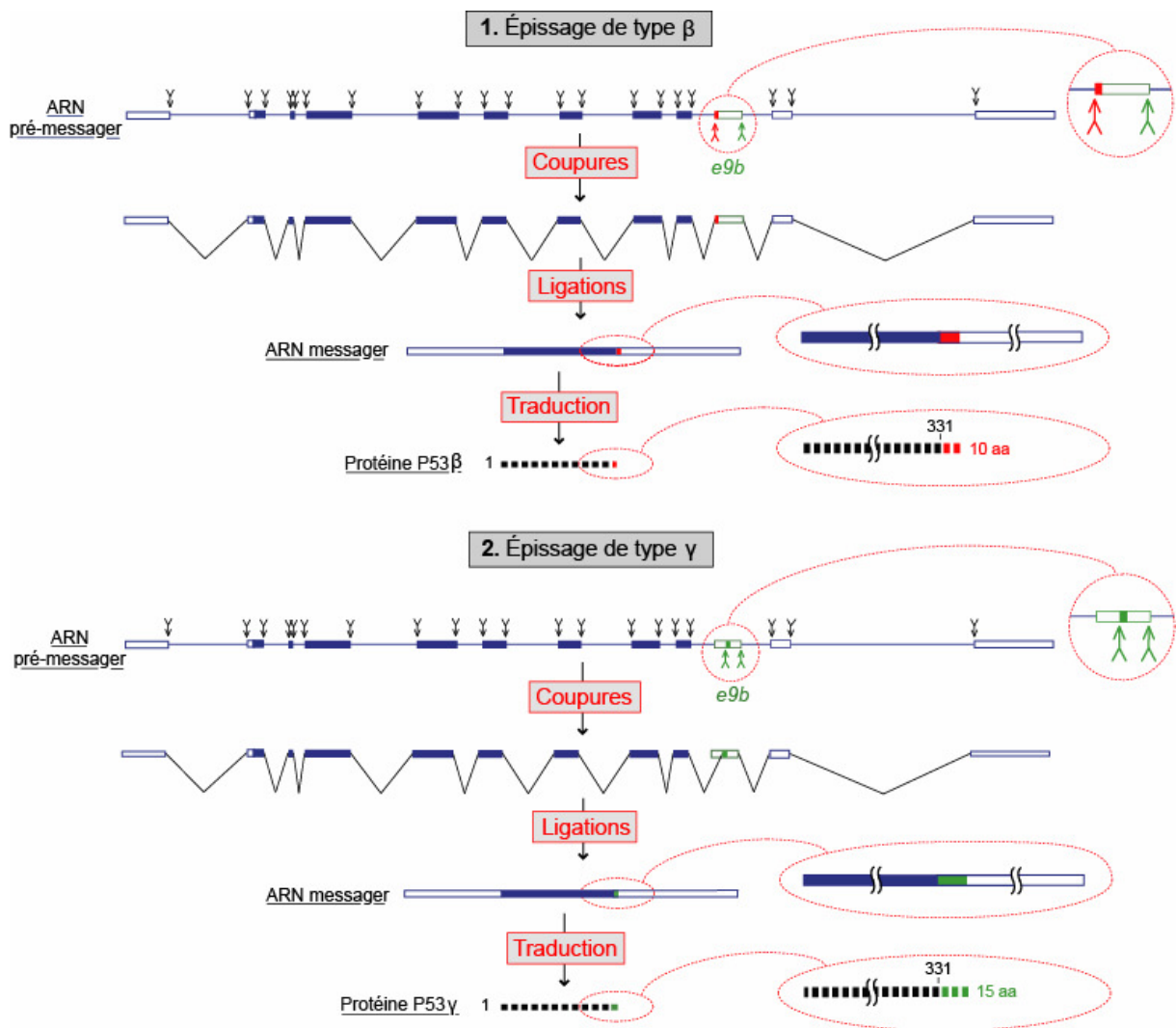


Fig. XVI.D. Deux modes d'épissage différentiel de l'ARN pré-messager p53.

L'exon facultatif *e9b* peut être inclus en entier ou en partie dans l'ARN messenger. Les deux modes d'épissage raccourcissent la phase ouverte de lecture de l'ARN messenger, parce qu'elles font apparaître dans l'exon *e9b* un codon STOP qui arrête prématurément la traduction.

1. L'épissage de type β crée une forme raccourcie de la protéine, appelée P53 β . Cette variété comporte 341 acides aminés, dont les 331 premiers sont les mêmes que ceux de la protéine complète, tandis que les 10 derniers sont différents.
2. L'épissage de type γ crée une version un peu plus longue de la protéine, appelée P53 γ . Cette variété comporte 346 acides aminés (331 + 15).

XVI.E. TRADUCTION DIFFÉRENTIELLE

La traduction de l'ARN messenger « normal » (*fig. XVI.C.1*) peut débiter au niveau de deux codons d'amorçage différents (AUG), ce qui crée deux versions de la protéine incluant ou excluant les 40 acides aminés initiaux (*fig. XVI.E*).

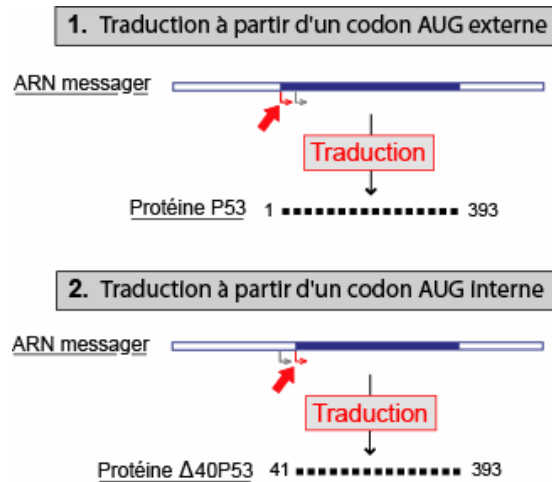


Fig. XVI.E. Traduction de l'ARN messenger P53.

La phase ouverte de lecture de l'ARN messenger comporte deux signaux d'amorçage différents.

1. Si le premier signal est utilisé par l'appareil de traduction, une forme complète de la protéine est synthétisée.
2. Si le second signal est utilisé, une version incomplète apparaît. Elle est appelée $\Delta 40P53$ ou P44, à cause de son poids moléculaire plus faible.

XVI.F. FORMES PRINCIPALES DE LA PROTÉINE

Par le jeu des différentes modalités de transcription, d'épissage et de traduction détaillées plus haut, c'est au total neuf versions de l'ARN messenger et de la protéine P53 que les cellules peuvent synthétiser (*fig. XVI.F*). Ce chiffre sous-estime la réalité, car il ne tient pas compte de toutes les formes d'épissage différentiel qui ont été mises en évidence. Les neuf versions de l'ARN messenger décrites ici ont été détectées, mais en quantités variables d'un type cellulaire et d'un type de tumeur à l'autre, ce qui montre qu'il existe une régulation fine au niveau de la transcription et de l'épissage de l'ARN pré-messenger. D'une manière générale, la forme complète de la protéine est plus abondante que n'importe quelle autre.

La forme $\Delta 133P53$ (2) de la protéine est dépourvue du domaine de transactivation (A) et du domaine pro-apoptotique (B). De fait, le gène $\Delta 133P53$ se comporte comme un dominant négatif par rapport à *P53* en ce qui concerne l'apoptose. En d'autres termes, les cellules humaines ne peuvent plus se suicider après avoir été transformées* par un gène *P53* amputé de ses quatre exons initiaux.

La forme $\Delta 40P53$ (3) est privée partiellement du domaine de transactivation et de liaison à d'autres protéines. De ce fait, elle échappe à l'action destructrice de MDM2, si bien qu'elle est plus stable que la version complète, car le site d'interaction de P53 avec MDM2 couvre les acides aminés

n° 18 à 26. Quand elle s'associe à la protéine P53 « normale », la forme $\Delta 40P53$ (P44**) renforce l'activité du complexe en tant que facteur de transcription. Par ailleurs, la forme P44 ne peut pas activer le gène *P21*, mais peut toujours activer *MDM2* et *BAX*.

La forme P53 β (5) ne possède pas de domaine de tétramérisation (D). Elle stimule malgré tout la transcription, mais pas de la même manière que la protéine complète. Son influence a été étudiée sur trois cibles importantes de P53 : les gènes *BAX*** (*annexe III.C.2, C4* et *C7*), *MDM2*** et *P21*** (*annexe XIV.B*). La forme P53 β a une affinité plus forte pour les promoteurs de *BAX* et de *P21* que pour celui de *MDM2*. En revanche, la protéine complète (1) préfère les promoteurs de *P21* et de *MDM2*.

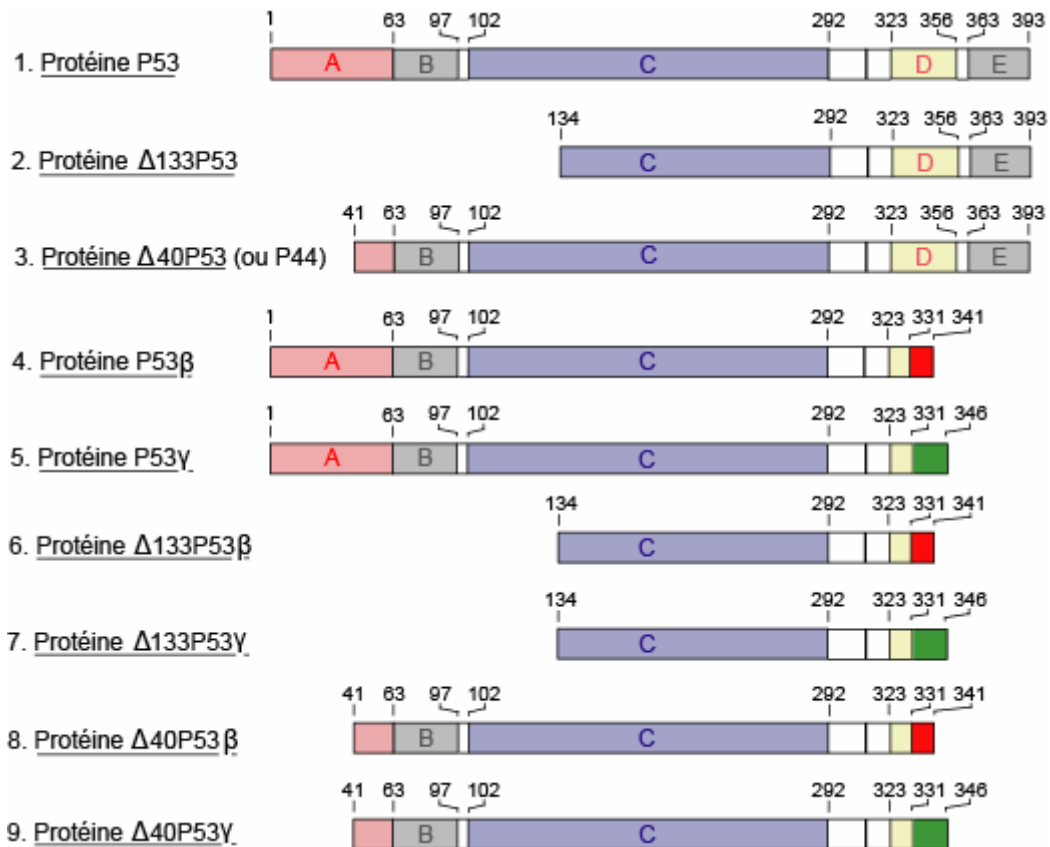


Fig. XVI.F. Structure des neuf formes principales de la protéine P53.

Les formes 2, 3, 6, 7, 8 et 9 de la protéine ne possèdent pas de domaine de transactivation A). Les versions 2, 6 et 7 ont un domaine de liaison à l'ADN (C) raccourci. Les versions 4 à 9 sont dépourvues de domaine de tétramérisation (D) et de répression (E).

Le processus de synthèse n'est pas le seul qui influence les propriétés de la protéine P53, car le gène *p53* est polymorphe. Chez l'homme, on a décrit plus de 10 variants alléliques du gène. L'attention s'est surtout portée sur le polymorphisme au niveau du codon qui spécifie l'acide aminé n°72 de la protéine. Cet acide aminé se trouve dans une zone du domaine B (*fig. XVI.A*) comprise entre le premier et le deuxième d'une série de cinq motifs PXXP (proline – acide aminé quelconque – acide aminé quelconque - proline). Suivant les individus, le codon n°72 commande l'insertion d'une proline ou d'une arginine (R). La fréquence des deux allèles varie d'après l'origine ethnique des individus : l'allèle 72P est plus rare dans les populations vivant à des latitudes élevées que dans celles qui vivent près de

l'équateur. Dans les populations dites caucasiennes, sa fréquence est environ deux fois moindre que celle de l'allèle 72R. Il existe donc trois génotypes en ce qui concerne le codon n° 72 : $p53^{72P/P}$, $p53^{72R/R}$ et $p53^{72P/R}$.

XVI.G. MODIFICATIONS PRINCIPALES DE LA PROTÉINE

L'activité et la concentration intracellulaire des diverses formes de P53 dépendent de modifications imposées après leur synthèse dans deux domaines principaux (A et E), situés aux extrémités de la molécule. La plupart des modifications ont pour effet d'accroître l'activité de la protéine ou sa durée de vie. Les plus importantes consistent à fixer des groupements phosphoryle sur le domaine A et des groupements acétyle ou des chaînes d'ubiquitine sur le domaine E. Certaines modifications peuvent servir de signal pour imposer d'autres remaniements. Par exemple, la phosphorylation du domaine A renforce l'acétylation, mais inhibe l'ubiquitination du domaine E (*fig. XVI.G*).

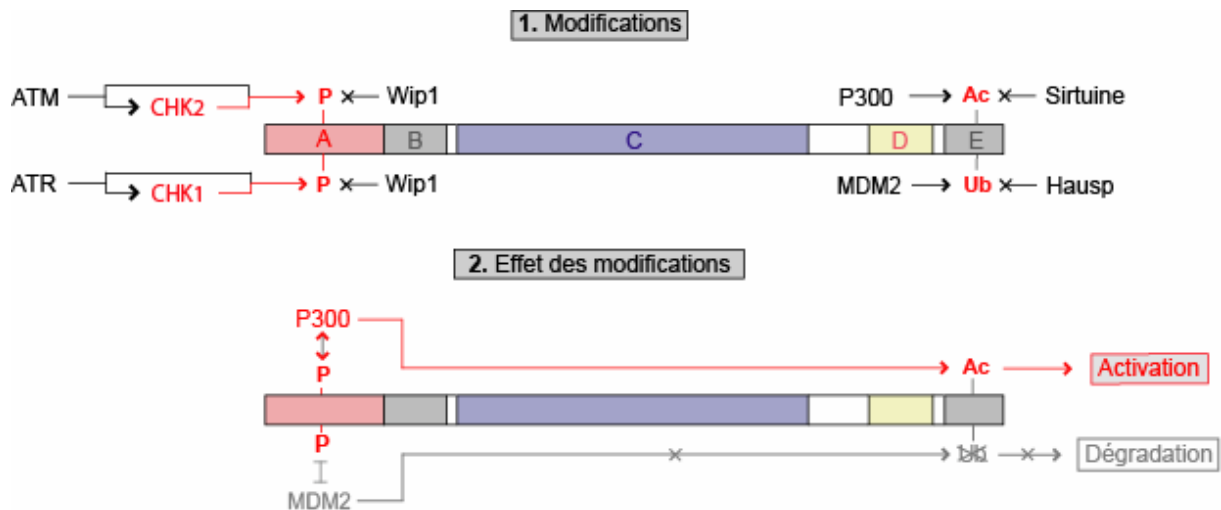


Fig. XVI.G. Modifications des domaines A et E de la protéine P53.

1. Diverses kinases telles que ATM, CHK2, ATR et CHK1 fixent des groupements phosphoryle (P) sur le domaine A. Diverses acétylases, telles que P300 et diverses ubiquitine ligases, telles que MDM2, fixent des groupements acétyle (Ac) ou des ubiquitines (Ub) sur le domaine E. D'autres enzymes (Wip1, sirtuine, Hausp) se chargent d'enlever ces ajouts.

2. Les effets des modifications sont contrastés. La phosphorylation du domaine A favorise la fixation de l'acétylase P300, mais inhibe celle de la coprotéase MDM2. Ces interactions se répercutent à l'autre extrémité de la molécule, qui reçoit davantage de groupements acétyle, ce qui renforce son activité, et reçoit moins d'ubiquitines, ce qui ralentit sa dégradation.

La phosphorylation du domaine A est imposée par de nombreuses kinases (ATM**, ATR**, CDK1**, CHK1⁺, CHK2⁺, DNA-PK**, P38**, etc.). Cette modification a plusieurs effets : (1) elle accroît l'efficacité de P53 en tant que facteur de transcription, en augmentant son affinité pour les promoteurs pilotant les gènes dont les produits, tels que Bax** ou P21 contrôlent respectivement l'apoptose (*annexe III.C.2 et C4*) et la rotation du cycle cellulaire (*annexe XIV.B*) ; (2) elle stabilise la protéine en la mettant à l'abri de l'action destructrice de l'ubiquitine ligase MDM2 ; (3) elle l'empêche de quitter le noyau.

Au moins trois enzymes catalysent l'acétylation de P53 : les protéines P300**, PCAF⁺ et Tip60⁺. L'acétylase P300 a comme cibles plusieurs lysines appartenant au domaine E. L'acétylation de la lysine n° 373 favorise le déclenchement de l'apoptose. Le facteur PCAF modifie la lysine n° 320, localisée

entre les domaines C et D. L'acétylase Tip60 a comme cible la lysine n° 120, située dans le domaine C. Ces deux modifications inciteraient la protéine P53 à déclencher l'apoptose, plutôt qu'à arrêter les divisions (*section L*).

MDM2 n'est pas la seule ubiquitine ligase qui agisse sur P53. Les ligases Cop1** et E6-E6AP** peuvent également le faire (*annexe X.B* et *F*). Ces modifications ont généralement un effet destructeur, parce qu'elle font de la protéine P53 une proie pour le protéasome*. Toutefois, MDM2 peut aussi contraindre P53 à quitter le noyau si elle ne fixe sur elle qu'une seule ubiquitine (*annexe X.C*).

Certaines modifications imposées à P53 sont réversibles et annulées par d'autres enzymes. Diverses phosphatases, telles que Wip1 (*annexe XIV.D*) enlèvent les groupements phosphoryle. La sirtuine*, qui contrôle la sénescence et l'apoptose (*chapitre 3, section 3.9.5*), éliminent les groupements acétyle. La protéase Hausp⁺ enlève les ubiquitines.

XVI.H. AUTRES MODIFICATIONS DE LA PROTÉINE

Différents domaines de la protéine peuvent être modifiés par fixation de groupements méthyle, ainsi que d'unités Sumo ou NEDD8.

La méthylation du domaine E est catalysée plusieurs enzymes, dont Smyd2⁺ et Set9⁺. Ces deux méthylases modifient des acides aminés très proches (n° 370 et 372). La modification de la lysine n° 372 par la méthylase Set9 a au moins trois effets : **(1)** elle stimule l'activité de P53 en tant que facteur de transcription, notamment vis-à-vis des gènes *mdm2* et *p21* ; **(2)** elle la stabilise la protéine ; **(3)** elle la confine dans le noyau. La modification de la lysine n° 370 par la méthylase Smyd2 a une action antagoniste par rapport à Set9 : elle réduit l'activité transcriptionnelle de P53. Mais un second groupement méthyle peut être fixé sur la lysine n° 370 par un enzyme non identifié. Cette modification augmente l'affinité de P53 pour le cofacteur 53BP1**, ce qui renforce son activité.

La ligase Pias1 favorise la fixation d'un groupement Sumo sur le domaine E de P53. Cette modification a des effets incertains sur les propriétés de la cible (*annexe X.D*). Le domaine E peut aussi recevoir des chaînes de NEDD8, greffées par la ligase MDM2. Cette modification réduit l'activité de la protéine en tant que facteur de transcription (*annexe X.E*).

XVI.I. INTÉGRATION DU SYSTÈME DE MODIFICATION

Les diverses modifications que peut subir la protéine P53 (*tabl. XVI.A*) affectent différentes versions de la molécule, de sorte que le nombre de variétés possibles de celle-ci pourrait atteindre ou même dépasser la centaine. Cependant, rien ne dit que toutes ces variétés ont des propriétés distinctes. La situation se complique encore du fait que les acides aminés modifiables ne sont pas confinés aux domaines terminaux de P53 et qu'un même acide aminé peut recevoir deux, trois ou même quatre groupements distincts.

Tabl. XVI.A. Liste (non exhaustive) des modifications que peut subir la protéine P53 humaine

Acides aminés modifiables	Position dans la séquence	Domaine(s) modifié(s)	Enzyme(s) modificateur(s)	Nature de la modification	Conséquence(s) de la modification
Sérine Sérines	15 15, 37	A A	ATM ATR	Phosphorylation	Activité ↗ Stabilité ↗
Sérine Thréonines	33, 46, 371, 376, 378; 392 18, 91	A et E A et B	Diverses kinases		
Sérine	20	A	CHK1, CHK2		
Lysines	370*, 372*, 373*, 381*, 382* 320 120	E - C	P300 PCAF Tip60	Acétylation	Activité ↗
Lysines	370*, 372*, 373*, 381*, 382*, 386*	E	MDM2, Cop1, E6-AP	Ubiquitination	Stabilité ↘ Localisation
Lysines	370*	E	Smyd2	Méthylation	Activité ↗
	372*	E	Set9	Méthylation	Activité ↗ Stabilité ↗ Localisation
Lysine	386*	E	Pias1	Sumoylation	?
Lysines	370*, 372*, 373*	E	MDM2	Neddylation	Activité ↘

* Acides aminés pouvant être modifiés de plusieurs manières.

Les enzymes modificateurs sont eux-mêmes soumis à des régulations de diverses natures. Ainsi, le suppresseur de tumeur PTEN**, surtout connu pour sa propriété de phosphatase, contribue à maintenir l'acétylation de la protéine P53 par la protéine P300** :



Mais le facteur YY1⁺ inhibe l'interaction entre ces deux protéines, en formant un complexe avec elles, ce qui réduit l'acétylation, donc l'activité de P53. Ce facteur favorise également l'interaction entre l'ubiquitine ligase MDM2 et la protéine P53, ce qui entraîne la destruction de celle-ci par le protéasome. De son côté, MDM2 ne se contente pas de fixer des ubiquitines sur P53. Elle empêche aussi P300 de l'acétyle :



La protéine PTEN est donc un régulateur positif de P53, tandis que YY1 et MDM2 sont des régulateurs négatifs.

Un autre suppresseur de tumeur (Arf**) bloque l'action de MDM2, qui ne peut donc plus s'opposer à l'activation de P53 par l'acétylase P300, ni déclencher sa dégradation (*annexe XIV.G*). Il est donc un régulateur positif de P53 :



Pour compliquer encore un peu plus les choses, la ligase MDM2 peut fixer sur elle-même des chaînes d'ubiquitine, de Sumo et de NEDD8 (*annexe X.D et G*). Ces modifications ont des effets opposés. L'ubiquitination a un effet destructeur. La sumoylation a un effet stabilisateur, car les chaînes de Sumo doivent être enlevées pour que l'ubiquitination puisse avoir lieu. Enfin, la neddylation réduit l'aptitude de MDM2 à inhiber P53 en greffant sur elle des chaînes d'ubiquitine.

XVI.J. CONTRÔLE DE LA PRODUCTION DE LA PROTÉINE

Les animaux, et en particulier les mammifères, doivent maintenir à un niveau adéquat la quantité de protéine P53 que contiennent leurs cellules. Si la protéine est trop abondante, ils risquent de vieillir prématurément. Si elle ne l'est pas assez, ils risquent de développer de nombreux cancers. Il faut donc maintenir un équilibre délicat entre la vitesse de synthèse et la vitesse de destruction de la protéine.

La synthèse de P53 est contrôlée au niveau de la transcription et de la traduction. Par exemple les facteurs de croissance inhibent l'activité du gène *p53* (*annexe XXII.H et K*). Par contre, le stress génotoxique ou oxydatif stimule la traduction de l'ARN messager P53. L'un des mécanismes régulateurs passe par la protéine L26, qui est un élément constitutif de la grande sous-unité des ribosomes. Les radiations ionisantes (X, γ) modifient par un mécanisme encore inconnu les propriétés de cette protéine. Celle-ci favorise la traduction en se liant à la région 5'-terminale de l'ARN messager, qui précède la phase ouverte de lecture (*fig. XVI.E*). Mais d'autres protéines inhibent la traduction en se liant aussi à l'ARN messager.

Plusieurs protéines se chargent de déclencher la dégradation de P53. Les principales sont MDM2 et Cop1** (*tabl. XVI.A*). Le complexe E6-E6AP**, dont un élément est spécifié par le virus du papillome E6, a le même pouvoir, ce qui contribue à immortaliser les cellules infectées par ce virus.

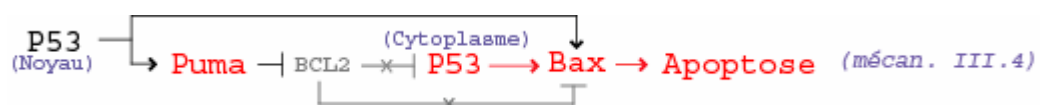
XVI.K. RÔLE DE LA PROTÉINE DANS LE DÉCLENCHEMENT DE L'APOPTOSE

La protéine P53 remplit sa fonction de surveillante générale du génome parce qu'elle empêche les cellules de se diviser lorsque les circonstances l'exigent, par exemple parce que leurs télomères sont en mauvais état, ou qu'un proto-oncogène a été transformé en oncogène, accident qui pourrait déclencher une prolifération incontrôlée et la formation de tumeurs. Lorsque l'état des cellules devient trop mauvais, la protéine P53 les oblige à se suicider.

La double implication de P53 n'est pas un phénomène général. Les protéines P53 de *C. elegans* et de la drosophile sont apparemment incapables de bloquer le cycle cellulaire. Elles interviennent seulement dans l'apoptose. Celle de *C. elegans* a un rôle très restreint, puisqu'elle n'agit que dans les cellules germinales. En fait, il semble que la protéine P53 assume chez les nématodes et les arthropodes la fonction que remplit P63** chez les vertébrés.

Chez les mammifères, la protéine P53 déclenche l'apoptose de différentes façons. Dans le noyau, elle stimule l'activité de toute une série de gènes pro-apoptotiques, dont *bax***, *puma*, *apaf1* et *nox* ([annexe III.C.2](#)).

La protéine Bax joue un rôle essentiel dans le déclenchement de l'apoptose, parce qu'elle peut rendre perméable la membrane externe des mitochondries, qui laisse alors fuir dans le cytoplasme divers facteurs pro-apoptotiques ([annexe III.C.4](#)). Mais la protéine P53 ne se contente pas de stimuler la synthèse de Bax en agissant sur la transcription. Dans le cytoplasme, elle accroît son activité par un mécanisme complexe où interviennent la protéine Puma et le facteur antiapoptotique BCL2**, qui est un inhibiteur de Bax et de P53. En l'absence de Puma, BCL2 inhibe le facteur Bax directement et indirectement, en formant avec P53 un complexe qui l'empêche d'agir sur lui. La protéine Puma synthétisée grâce à l'action de P53 disloque ce complexe en se liant elle-même à BCL2. Devenue libre, la protéine P53 active directement Bax, ce qui déclenche l'apoptose :



XVI.L. COMMUTATION ENTRE EFFETS CYTOSTATIQUE ET PRO-APOPTOTIQUE

Il reste à établir quels facteurs orientent la décision de P53 de contraindre la cellule à suspendre ses divisions ou à se suicider. Les causes de la commutation n'est pas encore clairement établies et font encore l'objet de controverses. De nombreuses pistes sont suivies, dont quelques-unes sont esquissées ci-après.

Suivant certains auteurs, la protéine activerait plus facilement les gènes dont les produits bloquent le cycle cellulaire que ceux dont les produits déclenchent l'apoptose. Par conséquent, P53 tendrait à arrêter la prolifération des cellules lorsqu'elle est présente en petite quantité, mais favoriserait l'apoptose quand elle est plus abondante. L'affinité différentielle pour les promoteurs des gènes cibles dépendrait à son tour des modifications imposées à P53 par différents enzymes (*sections G, H et I*). À cet égard, la phosphorylation et l'acétylation jouent un rôle important. Ainsi, la modification de la lysine

n° 46 par la Map kinase P38** incite les cellules à recourir à l'apoptose, du fait qu'elle accroît la propension de la protéine P53 à stimuler la transcription de gènes pro-apoptotiques, tels que *puma* et *noxa* (*annexe III.C.2*). La modification de la lysine n° 120 par l'acétylase Tip60 fait de même en ce qui concerne les gènes *bax*** et *puma*.

Les protéines ASPP**, qui sont activées notamment par les dommages infligés à l'ADN, renforcent le pouvoir pro-apoptotique de P53, mais réduisent ses propriétés cytotostatiques. Elles agissent en aidant P53 à reconnaître les promoteurs de gènes gouvernant l'apoptose, tels que *bax*, mais ne modifient pas son affinité pour les promoteurs des gènes *p21* et *mdm2*.

Les oncoprotéines* Ras et Myc aident aussi la protéine P53 à choisir le sort qu'elle fait subir aux cellules. La première de ces protéines accroît le pouvoir cytotatique de P53, parce qu'elle stimule la synthèse du suppresseur de tumeur Arf (*annexe XIV.G*). Elle empêche le déclenchement de l'apoptose en ouvrant la voie PKB/Akt**, dont la kinase terminale inhibe en les phosphorylant le facteur pro-apoptotique Bad et la caspase 9 (*annexe III.C.4* et *III.C.5*) :



De son côté, l'oncoprotéine Myc empêche P53 d'activer le gène *p21*, si bien que le sort des cellules est orienté vers l'apoptose plutôt que vers la survie dans un état non prolifératif :



Il convient de noter que la protéine P53 n'est pas la seule qui puisse orienter vers la survie ou la mort la destinée des cellules soumises à diverses formes de stress. Sans passer par P53, la Map kinase JNK agit sur les mitochondries et les force à libérer divers facteurs pro-apoptotiques.

XVI.M. RÔLE DE LA PROTÉINE DANS LE L'EXÉCUTION DE L'AUTOPHAGIE

La protéine P53 ne se contente pas de contrôler les divisions cellulaires, et l'apoptose. Elle peut aussi promouvoir l'autophagie (*annexe IV*).

La protéine P53 déclenche directement l'autophagie en activant le gène de la protéine *Dram*⁺, qui est localisée dans la membrane des lysosomes et pourrait favoriser leur fusion avec les autophagosomes, une étape indispensable à l'exécution de l'autophagie :



De fait, la mise hors service du gène *dram* grâce à l'interférence par l'ARN inhibe l'accrétion des autophagosomes et empêche la protéine P53 de promouvoir l'autophagie.

La protéine P53 peut aussi induire l'autophagie de manière plus indirecte. Elle inhibe la synthèse du récepteur de l'IGF1, ce qui tend à fermer la voie de transduction PKB/Akt, dont la kinase terminale

(PKB) ne peut plus activer le facteur Tor (*annexe XXII.E et K*), donc inhiber l'autophagie (*annexe IV.D*) :



XVI.N. INFLUENCE DE LA PROTÉINE SUR LE MÉTABOLISME

La protéine P53 inhibe le développement des tumeurs, non seulement parce qu'elle freine les divisions et déclenche l'apoptose, mais aussi parce qu'elle influence le métabolisme énergétique des cellules. On sait depuis les travaux de Warburg dans la première moitié du XX^e siècle que, par rapport aux cellules normales, le métabolisme des cellules cancéreuses est orienté vers la glycolyse plutôt que vers la respiration*, si bien qu'elles résistent mieux à l'anoxie (*annexe XXI.B et D*). Normalement, la protéine P53 incite les cellules à recourir à la respiration. Elle ralentit la dégradation du glucose en stimulant l'activité du gène *tigar*⁺, dont le produit bloque la glycolyse en inhibant un enzyme clé de cette voie métabolique. Par ailleurs, P53 stimule la respiration en activant le gène *sco2*⁺, dont le produit participe à l'assemblage de la cytochrome oxydase, élément clé de la chaîne respiratoire :

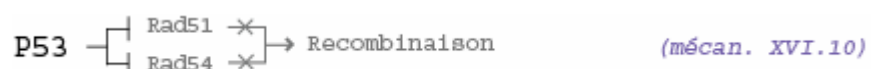


De fait, les cellules dont les deux allèles du gène ont été invalidés (*p53*^{-/-}) synthétisent moins de protéine Sco2 et consomment moins d'oxygène, ce qui traduit un ralentissement de la respiration. Le même ralentissement s'observe chez les souris hétérozygotes *sco2*^{+/-}. Malgré ce handicap, les souris *p53*^{-/-} ont un aspect, un poids et un comportement normaux. Toutefois, elles font preuve d'une résistance plus faible à l'effort, parce que leurs cellules ont une capacité respiratoire diminuée.

En inhibant la glycolyse, la protéine P53 favorise la dégradation du glucose par la voie des pentose-phosphates, ce qui accroît la production de NADPH (*annexe XXI.E*), et par voie de conséquence, la concentration intracellulaire de glutathion réduit, utilisé par les cellules pour éliminer les radicaux* oxydants par la glutathion peroxydase* (*chapitre 3, section 3.3.2*). De la sorte, la protéine P53 pourrait contribuer à protéger l'ADN contre les agressions de ces radicaux.

XVI.O. INFLUENCE DE LA PROTÉINE SUR LA RECOMBINAISON

La protéine P53 a d'autres cordes à son arc. Elle est capable d'inhiber les recombinaisons homologues, ce qui réduit les risques de remaniements chromosomiques, souvent préjudiciables, et de raccourcissement soudain des télomères (*annexe XIV.I et chapitre 2, sections 2.4.6 et 2.4.13*). La protéine agit sans moduler la transcription, mais en se liant aux protéines Rad51** et Rad54, qui facilitent deux étapes importantes du processus : l'invasion d'une molécule d'ADN db par une molécule sb et la migration de branches (*annexe VI.A*) :



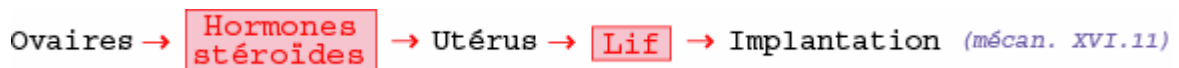
Les régions de la protéine P53 qui interagissent avec Rad51 et Rad54 ont été localisées. Elles résident en bordure du domaine **C** en ce qui concerne Rad51 et dans le domaine **E** en ce qui concerne

Rad54 (*annexe XVI.A*). La protéine peut aussi se lier aux intermédiaires de la recombinaison, et notamment aux boucles de déplacement (D), ainsi qu'aux jonctions de Holliday.

XVI.P. INFLUENCE DE LA PROTÉINE SUR LA REPRODUCTION

Les femelles normales de souris ont des portées d'environ sept jeunes, tandis que les femelles $p53^{-/-}$ ont des portées deux à quatre fois plus faibles. La baisse de fécondité n'est pas due à une production insuffisante d'ovules, mais à des problèmes d'implantation des blastocystes* dans l'utérus.

L'implantation dépend indirectement des ovaires, qui sécrètent des hormones stéroïdes (œstrogène E2, progestérone P4) incitant les cellules glandulaires de l'endomètre à sécréter à leur tour une cytokine (variété de facteur de croissance*), appelée Lif⁺. Celle-ci est une protéine de 180 acides aminés appartenant à la même famille que l'hormone de croissance (GH**). Le facteur Lif se lie à un récepteur localisé à la surface de l'épithélium utérin. Le récepteur activé incite les cellules épithéliales à se multiplier et à se différencier de telle manière que l'embryon puisse pénétrer dans l'endomètre :



Il se fait que l'activité du gène *lif* est stimulée par la protéine P53. Celle-ci agirait en formant un complexe avec le récepteur de l'œstrogène E2 localisé dans les cellules endométriales. On comprend dès lors pourquoi les femelles $p53^{-/-}$ souffrent d'une baisse de fertilité.

À cet égard, il est intéressant de noter que des défauts récurrents d'implantation ont été observés chez les femmes dont le gène *P53* porte un codon proline plutôt qu'un codon arginine en position 73 (*section F*). L'allèle *73P* du gène spécifierait une variété de protéine P53 moins efficace que l'allèle *73R* (*chapitre 2, section 2.10.3*).

XVI.Q. RÉCAPITULATION DES FONCTIONS EXERCÉES PAR LA PROTÉINE

Étant donné le nombre de mécanismes cellulaires que contrôle la protéine P53 (*tabl. XVI.B*), il est étonnant que sa mise hors service chez la souris par mutagenèse dirigée n'ait aucune conséquence sur le développement embryonnaire (*chapitre 2, section 2.7.6*). Cette manipulation accroît surtout le risque pour les animaux de développer des cancers. Rappelons aussi qu'elle pourrait ralentir la sénescence des animaux, s'ils ne mourraient pas prématurément, victimes des cancers que l'absence de la protéine P53 ne manque pas de provoquer.

Tabl. XVI.B. Processus contrôlés par la protéine P53

Mode d'activation de la protéine P53	Éléments régulateurs	Exemples de cibles de la protéine P53	Processus inhibés ou activés
Stress génotoxique ou oxydatif	Kinases ATM, P38 et ATR Acétylase P300	Gènes <i>p21</i> et <i>14-3-3</i>	Mitoses ↘
	Acétylase P38	Gènes <i>puma</i> et <i>noxa</i>	Apoptose ↗
	Acétylase Tip60	Gènes <i>bax</i> et <i>puma</i>	
	Co-facteur de transcription ASPP	Gène <i>bax</i>	
Acquisition d'un oncogène	Facteur d'échange Ras	Gènes <i>p21</i> et <i>14-3-3</i>	Mitoses ↘
	Co-facteur de transcription Myc	Gènes <i>bax</i> , <i>puma</i> et <i>noxa</i>	Apoptose ↗
Indéterminé	-	Gène <i>dram</i>	Autophagie ↗
	-	Gène <i>tigar</i>	Glycolyse ↘
	-	Gène <i>sco2</i>	Respiration ↗
	-	Protéines Rad51 et Rad54	Recombinaison ↘
	-	Facteur LIF	Fécondité des femelles ↘

SIGNIFICATION DES SIGLES ET ACRONYMES

+CHK1 et **CHK2**. Check Point Kinases 1 and 2.

+Dram. Damage regulated autophagy modulator.

+Hausp. Herpes-virus-associated ubiquitin-specific protease.

+Lif. Leukaemia inhibiting factor.

+PCAF. P300 and CBP Associated Factor.

+sco2. synthesis of cytochrome oxidase factor 2.

+Set9. Suppressor of variegation, enhancer of zeste and trithorax protein 9.

+Smyd2. Set and mynd2 domain protein.

+Tigar. TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator.

+Tip60. Tat interactive protein, 60 kDa.

***YY1**. Yin Yang 1.

BIBLIOGRAPHIE

- Aylon Y, Oren M. Living with p53, dying of p53. *Cell* 2007; **130**: 597-600/
- Bensaad, K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MNC *et al.* TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell* 2006; **126**: 106-20.
- Bourdon J-C, Fernandes K, Murray-Zmijewski, Lui G *et al.* p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity. *Genes Dev* 2005; **19**: 2122-37/
- Chuikov S, Kurash JK, Wilson JR, Xiao B *et al.* Regulation of p53 activity through lysine methylation. *Nature* 2004; **432**: 353-60.
- Dornan D, Wertz, I, Shimizu H, Arnott D *et al.* The ubiquitin ligase COP1 is a critical regulator of p53. *Nature* 2004; **429**: 86-92.
- Green DR, Chipuk JE. p53 metabolism: inside the TIGAR. *Cell* 2006; **126**: 30-2.
- Grönroos E, Terentiev AA, Punga T, Ericsson J. YY1 inhibits the activation of the p53 tumor suppressor in response to genotoxic stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 12165-70.
- Hu W, Feng Z, Teresky AK, Levine AJ. P53 regulates maternal reproduction through LIF. *Nature* 2007; **450**: 721-4.
- Huang J, Perez-Burgos L, Placek BJ, Sengupta R *et al.* Repression of p53 activity by Smyd2-mediated methylation. *Nature* 2006; **444**: 629-32.
- Huang J, Sengupta R, Espejo AB, Lee MG *et al.* P53 is regulated by the lysine demethylase LSD1. *Nature* 2007; **449**: 105-8.
- Lamb P, Crawford L. Characterization of the human P53 gene. *Mol Cell Biol* 1986; **6**: 1379-85.
- Leblanc V, May P. Activation et modifications post-traductionnelles de p53 après dommage de l'ADN. *Med Sci* 2002; **18**: 577-84.
- Li AG, Piluso LG, Cai X, Wei A *et al.* Mechanistic insights into maintenance of high acetylation by PTEN. *Mol Cell* 2006; **23**: 55-87
- Matoba S, Kang J-G, Patino WD, Wragg A *et al.* p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* 2006; **312**: 1650-3.
- Saintigny Y, Bertrand P, Lopez BS. Rôle direct de p53 dans la recombinaison homologue. *Med Sci* 2005; **21**: 43-8
- Sykes SM, Mellert HS, Holbert MA, Li R *et al.* Acetylation of the p53 DNA-binding domain regulates apoptosis induction. *Mol Cell* 2006; **24**: 841-51.
- Tagaki M, Absalon MJ, McLure KG, Kastan MB. Regulation of p53 translation and induction after DNA damage by ribosomal protein L26 and nucleolin. *Cell* 2005; **123**: 49-63.
- Xirodimas DP, Saville MK, Bourdon J-C, Hay RT, Lane DP. Mdm2-mediated NEDD8 conjugation of p53 inhibits its transcriptional activity. *Cell* 2004; **118**: 83-97.
- Yin Y, Luciani MG, Fähræus R. p53 stability and activity is regulated by Mdm2-mediated induction of alternative p53 translation products. *Nature Cell Biol* 2002; **4**: 462-7.