

## ***Le catabolisme protéique intracellulaire : une fonction biologique majeure. Partie I : les mécanismes de dégradation\****

La dégradation des protéines est une fonction intracellulaire majeure. En premier lieu, elle assure le « ménage cellulaire » et permet ainsi la survie des cellules en empêchant l'accumulation de peptides toxiques. Elle est aussi impliquée dans le maintien de l'homéostasie cellulaire, la genèse des peptides antigéniques dans le cadre de la réponse immunitaire, la régulation d'étapes clés du développement embryonnaire et du cycle cellulaire. Les bases biologiques et biochimiques du catabolisme protéique sont encore peu ou mal connues. Quelques réponses fragmentaires ont été apportées concernant le nombre de voies cataboliques opérant dans une cellule, le nombre de ces voies agissant sur une même protéine, le(s) site(s) de dégradation des protéines évoluant dans différents compartiments cellulaires, les motifs reconnus par les systèmes protéolytiques et la régulation du processus de dégradation.

**Serge Carillo  
Magali Pariat  
Isabelle Jariel-Encontre  
Ann-Muriel Steff  
Marc Piechaczyk**

### ADRESSE

S. Carillo : docteur en pharmacie, contractuel Biovenir MESR/Rhône-Poulenc-Rorer. M. Pariat, A.-M. Steff : boursières MRF. I. Jariel-Encontre : chargée de recherche au Cnrs. M. Piechaczyk : directeur de recherche au Cnrs. Institut de génétique moléculaire/UMR 9942 Cnrs, route de Mende, BP 5051, 34033 Montpellier Cedex 01, France.

\* La partie II de cet article paraîtra dans le prochain numéro de m/s (n° 6, vol. 11, juin 1995).

**A** l'opposé de l'ADN, qui est stable du point de vue métabolique, les ARN et les protéines sont renouvelés de façon permanente dans la cellule. Si de nombreux travaux concernent la synthèse de ces deux derniers polymères, beaucoup moins sont consacrés à leur dégradation. Cependant, comme nous le verrons plus loin, celle-ci est, d'un point de vue biologique, tout aussi importante. Deux grandes catégories de protéolyse peuvent être distinguées : la protéolyse limitée et le catabolisme protéique. La première a en général pour but la maturation ou l'activation de précurseurs enzymatiques, hormo-

naux ou viraux. Elle ne sera pas traitée ici, non plus que les dégradations extracellulaires. En revanche, nous focaliserons notre attention sur le catabolisme protéique qui vise à éliminer les protéines en les réduisant en acides aminés.

Dans la première partie de cet article, présentée ici, nous décrirons les principales fonctions du catabolisme protéique. Puis, nous aborderons ses mécanismes intimes et sa compartimentation intracellulaire. Dans la seconde partie\*, nous envisagerons différents exemples physiologiques nécessitant la destruction rapide, efficace et réglée de protéines. Nous dresserons en outre un tableau global

## RÉFÉRENCES

1. Doherty FJ, Mayer RJ. Intracellular protein degradation. In: Rickwood D, ed. Oxford: IRL Press, 1992.
2. Gottesman S, Maurizi MR. Regulation by proteolysis: energy-dependent proteases and their targets. *Microbiol Rev* 1992; 56: 592-621.
3. Nadal-Ginard B. Regulation of lactate dehydrogenase levels in the mouse. *J Biol Chem* 1978; 253: 170-7.
4. Reed SI. The role of p34 kinases in the G1 to S phase transition. *Annu Rev Genet* 1992; 8: 529-62.
5. Roux P, Blanchard JM, Fernandez A, Lamb N, Jeanteur P, Piechaczyk M. Nuclear localization of c-Fos, but not v-Fos proteins, is controlled by extracellular signals. *Cell* 1990; 63: 341-51.
6. Klausner RD, Sitia R. Protein degradation in the endoplasmic reticulum. *Cell* 1990; 62: 611-21.
7. Holtzman E. *Lysosomes*. New York: Plenum Press, 1989.
8. Meresse S, Bauer U, Ludwig T, Mauxion F, Schmidt A, Hoflack B. Bases moléculaires du transport vers les lysosomes. *médecine/sciences* 1993; 9: 148-56.
9. Dice JF. Peptide sequences that target cytosolic proteins for lysosomal proteolysis. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 305-9.
10. Chiang HL, Dice JF. Peptide sequences that target proteins for enhanced degradation during serum withdrawal. *J Biol Chem* 1988; 263: 6797-805.
11. Chiang HL, Terlecky SR, Plant CP, Dice JF. A role for a 70 Kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science* 1989; 246: 382-5.
12. Melloni E, Pontremoli S. The calpains. *Trends Neurol Sci* 1989; 12: 438-44.

Tableau I  
DEMI-VIE DE DIFFÉRENTES PROTÉINES

Protéines	Localisation principale	Demi-vie (heures)
<b>Protéines de maintenance</b>		
Acétyl CoA carboxylase	cytosol	48
Arginase	cytosol	96
Alanine aminotransférase	mitochondrie	18
Catalase	peroxysome	60
Cytochrome P450	réticulum endoplasmique	50
Histone	noyau	> 100
Hémoglobine	cytosol	> 100
<b>Protéines de régulation</b>		
Ornithine D carboxylase	cytosol	< 0,5
Fructose 1,6-diphosphatase	cytosol	0,5
Hydroxyméthyl-glutaryl-CoA réductase	réticulum endoplasmique	2
c-Myc	noyau	< 0,5
c-Fos	noyau	< 0,5
p53	noyau	< 1
Fuji tarazu	noyau	< 0,1

de la genèse des peptides antigéniques. En raison du caractère fragmentaire et parfois conflictuel de la littérature, nous insisterons, autant que faire se peut, sur l'incertitude et la part spéculative de nos connaissances. Pour plus d'information, le lecteur sera préférentiellement renvoyé à des revues exhaustives sauf pour les articles originaux les plus récents. Pour ce qui est des concepts généraux du domaine, les synthèses de Doherty et Mayer [1] et Gottesman et Maurizi [2] constituent d'excellentes premières lectures.

## Les fonctions de la dégradation protéique intracellulaire

Il est important de souligner en guise de préambule qu'aucune protéine intracellulaire n'échappe à la dégradation. Il existe, cependant, une grande disparité quant à la sensibilité des unes et des autres vis-à-vis des systèmes protéolytiques\*. La durée de vie d'une protéine est, en effet, liée à sa fonction, sa localisation intracellulaire, son état de modification post-traductionnelle, ainsi qu'aux conditions (*stress*, carence nutritionnelle, stimulation hormonale, état de différenciation....) auxquelles sont soumis les cellules et les organismes.

La plupart des protéines, du fait de leur implication dans l'architecture et la maintenance cellulaires, sont en fait relativement stables et présentent une demi-vie de quelques heures à quelques dizaines d'heures. D'autres, plus rares, comme les histones associées à l'ADN, sont même extrêmement stables puisqu'elles persistent au travers des générations cellulaires avec une demi-vie de plusieurs centaines d'heures ou sont particulièrement instables avec une demi-vie de l'ordre de quelques dizaines de minutes ou de l'heure (*voir Tableau I*). Ces dernières sont, pour l'essentiel, impliquées dans des processus de régulation. La connaissance de leur catabolisme est donc importante pour la compréhension de la biologie des cellules et des organismes.

Les fonctions de la dégradation protéique intracellulaire sont multiples

\* On a coutume de distinguer plusieurs classes de protéases. Les protéinases sont les endoprotéases responsables de la dégradation des grosses protéines. Ce sont souvent des complexes supramoléculaires que l'on distingue des simples protéases ou peptidases qui clivent les peptides et dont la structure est en général simple. La frontière entre ces deux catégories est floue. Les protéases qui dégradent les protéines à partir de leurs extrémités sont les exopeptidases. Il existe des carboxypeptidases et des aminopeptidases définies par leur spécificité d'attaque C- ou N-terminale.

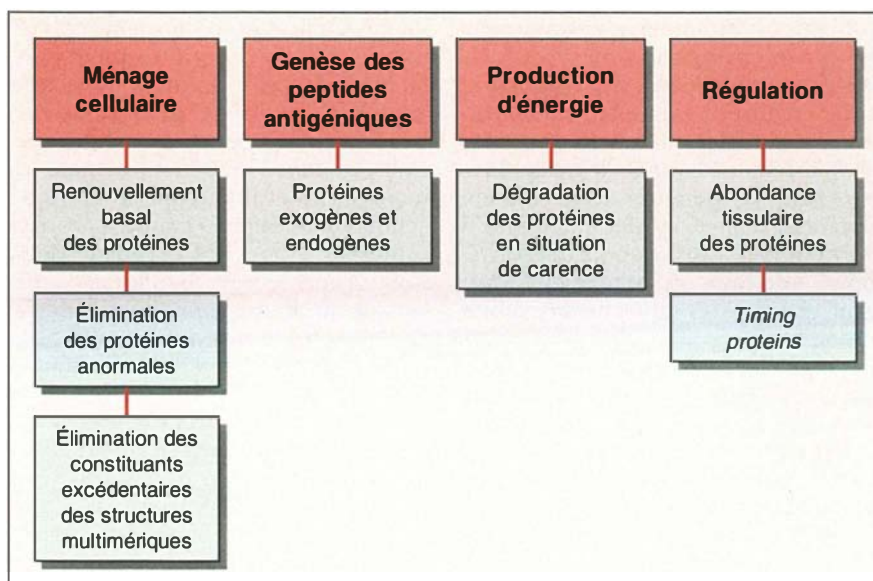


Figure 1. **Les fonctions de la dégradation intracellulaire.** La dégradation des protéines a quatre grandes fonctions à l'intérieur des cellules : le ménage de la cellule, la production des peptides antigéniques, la production d'énergie en cas de carence et la modulation de l'abondance tissulaire de certaines enzymes.

(figure 1). Elles incluent : (1) le renouvellement basal et continu des protéines. Il s'agit d'un processus assez lent et non spécifique, probablement nécessaire pour assurer l'élimination totale des protéines anormales qui échappent aux systèmes protéolytiques normalement spécialisés dans cette fonction. Ainsi, dans la plupart des types cellulaires, on peut considérer qu'au moins 1% des protéines néosynthétisées est dégradé chaque heure ; (2) l'élimination rapide des protéines dont la conformation est altérée par mutation, oxydation, désamination des chaînes latérales, incorporation d'analogues d'acides aminés, choc thermique ou encore par terminaison précoce de la traduction ; (3) l'élimination des constituants excédentaires de structures multimériques ou supramoléculaires dont l'accumulation se révélerait toxique. La situation est bien documentée dans les cas de l'hémoglobine et des protéines des ribosomes, des mitochondries ou du cytosquelette ; (4) la production d'énergie et le renouvellement du stock d'acides aminés en situation de carence. Ainsi, *in vivo*, les protéines hépatiques et musculaires constituent un réservoir d'énergie en fournissant des acides aminés qui peuvent être oxydés direc-

tement ou convertis en glucose. Il s'agit d'un processus sous contrôle hormonal dans lequel l'insuline joue un rôle majeur en retardant le catabolisme protéique. L'observation vaut aussi *in vitro*. Le renouvellement basal des protéines est ainsi accéléré par un facteur 2 à 3 lorsque les cellules en culture sont privées de sérum ou de certains composés essentiels ; (5) la modulation de l'abondance tissulaire de certaines enzymes. Par exemple, les variations de l'abondance de la lactate déshydrogénase A dans les différents tissus ne sont pas liées à des efficacités de synthèse plus ou moins fortes mais résultent exclusivement de vitesses de dégradation différentes [3] ; (6) la régulation de l'abondance de protéines dont l'expression, hors de fenêtres temporelles appropriées, serait néfaste, voire délétère, soit pour les cellules prises individuellement, soit même pour les organismes entiers. Il s'agit, en général, de régulateurs de la division et de la différenciation cellulaires extrêmement instables. Ces molécules sont souvent appelées *timing proteins* (une appellation plus rigoureuse serait certainement *timed timing protein* puisque, si elles règlent temporellement des processus variés, leur élimination est aussi program-

mée). A titre d'exemples, on peut mentionner les cyclines [4], qui sont impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire, les produits de proto-oncogènes comme *c-myc* ou *c-fos*, eux aussi impliqués dans le contrôle de la prolifération, le produit du gène *Fuji tarazu (Ftz)*, impliqué dans le contrôle du développement embryonnaire précoce chez la drosophile ou encore le phytochrome, impliqué chez les plantes dans le contrôle de la germination, du développement des chloroplastes et de la floraison et dont la dégradation est réglée par la lumière ; et (7) la genèse des peptides antigéniques dont la présentation par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité règle la réponse immunitaire.

### **Les sites de protéolyse et la compartimentation intracellulaire des systèmes protéolytiques**

Le site précis de dégradation de la plupart des protéines est inconnu. Apporter une réponse à cette question est en fait souvent difficile puisque la protéolyse d'une protéine donnée est conditionnée à la fois par sa propre localisation intracellulaire –



## RÉFÉRENCES

13. Croall DE, DeMartino GN. Calcium-activated neutral protease (calpain) system: structure, function and regulation. *Physiol Rev* 1991; 71: 813-47.
14. Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K. A novel tissue-specific calpain species expressed predominantly in the stomach comprises two alternate splicing products with and without calcium-binding domain. *J Biol Chem* 1993; 268: 19476-82.
15. Mellgren RL. Proteolysis of nuclear proteins by  $\mu$ -calpain and m-calpain. *J Biol Chem* 1991; 266: 13920-4.
16. Hirai SI, Kawasaki H, Yaniv M, Suzuki K. Degradation of transcription factors, c-jun and c-fos, by calpains. *FEBS Lett* 1991; 287: 57-61.
17. Carillo S, Pariat M, Steff AM, Roux P, Etienne-Julan M, Piechaczyk M. Differential sensitivity of FOS and JUN family members to calpains. *Oncogene* 1994; 9: 1679-89.
18. Goldberg AL, Roth KL. Proteolysis, proteasome and antigen presentation. *Nature* 1992; 357: 375-9.
19. Rivett AJ. Proteasomes: multiple proteinase complexes. *Biochem J* 1993; 291: 1-10.
20. Driscoll J, Frydman J, Goldberg AL. An ATP-stabilized inhibitor of the proteasome is a component of the 1500 Kd ubiquitin conjugate-degrading complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4986-90.
21. Murakami Y, Matsufuji S, Kameji T, Hayashi SI, Igarashi K, Tamura T, Tanaka K, Ichihara A. Ornithine decarboxylase is degraded by the 26S proteasome without ubiquitination. *Nature* 1992; 360: 597-9.
22. Jariel-Encontre I, Pariat M, Martin F, Carillo S, Salvat C, Piechaczyk M. Ubiquitinylation of c-jun is not an absolute requirement for degradation by the 26S proteasome. *J Biol Chem* 1995 (sous presse).
23. Finley D, Chang V. Ubiquitination. *Cell Biol* 1991; 7: 25-69.

qui peut varier – mais aussi par celle des systèmes protéolytiques auxquels elle est sensible – qui peut également varier. A titre d'exemple, on pourra retenir que des protéases réputées cytoplasmiques comme les calpaines (*voir plus bas*) pénétreraient momentanément dans le noyau en mitose à la faveur de la dislocation de l'enveloppe nucléaire et pourraient ainsi avoir accès à des cibles inaccessibles jusque-là. Par ailleurs, certaines protéines évoluent dans plusieurs compartiments et peuvent être dégradées dans l'un et/ou l'autre. Le cas des facteurs de transcription est instructif à cet égard. En raison de l'existence d'activités protéolytiques nucléaires, il est plausible que ces molécules soient dégradées dans le noyau où elles assurent leur fonction. Cependant, la preuve formelle n'en a pas encore été apportée. A l'heure actuelle, on ne peut donc pas exclure qu'elles reviennent dans le cytoplasme sous une forme modifiée pour y être dégradées rapidement. En fait, *in vivo*, les seules dégradations de facteurs de transcription clairement démontrées interviennent dans le cytoplasme. C'est, par exemple, le cas de la protéine oncogénique c-Fos lorsque son transport dans le noyau a été inhibé [5].

Le catabolisme protéique intracellulaire intervient très majoritairement dans les lysosomes et le cytosol. Il semble, cependant, exister une différence importante quant aux protéines cibles: les protéines instables seraient principalement dégradées dans le cytosol tandis que la plupart des protéines stables le seraient dans les lysosomes. Cependant, des activités protéolytiques ont aussi été caractérisées dans les autres compartiments cellulaires. Par exemple, des complexes protéolytiques de haut poids moléculaire dont l'activation dépend de l'ATP ont été identifiés dans les mitochondries (activité indépendante de l'ubiquitine, *voir plus loin*) et le noyau (protéasome, *voir plus loin*). En outre, il existe d'autres protéinases dans ces deux organites. Le réticulum endoplasmique mérite une mention particulière, puisqu'il est à la fois le siège d'une protéolyse spécifique et d'une activité catabolique de ménage particulièrement intenses. D'une part, les séquences signal hydrophobes des protéines

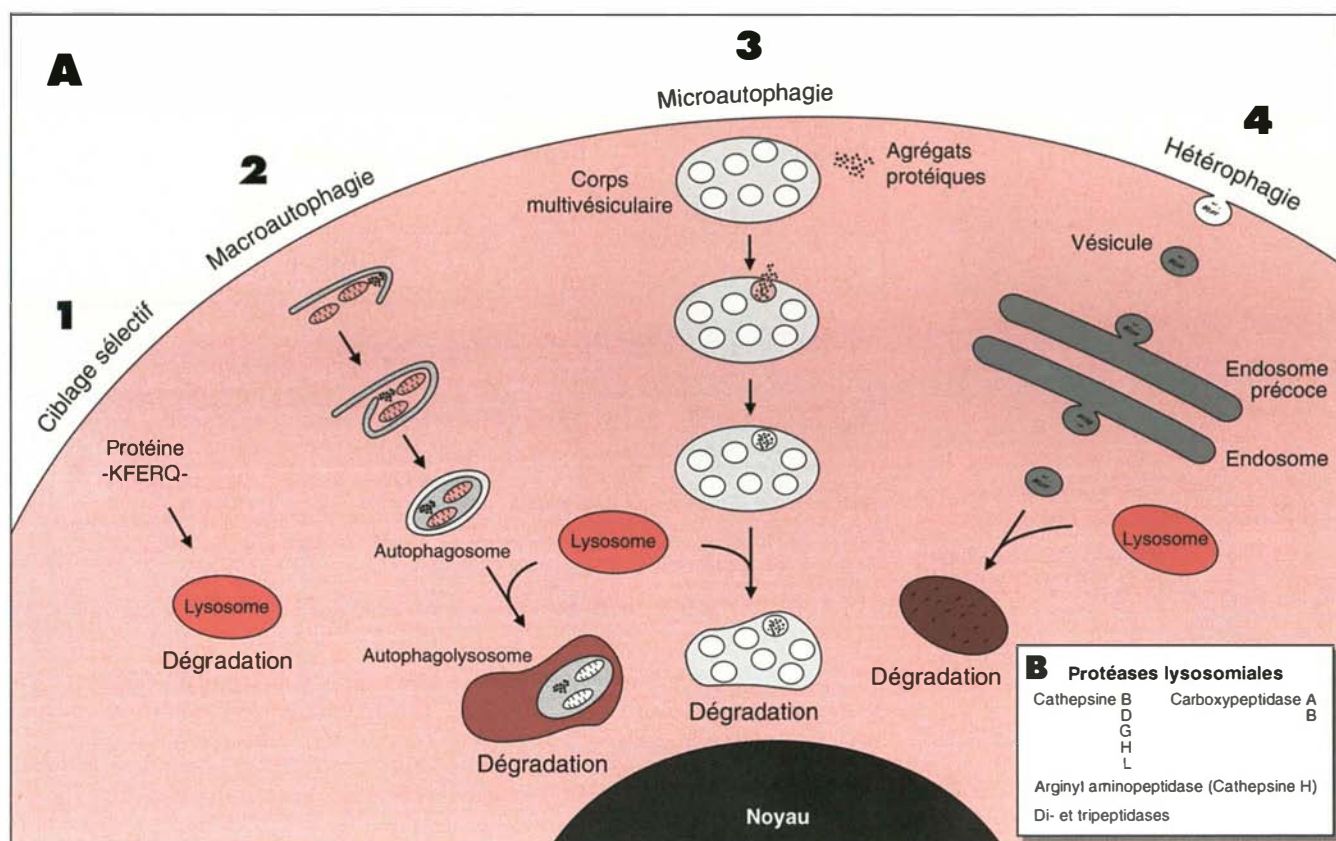
membranaires et des protéines excrétées sont clivées spécifiquement dans la lumière puis réduites en acides aminés. Cette activité peut même être très forte dans certaines cellules spécialisées dans l'excrétion, comme les hépatocytes et un certain nombre de cellules sanguines. D'autre part, des protéases, non encore caractérisées, sont probablement impliquées dans la maturation finale des peptides antigéniques présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (*voir plus bas*) ainsi que dans la dégradation des sous-unités surnuméraires des complexes hétéromultimériques excrétés ou membranaires. Cette dernière situation est bien documentée dans les cas des immunoglobulines et des récepteurs des cellules T (TCR). Il est ainsi connu depuis longtemps que l'association des chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines s'effectue dans la lumière du réticulum endoplasmique et, qu'en absence de chaîne légère, les chaînes lourdes se lient à une protéine de la famille *heat-shock*, appelée BiP ou GRP78, qui induit leur destruction. De façon similaire, en l'absence d'assemblage fonctionnel, les sept sous-unités constitutives des TCR  $\gamma$  sont dégradées rapidement [6].

## Les systèmes protéolytiques

Mise à part la dégradation lysosomiale, les mécanismes intimes du catabolisme protéique sont très mal compris. Si nous décrivons ci-dessous les enzymes et les complexes protéolytiques les mieux connus, il faut garder en mémoire que d'autres restent certainement à découvrir ou tout simplement à caractériser en détail.

### La protéolyse lysosomiale

Les lysosomes constituent une famille de vésicules cytoplasmiques mono-membranaires dont le pH interne est acide (4,5 à 5,5) [7]. Ils assurent la destruction de tous les types de macromolécules récupérées à partir des milieux intra- et extracellulaires [8]. Ils contiennent pour ce faire une grande variété d'hydrolases. La dégradation efficace des protéines y est permise grâce à l'action complémentaire de deux types de protéases: des endo-



**Figure 2. La dégradation lysosomiale.** **A.** Les mécanismes de la dégradation lysosomiale. La dégradation lysosomiale peut être mise en route par quatre voies. (1) Le ciblage sélectif des protéines grâce à un motif relié à la séquence KFERQ (soit, Lys-Phe-Glu-Arg-Gln) ; il intervient surtout en période de carence nutritionnelle. (2) La macroautophagie : une portion entière du cytoplasme est enveloppée par une double membrane correspondant à une projection du réticulum endoplasmique pour former une vésicule fermée, l'autophagosome, qui fusionne avec un lysosome. La membrane de l'autophagosome puis son contenu sont dégradés successivement. (3) La microautophagie : des corps multivésiculaires d'origine endosomique s'invaginent pour internaliser des protéines ou des agrégats de protéines. La fusion avec les lysosomes intervient en général quand un nombre suffisant de vésicules s'est formé dans le corps multivésiculaire. Il n'est pas exclu que les protéines internalisées le soient de façon plus ou moins spécifique. (4) L'hétérophagie : des particules extracellulaires sont internalisées par formation de vésicules au niveau de la membrane cellulaire. Les hétérophagosomes migrent souvent vers le noyau en périphérie duquel sont situés de nombreux lysosomes et fusionnent avec ces derniers pour former des hétérophagosomes. **B.** Quelques protéases lysosomiales : les enzymes lysosomiales ont, d'une manière générale, un pH d'activité optimale situé aux alentours de 5 et sont peu ou pas actives à pH neutre. Cela protège la cellule, soit au cours de la synthèse de ces protéines, soit en cas de mauvaise localisation. La plupart des cathepsines sont des endoprotéases. Certaines ont cependant aussi une activité exopeptidase. Il existe, de plus, des peptidases qui réduisent les oligopeptides en acides aminés.

protéases, appelées cathepsines, qui fragmentent leurs substrats, et des exopeptidases qui éliminent de façon récurrente les acides aminés C- et N-terminaux (respectivement, les carboxy- et aminopeptidases. Il est à noter que certaines cathepsines ont aussi une activité exopeptidase) (figure 2B).

L'entrée des protéines dans les lysosomes s'effectue par trois mécanismes différents : l'autophagie, l'hétérophagie et le ciblage sélectif (figure 2A).

### L'autophagie

Il s'agit d'un mécanisme peu ou pas sélectif qui permet la dégradation de toutes les protéines cytoplasmiques, quelle qu'en soit la nature. On distingue en fait deux types d'autophagie qui peuvent intervenir de façon concomitante et que l'on peut observer en microscopie électronique, la macro- et la microautophagie. La macroautophagie consiste en l'enroulement de la membrane du réticulum endoplasmique autour de portions importantes du cytoplasme (pouvant

contenir des organites entiers) suivi de la fusion des vésicules produites avec les lysosomes. L'activité macroautophagique varie énormément d'une cellule à l'autre et suivant les conditions physiologiques. Elle permet de dégrader en moyenne 1 % des protéines cellulaires par heure dans les différents types cellulaires. Mais elle peut être stimulée jusqu'à 5 % à 10 % en situation de carence comme dans les hépatocytes en culture privés d'acides aminés. La microautophagie est difficile à quantifier précisément.



## RÉFÉRENCES

24. Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system for protein degradation. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 761-807.
25. Rechsteiner M. Natural substrates for the ubiquitin proteolytic pathway. *Cell* 1991; 66: 615-8.
26. Nishizawa M, Furuno N, Okazaki K, Tanaka H, Ogawa Y, Sagata N. Degradation of Mos by the N-terminal proline (Pro<sup>2</sup>)-dependent ubiquitin pathway on fertilization of *Xenopus* eggs: possible significance of natural selection for Pro<sup>2</sup> in Mos. *EMBO J* 1993; 12: 4021-7.
27. van Nocker S, Vierstra RD. Multiubiquitin chains linked through lysin 48 are abundant *in vivo* and are competent intermediates in the ubiquitin proteolytic pathway. *J Biol Chem* 1993; 268: 24766-73.
28. Rogers S, Wells R, Rechsteiner M. Amino acid sequences common to rapidly degraded proteins: the PEST hypothesis. *Science* 1986; 234: 364-8.
29. Carillo S, Pariat M, Jariel-Encontre I, Poulat F, Bertha P, Piechaczyk M. PEST motifs are dispensable for rapid calpain-mediated degradation of c-Fos protein and are neither necessary nor sufficient for degradation of other proteins by calpains. *Biochem J* 1995 (sous presse).
30. Varshavsky A. The N-end rule. *Cell* 1992; 69: 725-35.
31. Bachmair A, Finley D, Varshavsky A. *In vivo* half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* 1986; 234: 179-86.
32. Glotzer M, Murray AW, Kirshner MW. Cyclin is degraded by the ubiquitin pathway. *Nature* 1991; 349: 132-8.
33. Johnson ES, Gonda DK, Varshavsky A. *Cis-trans* recognition and subunit-specific degradation of short lived proteins. *Nature* 1990; 346: 287-91.
34. Papavassiliou AG, Trier M, Chavrier C, Bohman D. Targeted degradation of c-Fos, but not v-Fos, by a phosphorylation-dependent signal on c-Jun. *Science* 1992; 258: 1941-4.

Tableau II  
LE CIBLAGE LYSOSOMIAL SÉLECTIF

Protéines	Séquence	Protéine dont la dégradation est accélérée en situation de carence
RNase A	KFERQ ou QREFK	RNase A(*) Aspartate aminotransférase (*) Pyruvate kinase (*) Chaîne β de l'hémoglobine Phosphofructokinase Glycogène phosphorylase
Autres protéines	(+)[- +Q ou Q [+ -][+]	Glycogène synthase Acétyl coenzyme A carboxylase

Le peptide KFERQ a initialement été identifié dans la RNase A pour sa capacité, en situation de carence, de cibler cette dernière dans le lysosome. Des motifs proches ont été identifiés, sur la même base fonctionnelle, dans d'autres protéines. Un double motif consensus a été défini où les acides aminés sont ici représentés par des symboles: + = K ou R; [ ] = F, I, V, L; - = D ou E. Les protéines marquées par (\*) sont celles pour lesquelles l'association à la protéine de choc thermique Pr73 est connue. Code des acides aminés à une lettre: D: Asp; E: Glu; F: Phe; I: Ile; K: Lys; L: Leu; Q: Gln; R: Arg; V: Val.

Elle constitue probablement le mode principal de fourniture de protéines aux lysosomes dans les cellules correctement nourries: des structures multivésiculaires visibles en microscopie électronique, probablement reliées aux endosomes, s'invaginent pour internaliser de petites fractions de cytoplasme avant de fusionner avec les lysosomes.

### L'hétérophagie

L'hétérophagie correspond à la dégradation des protéines qui ont pénétré dans les cellules par pinocytose, phagocytose ou endocytose relayée par des récepteurs membranaires. Il s'agit de l'action lysosomiale la plus connue: les structures membranaires endosomiales (hétérophagosomes) fusionnent avec les lysosomes. Ce processus est important dans de nombreuses situations biologiques. Celles-ci incluent la simple nutrition cellulaire mais aussi l'action de certains facteurs de croissance et des fonctions spécialisées comme la réponse inflammatoire (neutrophiles polymorphes) et la réponse immunitaire (cellules présentatrices d'antigènes).

### Le ciblage lysosomal

Le ciblage lysosomal correspond à l'entrée sélective de protéines dans les lysosomes à partir du cytoplasme. Cette activité est stimulée par la carence nutritionnelle prolongée. Les protéines concernées voient leur

demi-vie réduite par un facteur 2 à 5 et sont caractérisées par un motif spécifique biochimiquement relié à la séquence KFERQ (Tableau II) [9, 10]. Il semble qu'un membre (Prp 73) de la famille des protéines de choc thermique HSP70 [11] soit impliqué dans la reconnaissance de ce motif. En effet, sa concentration augmente en réponse aux carences ainsi que son association aux protéines dont le catabolisme est accéléré.

### Les calpaïnes

Les calpaïnes sont deux isoenzymes présentant peu de différence de spécificité et dont l'activité intrinsèque est dépendante du calcium mais indépendante de l'ATP [12, 13]. Elles appartiennent à une famille multigénique plus large dont certains membres, encore mal caractérisés sur le plan biochimique, seraient nucléaires et/ou à localisation tissulaire restreinte [14] et dont la spécificité de substrat est probablement différente. Elles peuvent représenter jusqu'à 1% des protéines cellulaires solubles. Elles sont essentiellement cytoplasmiques et sont trouvées à la fois dans le cytosol et associées aux membranes. Il semble, cependant, qu'elles puissent pénétrer transitoirement dans le noyau, soit à la faveur de la mitose comme nous l'avons déjà mentionné, soit, peut-être, à la faveur de stimuli extracellulaires particuliers. Ce sont des endoprotéases qui clivent de

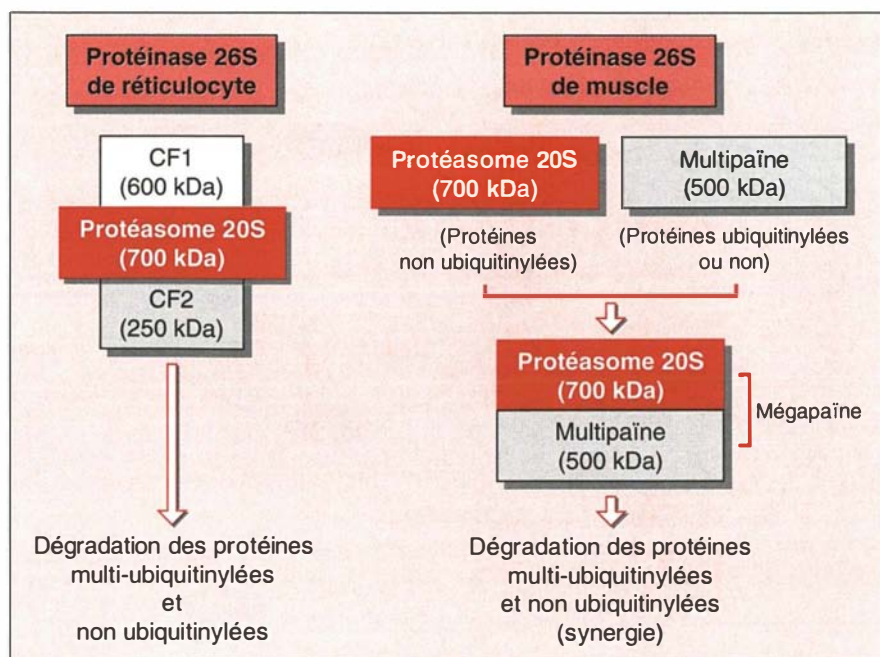


Figure 3. **Le protéasome 20S et les protéinases 26S.** Le protéasome 20S, ou complexe protéasique multicatalytique, est une sous-unité constitutive de protéinases plus complexes. Il dégrade les petites protéines et les peptides. En microscopie électronique, il apparaît comme un cylindre creux constitué de quatre anneaux. Les sites protéolytiques sont situés à l'intérieur du cylindre. Les protéines constitutives sont de petit poids moléculaire (21 à 35 K) et sont pour cette raison appelées Imp (low molecular weight proteins + numéro). Un certain nombre d'entre elles ont déjà été caractérisées dans plusieurs espèces. La particule 20S peut s'associer à d'autres composants dont la nature varie suivant le tissu et, peut-être, les conditions physiologiques, pour former des protéinases 26S dont l'activité est réglée. Ainsi, dans le réticulocyte de lapin, le protéasome 20S peut s'associer à deux autres structures supramoléculaires, CF1 (600 kDa) et CF2 (250 kDa) qui modulent sa fonction et lui permettent de dégrader des grosses protéines éventuellement multi-ubiquitinylées. CF1 et CF2 nécessitent de l'énergie pour agir. Dans le muscle squelettique, le protéasome 20S peut s'associer à un autre complexe protéolytique, la multipaïne (500 kDa). La structure ainsi formée (mégapaïne) fonctionne de manière synergique pour détruire des protéines multi-ubiquitinylées ou non.

façon mesurée un nombre limité de substrats. Cela suggère qu'elles sont des agents de régulation dont la fonction est de mettre en route le catabolisme de protéines spécifiques ou encore d'activer la fonction de certaines proenzymes comme c'est le cas pour la protéine kinase C. Un certain nombre de cibles ont été identifiées *in vitro* mais la démonstration que les mêmes protéolyses interviennent *in vivo* fait en général défaut. Les cibles connues sont essentiellement cytoplasmiques, comme certains constituants du squelette membranaire (fodrine), des filaments intermédiaires (vimentine, desmine, cytokéra-

tine, protéines neurofilamentaires). D'autres sont aussi à localisation nucléaire, comme certains composants de la matrice nucléaire [15] ou certains facteurs de transcription. Dans cette situation, la dégradation cytoplasmique par les calpaïnes pourrait compléter efficacement la répression de certains gènes en limitant le nombre de molécules intactes pouvant être transportées dans le noyau. Cela semble être le cas pour le proto-oncogène c-Fos [5, 16, 17]. La protéolyse par les calpaïnes peut être réglée au niveau des enzymes elles-mêmes ou des substrats. Ainsi, l'activation des calpaïnes est induite

par certains phospholipides membranaires et par l'influx de calcium. Leur répression peut être obtenue par un inhibiteur protéique endogène : la calpastatine. L'action de la calpastatine est, elle-même, activée par le calcium, ce qui implique l'existence d'une boucle d'autorégulation extrêmement sensible à la concentration de calcium. A l'opposé, la susceptibilité des substrats peut être modulée par des phénomènes de modification post-traductionnelle ou par association à certaines autres molécules. A titre d'exemple, la phosphorylation des protéines neurofilamentaires inhibe leur clivage par les calpaïnes.

### Le protéasome

Le protéasome 20S (encore appelé complexe protéasique multicatalytique ou macropaïne) est une particule cylindrique de 700 kDa composée d'environ 25 protéines différentes. Il représente environ 1 % des protéines cellulaires et est supposé constituer la principale machinerie protéolytique intracellulaire non lysosomiale. Cinq activités protéolytiques différentes y ont déjà été caractérisées. Il existe probablement plusieurs isoformes de protéasome. La répartition du protéasome 20S (et peut-être de ses isoformes) entre le noyau et le cytoplasme varie suivant les conditions physiologiques et le tissu. De façon indépendante de l'ATP, il est capable d'hydrolyser des peptides ou des petites protéines *in vitro* [18, 19].

Dans la cellule, le protéasome 20S s'associe à d'autres structures supramoléculaires pour former ce que l'on appelle encore souvent le protéasome 26S. Ces structures additionnelles sont de nature variée. Elles apportent la spécificité de substrat ainsi que la capacité de détruire les grosses protéines. Du fait de leur multiplicité, le label protéasome 26S est devenu impropre. Il est maintenant recommandé de parler de protéinases 26S ou de complexes protéolytiques multicatalytiques 26S.

Les structures additionnelles possèdent parfois une activité protéolytique intrinsèque (figure 3). Un premier exemple est celui de la multipaïne qui est une protéinase de 500 kDa du muscle squelettique agissant de façon synergique avec le protéasome 20S. Le second, mieux docu-

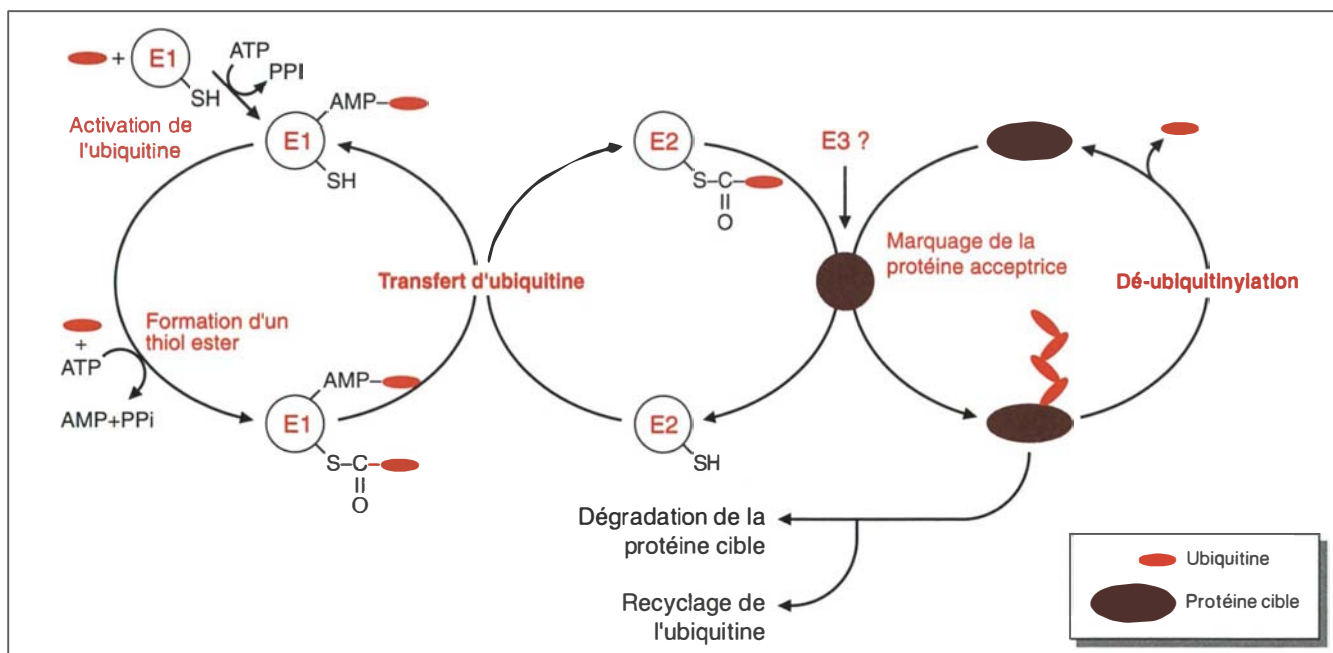


Figure 4. **Le cycle de l'ubiquitine.** Les protéines sont conjuguées à l'ubiquitine par une voie multi-étape faisant intervenir l'ATP et nécessitant l'action séquentielle de l'enzyme d'activation (E1), d'enzymes de conjugaison ou de protéines porteuses (E2) et dans certains cas de ligases (E3). Dans la phase initiale, l'ubiquitine est activée par E1 en deux temps. Premièrement, une liaison acyl-phosphoanhydride entre la partie AMP de l'ATP et la glycine terminale (Gly<sup>76</sup>) de l'ubiquitine est formée. Ensuite, une liaison à forte énergie entre Gly<sup>76</sup> et l'unique cystéine de E1 est formée avec relargage concomitant d'AMP. Chaque étape implique la consommation d'ATP. Le transfert intramoléculaire n'est, à notre connaissance, pas complètement compris : il est vraisemblable que la première ubiquitine est liée à E1 grâce à un pont AMP ; cette ubiquitine est ensuite transférée sur une cystéine grâce à la formation d'une liaison thio-ester riche en énergie cependant qu'une nouvelle ubiquitine se fixe sur le site précédemment occupé, toujours par un pont AMP. Dans la seconde réaction, l'ubiquitine est transférée par trans-estérification à une cystéine spécifique de E2, cependant que E1-AMP-Ub est utilisée pour un nouveau cycle d'activation. E2 constitue en fait une famille de protéines aux fonctions multiples. Dans certaines situations, E2 lie directement l'ubiquitine à une lysine de la protéine cible (liaison isopeptidique entre l'amine ε de la lysine et le C-terminal de l'ubiquitine). Dans d'autres situations, E2 agit de concert avec des protéines E3 qui sélectionnent les substrats. E3 représente une classe de protéines dont les fonctions de reconnaissance et de couplage de chacun des membres semblent spécifiques de substrat. Il est important de souligner que l'ubiquitine n'est pas forcément ajoutée de façon récurrente aux protéines multi-ubiquitinylées. Des chaînes préformées peuvent aussi être directement couplées. L'importance relative de ces deux mécanismes de transfert n'est pas connue.

menté, est celui de la protéinase 26S du réticulocyte de lapin qui semble spécialisée dans la dégradation de la plupart des protéines non spécifiques de la lignée rouge lors de la maturation érythrocytaire (figure 3). Le protéasome 20S y est associé à deux autres composants, CF1 et CF2, dont les fonctions biochimiques sont complexes et non encore complètement élucidées. Il se dégage de la littérature qu'en absence de CF1 (600 kDa), CF2 (250 kDa) a un rôle inhibiteur sur la dégradation par le protéasome 20S. En revanche, associé à CF1 en présence d'ATP, CF2 contribue activement à la dégradation des substrats. Enfin, en absence d'ATP, CF1 favorise la dissociation de CF2 du protéasome 20S [20]. L'ensemble de ces observations suggère que la mégapaïne est

probablement une structure dynamique *in vivo* (m/s n° 11, vol. 10, p. 1173). Il a été régulièrement proposé que les protéinases 26S soient uniquement responsables de la dégradation des protéines multi-ubiquitinylées (voir plus loin ; d'où l'autre nom d'UCDEN pour *ubiquitin-conjugate degrading enzyme*). En fait, on sait maintenant qu'elles sont aussi capables de dégrader des substrats comme l'ornithine décarboxylase qui ne sont pas ubiquitinylés [21], ou encore la protéine c-Jun *in vitro* [22].

#### Ubiquitinylation et dégradation des protéines

L'ubiquitine est une petite protéine ubiquitaire de 76 acides aminés, particulièrement stable, associée à de

nombreuses fonctions intracellulaires (m/s n° 5, vol. 2, p. 283) [23, 24]. Celles-ci incluent la régulation du cycle cellulaire, la biosynthèse d'organites et des ribosomes, le trafic protéique, la transduction des signaux extracellulaires, l'expression de certains gènes, la réponse au stress et la dégradation des protéines.

L'ubiquitine est trouvée associée à de nombreuses protéines, soit sous forme de monomère, soit sous forme de chaînes pouvant atteindre 20 résidus. La conjugaison s'effectue par l'intermédiaire de la glycine C-terminale qui forme une liaison isopeptidique avec le ε-NH<sub>2</sub> d'une lysine du substrat (Lys 48 dans le cas de l'autopolymérisation). En première approximation, on peut admettre que la multi-ubiquitinylation (sur une ou plusieurs



lysines) oriente les protéines vers la dégradation par des complexes enzymatiques comme la protéinase 26S de réticulocyte de lapin. En revanche, la mono-ubiquitinylation semble plutôt associée aux autres fonctions de l'ubiquitine. Ainsi, les histones H2A et H2B ainsi que l'actine sont mono-ubiquitinylées et présentent une grande stabilité (*m/s n° 4, vol. 5, p. 202*). Il est par ailleurs important de souligner que : (1) la multi-ubiquitinylation n'est pas requise pour le catabolisme de beaucoup de protéines et (2) les réactions enzymatiques dépendantes de la voie ubiquitine ont surtout été élucidées en utilisant des protéines endommagées ou dénaturées. Peu de substrats physiologiques ont, en fait, été identifiés à ce jour. Parmi ceux-ci, on peut noter le phytochrome, le facteur transcriptionnel de levure MAT $\alpha$ 2, la cycline B et la proto-oncoprotéine Mos [25, 26].

Une série de réactions complexes, schématisées sur la *figure 4*, est nécessaire pour activer puis conjuguer l'ubiquitine à son substrat. De façon simplifiée, l'ubiquitine est activée par couplage à une enzyme spécifique, E1 (*ubiquitin-activating enzyme*), au travers de la formation d'une liaison thiol-ester impliquant l'hydrolyse d'ATP. L'ubiquitine est ensuite transférée de E1 à une protéine « porteuse », E2 (ou UBC pour *ubiquitin-carrier protein* ou *ubiquitin-conjugating enzyme* suivant la fonction). E2 nécessite souvent, mais pas toujours, l'intervention d'une troisième enzyme, E3, pour la reconnaissance et la conjugaison effective au substrat final. E2 définit, en fait, une famille d'enzymes présentant une diversité à la fois structurale et fonctionnelle. Les différents membres montrent, en effet, une double spécificité à la fois au niveau de la mono- et de la poly-ubiquitinylation et au niveau du choix des substrats. Certains sont mêmes capables d'assurer le couplage de l'ubiquitine aux substrats ou à elle-même. Comme E2, E3 définit une famille multigénique dont les membres sont spécialisés. Lorsque la protéine à marquer est reconnue par E3 au niveau de son acide aminé N-terminal, on parle de N-recoignée (*voir plus bas*). Lorsqu'un autre motif est reconnu, on parle en général d'ubiquitine-protéine ligase. On a longtemps supposé que la multi-ubi-

quitinylation intervenait par ajout séquentiel d'ubiquitine sur les substrats. Il vient, cependant, d'être montré que l'ajout de chaînes préformées sur des protéines est possible pour cibler la dégradation [27]. Ces données renforcent l'observation préalable que certaines protéines E2 sont capables de former des chaînes d'ubiquitine libres chez les animaux et les plantes.

L'ubiquitine n'est pas dégradée en même temps que les substrats dont elle déclenche le catabolisme. Elle est recyclée grâce à des ubiquitine hydrolases capables de rompre la liaison isopeptidique C-terminale. Certaines de ces enzymes ont été localisées dans les sous-unités régulatrices des protéinases 26S. En revanche, il n'est pas établi si le recyclage direct des polymères d'ubiquitine est possible ou non.

### **Les signaux marquant des protéines pour la dégradation**

La manière dont les systèmes protéolytiques sélectionnent leurs substrats et épargnent les autres protéines cellulaires reste une question clé du catabolisme protéique. Pour les protéines dont la dégradation rapide est génétiquement programmée, la situation paraît simple : elles posséderaient des motifs peptidiques spécifiques (dégrons) reconnus efficacement par les protéinases. Pour ce qui est des protéines stables, la situation est plus complexe. Comme nous l'avons déjà mentionné, ces dernières peuvent être détruites extrêmement rapidement si elles présentent une configuration atypique ou ne sont pas associées à certains partenaires. Au moins deux scénarios peuvent être envisagés pour expliquer leur dégradation rapide. Le premier suppose qu'elles possèdent aussi des dégrons, mais que ceux-ci, enfouis dans la structure en condition normale, peuvent être exposés aux systèmes protéolytiques en condition anormale. Outre l'explication qu'elle fournit pour expliquer la dégradation des protéines stables, cette hypothèse est en accord avec l'observation que certaines protéines, connues pour être instables dans certaines situations physiologiques, ne le sont pas dans d'autres. Le second scénario invoque

l'existence de protéines spécialisées dans la reconnaissance des protéines dénaturées dont la fonction serait d'apporter en *trans* la capacité d'être dégradée (conjugaison de chaînes d'ubiquitine, par exemple).

Nous présentons ci-dessous les motifs d'instabilité les mieux documentés. Il est important de souligner que, d'une part, leur importance biologique reste encore à démontrer et que, d'autre part, de nouveaux dégrons sont encore à découvrir (probablement les plus importants!). Enfin, il faut aussi garder en mémoire qu'un signal de reconnaissance n'est pas forcément un site de coupure privilégié.

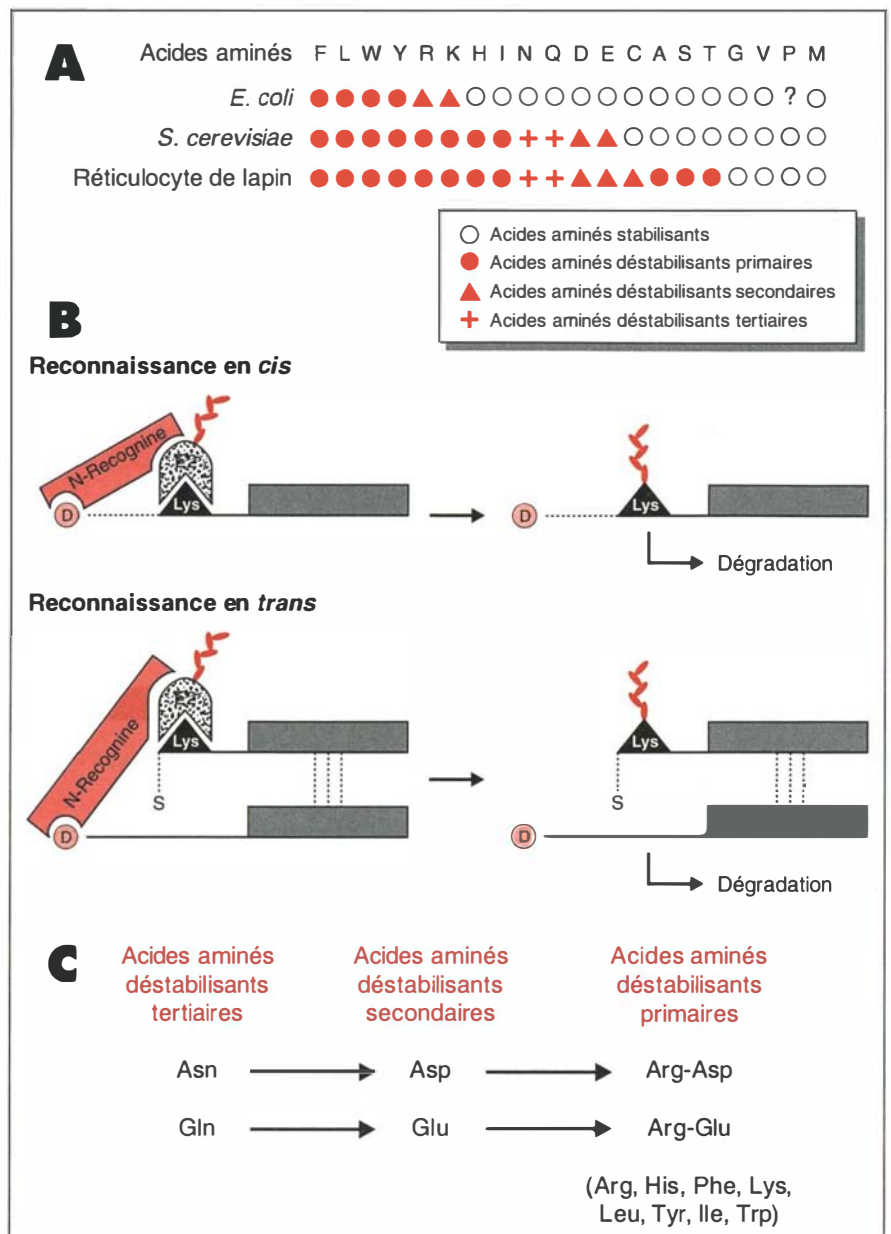
### **Les séquences PEST**

Grâce à une analyse informatique, Rogers *et al.* [28] ont noté que les protéines métaboliquement instables sont généralement marquées par des séquences peptidiques particulières, rarement présentes dans les protéines stables. Ces motifs, appelés PEST car riches en proline (P), acide glutamique (E), acide aspartique (D), sérine (S) et thréonine (T), sont bordés par des régions basiques. Leur longueur est très variable (10 à 100 acides aminés) ainsi que leur nombre (jusqu'à 3 ou 4 par protéine). Les arguments expérimentaux en faveur de l'hypothèse de leur implication dans la dégradation des protéines instables sont encore très fragmentaires. Il a, en outre, été spéculé que les motifs PEST pourraient constituer des sites de coupure privilégiés pour les calpaïnes. En effet, la phosphorylation des sérines et thréonines ainsi que la présence de glutamate pourraient créer localement une forte charge négative permettant la fixation du calcium par interaction électrostatique, permettant ainsi la présentation directe par le substrat du cofacteur à l'enzyme. Toutefois, des expériences récentes de mutagenèse dirigée de la proto-oncoprotéine c-Fos effectuées par notre groupe ont montré qu'il n'en était rien [29].

### **La N-end rule et la voie ubiquitine**

La règle de l'acide aminé N-terminal ou *N-end rule* [30] a initialement été énoncée par Bachmair *et al.* en 1986 [31] et a, depuis, reçu des confirma-

Figure 5. **La règle de l'acide aminé N-terminal.** A. Comparaison des règles de l'acide aminé N-terminal chez les bactéries et les eucaryotes. La règle du N-terminal a été déduite à partir de protéines modèles modifiées par mutagenèse. Le seul substrat physiologique identifié y obéissant chez les eucaryotes est l'ARN polymérase du virus Sindbis. La règle du N-terminal n'a rien d'absolu. Elle ne concerne pas toutes les protéines instables. De plus, elle varie suivant l'organisme et même le type cellulaire considéré. Ainsi, un acide aminé N-terminal déstabilisant dans le réticulocyte peut ne pas l'être dans le muscle. (D'après [29]). B. Modèle de reconnaissance du N-dégron. Le N-dégron est composé d'un acide aminé N-terminal déstabilisateur et d'une lysine proche, compétente pour l'ubiquitinylation. L'acide aminé déstabilisateur serait reconnu par une enzyme E3 du système d'ubiquitinylation, appelée dans ce cas N-recognine et la lysine par une enzyme de conjugaison E2 interagissant avec E3. Les deux motifs peuvent être présents sur la même molécule (reconnaissance cis). Ils peuvent aussi être portés par deux molécules associées (reconnaissance trans). C. Acides aminés déstabilisant primaires, secondaires et tertiaires. La notion d'acides aminés primaires, secondaires et tertiaires dérive d'études biochimiques et génétiques conduites chez la levure. Arg, Lys, His, Leu, Phe, Tyr, Ile et Trp sont des acides aminés déstabilisant primaires car il sont directement reconnus par une N-recognine. Asp et Glu sont des acides aminés dits secondaires car une Arg peut y être transférée par une arginine transférase (gène ATE1 chez la levure) et ainsi permettre la constitution d'un N-dégron efficace. Asn et Gln sont des acides aminés déstabilisant tertiaires car ils peuvent être désaminés grâce à une désamidase spécifique (gène DEA1 chez la levure) et donner ainsi Asp et Glu sur lesquels Ate 1 peut coupler une Arg.



\*Code à une lettre des acides aminés: A: Ala; C: Cys; D: Asp; E: Glu; F: Phe; G: Gly; H: His; I: Ile; K: Lys; L: Leu; M: Met; N: Asn; P: Pro; Q: Gln; R: Arg; S: Ser; T: Thr; V: Val; W: Trp; Y: Tyr.

tions génétiques et biochimiques par différents groupes. Elle stipule que le signal pour l'une des voies de dégradation faisant intervenir l'ubiquitine est : (1) la présence d'un acide aminé déstabilisateur à l'extrémité N-terminale du substrat et (2) la proximité d'une lysine permettant la conjugaison de l'ubiquitine. L'ensemble forme le N-détron. Trois classes d'acides aminés N-terminaux ont été définies en fonction de leur potentiel déstabilisateur (voir figure 5A). Il est important de souligner que les deux éléments du N-détron peuvent être reconnus, soit portés par la même molécule (on parle de reconnaissance en *cis*), soit portés par deux molécules associées étroitement (on parle alors de reconnaissance en *trans* ; voir plus bas) (figure 5B). Enfin, comme les protéines peuvent être modifiées en position N-terminale, on distingue trois sous-classes dans la classe des acides aminés déstabilisateurs (figure 5C).

Bien que les modèles expérimentaux testés (protéines chimères ou génétiquement modifiées) soient suggestifs, la réelle application de cette règle *in vivo* à des substrats physiologiques est loin d'être certaine. A l'appui de cette remarque, on peut rappeler que : (1) le retrait de la méthionine initiatrice des protéines néosynthétisées s'effectue plutôt mal et n'est efficace que lorsque le second acide aminé est, soit petit, soit hydrophile, c'est-à-dire stabilisateur ; (2) 75 % à 80 % des protéines cytosoliques sont bloquées par modification N-terminale (acétylation, formylation, myristylation...) et (3) les mutants de la voie N-terminale ne sont pas létaux chez la levure. Une hypothèse intéressante quant à l'utilisation de la *N-end rule* est fondée sur l'observation que la plupart des protéines cytosoliques connues présentent un acide aminé N-terminal stabilisateur tandis que la plupart des protéines compartimentées ou excrétées en présentent un déstabilisateur. La *N-end rule* pourrait donc concerner essentiellement l'élimination des protéines retrouvées dans le cytosol en raison d'une mauvaise compartimentation.

### Les boîtes de destruction

Les cyclines forment une famille de protéines clés pour le contrôle du

cycle cellulaire. Elles sont dégradées rapidement selon une voie qui dépend de l'ATP et fait intervenir l'ubiquitine. La mutagenèse de délétion et la construction de protéines chimères ont permis d'identifier un motif peptidique (RAALGNISN\*) responsable de l'instabilité de la cycline B de xénopie [32]. La comparaison des différentes cyclines a ensuite permis de dégager une boîte de destruction consensus (RXXLXXIXN\*). Ce motif est même retrouvé sous une forme approchante dans le facteur de conjugaison de levure MATa2 qui est aussi une protéine à renouvellement rapide. La base biochimique de son action est encore inconnue. Il a été proposé qu'il favorise l'interaction avec l'une des protéines E2 ou E3 du cycle de l'ubiquitine pour permettre la multi-ubiquitinylation de lysines proches dans un contexte très différent de celui de la *N-end rule*.

### L'apport d'un signal de dégradation en *trans*

Les signaux de dégradation mentionnés ci-dessus l'ont été dans le cadre d'une action en *cis*. Il est fort possible qu'il puissent aussi fonctionner en *trans* au travers de l'association de protéines. Ainsi, soit une protéine instable peut entraîner une autre dans sa dégradation, soit encore un détron peut être constitué par la mise en proximité de deux motifs portés individuellement par chacune des protéines (figure 5C). La dernière hypothèse a été testée expérimentalement par Johnson *et al.* [33]. Dans un système artificiel de dégradation utilisant comme substrat le tétramère de  $\beta$ -galactosidase de *E. coli* chez la levure, ces auteurs ont montré que les deux composants du N-détron (acide aminé N-terminal déstabilisateur et lysine ubiquitinylable) peuvent être apportés par des sous-unités différentes. Pour ce qui concerne la première hypothèse, Papavassiliou *et al.* [34] ont montré dans un système de dégradation *in vitro* que la proto-oncoprotéine c-Jun phosphorylée de

façon appropriée peut déclencher la dégradation rapide de son partenaire c-Fos au sein du complexe transcriptionnel AP-1. Un scénario comparable concerne la protéine oncosuppressive p53 (voir partie II dans le prochain numéro de *m/s* n° 6, vol. 11, juin 1995).

## Le rôle de l'ATP dans la dégradation protéique

La dégradation de la plupart des protéines instables nécessite de l'énergie. Il faut néanmoins souligner que 30 à 50 fois plus d'ATP sont nécessaires à la synthèse d'une protéine qu'à sa réduction en acides aminés. Le rôle de l'ATP est encore mal défini. Toutefois, deux points importants sont à retenir : l'hydrolyse de la liaison peptidique est favorisée au plan thermodynamique et la plupart des enzymes protéolytiques sont intrinsèquement indépendantes de l'ATP. On doit donc admettre que la dépense d'énergie est associée à l'activation du processus protéolytique et non à l'acte catalytique même.

La stimulation dépendante de l'ATP de la dégradation protéique peut être obtenue de différentes manières : (1) par activation des enzymes protéolytiques elles-mêmes, soit par modification post-traductionnelle, soit par dissociation d'avec un inhibiteur endogène ; (2) par réglage de la sélectivité du processus, en modifiant le substrat (la modification la mieux documentée est l'ubiquitinylation, mais les phosphorylations peuvent aussi être impliquées) et (3) par le contrôle de la présentation du substrat à l'intérieur du complexe protéolytique. Dans ce dernier cas, l'ATP peut être utilisé, soit pour augmenter la précision et le nombre des interactions physiques enzyme-substrat, soit pour déstructurer la protéine à dégrader et rendre ainsi les liaisons peptidiques plus accessibles. Ce scénario a été détaillé dans le cas des protéases bactériennes dépendantes de l'ATP Lon et Clp (voir [2]).

## En guise de conclusion

Les fonctions du catabolisme protéique intracellulaire sont nombreuses et les processus de reconnaissance et

\* Code à une lettre des acides aminés : A : Ala ; C : Cys ; D : Asp ; E : Glu ; F : Phe ; G : Gly ; H : His ; I : Ile ; K : Lys ; L : Leu ; M : Met ; N : Asn ; P : Pro ; Q : Gln ; R : Arg ; S : Ser ; T : Thr ; V : Val ; W : Trp ; Y : Tyr.



de dégradation sont complexes. Il est vraisemblable que, seule, une fraction mineure des voies de protéolyse a été identifiée à l'heure actuelle. La régulation des mécanismes impliqués est en général mal comprise. Le domaine de la dégradation intracellulaire des protéines constitue de ce fait un domaine d'investigation où l'essentiel reste donc à découvrir ■

#### Remerciements

Nous remercions les Dr F. Martin et U. Hibner pour leur lecture critique du manuscrit. Les travaux effectués dans notre laboratoire ont été financés par le Cnrs, l'ARC, la Ligue contre le Cancer, l'ANRS et le projet Bioavenir MRT/Rhône-Poulenc-Rorer.

#### TIRÉS À PART

S. Carillo.

## Summary

### Protein degradation: a major intracellular function. Part I: mechanisms of protein degradation

Although often neglected, protein degradation is a major intracellular function which, on the one hand, is responsible for housekeeping of the cell and, on the other hand, plays a major role in the regulation of important cellular functions. Among those, one can mention the control of cell homeostasis, the production of antigenic peptides and the regulation of key steps of embryo development and of the cell cycle. Biological and biochemical bases of protein catabolism are not, or hardly, elucidated. Even in the best studied cases, only sparse information is available regar-

ding the number of catabolic pathways operating within a cell, the number of these pathways operating on a single protein, the site(s) of degradation of proteins shuttling between two intracellular compartments, the motifs recognized by proteolytic systems and the regulation of the degradation process. The first part of this review aims at summarizing our current knowledge on intracellular proteolytic systems and their mode of action whereas the second part will address the regulation of protein turnover and genesis of antigenic peptides.