



Protéines chaperons

Michel Morange

M. Morange : École normale supérieure, Département de biologie, Unité de génétique moléculaire, Cnrs UMR 8541, 46, rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France.

► La découverte de la fonction chaperon ne date que de dix ans : les chaperons moléculaires facilitent le repliement des protéines et permettent leur désagrégation. La mécanique moléculaire des principaux chaperons bactériens intervenant dans le repliement des protéines a été décryptée. La fonction chaperon ne se limite cependant pas à ces cas bien connus. Il existe aussi de très nombreuses protéines ayant une fonction de chaperon plus spécialisée – qui s'ajoute souvent à une autre fonction. Le rôle « intégratif » des protéines chaperons dans la vie cellulaire normale ou pathologique constitue l'objectif des recherches futures. ◀

La fonction chaperon est l'une des dernières grandes fonctions protéiques à avoir été découverte. Cette découverte s'est avérée difficile : plus de dix années se sont écoulées entre la mise en évidence de l'accumulation des protéines dites de choc thermique dans les cellules soumises à une hyperthermie et la découverte que ces protéines participaient à la désagrégation des protéines après le *stress* et à leur renaturation (*m/s* 1989, n° 9, p. 691). La présence de ces protéines à un niveau déjà important dans toute cellule en l'absence de *stress* a suggéré qu'elles participaient aussi au repliement normal des protéines. Le dogme de la biologie moléculaire selon lequel la structure finale d'une protéine ne dépendait que de l'enchaînement de ses acides aminés, confirmé par les très élégantes expériences de repliement des protéines *in vitro* réalisées par Anfinsen, avait fait oublier que rien ne s'opposait à ce que ce repliement soit néanmoins assisté, « protégé ».

Le terme chaperon, d'origine française, fut proposé par John Ellis et Sean Hemmingsen pour désigner cette fonction d'assistance : « *Le terme "chaperon moléculaire" semble approprié parce que le rôle tradition-*

nel d'un chaperon humain, décrit en termes biochimiques, est d'empêcher les interactions incorrectes entre surfaces potentiellement complémentaires et de rompre toute liaison incorrecte qui pourrait se former » [1].

Le rappel de l'origine du terme est important : d'une part pour ne pas angliciser de manière indue chaperon en chaperone, mais au contraire garder le terme français, avec toutes ses connotations ; d'autre part, cette première définition délimite précisément le rôle des chaperons : aider au repliement des protéines en évitant la formation d'agrégats entre les domaines hydrophobes encore présents à la surface des chaînes polypeptidiques partiellement repliées. Les chaperons ne participent pas à la définition du (ou des) chemins de repliement, ni, moins encore, à celle de l'état replié actif (*m/s* 1991, n° 5, p. 496).

Des phénomènes d'agrégation protéique sont observés dans toute cellule en conditions normales et sont fortement augmentés par le *stress* : les chaperons peuvent intervenir dans la désagrégation des protéines. Ils peuvent aussi défaire des agrégats « physiologiques » comme les cages de clathrine et participer ainsi au cycle fonctionnel de ces molécules.

TIRÉS À PART

M. Morange.

Le repliement des protéines à l'intérieur des bactéries

L'étude du repliement des protéines à l'intérieur des bactéries a servi de modèle. Elle a permis de distinguer deux grands types de chaperons, ceux qui ne font que « tenir » et ceux – les chaperonines – qui « replient », les « holdases » et les « foldases » [2].

1. DnaJ et DnaK (HSP40 et HSP70)* se fixent sur de courtes séquences formées d'acides aminés hydrophobes (aliphatiques ou aromatiques); la fixation de DnaJ sur la chaîne polypeptidique naissante est transitoire; DnaJ transfère celle-ci sur DnaK et stabilise l'interaction de cette protéine avec les chaînes polypeptidiques dépliées en stimulant l'activité ATPase endogène de DnaK. Au contraire, le remplacement de l'ADP par l'ATP, soit spontané, soit provoqué par un facteur d'échange appelé GrpE, permet la libération de la chaîne polypeptidique (figure 1).

2. Celle-ci peut alors, soit se replier seule, soit interagir à nouveau avec les chaperons DnaK-DnaJ, soit se fixer sur la chaperonine GroEL-GroES. Ce complexe macromoléculaire laisse à la chaîne polypeptidique naissante un vaste espace intérieur pour se replier, appelé cage d'Anfinsen. L'enchaînement d'étapes de fixation et de libération, contrôlé à nouveau par la fixation de l'ATP et son hydrolyse, provoque une alternance d'environnements hydrophiles et hydrophobes, et un dépliement partiel à chaque cycle de la protéine naissante [3], qui lui permettent de sortir des « voies de garage » dans lesquelles elle avait pu s'engager au cours de son repliement. La chaperonine fonctionne comme un moteur à deux temps [4], un modèle que les enzymologistes connaissaient depuis longtemps, en particulier grâce aux travaux de Michel Lazdunski dans les années 1970, sous le terme de flip-flop: chacun des deux cercles de sept sous unités GroEL participe successivement au repliement (figure 2).

* Le fait que les protéines chaperons avaient été déjà impliquées dans un grand nombre de processus physiologiques avant que leur fonction ne soit pleinement connue explique la complexité de la nomenclature encore utilisée aujourd'hui pour les désigner.

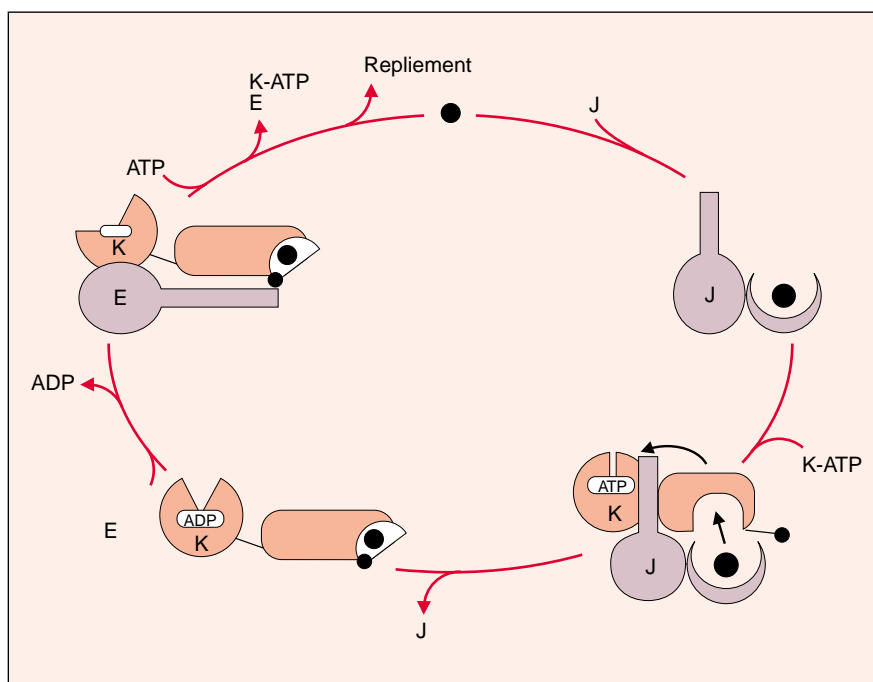


Figure 1. Fixation des chaperons DnaK et DnaJ sur les polypeptides naissants. Ce schéma montre le cycle de fixation-libération des chaperons DnaK (K) et DnaJ (J) et l'intervention du co-chaperon GrpE (E). Fixation initiale de DnaJ sur la chaîne polypeptidique naissante (représentée par un cercle noir), transfert du polypeptide de DnaJ à DnaK, activation par DnaJ de l'hydrolyse de la molécule d'ATP portée par DnaK avec stabilisation de la fixation du polypeptide, échange ADP-ATP favorisé par GrpE et libération du polypeptide naissant. (D'après [2].)

Toutes les protéines n'ont pas besoin de chaperons pour se replier. En ce qui concerne DnaK et DnaJ, la redondance partielle de leurs fonctions de chaperons par d'autres protéines bactériennes (tel le *trigger factor* [5]) rend difficile une estimation du nombre de leurs cibles. Pour la chaperonine GroEL-GroES, les résultats sont clairs: 10% des protéines bactériennes ont absolument besoin de la chaperonine; quelques pour cent n'en ont jamais besoin et la grande majorité des protéines bactériennes utilisent la chaperonine de manière facultative, mais rare, peut-être lorsqu'elles se sont engagées dans une impasse de repliement [6].

Le repliement des protéines dans une cellule nucléée

A l'exception du noyau cellulaire, dans lequel les protéines sont importées sous forme native, tous les com-

partiments cellulaires possèdent leurs lots de chaperons spécifiques, nécessaires au repliement des protéines après leur entrée dans l'organite. Chaque compartiment a toutefois ses caractéristiques, ce qui montre qu'il n'y a pas un modèle unique de « chaperonage » des protéines naissantes. Dans le cytosol, HSP70 se lie à un grand nombre de polypeptides en cours de synthèse. En revanche, la seule chaperonine existant dans le cytoplasme, TRiC, semble plutôt spécialisée dans le repliement des protéines du cytosquelette, actine et tubuline. Il n'existerait donc pas chez les eucaryotes – mais cela reste encore l'objet de nombreux débats – de chaperonine généraliste comme GroEL-GroES chez les procaryotes. Dans le réticulum endoplasmique, BiP (encore appelée Grp78), homologue de la HSP70, intervient non seulement dans le repliement des protéines dans la lumière du réticulum mais aussi de manière active

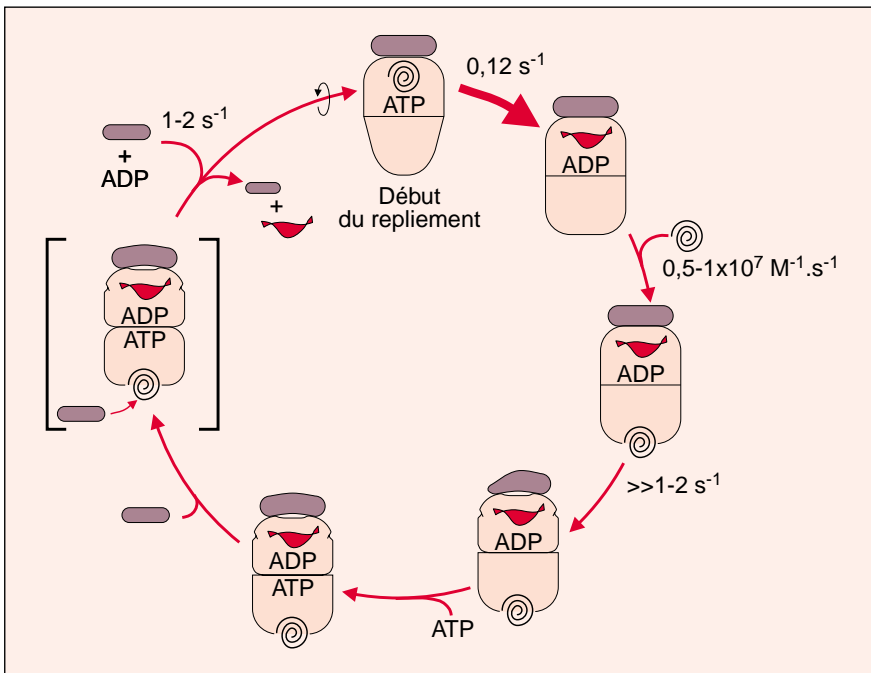


Figure 2. **La chaperonine GroEL-GroES.** Le schéma montre le fonctionnement « à deux temps » de la chaperonine avec la création d'une « cage d'Anfinsen » successivement dans l'un et l'autre cercle de sous-unités GroEL. C'est la fixation de l'ATP et son hydrolyse qui vont régler la fixation et la libération du chapeau GroES et des chaînes polypeptidiques en cours de repliement (symbolisées par une spirale et un petit sac rouge) et donc les différents temps du cycle de fonctionnement de la chaperonine. À l'issue du cycle, la protéine naissante est libérée, soit sous forme native, soit sous forme encore partiellement dépliée. (D'après [4].)

dans l'importation des protéines dans cet organite. En outre, il existe un système de contrôle de qualité, formé de la calnexine, de la calréticuline et d'une glucosyl-transférase qui retient les protéines glycosylées dans le réticulum tant qu'elles ne se sont pas repliées correctement [7]. Seule la mitochondrie, origine symbiotique oblige, obéit parfaitement au modèle de chaperonage bactérien. Dans la mitochondrie, comme dans le réticulum, la HSP70 joue un rôle majeur dans l'importation des protéines [8]. Il est évident que la fonction de chaperonage s'est transformée au cours de l'évolution des formes vivantes, en relation avec les modifications intervenues dans la vitesse de synthèse des protéines, leur taille et leur organisation en domaines [9].

À la recherche de nouveaux chaperons

Tant chez les procaryotes que chez les eucaryotes, la liste des protéines

ayant une fonction chaperon est loin d'être complète. Il n'existe pas de méthodes expérimentales permettant d'attribuer simplement et sans ambiguïté une fonction chaperon à une protéine : prévenir l'agrégation des protéines, augmenter leur taux de renaturation *in vitro* ne démontrent pas une action de chaperon *in vivo* ; à l'inverse, l'absence d'effets observés peut résulter simplement du mauvais choix des cibles. La présomption la plus forte qu'une protéine a une fonction de chaperon reste, encore aujourd'hui, le fait que cette protéine est induite dans les conditions de stress. Un certain nombre de protéines peuvent avoir une fonction de chaperon, en plus de leurs fonctions propres : c'est le cas des peptidyl-prolyl-isomérases (tel le *trigger factor*) et des protéines disulfides isomérases – deux activités enzymatiques indispensables au repliement de certaines protéines –, ou de la protéine périplasmique d'*E. coli*, *degP*, qui se comporte comme un chaperon à

basse température et comme une protéase à haute température [10]. En outre, il existe une redondance fonctionnelle partielle qui masque l'action individuelle de chaque chaperon et en rend la découverte plus difficile. Citons quelques exemples de chaperons, identifiés récemment, pour en montrer la diversité des localisations et des cibles : Hsp33, dont l'activité de chaperon bactérien est activée après un stress oxydant [11]; Gp31, co-chaperon codé par le bactériophage T4, qui se substitue à GroES pour agrandir la cage d'Anfinsen de la chaperonine GroEL et lui permettre de chaperonner efficacement la protéine majeure de capsid du phage, Gp23 [12]; la préfoldine, qui se fixe aux chaînes naissantes d'actine et de tubuline et les transfère à la chaperonine TRiC [13]; RAP, présente dans le réticulum, qui a une action de chaperon spécialisé vis-à-vis de certains récepteurs des lipoprotéines de basse densité (LDL) [14]; HSP70-2, indispensable à la spermatogenèse par son action spécifique de chaperonage de la *cdc2* kinase [15].

Les « points chauds » des recherches

Outre les très nombreux travaux visant à préciser la fonction de chaperon au niveau atomique, trois lignes de recherches nous semblent particulièrement actives.

1. La caractérisation du rôle des chaperons dans la dégradation des protéines. Il était logique d'imaginer que la dégradation devait suivre l'échec d'une action de chaperonage ; les données génétiques avaient d'ailleurs montré l'implication des chaperons dans la dégradation des protéines. Ces dernières années, différents mécanismes moléculaires précis sont venus confirmer ce rôle en montrant comment l'activité dépliante des chaperons était utilisée pour présenter la protéine à dégrader aux systèmes protéolytiques [16, 17]. Certaines protéases possèdent d'ailleurs elles-mêmes un domaine protéique leur conférant une activité chaperon [18]. C'est le cas, par exemple, du protéasome 26S.

2. La recherche de l'activité « intégrative » de certains chaperons. HSP90 a, en association avec un ensemble complexe d'autres chaperons et co-

chaperons (*m/s* 1990, n° 10, p. 1022) [19], une action de chaperon mi-spécialisé pour un certain nombre de facteurs de transcription, de protéine kinases appartenant aux voies de signalisation, mais aussi pour la télomérase [20] ou l'enzyme qui synthétise le monoxyde d'azote [21]. L'action de la HSP90 peut être aisément mise en évidence grâce à des inhibiteurs spécialisés comme la geldanamycine. Les petites HSP, comme HSP25, interviennent dans le contrôle de la taille des filaments d'actine, de la structure des filaments intermédiaires mais aussi dans l'inactivation des espèces actives de l'oxygène ou l'inhibition de la mort cellulaire [22]. Suzanne Rutherford et Susan Lindquist ont fait l'hypothèse selon laquelle la HSP90 pourrait, par son action pléiotrope, tamponner un certain nombre de mutations dans les gènes codant pour des composants des voies de signalisation utilisées lors du développement embryonnaire et, de cette manière, servir au cours de l'évolution d'accumulateur de mutations, créant une réserve pour des situations de stress nécessitant une adaptation rapide à de nouvelles conditions de milieu [23].

3. Enfin, de très nombreuses maladies, en particulier, mais pas uniquement, neuro-dégénératives, semblent liées à l'accumulation de protéines de structure anormale, ayant tendance à s'agréger. Une affection de ce type, associée à une cataracte congénitale, une myopathie et une cardiomyopathie liées à la formation d'agrégats d'une protéine de filaments intermédiaires abondante dans les cellules musculaires, la desmine, résulte d'une mutation ponctuelle dans le gène codant pour l' α B-cristalline, un des membres de la famille des petites HSP [24]. Si certaines de ces maladies sont ainsi dues à un défaut de fonctionnement des chaperons moléculaires, il serait envisageable de lutter contre elles en augmentant l'activité de certains chaperons : la surexpression de la HSP40 diminue, dans un système cellulaire modèle, la formation d'agrégats d'ataxie-1, que l'on observe chez les

malades atteints de l'ataxie cérébelleuse de type 1 [25]. Le chemin qui ira de ces expériences *ex vivo* à la correction de la maladie *in vivo* est sans doute encore long car le rôle des chaperons dans ces processus pathologiques pourrait être ambigu : ils pourraient aussi, comme dans le cas de certains modèles des maladies causées par les agents pathogènes de type « prions », favoriser l'apparition des états intermédiaires instables, prompts à s'agréger [26] ■

RÉFÉRENCES

1. Ellis RJ, Hemmingsen SM. Molecular chaperones: proteins essential for the biogenesis of some macromolecular structures. *Trends Biochem Sci* 1989; 14: 339-42.
2. Bukau B, Horwich AL. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell* 1998; 92: 351-66.
3. Shtilerman M, Lorimer GH, Englander SW. Chaperonin function: folding by forced unfolding. *Science* 1999; 284: 822-5.
4. Rye HS, Roseman AM, Chen S, et al. GroEL-GroES cycling: ATP and nonnative polypeptide direct alternation of folding-active rings. *Cell* 1999; 97: 325-38.
5. Teter SA, Houry WA, Ang D, et al. Polypeptide flux through bacterial Hsp70: DnaK cooperates with trigger factor in chaperoning nascent chains. *Cell* 1999; 97: 755-65.
6. Ewalt KL, Hendrick JP, Houry WA, Hartl FU. *In vivo* observation of polypeptide flux through the bacterial chaperonin system. *Cell* 1997; 90: 491-500.
7. Helenius A, Trombetta ES, Hebert DN, Simons JF. Calnexin, calreticulin and the folding of glycoproteins. *Trends Cell Biol* 1997; 7: 193-200.
8. Voisine C, Craig EA, Zufall N, et al. The protein import motor of mitochondria: unfolding and trapping of preproteins are distinct and separable functions of matrix Hsp70. *Cell* 1999; 97: 565-74.
9. Netzer WJ, Hartl FU. Recombination of protein domains facilitated by co-translational folding in eukaryotes. *Nature* 1997; 388: 343-9.
10. Spiess C, Beil A, Ehrmann M. A temperature-dependent switch from chaperone to protease in a widely conserved heat shock protein. *Cell* 1999; 97: 339-47.
11. Jakob U, Muse W, Eser M, Bardwell JCA. Chaperone activity with a redox switch. *Cell* 1999; 96: 341-52.
12. Hunt JF, van der Vies SM, Henry L, Deisenhofer J. Structural adaptations in the specialized bacteriophage T4 co-chaperonin Gp31 expand the size of the Anfinsen cage. *Cell* 1997; 90: 361-71.
13. Hansen WJ, Cowan NJ, Welch WJ. Prefoldin-nascent chain complexes in the folding of cytoskeletal proteins. *J Cell Biol* 1999; 145: 265-77.
14. Bu G, Schwartz AL. RAP, a novel type of ER chaperone. *Trends Cell Biol* 1998; 8: 272-6.
15. Zhu D., Dix DJ, Eddy EM. HSP70-2 is required for CDC2 kinase in meiosis I of mouse spermatocytes. *Development* 1997; 124: 3007-14.
16. Gottesman S, Wickner S, Maurizi MR. Protein quality control: triage by chaperones and proteases. *Genes Dev* 1997; 11: 815-23.
17. Weber-Ban EU, Reid BG, Miranker AD, Horwich AL. Global unfolding of a substrate protein by the Hsp100 chaperone ClpA. *Nature* 1999; 401: 90-3.
18. Leonhard K, Stiegler A, Neupert W, Langer T. Chaperone-like activity of the AAA domain of the yeast Yme1 AAA protease. *Nature* 1999; 398: 348-51.
19. Caplan AJ. Hsp90's secrets unfold: new insights from structural and functional studies. *Trends Cell Biol* 1999; 9: 262-8.
20. Holt SE, Aisner DL, Baur J, et al. Functional requirement of p23 and Hsp90 in telomerase complexes. *Genes Dev* 1999; 13: 817-26.
21. Garcia-Cardena G, Fan R, Shah V, et al. Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by Hsp90. *Nature* 1998; 392: 821-4.
22. Arrigo AP, Préville X. Role of Hsp27 and related proteins. In: Latchman DS, ed. *Stress proteins. Handbook of experimental pharmacology* 1999; 136: 101-32.
23. Rutherford SL, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature* 1998; 396: 336-42.
24. Vicart P, Caron A, Guicheney P, et al. A missense mutation in the α B-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. *Nat Genet* 1998; 20: 92-5.
25. Cummings CJ, Mancini MA, Antalffy B, et al. Chaperone suppression of aggregation and altered subcellular proteasome localization imply protein misfolding in SCA1. *Nat Genet* 1998; 19: 148-54.
26. Chernoff YO, Lindquist SL, Ono B, et al. Role of the chaperone protein Hsp104 in propagation of the yeast prion-like factor (*psi*⁺). *Science* 1995; 268: 880-4.

m/s2000**Summary****Chaperone proteins**

The chaperone function was only discovered ten years ago. Chaperones assist protein folding and participate in protein deaggregation. The mechanism of action of the main chaperones involved in protein folding in bacteria is now well understood. HSP70 and HSP40 (DnaK and DnaJ) bind to the nascent polypeptide chains whereas the chaperonin GroEL-GroES functions as a two-stroke motor to extract partially-folded proteins from dead-ends and to provide them an hydrophilic « Anfinsen cage » where to fold quietly. The function of the chaperones in the different compartments of an eukaryotic cell is less well understood. Many other chaperones have been characterized, both in prokaryotes and in eukaryotes, which have a more limited number of targets. Many other proteins have a chaperone function, in addition to another function such as a protease activity. The list of chaperones is far from being closed. Chaperones might also participate by their pleiotropic action to the « buffering » of mutations. The role of chaperones in molecular pathologies and the possibility to manipulate them is now under extensive study.