

Le monde des prions est-il infini ?

La levure *Saccharomyces cerevisiae* offre deux modèles exemplaires d'hérédité non mendélienne de type prion. L'un d'eux, le phénotype [PSI+] se traduit par une baisse de l'efficacité de terminaison de la traduction des ARNm. Il est dû à une altération de la protéine Sup35p, un facteur de terminaison de la traduction homologue au facteur d'élongation EF-1 α . Les propriétés génétiques de [PSI+] présentent toutes les caractéristiques d'un mécanisme d'automodification de type prion. Dans ce cadre, Sup35p basculerait dans un état inactif pouvant transmettre cette inactivation aux autres protéines par un mécanisme post-traductionnel (*m/s* 1999, n° 1, p. 97). Sup35p, produit du gène *SUP35*, est constituée de trois domaines (figure 1) : le domaine amino-terminal (N) joue un rôle critique dans la formation et la propagation du phénotype [PSI+] et donc dans le mécanisme de type « prion » ; le domaine catalytique carboxy-terminal (C) assure l'activité de terminai-

son de traduction, et la région médiane (M) est une zone charnière qui relie les deux domaines amino- et carboxy-terminal.

Depuis plusieurs années, le phénotype [PSI+] a été analysé sur le plan biochimique de manière très approfondie. Il correspond à une modification structurale de Sup35p induisant une agrégation de la protéine. Cette propriété a été démontrée *in vivo* par des expériences de fractionnement cellulaire et par la détection de la fluorescence de protéines issues de la fusion génique de *SUP35* avec la phase ouverte de la GFP (*green fluorescent protein*). *In vitro*, la protéine, normalement soluble, peut former des fibres amyloïdes insolubles par un mécanisme de polymérisation. Dans les deux cas, c'est le domaine amino-terminal de la protéine qui permet son agrégation.

Plus récemment, plusieurs groupes ont précisé l'importance de ce domaine dans les mécanismes d'apparition des prions et confirmé

l'hypothèse selon laquelle les prions sont probablement assez répandus dans la nature, du moins chez la levure [1-4].

Le groupe de S. Linquist avait formulé l'hypothèse selon laquelle de nouveaux prions pouvaient être créés en utilisant le domaine N-terminal de Sup35p. Leurs premiers résultats étaient cependant négatifs puisqu'une protéine de fusion entre le domaine NM de Sup35p et la luciférase n'avait pas de propriété prion. Le même groupe vient de démontrer la création d'un nouveau prion en fusionnant le domaine NM de Sup35p au récepteur des glucocorticoïdes [1]. L'activité transcriptionnelle de cette protéine, exprimée dans *S. cerevisiae*, a été déterminée par sa capacité à induire l'expression d'un gène rapporteur lacZ. Les auteurs montrent que la protéine hybride est fonctionnelle mais peut basculer dans un état inactif qui se propage secondairement aux protéines nouvellement synthétisées. L'état inactif est transmissible aux cellules filles sur un mode dominant. Enfin, on observe une réversibilité entre l'état inactif et actif qui se produit avec une fréquence inférieure à 1 %. Toutes ces caractéristiques de transmission sont semblables à celles de [PSI+]. Toutefois, le phénotype observé est très différent et correspond au domaine fonctionnel de la protéine hybride, ici le récepteur glucocorticoïde. Ces résultats montrent donc que le domaine NM de Sup35p, transféré à une protéine totalement différente de la protéine native, peut transmettre à celle-ci les propriétés d'un prion.

Ce caractère modulaire de la protéine Sup35p a été utilisé pour étudier les propriétés prion de gènes orthologues de *SUP35* dans sept autres espèces de levures [2, 3]. La séquence codant pour le domaine C-terminal de ces protéines étant très

			Complémentation fonctionnelle	Agrégation <i>in vitro</i>	Agrégation <i>in vivo</i>
N	M	C			
			Oui	Oui	Oui
			Non	Oui	Oui
			Non	Oui	Oui
			Oui	Non	Non

Figure 1. **Structure de la protéine Sup35p.** La protéine Sup35p comprend trois domaines. Le domaine N-terminal (blanc), qui contient 43 % de résidus glutamine et asparagine, peut polymériser *in vitro* et s'agréger *in vivo*. Le domaine M (gris) est une région charnière entre le domaine amino-terminal et le domaine C-terminal catalytique (rouge). Seul le domaine carboxy-terminal peut compléter un mutant du gène *SUP35*, mais il ne peut en revanche propager le phénotype [PSI+].

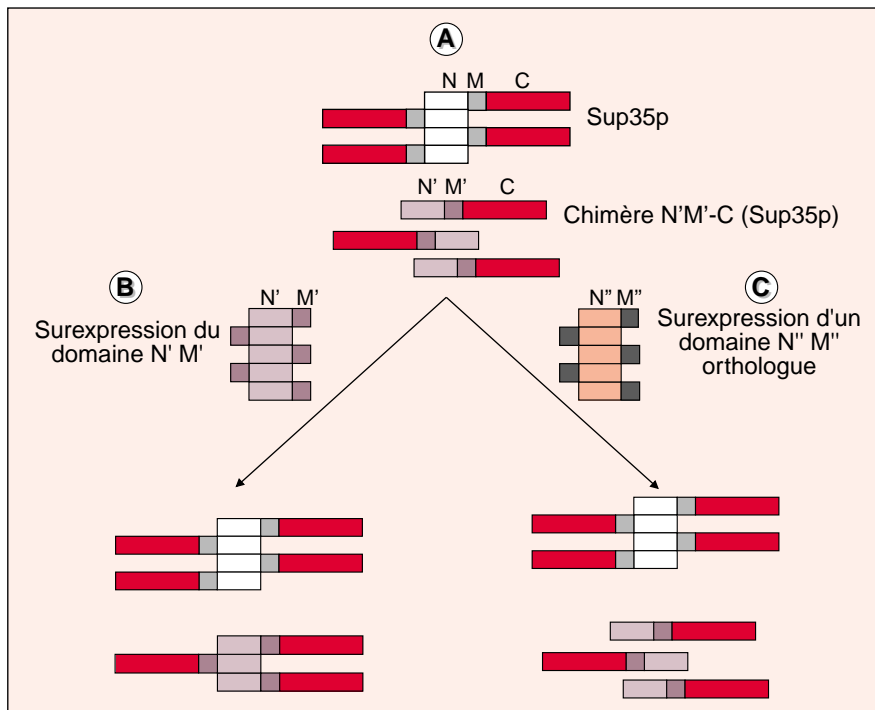


Figure 2. **Chimères contenant le domaine Sup35p.** **A.** Une protéine chimère entre le domaine C de Sup35p et le domaine N'M' d'une autre espèce de levure, exprimée dans la levure [PSI+], n'est pas inactivée par les agrégats endogènes de Sup35p. **B.** Elle est en revanche inactivée par la surexpression de son domaine N'M'. Le mécanisme de cette inactivation est la formation d'agrégats distincts de ceux formés par la protéine Sup35p. **C.** La surexpression d'un domaine N''M'' orthologue d'une troisième espèce de levure n'a aucun effet.

conservée, le groupe de J.S. Weissman a pu facilement isoler leur domaine N-terminal et créer des chimères contenant ce domaine et le domaine C terminal de Sup35p de *Saccharomyces cerevisiae* (figure 2). Les protéines chimériques exprimées dans la levure [PSI+] sont toutes fonctionnelles, ce qui suggère qu'elles ne sont pas inactivées par les agrégats endogènes de Sup35p. Elles peuvent cependant spontanément basculer dans un état inactif équivalent de [PSI+]. On sait que le phénotype [PSI+] est fortement induit si le domaine NM de Sup35p de *S. cerevisiae* est surexprimé. De façon semblable, ces nouveaux prions sont inductibles par la surexpression du domaine NM de l'orthologue étudié. En revanche, la surexpression de domaines NM d'autres espèces n'a aucune influence sur l'apparition du phénotype prion. Cette propriété est décrite par les

auteurs comme une barrière d'espèce puisque le domaine NM d'une espèce donnée ne peut induire l'inactivation d'une protéine chimère contenant le domaine NM d'une autre espèce. L'inactivation fonctionnelle de ces nouveaux prions semble due, comme pour Sup35p de *S. cerevisiae*, à une agrégation impliquant exclusivement leur domaine NM, puisque si celui-ci est fusionné à la GFP, on observe la formation d'agrégats *in vivo*. Ces agrégats sont cependant distincts de ceux formés avec le domaine NM de Sup35p de *Saccharomyces cerevisiae*. De même, *in vitro*, le domaine NM de *Candida albicans* peut former spontanément des fibres amyloïdes, mais celles-ci ne peuvent initier la polymérisation ordonnée de Sup35p de *Saccharomyces cerevisiae*.

Ces résultats montrent donc que les domaines NM d'orthologues de SUP35 sont capables d'inactiver, par un méca-

nisme d'agrégation auto-catalytique, le domaine catalytique de Sup35p de *S. cerevisiae*. Tous ces domaines possèdent une caractéristique commune: leur très grande richesse en glutamine et asparagine. Ceci suggère que ce simple critère de structure primaire pourrait suffire à assurer à une protéine un caractère de prion.

Pour documenter ce problème, deux gènes (YPL226W et RNQ1) ont été choisis dans les banques de données sur ces critères [3, 4]. Des protéines chimères contenant le domaine catalytique C de Sup35p et les domaines riches en glutamine/asparagine des protéines issues de ces gènes ont été construites afin d'étudier leurs capacités à basculer dans l'état inactif [PSI+]. Cette propriété fut retrouvée dans les deux cas! De façon encore plus surprenante, la protéine Rnq1p était de fait un nouveau prion de la levure. Cette protéine a été choisie car elle possède un domaine (dans ce cas précis, situé dans la région carboxy-terminale de la protéine) particulièrement riche en glutamine et asparagine. Des expériences semblables à celles décrites précédemment montrent que ce domaine a les mêmes caractéristiques que les domaines NM des gènes orthologues de SUP35. De plus, sa surexpression entraîne l'agrégation de Rnq1p, agrégation qui se transmet de façon dominante.

Il apparaît donc qu'un plus grand nombre de protéines pourraient être considérées comme des prions si on prend comme critère l'existence d'un domaine fonctionnellement équivalent au domaine NM de Sup35p. Les comparaisons de séquences augurent dans ce cas de l'existence de plusieurs dizaines de prions potentiels chez *Saccharomyces cerevisiae*.

En conclusion, l'ensemble de ces données apportent des éléments majeurs à la compréhension des mécanismes moléculaires d'apparition et de maintien des prions de levures. Ces données sont cependant difficilement généralisables aux prions de mammifères. Force est de constater que si l'on appliquait les critères de définition d'un prion de levure à la protéine Prp, qui est à la base du paradigme prion, celle-ci risquerait de ne plus faire partie du monde des prions (m/s 1999, n° 6-7,

p. 909) puisque cette protéine ne présente pas de biais particulier en glutamine/asparagine.

Les questions qui demeurent maintenant sont de savoir combien de « prions » peuvent co-exister dans un organisme comme *Saccharomyces cerevisiae*. Quels rôles ces prions assurent-ils ? Plus généralement, combien de protéines prion peut-on trouver dans le monde du vivant et quels différents mécanismes peuvent expliquer

les propriétés d'apparition et de maintien de ces prions ? Enfin la liaison entre agrégation *in vivo*, formation d'amyloïdes *in vitro* et phénotype prion reste largement à éclairer.

1. Li L, Lindquist S. Creating a protein-based element of inheritance. *Science* 2000; 287: 661-4.
2. Kushnirov VV, Kochneva-Pervukhova NV, Chenchova MB, Frolova NS, Ter-Avanesyan MD. Prion properties of the sup35 protein of yeast *Pichia methanolica*. *Embo J* 2000; 19: 324-31.

3. Santoso A, Chien P, Osherovich LZ, Weissman JS. Molecular basis of a yeast prion species barrier. *Cell* 2000; 100: 277-88.

4. Sondheimer N, Lindquist S. Rnq1: an epigenetic modifier of protein function in yeast. *Mol Cell* 2000; 5: 163-72.

Christophe Cullin

Laboratoire d'hérédité structurale, CGM, Campus du Cnrs, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Et si nous nous étions trompés sur les mitochondries ?** Chez les mammifères, il est unanimement admis qu'au cours de la reproduction, les mitochondries sont transmises uniquement par la mère, de façon clonale, et sans recombinaison. Et bon nombre de travaux sur l'origine de l'homme et son essaimage à travers le monde (*m/s* 1995, n° 5, p. 788; 1996, n° 8-9, p. 1009 et 2000, n° 3, p. 450) reposent du reste sur cette assertion. Une équipe anglaise vient de mettre en doute ce concept fondamental grâce à l'étude des déséquilibres de liaison de certains polymorphismes de l'ADN mitochondrial (ADNmt) [1]. Dans l'ADN nucléaire, des déséquilibres de liaison (DL), c'est-à-dire l'association préférentielle de deux allèles assez proches sur un même chromosome (en *cis*) sont observés dans certaines populations. Mais, en situation de panmixie (unions au hasard) les DL tendent à diminuer. Plus la distance entre deux locus liés est grande, plus le DL diminuera rapidement. La probabilité de recombinaison entre deux locus dépend, en effet, de la distance existant entre ceux-ci (quoique de façon non exclusive) et des formules mathématiques permettent de calculer ces situations d'évolution des équilibres géniques dans les popula-

tions. Sur le génome mitochondrial, génome circulaire de 26569 paires de bases, il est possible de repérer des DL dans la répartition de certaines bases plus ou moins distantes les unes des autres. Dans cette étude, le choix des sites étudiés a porté sur des codons synonymes, puisque, dans ce cas, aucune sélection ne devrait s'exercer. Or, dans des groupes humains d'origine différente (147 sujets), les analyses ont montré que les DL avaient tendance à diminuer, et que la diminution était corrélée à la distance entre les sites, exactement comme s'il se produisait des recombinaisons. Les mêmes résultats ont été obtenus chez des chimpanzés, sur des variants d'une sous-unité d'une enzyme (sous-unité 2 de la nicotinamide adénine dinucléotide déshydrogénase) et des séquences d'une région de contrôle. La remise en cause de ce concept mérite d'être examinée avec circonspection. Les mêmes auteurs avaient déjà suggéré cette possibilité de recombinaison de l'ADNmt [2, 3], mais des doutes avaient été émis sur la validité de certains résultats. Il existe pourtant des éléments en faveur de ce mécanisme: (1) la mitochondrie possède les enzymes nécessaires à la recombinaison homologue; (2) on trouve des copies de séquences d'ADNmt

dans le génome nucléaire; (3) enfin, on sait que des mitochondries d'origine paternelle pénètrent dans le zygote au moment de la fécondation, mais elles sont ubiquitinylées, donc vouées à la destruction, probablement au stade préimplantatoire. Mais le sont-elles toutes ? et en toutes circonstances ? Il a été démontré que chez les hybrides (aussi bien bovins [4] que murins [5]), les mitochondries paternelles sont encore présentes au cours des premières divisions embryonnaires. Et qu'en est-il de la survie des mitochondries paternelles dans les fécondations humaines obtenues par micro-injection de spermatozoïdes, voire de spermatozoïdes [6] ? Autant d'interrogations pour l'an 2000.

[1. Awadalla P, *et al.* *Science* 1999; 286: 2524-7.]

[2. Eyre-Walker A, *et al.* *Proc R Soc London Ser B Biol Sci* 1999; 266: 477-83.]

[3. Hagelberg E, *et al.* *Proc R Soc London Ser B Biol Sci* 1999; 266: 485-92.]

[4. Sutovsky P, *et al.* *Nat Genet* 1999; 402: 371-2.]

[5. Kaneda H, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4542-6.]

[6. Barrit J, *et al.* *Fertil Steril* 1999; 72: 31-2.]