

Explorer de nouveaux domaines SH2/SH3

L'importance des domaines SH2 et SH3 (Src homology region) dans la transduction des signaux passant par des tyrosine kinases est devenu jour après jour plus évidente. A partir de quelques exemples de protéines possédant ces domaines, ce dossier décrit les réactifs permettant de reconnaître de telles structures.

Les domaines SH2 (qui tirent leur nom de *src homology region 2*) ont été identifiés pour la première fois par Hanafusa, Pawson *et al.* comme étant des régions non catalytiques d'environ 100 acides aminés, au sein de tyrosine kinases ne correspondant pas à des récepteurs [1, 2].

Les domaines SH2 sont présents dans un très grand nombre d'importantes protéines de signalisation cytoplasmique, comme GAP, phospholipase C γ -1 et la sous-unité (non catalytique) p85 de la phosphatidyl inositol (PI) 3'-kinase [3-5] (*m/s* n° 4, vol. 8, p. 47 et n° 10, vol. 8, p. 1097).

Les domaines SH2 ont été également identifiés dans les oncoprotéines *v-crk* et *vav* [2, 6, 7].

Les protéines comprenant des sites SH2 contiennent aussi, fréquemment, un second élément structural hautement conservé, le domaine SH3, qui est impliqué dans la régulation des interactions spécifiques protéine-protéine [8].

Les protéines comprenant des sites SH2/SH3 sont des composants

essentiels des voies de transduction du signal dans des cellules activées, les sites SH2/SH3 étant impliqués dans les interactions entre les protéines tyrosine kinases et leurs substrats (*m/s* n° 10, vol. 8, p. 1097).

La liaison des facteurs de croissance à leurs récepteurs induit souvent une dimérisation, une stimulation de l'activité de la kinase et une phosphorylation de résidus tyrosine spécifiques dans le récepteur et les autres substrats. Les domaines SH2 se lient spécifiquement à ces régions phosphorylées des récepteurs tyrosine kinases [4, 7, 9, 10].

L'affinité de liaison d'un domaine SH2 pour un récepteur particulier dépend non seulement de la présence d'un résidu phosphotyrosine, mais également de la séquence d'acides aminés qui entoure ce résidu. Donc, différentes protéines contenant des domaines SH2 inter-réagiront avec des séquences du récepteur contenant des phosphotyrosines distinctes, formant ainsi plusieurs complexes fonctionnels.

Brian Moore
Département scientifique, Oncogène Science Inc.

Gérard Seroussi
Président, Oncogène Science SA.

Bruno Jochim
Département scientifique, Oncogène Science SA, 18, rue Goubet, 75019 Paris, France.

TIRÉS A PART

G. Seroussi.

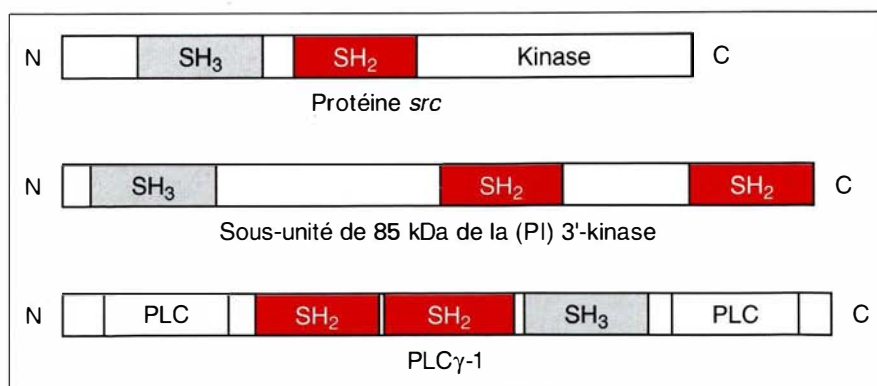


Figure 1. Domaines SH2 et SH3 de p60^{src}, p85 de la (PI) 3'-kinase et de la phosphatase C γ -1.

Domaine SH2 *src*

L'interaction entre le domaine SH2 *src* et les molécules de tyrosine phosphorylées impliquées dans la transduction des signaux a été largement documentée.

Comme le montre la *figure 1*, la protéine *src* contient un domaine SH2 et un domaine SH3.

On sait que le domaine SH2 se lie à un nombre de substrats différents, selon le type de cellule et la nature du *stimulus* d'activation.

Quoique la présence du domaine SH2 ne soit pas requise pour l'activité de la kinase de la protéine p60^{c-src}, les délétions ou mutations dans cette région inhibent la capacité de transformation phénotypique induite par la protéine [1, 11, 12].

Domaine SH2 p85 (C-terminal)

La (PI) 3'-kinase est une enzyme importante dans la régulation de la croissance cellulaire.

La kinase se compose de deux sous-unités de 85 et 100 kDa. La sous-unité de 85 kDa, qui interagit de façon spécifique avec le récepteur du PDGF (PDGF-R) [9, 13-16], contient deux domaines SH2 et un domaine SH3 (*figure 1*).

La partie C-terminale du domaine SH2 de la sous-unité p85 peut se lier à un certain nombre de protéines différentes, incluant : les récepteurs du PDGF et de l'EGF, et IRS-1 (*m/s n° 10, vol. 8, p. 1097*).

L'interaction de la partie C-terminale du domaine SH2 de la protéine p85 et du PDGF-R se produit sur le site d'autophosphorylation dans la région kinase [13, 15]. La délétion ou la mutation de cette région supprime toutes les liaisons avec la (PI) 3'-kinase, même si d'autres sites phosphorylés existent dans la molécule [16].

Domaine SH2 PLC γ -1 (N-terminal)

La phospholipase γ -1 (PLC γ -1) joue un rôle important dans la transduction du signal en hydrolysant les phospholipides inositols et en engendrant les phosphates inositols et diacylglycérols.

La PLC γ -1 lie les récepteurs de

l'EGF-R et du PDGF-R grâce à ses deux domaines SH2 (*figure 1*).

Une des interactions les mieux étudiées est celle qui existe entre PLC γ -1 et le récepteur EGF-R [4-10].

Un récepteur mutant négatif pour l'activité kinase va se lier à PLC γ -1 uniquement s'il a été transphosphorylé par une protéine récepteur de type sauvage, laissant supposer que le domaine kinase en tant que tel n'est pas directement impliqué dans la liaison au domaine SH2 [10].

La partie N-terminale du domaine SH2 est plus efficace que la partie C-terminale dans la liaison au récepteur de l'EGF, mais les domaines agissent de façon synergique et ensemble, augmentent la liaison par rapport aux domaines SH2 individuels.

Discussion

La surexpression et l'activation des récepteurs tyrosine kinases et des oncogènes dotés d'une activité tyrosine kinase ont été abondamment documentées dans de nombreux cancers. Les élévations des niveaux de kinases ont été observées dans les cancers du sein, les épithéliomas spinocellulaires, les cancers de l'œsophage, les cancers de la vessie et les carcinomes gastriques métastatiques (EGF-R) [17-21], dans les tumeurs carcinoïdes gastro-intestinales, les cancers de la prostate et les cancers du sein [22, 24] (PDGF-R) et enfin dans les cancers du côlon (*src*) [25-28].

La différenciation des cellules et des tissus dépend des *stimuli* du milieu extérieur. Ces signes avertisseurs vont agir à travers le processus des signaux de transduction mettant en cause toute une famille de protéines contenant des sites SH2/SH3.

En clair, la compréhension des mécanismes par lesquels les facteurs de différenciation et de croissance cellulaires aboutissent aux signaux mitogéniques spécifiques permettra de mieux comprendre les questions fondamentales liées aux signaux cellulaires.

Les réactifs contenant des domaines SH2/SH3 offrent donc une nou-

velle approche dans l'étude des processus de signalisation opérationnelle dans toutes les cellules ■

RÉFÉRENCES

1. Pawson T, Gish G. SH2 and SH3 domains : from structure to function. *Cell* 1992 ; 17 : 359-62.
2. Mayer BJ, Hamaguchi M, Hanafusa H. A novel viral oncogene with structural similarity to phospholipase C. *Nature* 1988 ; 332 : 272-5.
3. Koch CA, Moran MF, Anderson D, Liu X, Mbamalu G, Pawson T. Multiple SH2-mediated interactions in v-src transformed cells. *Mol Cell Biol* 1993 (sous presse).
4. Anderson D, Koch CA, Grey L, Ellis C, Moran MF, Pawson T. Binding of SH2 domains of phospholipase C γ 1 GAP, and Src to activated growth factor receptors. *Science* 1990 ; 250 : 979-82.
5. Davis S, Lu ML, Lo SH, Butler JA, Drucker BJ, Robersts TM, An Q, Chen LB. Presence of an SH2 domain in the actin-binding protein tensin. *Science* 1991 ; 252 : 712-5.
6. Margolis B, Hu P, Katzav S, Li W, Oliver JM, Ullrich A, Weiss A, Schlessinger J. Tyrosine phosphorylation of vav proto-oncogene product containing SH2 domain and transcription factor motifs. *Nature* 1992 ; 356 : 71-4.
7. Moran MF, Koch CA, Anderson D, Ellis C, England L, Martin GS, Pawson T. Src homology region 2 domains direct protein-protein interactions in signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 8622-6.
8. Clark SG, Stern MJ, Horvitz HR. *C. elegans* cell-signaling gene sem-5 encodes a protein with SH2 and SH3 domains. *Nature* 1992 ; 356 : 340-4.
9. McGlade CJ, Ellis C, Reeldijk M, Anderson D, Mbamalu G, Reith AD, Panayotou G, End P, Berstein A, Kazlauskas A, Waterfield MD, Pawson T. SH2 domains of signaling proteins control specificity of binding to growth factor receptors. *Mol Cell Biol* 1993 (sous presse).
10. Margolis B, Li N, Koch A, Mohammedi M, Hurwitz DR, Ziberstein A, Ullrich A, Pawson T, Schlessinger J. The tyrosine phosphorylated carboxyterminus of the EGF receptor is a binding site for GAP and PLC- γ . *J EMBO* 1990 ; 9 : 4375-80.

11. Cross FR, Garber EA, Hanafusa H. N-terminal deletions in Rous sarcoma virus p60^{src}: effects on tyrosine kinase and biological activities and on recombination in tissue culture with the cellular src gene. *Mol Cell Biol* 1985 ; 5 : 2789-95.
12. Wang HCR, Parsons JT. Deletions and insertions within an amino-terminal domain of pp60^{v-src} inactive transformation and modulate membrane stability. *J Virol* 1989 ; 63 : 291-302.
13. Skolnik EY, Margolis B, Mohammadi M, Lowenstein E, Fischer R, Drepps A, Ullrich A, Schlessinger J. Cloning of P13 kinase-associated p85 utilizing a novel method for expression/cloning of target proteins for receptor tyrosine kinases. *Cell* 1991 ; 65 : 83-90.
14. Escobedo JA, Kaplan DR, Kavanaugh WM, Turck CW, Williams LT. A phosphatidylinositol-3 kinase binds to platelet-derived growth factor receptor through a specific receptor sequence containing phosphotyrosine. *Mol Cell Biol* 1991 ; 11 : 1125-32.
15. Ostu M, Hiles I, Gout I, Fry MJ, Ruiz-Larrea B, Panayotou G, Thompson A, Dhand R, Hsuan J, Totty N, Smith AD, Morgan SJ, Courtneidge SA, Parker PJ, Waterfield MD. Characterization of two 85 kd proteins that associate with receptor tyrosine kinases, middle-T/pp60^{c-src} complexes, and p13-kinase. *Cell* 1991 ; 65 : 91-104.
16. Klippel A, Escobedo JA, Fanti WJ, Williams LT. The C-terminal SH2 domain of p85 accounts for the high affinity and specificity of the binding of phosphatidylinositol-3 kinase to phosphorylated platelet-derived growth factor β receptor. *Mol Cell Biol* 1992 ; 12 : 1451-9.
17. Gullick WJ, Marsden JJ, Whittle N, Ward B, Bobrow L, Waterfield MD. Expression of epidermal growth factor receptors on human cervical ovarian, and vulval carcinomas. *Can Res* 1986 ; 46 : 285-92.
18. Dotzlaw H, Miller T, Karvelas J, Murphy LC. Epidermal growth factor gene expression in human breast cancer biopsy samples: relationship to estrogen and progesterone receptor gene expression. *Cancer Res* 1990 ; 50 : 4204-8.
19. Messing EM. Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Can Res* 1990 ; 50 : 2530-7.
20. Lundy J, Schuss A, Stanick D, McCormack ES, Kramer S, Sorvillo JM. Expression of neu protein, epidermal growth factor receptor, and transforming growth factor α in breast cancer. Correlation with clinicopathologic parameters. *Am J Path* 1991 ; 138 : 1527-34.
21. Morishige K, Kurachi H, Amemiya K, Fujita Y, Yamamoto T, Miyake A, Tanizawa O. Evidence for the involvement of transforming growth factor α and epidermal growth factor receptor autocrine growth mechanism in primary human ovarian cancers *in vitro*. *Can Res* 1991 ; 51 : 5322-8.
22. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 1986 ; 46 : 155-69.
23. Nister M, Hammacher A, Mellstrom K, Siegbahn A, Ronnstrand L, Westermark B, Heldin CH. A glioma-derived PDGF A chain homodimer has different functional activities from a PDGF AB heterodimer purified from human platelets. *Cell* 1988 ; 52 : 791-9.
24. Funa K, Papanicolaou V, Juhlin C, Rastad J, Akerstrom G, Heldin CH, Oberg K. Expression of platelet-derived growth factor β -receptors on stromal tissue cells in human carcinoid tumors. *Cancer Res* 1990 ; 50 : 748-53.
25. Takeshima E, Hamaguchi M, Watanabe T, Akiyama S, Kataoka M, Ohnishi Y, Xiao HY, Nagai Y, Tagaki H. Aberrant elevation of tyrosine-specific phosphorylation in human gastric cancer cells. *Jpn J Can Res* 1991 ; 82 : 1428-35.
26. Miller WH, Dmitrovsky E. Oncogenes and clinical oncology. *Curr Op Oncol* 1991 ; 3 : 65-9.
27. Lundy J, Chen J, Wang P, Fromowitz F, Schuss A, Lynch S, Brugge J, Viola MV. Phenotypic and genetic alterations in pre-cancerous cells in the colon. *Anticancer Res* 1988 ; 8 : 1005-13.
28. Barber HR, Yale J. *Biol Med* 1991 ; 64 : 127-41.

Summary

SH2/SH3 exploration of new domains

SH2 domains have been found in a wide range of non receptor tyrosine kinases, such as GAP, phospholipase C γ -1 and the non catalytic (p85) subunit of phosphotidyl-inositol 3 kinase. SH2 domains appear to be 100 amino-acids regions that bind to phosphorylated regions in growth factor tyrosine kinases. A better understanding of SH2 containing proteins should increase knowledge of the mechanism by which external signalling events effect the growth and differentiation of cells. Reagents with SH2 domains offer a new approach to study fundamental questions linked to signal transduction.