m/s SYNTHÈSE

médecine/sciences 1995 ; 11 : 1389-98

Les hélicases

Les hélicases constituent une grande famille d'enzymes à activité ATPase, impliquées dans le déroulement des doubles brins d'ADN ou d'ARN. Ces protéines sont caractérisées par leurs séquences comportant sept « boîtes » relativement conservées. La région la mieux connue est celle qui permet la liaison et l'hydrolyse de l'ATP. Dans certaines hélicases, spécifiques des ARN, cette séquence conservée contient une séquence « DEAD » qui a permis de définir la famille des *DEAD box proteins*. En revanche, les mécanismes de liaison aux polynucléotides et de déroulement de la double hélice sont moins bien définis. Les rôles qu'assurent les hélicases sont aussi différents que la réplication et la réparation de l'ADN, l'épissage des ARN messagers, la régulation de la transcription et de la traduction... Ces protéines sont ubiquitaires dans leur majorité, mais l'apparition de certaines d'entre elles est réglée au cours du développement ou de la différenciation des cellules germinales. Des études pharmacologiques montrent que des médicaments antihélicases pourraient avoir des effets anticancéreux.

Cécile Toussaint

Parce qu'elle est porteuse de l'information génétique, la double hélice d'ADN doit posséder une structure stable mais, paradoxalement, beaucoup de mécanismes moléculaires tels que la réplication, la transcription et la réparation, requièrent la séparation rapide des deux brins d'ADN. Les hélicases sont des enzymes qui interviennent au niveau de la jonction entre double brin et simple brin d'ADN ; elles catalysent la séparation progressive et régulière des doubles brins *(figure 1)*. Ces enzymes désappairent les deux brins en rompant les liaisons hydrogène entre deux bases complémentaires, contrairement aux topo-isomérases (qui sont des enzymes ayant un rôle dans la relaxation des ADN) qui rompent les liaisons phosphodiester en induisant la cassure d'un seul des

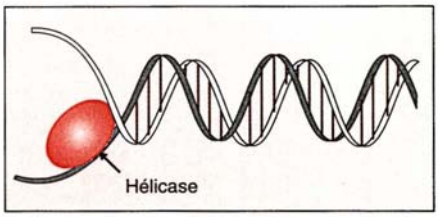

Figure 1. ***Représentation schématique d'une hélicase déroulant une double hélice d'ADN.*** *Les hélicases catalysent la séparation progressive et régulière des deux brins d'ADN en rompant les liaisons hydrogène entre deux bases complémentaires.*

ADRESSE

C. Toussaint : *étudiante en thèse.* Inserm U.99, hôpital Henri-Mondor, 51, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil, France.

deux brins d'ADN (dans le cas d'une topo-isomérase I) ou des deux brins (topo-isomérase II) [1]. Les hélicases sont surtout connues pour leur rôle indispensable dans la progression des fourches de réplication. Tout récemment, on a suggéré qu'elles interviennent dans la décondensation de la chromatine au cours de la réplication. De par leurs propriétés, on imagine bien qu'elles ont un rôle central dans tout le métabolisme impliquant la dissociation des doubles brins d'ADN et d'ARN. On comprend alors l'extrême importance de ces protéines et le nombre croissant d'articles relatant la découverte de nouvelles enzymes. La majorité de ces publications concerne des hélicases potentielles, du fait que ces protéines sont surtout mises en évidence par comparaison de séquences à l'ordinateur. En effet, ces protéines présentent toutes sept motifs relativement conservés représentatifs de cette superfamille. Très peu d'études de fonction ont été réalisées et aucune structure cristallographique, pourtant indispensable à l'étude de la fonction de ces protéines, n'a été publiée.

Cette superfamille de protéines est présente dans tous les organismes vivants connus, puisqu'on en retrouve aussi bien dans les virus (SV40, herpès, adénovirus), les bactéries (le système UvrABCD de *E. coli* est très étudié) que dans les levures (Rad3, Rad 25), la drosophile (Vasa) et les eucaryotes supérieurs tels que le rat, la souris et l'homme. La superfamille des hélicases est actuellement divisée en plusieurs familles (SF1, SF2, SF3, et d'autres) qui diffèrent par leurs séquences [2]. SF1 comporte une cinquantaine de protéines, SF2 une centaine dont des protéines procaryotes, eucaryotes et virales (données jusqu'en 1993). Les études de ces protéines se sont révélées compliquées principalement du fait de la présence de plusieurs activités hélicase semblables et capables de se complémenter dans la cellule, et du fonctionnement de nombreuses hélicases sous forme de complexes protéiques [3]. On suppose que les hélicases fonctionnent en structures oligomériques, formant des homopolymères hélicase-hélicase ou hétéropolymères hélicase-polymérase ou -primase. Cette oligomérisation permet de proposer plusieurs modèles pour le fonctionnement des hélicases, impliquant des interactions hélicases-simple brin et/ou doubles brins [3].

Activités des hélicases

Mesure de l'activité déroulante des hélicases

Les hélicases sont tout d'abord caractérisées par leur propriété de déroulement des polynucléotides double brin. Puisque la majorité de ces protéines ont été caractérisées par analogie de séquence, il est nécessaire de déterminer s'il s'agit bien d'une hélicase. Pour cela, il existe un test simple : un polynucléotide doubles brins (ADN ou ARN) est mis en présence de la protéine qui est susceptible de posséder une activité hélicase. Les brins sont ensuite séparés sur gel non dénaturant. Les résultats de la migration sont comparés au double brin non dénaturé et au double brin dénaturé à 90 °C. Si la protéine possède la propriété de dissocier le double brin, la forme simple brin apparaîtra *(figure 2)* [4]. En utilisant différentes structures, des doubles brins ADN, ou ARN, ou ayant des extrémités dépassantes 5' ou 3' *(figure 2, C)*, il est possible de déterminer la spécificité et le sens de déplacement de l'hélicase le long de la molécule. Cette technique permet donc de déterminer si l'hélicase est bidirectionnelle, si elle se fixe sur une extrémité 5' ou 3' dépassante et se déplace dans une seule direction ou encore de connaître sa spécificité pour un polynucléotide.

Une autre application de ces techniques est la détermination de la taille minimale de l'ARN ou de l'ADN qui est fixé sur la protéine : des fragments d'ARN radioactifs de différentes tailles sont mis en présence de la protéine. Les fragments dont la taille est suffisante pour que la protéine s'y fixe forment un complexe ARN-protéine alors que les fragments trop courts sont séparés par migration sur gel. Cette étude permet de conclure qu'une hélicase se fixe sur un fragment d'ARN dont la taille minimale est de 17 paires de bases [5].

RÉFÉRENCES

1. Duguet M, Riou J. De la topologie de l'ADN aux médicaments antibiotiques et anticancéreux. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 962-72.

2. Gorbalenya AE, Koonin EV. Helicases : amino-acid sequence comparisons and structure-function relationships. *Curr Op Struct Biol* 1993 ; 3 : 419-29.

3. Lohman TM. Helicase-catalysed DNA unwinding. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 2269-72.

4. Pause A, Sonenberg N. Mutational analysis of a DEAD box RNA helicase : the mammalian translation initiation factor eIF-4A. *EMBO J* 1992 ; 11 : 2643-54.

5. Zhang S, Grosse F. Nuclear DNA helicase II unwinds both DNA and RNA. *Biochemistry* 1994 ; 33 : 3906-12.

6. Nielsen PJ, McMaster GK, Trachsel H. Cloning of eucaryotic protein synthesis initiation factor genes : isolation and characterization of cDNA clones encoding factor eIF-4A. *Nucleic Acids Res* 1985 ; 13 : 6867-80.

7. Linder P, Lasko PF, Leroy P, *et al.* Birth of the DEAD box. *Nature* 1989 ; 337 : 121-2.

8. Chang TJA, Abelson J. Identification of five putative yeast RNA helicase genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 1571-5.

9. Walker JE, Saraste M, Runswick MJ, Gay NJ. Distantly related sequences in the α- and β-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *EMBO J* 1982 ; 8 : 945-51.

10. Pause A, Methot N, Sonenberg N. The HRIGRXXR region of the DEAD box RNA helicase eucaryotic translation initiation factor 4A is required for RNA binding and ATP hydrolysis. *Mol Cell Biol* 1993 ; 13 : 6789-98.

11. Martinez R, Shao L, Weller SK. The conserved helicase motif of the herpes simplex virus type 1 origin-binding protein UL9 are important for function. *J Virol* 1992 ; 66 : 6735-46.

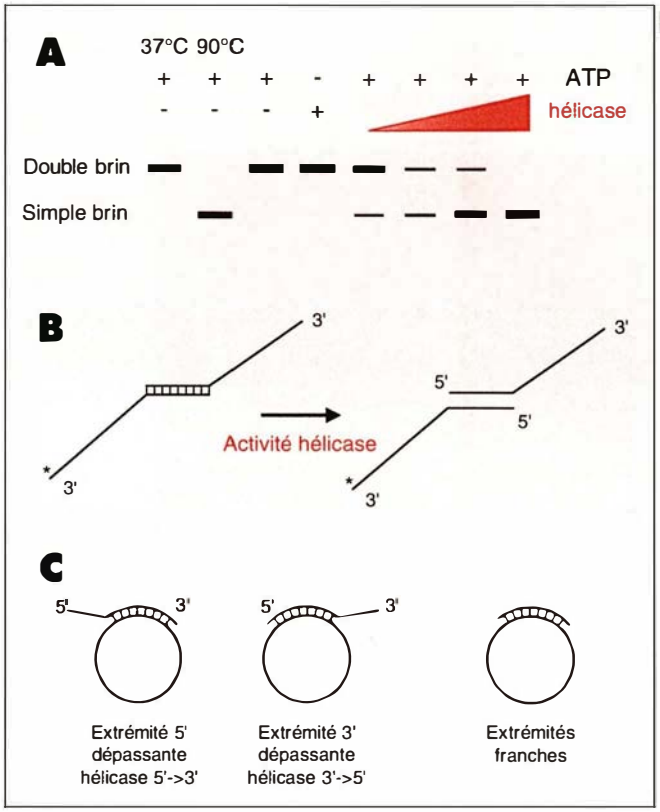

Figure 2. ***Mesure de l'activité hélicase. A.*** *Mise en évidence de l'activité hélicase d'une protéine. On étudie l'effet de concentrations croissantes de la protéine sur la séparation des deux brins d'un ADN double brin marqué. La séparation de contrôle des deux brins est effectuée par dénaturation à 90 °C.* ***B.*** *Représentation schématique de la séparation des deux brins d'ADN.* ***C.*** *Différents modèles de doubles brins (extrémité dépassante 5' ou 3' ou sans extrémité dépassante) sont utilisés pour tester la polarité de l'hélicase.*

Mesure de la liaison et de l'hydrolyse de l'ATP

Le déroulement des doubles brins d'ADN ou d'ARN est un processus dépendant de l'ATP (certaines hélicases sont plutôt dépendantes de l'hydrolyse du GTP). Il convient donc de mesurer la liaison et l'hydrolyse de l'ATP. La technique utilisée est celle de pontage aux UV *(UV cross-linking assay)* [4]. La photolyse de l'ATP par la lumière UV en présence d'une protéine liant cet ATP entraîne sa fixation covalente sur la protéine. L'utilisation d'isotope radioactif [α ^{32}P]-ATP permet de détecter le complexe par autoradiographie après que les produits ont migré sur gel. Il est alors possible de mettre en évidence et de quantifier l'ATP lié.

La mesure de l'activité ATPase est réalisée en dosant la libération de phosphate (Pi) en fonction du temps, dans un mélange contenant la protéine, l'ADN ou l'ARN à dérouler et de l'ATP radioactif ([α ^{32}P]-ATP). Il a pu être démontré que la liaison de l'ATP dépend de la présence d'un polynucléotide et, dans le modèle eIF-4A, que l'activité ATPase n'a lieu qu'en présence d'ARN [4].

Analyse des motifs conservés des hélicases

On considère généralement que les hélicases se caractérisent par 7 motifs relativement conservés (I, Ia, II, III, IV, V, VI) *(figure 3)*. Malgré les divergences des séquences extérieures, il est possible de retrouver ces 7 motifs dans toutes les espèces étudiées. Bien que les séquences de ces motifs soient dégénérées, elles restent identifiables parce qu'elles se succèdent dans un ordre précis et à des distances relativement fixes. La conservation de ces boîtes au cours de l'évolution et les différentes propriétés des hélicases ont fait s'interroger sur leur rôle exact au sein de la protéine. La protéine eIF-4A *(eukaryotic initiation factor-4A)* a été la première hélicase découverte [6]. Elle est devenue le prototype des membres de la superfamille des hélicases de type *DEAD box* et c'est actuellement la protéine la mieux caractérisée biochimiquement, c'est pourquoi une grande partie des résultats dans cette revue s'y réfèrent. Les protéines *DEAD box* sont une sous-famille de SF2, spécifiques des ARN. Ces protéines sont caractérisées par la présence d'une séquence très conservée dans la boîte II, la séquence DEAD*, et possèdent deux boîtes supplémentaires (VII et VIII, soit au total 9 motifs) [7]. Ces séquences sont spécifiques de ces protéines, puisqu'il a été possible par des expériences d'amplification par PCR *(polymerase chain reaction)* d'identifier dans une banque d'ADN génomique de levure de nouvelles protéines de cette famille [8]. Les oligonucléotides utilisés correspondaient aux séquences dégénérées présentes dans les boîtes II et VI, spécifiques de ces protéines en particulier. Par cette technique, certaines protéines déjà connues ainsi que de nouvelles encore inconnues ont pu être mises en évidence.

Par analogie de séquence, il a été déterminé que les boîtes I et II correspondent aux motifs A et B du *NTP binding domain, Walker box* [9], domaines responsables de la liaison et de l'hydrolyse des nucléotides triphosphates (NTP) dans la plupart des protéines liant les nucléotides. Les techniques de mesure de liaison et d'hydrolyse de l'ATP ont confirmé que ces protéines sont bien des ATPases. Ces motifs sont retrouvés dans toutes les hélicases connues à ce jour, mais ne suffisent pas à les définir. Il est bien entendu important de contrôler l'activité hélicase des protéines purifiées.

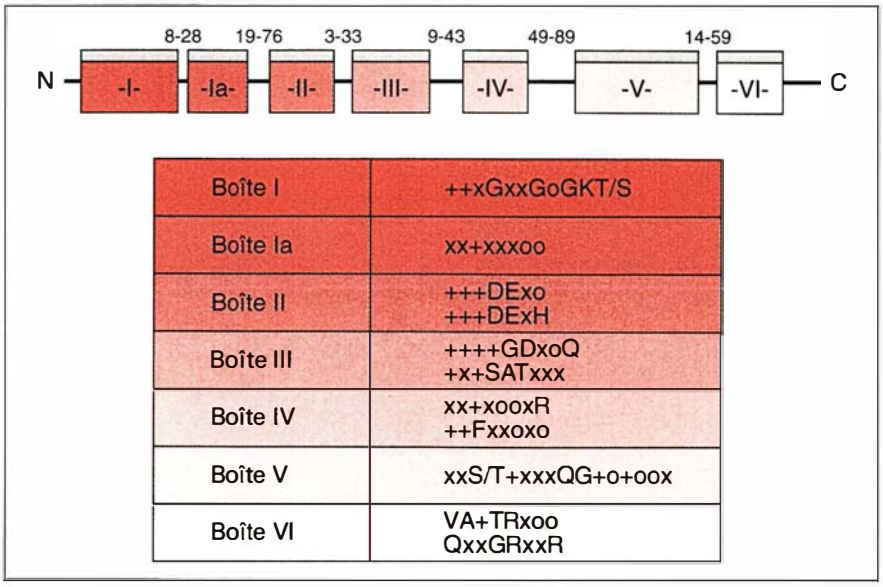

Figure 3. ***Représentation schématique des boîtes conservées des hélicases.*** *Les acides aminés sont représentés dans le code à une lettre, (x) pouvant être n'importe quel acide aminé* ; (+) représente n'importe quel acide aminé hydrophobe, (o) n'importe quel acide aminé hydrophile. Les distances entre les différentes boîtes sont indiquées par les chiffres situés au-dessus des boîtes.*

Des études de mutagenèse dirigée sur la protéine eIF-4A (protéine *DEAD box*) [4, 10] ont permis de caractériser les différents motifs et de mettre en évidence les interactions qui existent entre eux. La boîte I (AxxxxGKT)* correspond au domaine A de l'ATPase *(Walker box)*. Des mutations dans cette séquence réduisent ou inhibent la fixation de l'ATP ; en revanche, des mutations dans le motif B n'affectent pas négativement la liaison de l'ATP. Cette liaison de l'ATP sur la protéine dépend des ARN : l'ajout de molécules d'ARN double brin dans le milieu réactionnel est capable d'augmenter de 2,5 fois la fixation d'ATP [4]. Il se forme alors un complexe ternaire protéine-ATP-ARN de très courte durée de vie qui met en évidence que eIF-4A possède deux régions distinctes de liaison, l'une pour l'ATP, l'autre pour l'ARN. Il est possible que la fixation de l'ARN sur la protéine entraîne un changement conformationnel qui facilite la fixation de l'ATP. La lysine 82 de la séquence AxxxxGKT* est extrêmement importante puisqu'elle est retrouvée dans toutes les protéines liant les NTP, et une mutation de cette lysine abolit totalement cette liaison. Il semble qu'elle forme une boucle flexible qui pourrait fixer les phosphates β et γ des NTP. En fonction des changements conformationnels induits par la fixation de l'ATP, cette boucle devrait contrôler l'accès au domaine de liaison du nucléotide [11]. La boîte II (DEAD, mais on retrouve aussi DEAH* ou DExH pour les ADN-hélicases) correspond au domaine B de l'ATPase défini par Walker *et al.* [9]. Elle contient des résidus chargés négativement

* *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 ; x : n'importe quel acide aminé.*

RÉFÉRENCES

12. Roussell DL, Bennett KL. glh-1, a germline putative RNA helicase from *Caenorhabditis*, has four zinc fingers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 9300-4.

13. Baker TA, Funnell BE, Kornberg A. Helicase action of dnaB protein during replication from the *Escherichia coli* chromosomal origin *in vitro*. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 6877-85.

14. Tegtmeyer P, Deb S, DeLucia AL, *et al.* SV40 origin of replication. *Cancer Cells* 1988 ; 6 : 123-32.

15. Ishimi Y, Matsumoto K. Loading of a DNA helicase on the DNA unwinding element in the yeast replication origin : mechanism of DNA replication in a model system. *Biochemistry* 1994 ; 33 : 2733-40.

16. Liu CC, Alberts BM. Characterisation of the DNA-dependant GTPase activity of the T4 gene 41 protein, an essential component of the T4 bacteriophage DNA replication apparatus. *J Biol Chem* 1981 ; 256 : 2813-20.

17. Barry J, Alberts B. Purification and characterisation of bacteriophage T4 gene 59 protein. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 33049-62.

18. Van Houten B. Nucleotide excision repair in *Escherichia coli*. *Microbiol Rev* 1990 ; 54 : 18-51.

19. Sarasin A. Les gènes humains de la réparation de l'ADN. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 43-54.

20. Schaeffer L, Egly JM. BTF2/TFIIH, un facteur entre transcription et réparation impliqué dans les maladies de la réparation de l'ADN. *médecine /sciences* 1994 ; 10 : 973-8.

21. Roy R, Bergmann E, Egly JM. TFIIH (BTF2), à l'interface de trois processus cellulaires : transcription, réparation et cycle cellulaire. *médecine /sciences* 1995 ; 11 : 879-82.

22. West SC. Enzymes and molecular mechanisms of genetic recombination. *Annu Rev Biochem* 1992 ; 61 : 603-40.

(D, E) susceptibles d'interagir avec le magnésium (Mg^{2+}). Le motif VI (HRIGRxxR*) est formé de résidus basiques qui sont susceptibles d'interagir de façon non spécifique avec l'ADN ou l'ARN. Des mutations dans cette séquence réduisent de manière très importante la liaison à l'ARN. Il a été possible de démontrer que cette boîte VI est impliquée dans l'hydrolyse de l'ATP, dépendante de l'ARN, qui intervient au cours du déroulement de la molécule d'ARN. La boîte III (SAT dans les protéines *DEAD box*), quant à elle, serait responsable du déroulement de l'ARN, mais de façon très dépendante de la présence des autres boîtes [10]. D'une façon générale, ces séquences très conservées dans les hélicases de la famille des *DEAD box* et que l'on retrouve dans toutes les séquences des hélicases sont importantes pour l'activité hélicase de ces protéines. Des mutations dans les différents motifs montrent qu'ils sont impliqués dans la liaison et l'hydrolyse de l'ATP. Ces mutations affectent également l'activité déroulante des protéines mettant bien en évidence que la séparation des doubles brins ARN ou ADN nécessite l'hydrolyse de l'ATP. C'est probablement un rapprochement dans l'espace de ces différents motifs (AxxxxGKT, DEAD, SAT, HRIGRxxR) qui définit le site actif de l'hélicase.

Le modèle proposé est le suivant : dans un premier temps la protéine lie l'ATP, ce qui induit un changement conformationnel qui permet sa liaison à l'ARN dépendante de la région HRIGRxxR. Cette liaison est de faible affinité mais elle suffirait à induire l'hydrolyse de l'ATP, ce qui renforcerait l'interaction de la protéine avec l'ARN simple brin, permettant alors la séparation des doubles brins. Les analyses par mutagenèse dirigée ont permis de mettre en évidence le découplage entre la liaison, l'hydrolyse de l'ATP et le déroulement des doubles brins [10]. Des mutations dans la partie C-terminale de la protéine influent surtout sur l'activité hélicase. L'arginine du motif VI (HRIGRxxR) est conservée dans toutes les hélicases. Il est probable qu'elle joue un rôle pivot dans la fonction hélicase. Elle pourrait être impliquée dans la distorsion des liaisons hydrogène entre les nucléotides des doubles brins [2].

Bien que les motifs conservés des hélicases participent à la liaison hélicase-polynucléotide, aucun domaine indépendant de liaison à l'ADN ou l'ARN n'a pu être identifié. Il faut noter que ce domaine devrait avoir la capacité de lier l'ADN ou l'ARN de façon totalement non spécifique. Cependant, certaines hélicases possèdent des domaines complémentaires en plus des sept domaines hélicase qui sont présents, soit à l'extérieur de ces domaines, soit intercalés entre les domaines. C'est le cas, en particulier, de doigts de zinc *(zinc fingers)* qui permettent des liaisons plus spécifiques à l'ADN et qui donc permettraient une activité hélicase plus sélective [2, 12].

Rôles des hélicases

Les hélicases déroulent les doubles brins, ce qui leur confère un rôle primordial dans tous les événements tels que la réplication et la recombinaison, la réparation, la transcription, la traduction, l'épissage...

La réplication

De nombreuses études ont été réalisées pour essayer de comprendre les mécanismes de l'amorçage de la réplication et plusieurs systèmes modèles existent maintenant qui sont des modèles simples. C'est le cas du système de réplication du bactériophage T4, de la bactérie *E. coli* et, pour le modèle eucaryote, de la réplication du virus SV 40 avec l'antigène T.

La reconnaissance de la séquence consensus de l'origine de réplication (oriC) par une protéine initiatrice (dnaA chez *E. coli)* permet la fixation d'une deuxième protéine à activité hélicase (la protéine dnaB) [13]. Cette protéine, associée à une autre protéine capable d'augmenter son activité (dnaC), déroule l'ADN au niveau de la fourche de réplication en utilisant l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP. Il en résulte la création d'une molécule d'ADN simple brin, qui est maintenue sous cette forme grâce à des protéines liant les simples brins (appelées SSB pour *single strand binding proteins*). Il peut alors y avoir intervention d'une polymérase-primase pour former le complexe de réplication. Un rôle important des hélicases est aussi retrouvé dans d'autres systèmes, étudiés comme modèles de réplication : l'antigène T du virus SV40 [14, 15] et la protéine gp41 *(gene 41 protein)* du phage T4 [16]. La protéine gp41 possède une activité GTPasique dépendante de l'ADN, nécessaire au mécanisme de réplication. Pour être active, cette protéine requiert une dimérisation, voire même une multimérisation, avec les autres protéines qui forment le primosome. La vitesse de réplication est limitée par la vitesse de translocation de l'hélicase le long de la molécule et non pas par celle de la polymérase [17].

La réparation d'ADN

L'information génétique d'un organisme est continuellement soumise à des agressions de l'environnement telles que les UV ou les produits chimiques qui entraînent de mauvais appariements, des lésions, des modifications chimiques... Si l'ADN n'est pas réparé rapidement, il peut résulter des mutations, une cancérogenèse, une perte de l'information génétique et une détérioration de la cellule pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire. La cellule possède un mécanisme de réparation par excision resynthèse (NER pour *nucleotide excision-repair*) qui va pallier ces problèmes. De nombreuses études ont porté sur les mécanismes de réparation, en particulier le système UvrABCD de *E. coli*: les protéines UvrA et UvrB qui possèdent une activité hélicase se déplacent le long de la molécule d'ADN et se positionnent au niveau de la lésion; puis ce complexe est reconnu par une endonucléase, UvrC, qui incise le brin lésé. Le fragment est libéré par une autre hélicase, UvrD (ou hélicase II), puis il y a resynthèse du brin complémentaire par l'ADN polymérase I et ligation du brin néosynthétisé [18]. Ce même mécanisme d'excision-resynthèse existe également chez la levure avec le système des protéines Rad (1, 2, 3, 4, 10, 14, et 25), mais il est plus compliqué. Chez l'homme, il a pu être mis en évidence également par la découverte de maladies de la réparation (les « réparatoses ») telles

que le xeroderma pigmentosum, le syndrome de Cockayne et la trichothiodystrophie qui impliquent certains gènes de la famille ERCC (pour *excision repair cross complementarity*) [19]. Il a été montré que la réparation était couplée à la transcription, puisque les lésions résultant d'une irradiation par les ultraviolets sont préférentiellement réparées lorsqu'elles sont situées sur le brin transcrit d'un gène actif. Ce mécanisme met en jeu le complexe multipeptidique BTF2/ TFIIH dont l'hélicase est homologue de celle de la levure SNF2 qui est un activateur puissant de la transcription (*voir* paragraphe suivant). Les revues de J.M. Egly et son équipe sont extrêmement complètes à ce sujet [20, 21].

La recombinaison

La recombinaison de l'ADN participe à plusieurs fonctions biologiques importantes [22]. Elle contribue à la réparation des mésappariements qui intervient en cas de perte d'une partie de l'information (perte d'un petit fragment d'ADN au cours de la réplication). Il existe un système faisant intervenir la protéine RecA (chez *E. coli*) qui va permettre de récupérer sur le deuxième brin en cours de réplication les informations qui ont été perdues sur le premier. La recombinaison intervient également dans la cellule en permettant l'échange des brins entre deux chromatides sœurs (qui n'entraîne aucun changement), mais également au cours de la méiose, avec l'échange entre chromosomes homologues, ce qui aboutit à une variabilité génétique en favorisant les nouvelles associations d'allèles.

Les études réalisées ont beaucoup porté sur les bactéries et je ne parlerai que du modèle *E. coli*. La recombinaison fait intervenir une protéine RecA qui reconnaît un ADN simple brin et est capable de s'y fixer pour former un complexe ADN-protéine. RecA est alors capable de réagir avec un ADN double brin s'il existe des homologies entre les deux molécules d'ADN en présence. Un filament nucléoprotéique comprenant une structure en triple hélice se forme alors et un transfert réciproque de brins par migration de branches peut avoir lieu. L'hélicase RuvB (qui fait partie du complexe RuvAB) déroule alors les doubles brins en amont de RecA pour faciliter cet échange [23]. La structure formée est une structure en X ou en Y appelée jonction Holliday. Une autre hélicase, appelée RecG et spécifique de la recombinaison, a pu être mise en évidence. On a pu montrer qu'elle ne déroulait que les structures particulières de type jonctions Holliday (structures en X et en Y) [24, 25].

La régulation de la transcription

Le démarrage de la transcription nécessite un déroulement de la chromatine qui passe par la déstabilisation du complexe formé par les histones (le nucléosome) et l'ADN. Plusieurs études ont permis de mettre en évidence le complexe appelé complexe SWI/SNF formé de plusieurs protéines dont l'une (SWI2/SNF2 chez la levure [26]) possède les caractéristiques des hélicases potentielles. D'autres hélicases, intervenant dans les mécanismes de démarrage de la transcription, ont été mises en évidence dans diverses espèces : MOT1 chez la levure [27], Brahma chez la drosophile [28] et hBrm, l'homologue humain du produit du gène *brahma* [29]. En effet, associée à une région liant l'ADN *(lexA)*, la protéine SNF2 est capable d'activer l'expression du gène cible *GAL1-lacZ* qui contient un ou plusieurs opérateurs *lexA* en amont du gène *GAL1* [26]. D'autres travaux ont montré que le domaine hélicase de SNF2 était nécessaire à l'activité transcriptionnelle de la protéine [30]. En effet, des mutations dans le domaine A *(Walker box)* ou dans d'autres motifs hélicase annulent l'activation de la transcription induite par cette protéine. En revanche, si ces motifs hélicase sont indispensables, ils ne sont pas suffisants à l'activation de la transcription. Les régions amino- et carboxy-terminales de la protéine pourraient être responsables des interactions avec d'autres protéines de la famille SWI/SNF, des activateurs se liant à l'ADN et spécifiques de certains gènes, des facteurs de transcription généraux ou encore des composants de la chromatine. L'activité ATPase contribuerait au déroulement de l'ADN au niveau du site d'initiation

RÉFÉRENCES

23. Iype LE, Wood EA, Inman RB, Cox MM. RuvA and RuvB proteins facilitate the bypass of heterologous DNA insertion during recA protein-mediated DNA strand exchange. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 24967-78.

24. Lloyd RG, Sharples GJ. Processing of recombination intermediates by the recG and ruv AB proteins of *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res* 1993 ; 21 : 1719-25.

25. Whitby MC, Vincent SD, Lloyd RG. Branch migration of Holliday junction : identification of recG protein as a junction specific DNA helicase. *EMBO J* 1994 ; 13 : 5220-8.

26. Laurent BC, Treitel MA, Carlson M. Functional interdependence of the yeast SNF2, SNF5, and SNF6 proteins in transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 2687-91.

27. Davis JL, Kunisawa R, Thorner J. A presumptive helicase (MOT1 gene product) affects gene expression and is required for for viability in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 1992 ; 12 : 1879-92.

28. Tamkun JW, Deuring R, Scott MP, *et al.* Brahma, a regulator of drosophila homeotic genes structurally related to the yeast transcriptional activator SNF2/SWI2. *Cell* 1992 ; 68 : 561-72.

29. Muchardt C, Yaniv M. A human homologue of *Saccharomyces cerevisiae* SNF2/SWI2 and drosophila brm genes potentiates transcriptional activation by the glucocorticoid receptor. *EMBO J* 1993 ; 12 : 4279-90.

30. Laurent BC, Treich I, Carlson M. The yeast SNF2/SWI2 protein has DNA-stimulated ATPase activity required for transcriptional activation. *Genes Dev* 1993 ; 7 : 583-91.

31. Travers AA. The reprogramming of transcriptional competence. *Cell* 1992 ; 69 : 573-5.

32. Ruby SW, Abelson J. Pre-mRNA spicing in yeast. *Trends Genet* 1991 ; 7 : 79-85.

33. Wassarman DA, Steitz JA. Alive with DEAD proteins. *Nature* 1991 ; 349 : 436-64.

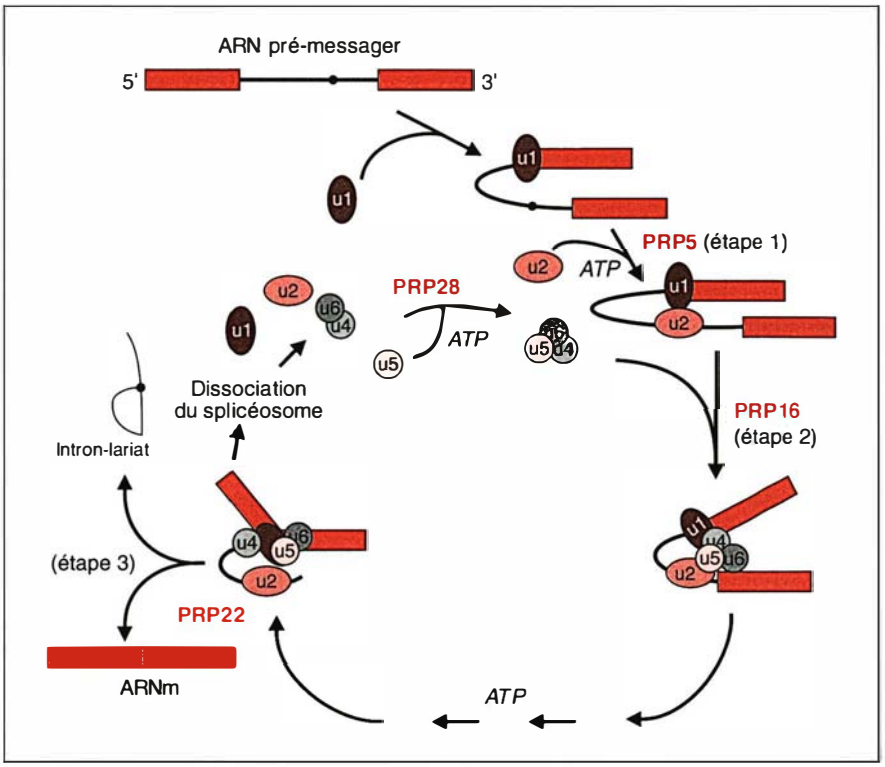

Figure 4. ***Implication des hélicases dans l'épissage des prémessagers.*** *Le splicéosome est un complexe dynamique formé de plusieurs facteurs comprenant des snRNP* (small nuclear ribonucleoproteins)*, facteurs supposés posséder l'activité catalytique nécessaire à l'excision des introns, ainsi que d'autres protéines non snRNP mais retrouvées exclusivement dans le splicéosome. Étape 1 : liaison des snRNP U1 et U2 au site d'épissage : intervention de l'hélicase PRP5. Étape 2 : intervention de PRP16 dans la liaison du splicéosome au niveau du site d'épissage. Étape 3 : relargage par PRP22 des éléments du messager mature et dissociation des différents éléments du splicéosome.*

de la transcription ou au remodelage de la chromatine [30].

L'étude de la protéine hBrm, homologue humain de la protéine de drosophile Brahma, a montré que cette protéine est capable de potentialiser l'activité du récepteur des glucocorticoïdes [29]. La présence d'un vecteur d'expression contenant *HBRM* stimule la transcription induite par les glucocorticoïdes dans des cellules humaines exprimant un très petit nombre de récepteurs des glucocorticoïdes. Une mutation dans la séquence de *HBRM* au niveau des motifs hélicase diminue la stimulation de façon importante. Il est également montré que la séquence entière de la protéine est nécessaire pour cette stimulation ; d'autres mutations n'intervenant pas dans les motifs hélicase présentent la même diminution de la stimulation. L'hélicase aurait donc un effet potentialisateur de l'activité du récepteur des glucocorticoïdes.

L'activité hélicase du complexe protéique de type SWI/SNF pourrait disloquer la structure de la chromatine en altérant la topologie locale de l'ADN, ce qui permettrait la régulation de l'accessibilité aux sites de liaison pour les autres protéines qui, elles, ont un rôle direct d'activateurs transcriptionnels [31].

L'épissage

L'épissage des introns des prémessagers intervient suivant un mécanisme qui semble être conservé dans tout le monde eucaryote. La plupart des études ont été effectuées chez la levure *Saccharomyces cerevisiae* grâce à des mutants thermosensibles qui ont permis une progression rapide des connaissances à ce sujet, et en particulier de mettre en évidence un rôle clé des hélicases dans la maturation des ARNm.

Ces étapes, complexes et encore assez mal connues, nécessitent l'hydrolyse de l'ATP, effectuée par des ATPases dépendantes de l'ARN. L'étude de ces protéines a révélé, pour la plupart d'entre elles, qu'il s'agissait de protéines appartenant à la famille des hélicases à ARN *DEAD-box* [32, 33].

L'épissage des prémessagers est réalisé par un complexe dynamique appelé splicéosome (de l'anglais *splicing* = épissage). Ce splicéosome est formé de plusieurs facteurs comprenant des snRNP *(small nuclear ribonucleoproteins)* qui sont des facteurs supposés posséder l'activité catalytique nécessaire à l'excision des introns, ainsi que d'autres protéines non snRNP mais retrouvées exclusivement dans le splicéosome. L'intervention des snRNP a été bien décrite [34]. Les études portant sur ces protéines ont permis de mettre en évidence le rôle des hélicases dans l'épissage : des protéines de type PRP *(pre-mRNA processing)* présentent des similitudes de séquence avec la protéine eIF-4A. Ces protéines PRP possèdent les sept boîtes spécifiques des hélicases (en particulier la boîte DEAD, parfois remplacée par DEAH). La première étape de l'épissage fait intervenir une interaction entre la particule U1 et le site d'épissage en 5', puis la particule U2 reconnaît le point de branchement en 3' pour former un lariat (ARN en lasso). A ce niveau l'activité d'une hélicase potentielle, PRP5, est requise pour que U1, le prémessager, et U2 adoptent une conformation qui permette la liaison de U2 sur le complexe. PRP5 intervient donc dans la première étape de l'épissage [35]. Les particules snRNP U4 et U6 existent sous forme de complexe inactif U4/U6 qui doit être transformé en complexe actif U4-U5-U6. Les interactions entre U4 et U6 forment un appariement stable d'une vingtaine de paires de bases. Il est donc néces-

saire qu'une hélicase intervienne pour libérer ce complexe et permette à la particule U5 de former le complexe trimérique. Il a été montré que c'est la protéine PRP28 qui intervient à ce niveau [36]. La protéine PRP16 [37] a été caractérisée et il a pu être démontré que son activité ATPase dépendante de l'ARN intervenait dans la deuxième étape de l'épissage. Quant à la protéine PRP22 [38], elle est indispensable au relargage du splicéosome du messager mûr. En effet, on observe une accumulation du messager épissé mais qui reste associé au splicéosome lorsque la protéine PRP22 est inactive. Par ailleurs, il faut noter que tous les composants du splicéosome sont recyclés et, pour cela, libérés du complexe dans un ordre bien défini. Cette dissociation est également contrôlée par des hélicases *(figure 4)*. D'une façon générale, les hélicases pourraient changer la conformation des complexes, leur permettant de lier ou de relarguer d'autres facteurs qui auraient une fonction catalytique intervenant directement dans les processus d'épissage.

L'assemblage des ribosomes

La formation d'une unité ribosomale fonctionnelle implique l'association de plusieurs protéines ribosomiques et d'ARNr. Le mécanisme de ces associations est encore très mal connu, mais des souches de levure mutantes incapables de synthétiser des ARN ribosomiques, des protéines ribosomiques ou encore qui sont bloquées dans la maturation des ARNr permettent d'explorer la biogenèse des ribosomes. L'étude d'un mutant thermosensible présentant un déficit de la synthèse de la grosse sous-unité 60S du ribosome, le mutant *drs1*, a permis de mettre en évidence l'implication des hélicases dans les processus de synthèse et d'assemblage des ribosomes [39].
La protéine DRS1 présente en effet une homologie de séquence avec les protéines eIF-4A bien que la deuxième boîte de DRS1 soit DEAK. A 30 °C, la température permissive, on observe l'accumulation des ARNr 18S et 25S (dans un rapport 1 : 1). A température non permissive (13 °C), la maturation de l'ARNr 18S reste normale, mais le 25S n'est pas accumulé en quantité suffisante pour former la grosse sous-unité 60S à cause d'une maturation anormale ou d'une dégradation. Cela permet d'expliquer la déplétion en sous-unité 60S chez les mutants *drs1*.
Les hélicases impliquées dans la maturation des ARN ribosomiques pourraient fonctionner dans un déroulement intramoléculaire des structures secondaires des ARNr pour promouvoir les interactions entre ARNr et ARNsno, ou pour exposer les sites de liaison aux protéines ribosomiques ou non ribosomiques nécessaires à la maturation (les ARNsno sont de petits ARN nucléolaires qui interviennent dans les processus de maturation des ARN ribosomaux). La déstabilisation des interactions ARNsno-ARNr et ARNsno-ARNsno formées au cours des événements de maturation pourraient également nécessiter une activité hélicase.

La mise en route de la traduction

Le début de la synthèse protéique nécessite un processus complexe qui fait intervenir plusieurs protéines. Une des étapes clés de ce processus est la liaison de l'ARNm aux ribosomes. Elle nécessite que la partie 5' non traduite de la molécule d'ARNm ne forme pas de structure secondaire, et requiert l'hydrolyse de l'ATP. Trois facteurs eucaryotes sont connus pour cette étape : les facteurs appelés eIF (pour *eucaryotic translation initiation factor*), eIF-4A, eIF-4B, eIF-4F. eIF-4A fut la première protéine *DEAD box* mise en évidence ; la protéine eIF-4F est également une hélicase spécifique des ARN dont l'activité est plus forte qu'eIF-4A. En revanche, eIF-4B ne possède pas d'activité hélicase, mais intervient dans le complexe formé par ces trois protéines. Le modèle proposé par Pause *et al.* (1994) [40, 41] est le suivant : les protéines eIF-4F et eIF-4A forment un complexe avec l'ARNm (qui possède une coiffe). Après la fixation de eIF-4B, ce complexe est capable de lier et d'hydrolyser l'ATP, ce qui entraîne le désappariement de la structure secondaire de l'ARNm et la dissociation du complexe en vue du recyclage de ses différents composants. Notons que, dans ce modèle, la protéine eIF-4A n'a pas d'activité directe dans les événements d'initia-

RÉFÉRENCES

34. Lygerou Z, Kandels-Lewis S, Séraphin B. Le rôle des snRNP dans l'épissage des ARN prémessagers. *médecine/sciences* 1993 ; 9 : 165-70.

35. Dalbadie-McFarland G, Abelson J. PRP5 : a helicase-like protein required for mRNA splicing in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 4236-40.

36. Strauss EJ, Guthrie C. PRP28, a « DEAD-box » protein, is required for the first step of mRNA splicing *in vitro*. *Nucleic Acids Res* 1994 ; 22 : 3187-93.

37. Schwer B, Guthrie C. PRP16 is an RNA-dependant ATPase that interacts transiently with the spliceosome. *Nature* 1991 ; 349 : 494-9.

38. Company M, Arenas J, Abelson J. Requirement of the RNA helicase-like protein PRP22 for release of messenger RNA from spliceosomes. *Nature* 1991 ; 349 : 487-93.

39. Ripmaster TL, Vaughn GP, Woolford JJL. A putative ATP-dependent RNA helicase involved in *Saccharomyces cerevisiae* ribosome assembly. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 11131-5.

40. Pause A, Méthot N, Svitkin Y, *et al.* Dominant negative mutants of mammalian translation initiation factor eIF-4A define a critical role for eIF-4A in cap-dependent and cap-independent initiation of translation. *EMBO J* 1994 ; 13 : 1205-15.

41. Gingras A, Donzé O. Régulation par l'insuline de la synthèse protéique. *médecine/sciences* 1995 ; 11 : 866-72.

42. Pelletier J, Sonenberg N. Insertion mutagenesis to increase secondary structure within the 5' end noncoding region of eucaryotic mRNA reduces translational efficiency. *Cell* 1985 ; 40 : 515-26.

43. Nair S, Dey R, Sanford J, Doyle D. Molecular cloning and analysis of an eIF-4A-related rat liver nuclear protein. *J Biol Chem* 1992 ; 267 : 12928-35.

tion de la traduction sous sa forme libre mais intervient sous forme liée à eIF-4F. La protéine eIF-4B ne semble pas avoir d'activité propre, mais est capable d'activer eIF-4A et eIF-4F. L'hydrolyse de l'ATP permet la dissociation de la structure secondaire de la partie 5' non traduite de l'ARNm, ce qui lui confère une structure apte à lier un ribosome. Il a été montré précédemment que la présence d'une structure stable formée par la partie 5' non traduite (UTR) de l'ARNm inhibait sa liaison au ribosome [42].

Régulation au cours du cycle cellulaire et du développement

Jusqu'à présent nous avons étudié les cas d'hélicases impliquées dans des mécanismes généraux, intervenant dans presque toutes les cellules. Ces enzymes sont par conséquent ubiquitaires. Mais il existe également des hélicases qui sont, soit spécifiques d'un tissu ou d'un type cellulaire donné, soit spécifiques d'un stade donné du développement ou du cycle cellulaire.
L'expression de l'hélicase nommée p47 dans le foie de rat dépend du cycle cellulaire : son activité est cinq à six fois plus élevée dans les stades précoces du développement du foie fœtal que dans le foie adulte. L'ARNm de la protéine p47 serait plus stable ou transcrit de façon active au cours du développement dans les cellules à renouvellement rapide alors que, dans le foie adulte, les cellules sont quiescentes et le messager beaucoup moins transcrit [43]. La protéine p68 qui fait partie de la famille des *DEAD box,* subit un changement de localisation au cours du cycle cellulaire : elle présente une faible localisation nucléaire, qui devient extrêmement intense au cours de la division de la cellule. Cette hélicase serait donc elle aussi impliquée dans le cycle cellulaire [44]. La protéine de drosophile Brahma, dont on a vu qu'elle faisait partie de la famille des protéines de type SNF/SWI *(m/s n° 1, vol. 9, p. 106),* intervient dans l'activation de la transcription de certains gènes homéotiques impliqués dans le développement (tels que *polycomb* et *trithorax*) [45]. Cette protéine n'intervient qu'à certains stades du développement, son activité est donc soumise à régulation [28].

Les hélicases mitochondriales

Les hélicases citées jusqu'à présent ont une localisation cytosolique ou nucléaire. Il existe également des hélicases spécifiquement présentes dans les mitochondries. C'est le cas de la protéine PIF1 qui serait nécessaire au maintien de l'ADN mitochondrial à des températures élevées [46] et de MSS116 impliquée dans l'épissage des gènes mitochondriaux *Cob* et *Cox* I [47].

Les hélicases des cellules germinales

Certaines hélicases sont spécifiques de tissus et en particulier du testicule. Chez la souris, la protéine PL10 est spécifique de certains stades de la spermatogenèse : son expression débute avec la méiose, elle est maximale au stade pachytène des spermatocytes, elle est encore présente dans les corps résiduels, mais aucun transcrit n'est détectable dans l'embryon. C'est un messager très stable, il est donc difficile de savoir si la présence de l'ARN dans les cellules haploïdes est due à sa transcription dans ces cellules ou simplement à sa stabilité. Cette hélicase à ARN jouerait un rôle spécifique dans la régulation traductionnelle au cours de la spermatogenèse, mais aucune preuve n'a pu être apportée à ce jour [48]. Une hélicase, spécifique des cellules germinales (testicule et ovaire), a été clonée chez le xénope. Elle jouerait un rôle dans l'ovogenèse et la spermatogenèse ainsi que dans le maintien ou la détermination des cellules germinales [49]. La protéine vasa de la drosophile est spécifique des cellules germinales femelles [50], elle appartient à la famille des *DEAD box* et joue un rôle dans l'ovogenèse et dans la détermination antéro-postérieure de l'embryon. Une localisation spécifique est observée pour cette protéine mais pas pour son messager. La protéine ME31B [51] est exprimée durant l'ovogenèse mais pas au cours de l'embryogenèse. Une autre protéine spécifique des cellules germinales a été retrouvée chez le ver *C. elegans* : la protéine Glh-1 [12]. Elle a été mise en évidence en utilisant la technique de PCR avec comme séquences oligonucléotidiques de départ les séquences des gènes des hélicases spécifiques des cellules germinales *(vasa, PL10).* L'expression du transcrit de *glh-1* est réglée au cours du développement ; d'abord détectable dans les troisième et quatrième stades larvaires, il devient plus abondant dans le stade adulte. L'expression du messager coïncide avec la prolifération des cellules germinales. Une caractéristique de ce gène est qu'il possède 4 doigts de zinc en amont de la séquence spécifique des hélicases.
On voit donc qu'il existe des hélicases spécifiques de tissus, de stades du développement ou du cycle cellulaire dans de très nombreuses espèces. On peut penser que ces hélicases ont des fonctions plus sélectives, qui pourraient leur être conférées par les domaines spécifiques retrouvés dans ces protéines, en plus des domaines communs à toutes les hélicases.

Conclusion

Les hélicases, liant plus spécifiquement l'ADN ou l'ARN ou encore les deux (généralement avec une plus grande spécificité pour l'un que pour l'autre) ont donc des propriétés très diverses. Bien que le nombre d'hélicases identifiées augmente chaque jour, le mode de fonctionnement exact de ces protéines reste à établir. A ce titre, la détermination de la structure de la protéine par cristallographie serait des plus utiles. Il est évident qu'une inhibition sélective de certaines hélicases pourrait avoir des applications pharmacologiques importantes. En particulier, il a été montré que certains agents antitumoraux agissaient en inhibant des hélicases impliquées dans la réplication, la transcription et la réparation de l'ADN [52, 53]. Les antibiotiques de la famille des anthracyclines, qui sont des agents anticancéreux, agissent en se fixant au niveau des doubles brins de l'ADN et forment un complexe ADN-médicament-enzyme non réversible. Ces antibiotiques interfèrent avec les actions des hélicases en formant une structure stable qui demande trop d'énergie pour que l'hélicase arrive à séparer les deux brins. Ces études, réalisées sur différentes

enzymes d'origine virale (antigène T de SV40), murine (hélicase provenant de cellules FM3A) et humaine (provenant de cellules HeLa) ont montré des inhibitions différentes de l'activité hélicase, reflétant peut-être les différences dans les réponses des diverses cellules à l'action des anticancéreux. D'autres agents intercalants, comme le bromure d'éthidium (BET), inhibent aussi l'action des hélicases, alors que des agents non intercalants ne l'inhibent pas. Certains de ces agents qui ne sont pas des antibiotiques possèdent aussi des propriétés antitumorales. Une étude récente a été réalisée sur l'agent antitumoral CC-1065 qui se fixe au niveau du petit sillon de l'hélice d'ADN [54]. Sa liaison entraîne une courbure et une rigidité de l'hélice. Il a été montré dans cette étude que le CC-1065 n'empêche pas la liaison de l'hélicase à l'ADN mais rend impossible le déroulement de la double hélice. Les effets de ce produit ont été testés sur deux types d'hélicases, l'une responsable de la réparation de l'ADN (hélicase II de *E. coli*), l'autre plutôt impliquée dans la recombinaison et la réplication (dda du phage T4). Suivant le type d'hélicase, le résultat de la fixation du produit sur l'ADN n'est pas identique.

Ces approches pharmacologiques permettent non seulement de progresser dans la compréhension du mode d'action des hélicases, mais aussi d'envisager ultérieurement des applications cliniques, en particulier des applications en cancérologie. Cependant, il faut noter que ces agents agissent aussi sur des topo-isomérases et sur des polymérases. Une meilleure connaissance des mécanismes d'action des hélicases et un meilleur ciblage de ces agents anticancéreux permettraient une évolution rapide vers des applications médicales ■

Remerciements

Je tiens à remercier Robert Barouki et Jacques Hanoune pour leur lecture du manuscrit et pour leurs suggestions.

RÉFÉRENCES

44. Iggo RD, Lane DP. Nuclear protein p68 is an RNA-dependent ATPase. *EMBO J* 1989 ; 8 : 1827-31.

45. Lapie P, Deutsch J. Transgenèse et utilisation de séquences « barrière » permettant de s'affranchir des effets de position. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 649-56.

46. Lahaye A, Leterme S, Foury F. Pif1 DNA helicase from *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 26155-61.

47. Séraphin B, Simon M, Boulet A, Faye G. Mitochondrial splicing requires a protein from a novel helicase family. *Nature* 1989 ; 337 : 84-7.

48. Leroy P, Azari P, Sassoon D, *et al.* The protein encoded by a murine male germ cell-specific transcript is a putative ATP-dependent RNA helicase. *Cell* 1989 ; 57 : 549-59.

49. Komiya T, Itoh K, Ikenishi K, Furusawa M. Isolation and characterisation of a novel gene of the DEAD box protein family which is specifically expressed in germ cells of *Xenopus laevis*. *Dev Biol* 1994 ; 162 : 345-63.

50. Lasko PF, Ashburner M. The product of the Drosophila gene *vasa* is very similar to eucaryotic initiation factor-4A. *Nature* 1988 ; 335 : 611-7.

51. De Valoir T, Tucker MA, Belikoff EJ, *et al.* A second maternally expressed Drosophila gene encodes a putative RNA helicase of the « DEAD box » family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 2113-7.

52. Bachur NR, Yu F, Johnson R, *et al.* Helicase inhibition by anthracycline anticancer agents. *Mol Pharmacol* 1992 ; 41 : 993-8.

53. Bachur NR, Johnson R, Yu F, *et al.* Antihelicase action of DNA-binding anticancer agents : relationship to guanosine-cytidine intercalator binding. *Mol Pharmacol* 1993 ; 44 : 1064-9.

54. Maine IP, Sun D, Hurley LH, Kodadek T. The antitumor agent CC-1065 inhibits helicase-catalysed unwinding of duplex DNA. *Biochemistry* 1992 ; 31 : 3968-75.

TIRÉS À PART

C. Toussaint.

Summary

Helicases

Helicases constitute a large family of enzymes with ATPase activity, involved in double stranded DNA and RNA unwinding. These proteins are characterised by seven relatively conserved boxes. The best characterized region is implicated in the binding and the hydrolysis of ATP. In some RNA specific helicases, this conserved sequence possess a « DEAD » sequence which identifies a subclass of helicases called « DEAD box proteins ». Mecanisms of polynucleotide binding and unwinding of the double strand are less determined. Helicases have critical roles, ranging from DNA repair, replication and transcription, to mRNA splicing and translational regulation... Although most of these proteins are ubiquitous, some of them are regulated during development or during germ cell differenciation. Pharmacological studies have demonstrated anticancer effects of antihelicases drugs.