

LES PETITES PROTÉINES G

Jean de Gunzburg

RÉFÉRENCES

1. Valencia A, Chardin P, Wittinghofer A, Sander C. The *ras* protein family : evolutionary tree and role of conserved amino acids. *Biochemistry* 1991 ; 30 : 4637-48.
2. Chardin P. Small GTP-binding proteins of the *ras* family : a conserved functional mechanism ? *Cancer Cells* 1991 ; 3 : 117-26.
3. Hall A. The cellular functions of small GTP-binding proteins. *Science* 1990 ; 249 : 635-40.
4. Wittinghofer A, Pai EF. The structure of Ras protein : a model for a universal molecular switch. *Trends Biol Sci* 1991 ; 16 : 382-7.
5. Rothman JE, Orci L. Molecular dissection of the secretory pathway. *Nature* 1992 ; 355 : 409-15.
6. Bischoff FR, Ponstingl H. Mitotic regulator protein RCC1 is complexed with a nuclear *ras*-related polypeptide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 10830-4.
7. Hancock JF, Magee AI, Childs JE, Marshall CJ. All *ras* proteins are polyisoprenylated but only some are palmitoylated. *Cell* 1989 ; 57 : 1167-77.
8. de Gunzburg J. Protéine farnésyl et géranylgeranyl transférases. *CR Soc Biol* 1991 ; 185 : 290-305.
9. Chavrier P, Gorvel JP, Telzer E, Simons K, Gruenberg J, Zerial M. Hypervariable C-terminal domain acts as a targeting signal. *Nature* 1991 ; 353 : 769-72.
10. McCormick F. *ras* GTPase activating protein : signal transmitter and signal terminator. *Cell* 1989 ; 56 : 5-8.
11. McCormick F. The world according to GAP. *Oncogene* 1990 ; 5 : 1281-3.
12. Filhol O, Cochet C. Le transfert des signaux mitogéniques : une affaire de particules. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 980-4.
13. Diekmann D, Brill S, Garrett MD, et al. *Bcr* encodes a GTPase-activating protein for p21^{rac}. *Nature* 1991 ; 351 : 400-2.

ADRESSE

J. de Gunzburg : chargé de recherche au Cnrs. Inserm U. 248, faculté de médecine Lari-boisière - Saint-Louis, 10, avenue de Verdun, 75010 Paris, France.

Les petites protéines G constituent une famille d'au moins une cinquantaine de protéines qui sont apparentées aux produits des proto-oncogènes *ras* et dont on retrouve des représentants dans les cellules de tous les organismes eucaryotes, des mammifères à la levure *Saccharomyces cerevisiae*, en passant par la drosophile et les nématodes [1-3]. Ces protéines, dont la masse moléculaire est généralement comprise entre 20 000 et 30 000 daltons, sont capables de lier le GDP et le GTP avec une forte affinité et possèdent une faible activité GTPase. Elles présentent entre elles d'importantes homologies de séquence qui traduisent une organisation très similaire de ces molécules en domaines structuraux et fonctionnels ; la structure tridimensionnelle de la protéine H-*ras*, prototype des protéines de cette famille, est connue depuis quelques années [4]. Selon des critères d'homologie de séquence, ces protéines ont été regroupées en trois principales sous-familles :

- la famille *ras* proprement dite, comprenant notamment les protéines H-*ras*, K-*ras* et N-*ras* qui sont probablement impliquées dans le contrôle de la prolifération cellulaire [3], ainsi que les protéines *rap* dont la fonction est encore inconnue ;
- la famille *rho* : les protéines rho A, B et C semblent jouer un rôle dans l'organisation du cytosquelette, notamment au niveau du réseau constitué par les câbles d'actine. Les protéines *rac1* et *rac2* participent directement au contrôle de l'activité de la NADPH oxydase des neutrophiles, enzyme responsable de la production d'ions superoxydes par ces cellules. La protéine G25K/CDC42Hs, phosphorylée par le récepteur de l'EGF en réponse à la liaison de son ligand, pourrait être impliquée dans la réponse mitogène des cellules à ce facteur ;
- la famille *rab* compte à présent une trentaine de membres, dont les protéines Ypt1 et Sec4 de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, qui jouent un rôle important dans les processus de sécrétion chez cet organisme. Généralement localisées à la surface d'organites impliqués dans les voies d'endocytose ou de sécrétion, on pense que ces protéines interviennent dans la régulation du transport vésiculaire [5] (voir l'article de Bruno Goud, p. 326 de ce numéro). Deux autres familles de protéines de masse moléculaire voisine, également capables de lier et d'hydrolyser le GTP, présentent des caractéristiques relativement différentes des protéines des familles *ras/rho/rab* et leur sont reliées de façon beaucoup plus distante :
 - la protéine *ran/TC4*, localisée dans le noyau des cellules, pourrait être impliquée dans les mécanismes de condensation de la chromatine [6] ;
 - les protéines ARF, constituants majeurs du manteau des vésicules bourgeonnant de l'appareil de Golgi, joueraient un rôle important dans la formation et l'adressage des vésicules de transport [5] (article de Bruno Goud, p. 326).

Les petites protéines G des familles *ras/rho/rab*, bien que ne présentant pas de séquence hydrophobe, sont associées dans la cellule à des compartiments membranaires. Elles sont synthétisées sous la forme de précurseurs cytosoliques qui sont modifiés de façon post-traductionnelle, modifications qui sont responsables de l'attachement des protéines mûres aux membranes [7, 8]. Les petites protéines G des familles *ras* et *rho*, ainsi que certains membres de la famille *rab* possèdent à leur extrémité C-terminale une séquence de type CAAX, où C représente une cystéine, A un résidu généralement aliphati-

que et X un acide aminé quelconque. Dans un premier temps, la cystéine du motif CAAX est modifiée par l'adjonction d'un groupement isoprényle : le farnésyl à 15 atomes de carbone dans le cas des protéines ras et rap2 ou le géranylgeranyl à 20 atomes de carbone pour la plupart des autres protéines. Les trois derniers acides aminés (AAX) sont alors clivés, et la cystéine, à présent C-terminale, est carboxyméthylée. Toutefois, ces modifications ne semblent pas, à elles seules, suffisantes pour assurer l'attachement membranaire stable des petites protéines G. Certaines possèdent un ou deux autres résidus cystéine au voisinage de la séquence CAAX qui sont modifiés par palmitoylation ; d'autres présentent dans cette région une série d'acides aminés basiques qui pourraient interagir avec les têtes polaires des phospholipides. Dans le cas des protéines ras, deux signaux, à savoir isoprénylation et palmitoylation ou présence d'un motif polybasique, sont nécessaires à leur association avec la membrane plasmique. En revanche, la plupart des protéines de la famille rab possèdent à leur extrémité C-terminale une séquence de type CC ou CXC ; elles sont également modifiées par géranylgeranylation et il semble que certaines séquences de la région C-terminale de la molécule soient impliquées dans la localisation subcellulaire et l'association de ces protéines aux membranes [9].

Les protéines G peuvent exister sous deux états conformationnellement différents, qui constituent respectivement les formes inactive et active de ces protéines selon qu'elles sont liées au GDP ou au GTP dans la cellule. Alors que la concentration intracellulaire en GTP est supérieure à celle en GDP d'environ un ordre de grandeur, les protéines ras sont normalement liées au GDP *in vivo*. Cela est dû à l'activité de protéines appelées GAP (*GTPase activating protein*) capables de stimuler plus de 100 fois l'activité GTPase intrinsèque des protéines ras [10]. Deux protéines possédant une telle activité ont été isolées : la p120-GAP, protéine cytosolique exprimée dans toutes les cellules, et le produit du gène de susceptibilité à la neurofibromatose de type 1, NF-1. La p120-GAP porte des domaines

SH2 et SH3 caractéristiques des protéines susceptibles d'interagir respectivement avec des polypeptides comportant des tyrosines phosphorylées et des éléments du cytosquelette. Elle forme des complexes multiprotéiques avec des récepteurs de facteurs de croissance activés par leur ligand (récepteurs du PDGF ou du CSF-1), ainsi qu'avec des protéines impliquées dans le contrôle de la prolifération cellulaire telles que la phospholipase C- γ , la phosphatidylinositol-3 kinase, la pp60^{src} et la protéine kinase Raf-1 ; ces interactions pourraient ainsi constituer le lien biochimique entre les protéines ras et la transduction des signaux mitogènes des facteurs de croissance [11, 12]. Le rôle physiologique des protéines p120-GAP et NF-1 n'est pas encore élucidé. Stimulant l'activité GTPase des protéines ras, elles se comportent comme un régulateur négatif qui les fait passer de leur état actif lié au GTP, à l'état inactif lié au GDP. D'autres arguments expérimentaux, fondés notamment sur les caractéristiques de l'interaction ras-GAP, et la nécessité de cette interaction pour certains effets des protéines ras, font au contraire penser que les protéines p120-GAP et NF-1 pourraient constituer les effecteurs responsables des effets biologiques des protéines ras (*m/s n° 4, vol. 8, p. 388*). L'action de ces deux protéines est restreinte aux protéines ras, et des protéines portant une activité GAP spécifique vis-à-vis d'autres petites protéines G ont été mises en évidence. Il est remarquable que les protéines GAP propres aux protéines de la famille *rho* (*rho*, *rac* et G25K/CDC42Hs) constituent elles-mêmes une famille de protéines qui comportent des homologies de séquence avec le produit du gène *bcr*, point de cassure dans la translocation réciproque formant le chromosome Philadelphie caractéristique de certaines leucémies myéloïdes chroniques et leucémies lymphoïdes aiguës [13].

L'activation des protéines G consiste en leur passage de la forme inactive liée au GDP à la forme active liée au GTP. Ce processus est dépendant de l'action d'un facteur qui stimule la dissociation du GDP (appelé GDS pour *GDP dissociation stimulator*) et accélère ainsi l'échange GDP-GTP [2]. De telles protéines, agissant

chacune sur une ou un groupe restreint de petites protéines G, ont été mises en évidence. Elles interagissent généralement avec la région C-terminale des petites protéines G après leur modification par isoprénylation. Il est à noter que la GDS spécifique de la protéine G25K/CDC42Hs est le produit du proto-oncogène *dbl*. Un autre type de protéine appelé GDI (*GDP dissociation inhibitor*) est capable de ralentir la dissociation du GDP de certaines petites protéines G. Ces GDI, décrites pour les protéines rho B et rab3A, interagissent également avec l'extrémité C-terminale isoprénylée de ces protéines. Outre leur influence sur la vitesse de dissociation du GDP, les GDI sont capables, en se liant aux petites protéines G, de rompre leur attachement membranaire ; un tel phénomène joue probablement un rôle important dans les processus par lesquels les petites protéines G contrôlent certaines étapes du transit intracellulaire.

Les mécanismes par lesquels les petites protéines G interviennent dans le contrôle de processus aussi importants pour la cellule que la prolifération, l'état du cytosquelette, le transit intracellulaire et la condensation de la chromatine, sont encore mal compris. Toutefois, de nombreuses avancées concernant la localisation subcellulaire et le mode d'interaction des petites protéines G avec les membranes, ainsi que la mise en évidence et l'identification des protéines interagissant spécifiquement avec chaque petite protéine G (GAP, GDI, GDS), ont été récemment accomplies. Cette moisson d'informations nouvelles devrait bientôt nous permettre de comprendre, au niveau moléculaire, le mode d'action des petites protéines G ainsi que leur rôle régulateur dans un nombre croissant de processus cellulaires importants ■

TIRÉS A PART

J. de Gunzburg.