

## Bases structurales de la régulation de la tubuline par un médicament anticancéreux, la vinblastine

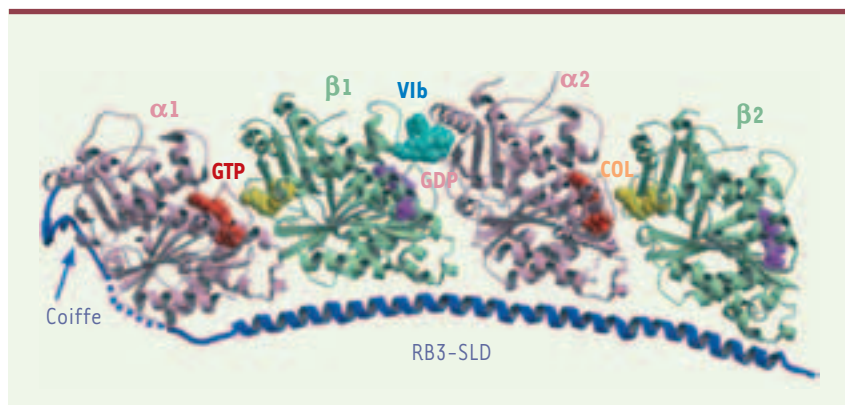
Benoît Gigant, Chunguang Wang, Raimond Ravelli, Marcel Knossow

► Les microtubules sont des constituants essentiels de l'architecture dynamique de la cellule. Ils sont impliqués dans de nombreuses fonctions cellulaires fondamentales telles que la division cellulaire, le trafic intracellulaire ou la croissance des neurones. Ainsi, pour ce qui est de la division cellulaire, les microtubules s'organisent pour former le fuseau mitotique dont ils sont l'élément de base. Les microtubules sont des cylindres creux dont les parois sont constituées de polymères de tubuline, une protéine cellulaire hétérodimérique abondante comprenant une sous-unité  $\alpha$  et une sous-unité  $\beta$ . Ces polymères linéaires et parallèles sont appelés protofilaments. *In vivo*, les microtubules sont constitués majoritairement de treize protofilaments. La cohésion des microtubules est assurée par des contacts longitudinaux entre molécules de tubuline dans les protofilaments, et par des contacts latéraux entre tubulines de protofilaments voisins. Dans la cellule, la dynamique d'assemblage et de désassemblage de la tubuline en microtubules est contrôlée par de nombreuses protéines endogènes (pour revue, voir [1]). Elle peut aussi être perturbée par des composés pharmacologiques exogènes qui, en affectant la formation du fuseau mitotique, arrêtent la division cellulaire et conduisent à l'apoptose [2].

La vinblastine est l'un de ces composés ; elle a été utilisée avec succès depuis plusieurs dizaines d'années pour traiter certains cancers et est à l'origine de l'inversion du pronostic de leucémies

infantiles. Bien que l'on sache depuis longtemps que la vinblastine cible la tubuline, son site de fixation était inconnu et son mécanisme d'action largement incompris. L'une des raisons des difficultés de l'étude du mécanisme d'action de la vinblastine est qu'elle agrège la tubuline et donc que les solutions de tubuline et de vinblastine sont hétérogènes [3]. En déterminant par radiocristallographie la structure de la vinblastine liée à la tubuline, nous avons identifié le site de

fixation de cet alcaloïde et expliqué comment la vinblastine induit la formation de spirales de tubuline aux dépens des microtubules [4]. Pour ce faire, nous avons incubé avec de la vinblastine des cristaux d'un complexe ternaire composé du domaine de type stathmine de la protéine RB3 (RB3-SLD) et de deux hétérodimères de tubuline (ce complexe est appelé T2R). RB3 est une protéine de la famille de la stathmine, une phosphoprotéine dont il a été proposé qu'elle serve de relais intégrateur des voies de signalisation [5]. Comme la stathmine, la protéine RB3 séquestre la tubuline pour former un complexe qui n'est pas incorporé dans les microtubules [6, 7]. L'ensemble des données biochimiques montre que



**Figure 1. Structure du complexe tubuline-RB3-SLD-vinblastine.** La vinblastine (cyan, Vib) est située à l'interface entre deux hétérodimères de tubuline ( $\alpha 1$ - $\beta 1$  et  $\alpha 2$ - $\beta 2$ ), chaque monomère complexant un nucléotide (un GTP sur les sous-unités  $\alpha$  et un GDP sur les sous-unités  $\beta$ ). Outre ces hétérodimères de tubuline, le complexe comprend le domaine de type stathmine de la protéine RB3. Une molécule de colchicine (un autre médicament ciblant la tubuline, représenté en jaune et noté COL) est liée à chaque sous-unité  $\beta$  de la tubuline. La colchicine, ainsi que les nucléotides, sont représentés par le volume que leurs atomes occupent dans l'espace. Les protéines (tubuline et RB3-SLD) sont représentées par des flèches (brins de feuillet  $\beta$ ) et des hélices (hélices  $\alpha$ ) reliées par un ruban fin qui suit la chaîne polypeptidique ; les tirets représentent une zone de la protéine RB3-SLD mal définie dans le cristal et probablement mal ordonnée.



la vinblastine se fixe au complexe tubuline-RB3-SLD de la même façon qu'à la tubuline. Dans le complexe T2R-vinblastine, la vinblastine se fixe à l'interface des deux hétérodimères de tubuline, en contact avec la sous-unité  $\alpha$  de l'un et la sous-unité  $\beta$  de l'autre (Figure 1).

L'analyse des résidus de la tubuline interagissant avec la vinblastine montre qu'une partie d'entre eux est impliquée dans les contacts longitudinaux des microtubules. En se fixant à la tubuline, la vinblastine empêche certains de ces contacts de s'établir et agit comme un coin qui force la formation de protofilaments courbes, par opposition aux protofilaments droits qui constituent les parois des microtubules. De ce fait, les contacts latéraux entre protofilaments, qui sont cruciaux pour la stabilité des microtubules, ne peuvent plus s'établir, avec pour conséquence principale le fait qu'à forte concentration de vinblastine, lorsque la perte de contacts microtubulaires devient importante, la tubuline s'assemble en spirales aux dépens de la formation de microtubules. Dans ces spirales, la liaison entre hétérodimères de tubuline est renforcée

par des contacts avec des molécules de vinblastine, chaque molécule de vinblastine interagissant avec la sous-unité  $\alpha$  d'un hétérodimère et la sous-unité  $\beta$  de l'autre, comme dans le complexe tubuline-RB3-SLD-vinblastine [4].

D'un point de vue plus proche des applications, le complexe T2R est un outil précieux pour l'étude biochimique du mécanisme d'action de la vinblastine et des composés qui se fixent au même site de la tubuline. En effet, comme on l'a vu, la vinblastine se fixe à T2R comme à la tubuline ; de plus, elle ne l'agrège pas. La structure que nous avons déterminée permet d'expliquer cette propriété : une partie de RB3-SLD, appelée coiffe (Figure 1) [8], occupe le site de la vinblastine sur la sous-unité  $\alpha 1$  de la tubuline dans le complexe [4]. La vinblastine ne peut donc pas se fixer simultanément à deux complexes et n'agrège pas T2R. La structure que nous avons déterminée clarifie le mécanisme d'action de la vinblastine. Elle ouvre la voie à la conception rationnelle de nouveaux composés à visée thérapeutique se fixant au même site de la tubuline que ce médicament.

Le défi à relever dans cette démarche est de conserver l'efficacité de la vinblastine comme composé antimétabolite mais d'en diminuer, voire d'en éliminer, deux propriétés indésirables : sa neurotoxicité et sa susceptibilité aux mécanismes de résistance de la cellule aux composés exogènes [2]. ♦

### The regulation of tubulin by vinblastine

#### RÉFÉRENCES

- Desai A, Mitchison TJ. Microtubule polymerization dynamics. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1997 ; 13 : 83-117.
- Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat Rev Cancer* 2004 ; 4 : 253-65.
- Weisenberg RC, Timasheff SN. Aggregation of microtubule subunit protein. Effects of divalent cations, colchicine and vinblastine. *Biochemistry* 1970 ; 9 : 4110-6.
- Gigant B, Wang C, Ravelli RB, et al. Structural basis for the regulation of tubulin by vinblastine. *Nature* 2005 ; 435 : 519-22.
- Sobel A. Stathmin: a relay phosphoprotein for multiple signal transduction ? *Trends Biochem Sci* 1991 ; 16 : 301-5.
- Gigant B, Curmi PA, Martin-Barbey C, et al. The 4 A X-ray structure of a tubulin: stathmin-like domain complex. *Cell* 2000 ; 102 : 809-16.
- Charbaut E, Curmi PA, Ozon S, et al. Stathmin family proteins display specific molecular and tubulin binding properties. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 16146-54.
- Ravelli RB, Gigant B, Curmi PA, et al. Insight into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nature* 2004 ; 428 : 198-202.

### Un centre multidisciplinaire de développement de génie tissulaire vient d'être créé au Québec

Ce centre sera l'un des trois plus grands laboratoires au monde après celui de Singapour et celui du *Georgia Tech Institute* d'Atlanta. D'un coût de plus de 25 millions de dollars, il concentrera l'ensemble de l'activité de génie tissulaire, recherche fondamentale, recherche évaluative en matière de haute technologie et recherche appliquée avec réalisation d'essais cliniques.

Le centre multidisciplinaire de développement de génie tissulaire sera dirigé par le Docteur François Auger, fondateur et directeur du Laboratoire d'organogenèse expérimentale (LOEX), qui fut le premier au monde, avec son équipe affiliée à l'université Laval, à produire un vaisseau sanguin *in vitro* entièrement reconstruit avec des cellules humaines.

Tous les membres du Comité de direction et du Comité éditorial de la partie française de *médecine/sciences* saluent cette importante nomination et adressent leurs félicitations à François Auger, qui a été Rédacteur en chef de la revue *médecine/sciences* pour sa partie Amérique du Nord de 2003 à 2005.



> 1985-2005, depuis 20 ans, grâce à m/s, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales



Chaque mois, avec les articles de référence de M/S

Chaque jour, sur [www.medecinesciences.org](http://www.medecinesciences.org)



### Médecine/Sciences

est indexé dans  
Index Medicus/Medline

Current Contents, série Life Sciences  
EMBASE/Excerpta Medica  
PASCAL  
CABS  
BIOSIS

- Des articles rédigés par des médecins et des chercheurs reconnus sur la scène internationale qui posent avec rigueur les bases des débats scientifiques.
- Des synthèses, éditoriaux, dossiers techniques et analyses toujours replacés dans leur contexte pour que l'information soit la plus exacte, intelligible et objective.
- La dimension humaine privilégiée, avec l'analyse des retombées diagnostiques, thérapeutiques, la prévention et l'éthique liées aux nouvelles avancées.

- Un panorama clair et concis de l'actualité scientifique : des nouvelles, des brèves, des données chiffrées, des repères et perspectives pour qu'aucun fait significatif ne vous échappe.



### Tarifs d'abonnement pour M/S - 2005

Abonnez-vous  
à Médecine/Sciences

#### Mon règlement:

Par mail [edk@edk.fr](mailto:edk@edk.fr)

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

Par fax en envoyant ce bulletin au 05 61 37 16 01

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

N°

Date d'expiration  Signature: \_\_\_\_\_

Par chèque à l'ordre de Médecine-Sciences, en envoyant ce bulletin à:

**Interconnexion-Éditions EDK**

BP 78

21151 Fenouillet Cedex, France

Pour recevoir une facture, cochez cette case

#### Tarifs Canada-USA-Mexique:

Contactez  
Médecine/Sciences  
500, rue Sherbrooke Ouest,  
bureau 800, Montréal, Québec H3A 3C6, Canada  
[medecine.sciences@sympatico.ca](mailto:medecine.sciences@sympatico.ca)

Je souhaite m'abonner à M/S:

Nom: ..... Prénom: .....

Adresse: .....

Code postal ..... Ville: .....

Pays: .....

E-mail obligatoire: .....

Je choisis l'abonnement:

	Particuliers		Institutions			Étudiants*		Enseignants*	
	Papier • Électronique	Électronique seul	Papier • Électronique	Électronique seul	Papier	Papier • Électronique	Électronique seul	Papier • Électronique	Électronique seul
France	<input type="checkbox"/> 150 €	<input type="checkbox"/> 110 €	<input type="checkbox"/> 330 €	<input type="checkbox"/> 220 €	<input type="checkbox"/> 320 €	<input type="checkbox"/> 70 €	<input type="checkbox"/> 57 €	<input type="checkbox"/> 100 €	<input type="checkbox"/> 80 €
UE + autres	<input type="checkbox"/> 198 €	<input type="checkbox"/> 110 €	<input type="checkbox"/> 398 €	<input type="checkbox"/> 220 €	<input type="checkbox"/> 380 €	<input type="checkbox"/> 100 €	<input type="checkbox"/> 57 €	<input type="checkbox"/> 150 €	<input type="checkbox"/> 80 €

\* Joindre un justificatif