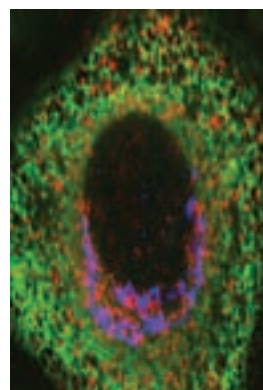


> Le cuivre existe sous deux formes, réduite (Cu^{1+}) ou oxydée (Cu^{2+}), pouvant respectivement donner ou accepter un électron. En tant que cofacteur, il sert de noyau catalytique à plusieurs enzymes indispensables. Au cours des dernières années, des recherches ont clairement démontré que la levure constituait un excellent modèle pour clarifier les mécanismes moléculaires régissant l'acquisition et la distribution cellulaires du cuivre. Dans plusieurs cas, il a été établi que les protéines de cellules de mammifères ont la capacité de se substituer aux protéines de la levure, dévoilant ainsi le haut degré de conservation de ces protéines. Ces travaux ont permis d'apprendre que les transporteurs de cuivre de la famille Ctr jouent un rôle déterminant dans l'assimilation du cuivre. Une fois à l'intérieur des cellules, le cuivre est acheminé vers différentes protéines ou compartiments cellulaires. La répartition intracellulaire du cuivre s'effectue à l'aide de molécules chaperonnes qui servent d'escortes. Les protéines Ccs1, Cox17 et Atx1 assurent cette fonction. <

Les bases moléculaires de l'approvisionnement en cuivre

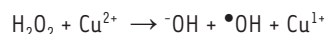
Leçons tirées de la levure

Julie Laliberté, Simon Labbé



Département de Biochimie,
 Faculté de médecine
 et des sciences de la santé,
 Université de Sherbrooke,
 3001, 12e Avenue Nord,
 Sherbrooke (Québec),
 J1H 5N4 Canada.
Simon.Labbe@USherbrooke.ca

mener à la production de radicaux hydroxyles via la réaction suivante :



Les radicaux hydroxyles réagissent avec les lipides, les protéines et l'ADN, engendrant ainsi des modifications qui altèrent leurs fonctions. Une concentration cellulaire adéquate en cuivre doit donc être maintenue afin d'éviter aussi bien une déficience nutritionnelle que la toxicité que risquerait de provoquer leur surcharge.

Les organismes ont développé divers mécanismes pour incorporer le cuivre, le distribuer ou le séquestrer en cas d'excès. Nous discuterons de différents mécanismes d'acquisition et de distribution du cuivre d'après les connaissances acquises à partir d'études entreprises avec les levures *Saccharomyces cerevisiae* et *Schizosaccharomyces pombe*.

Le transport de haute affinité du cuivre

La plupart du temps, le cuivre circule sous sa forme oxydée (Cu^{2+}). C'est sous sa forme réduite par des métalloréductases dans la membrane plasmique qu'il est pris en charge par des protéines de la famille des transporteurs de cuivre nommées Ctr_s (Figure 1).

Chez *S. cerevisiae*, les protéines Ctr1 et Ctr3 ont une forte affinité pour le cuivre ($K_M \sim 1-5 \mu\text{M}$) et assurent son entrée dans la cellule. Les protéines Ctr1 et Ctr3 forment des homotrimeres [3]. Leurs actions sont indé-

Le cuivre (Cu) est un oligo-élément essentiel à tous les organismes vivants. Dans de nombreuses réactions enzymatiques, il est courant d'observer les constants allers-retours de cet ion métallique de l'état oxydé (Cu^{2+}) à l'état réduit (Cu^{1+}). Cette propriété du cuivre en fait un excellent cofacteur. Le cuivre loge au cœur du site catalytique de beaucoup d'enzymes essentiels pour les cellules. Des activités cellulaires comme la respiration, le transport du fer et la protection contre le stress oxydatif sont dépendants d'un apport adéquat en cuivre [1]. Le Tableau 1 recense les principales cuproenzymes localisées dans les cellules humaines, leurs fonctions biologiques, ainsi que la nature des troubles associés à une perturbation de leur activité comme, par exemple, les maladies génétiques de Menkes et de Wilson [2]. Par ailleurs, une augmentation inappropriée de la concentration en cuivre cellulaire peut

pendantes et redondantes. Un autre transporteur, Ctr2, est localisé à la surface de la vacuole [4]. Devant une demande accrue pour le cuivre, ce transporteur fait passer l'ion de l'organite vers le cytosol afin de permettre l'approvisionnement en cuivre des protéines cytosoliques.

Chez *S. pombe*, la prise en charge du cuivre par les transporteurs de haute affinité dépend également de la réduction du Cu^{2+} en Cu^{1+} . La présence de protéines de la famille des Ctr_s, Ctr4 et Ctr5 est requise pour le transport de l'ion [5]. Contrairement aux autres Ctr_s répertoriées, Ctr4 et Ctr5 forment un hétérocomplexe dans le sentier de sécrétion ; cette

étape est primordiale pour sa localisation par la suite dans la membrane plasmique [5, 6]. Les régions de Ctr4 et Ctr5 qui font face au milieu extracellulaire présentent respectivement 5 et 2 motifs composés de résidus méthionines (appelés motifs Met). La présence de motifs Met, dans l'une ou l'autre des protéines, est suffisante pour l'incorporation du cuivre chez *S. pombe* [6]. Un troisième transporteur nommé Ctr6 est présent dans la membrane vacuolaire [7]. Son action est similaire à celle de la protéine Ctr2 chez *S. cerevisiae*.

Nom	Fonction biologique	Conséquence si déficiente ou *surexprimée ou **agrégée
Amine oxydase	Utilisation des amines ; homéostasie du glucose ; trafic des leucocytes	*L'hyperactivité de l'enzyme est détectée chez les patients atteints de diabète et par des maladies cardio-vasculaires
Angiogénine	Formation des vaisseaux sanguins	Malformation des vaisseaux sanguins
ATP7A (Menkes)	Maturation cuproprotéines et excrétion du cuivre des cellules (sauf hépatiques)	Maladie de Menkes
ATP7B (Wilson)	Maturation cuproprotéines et excrétion du cuivre des cellules hépatiques	Maladie de Wilson
Céruloplasmine	Activité ferroxidase requise lors du transfert du fer à la transferrine présente dans la circulation sanguine	Anémie
Cytochrome c oxydase	Génération d'ATP via la phosphorylation oxydative (respiration)	Acidose lactique congénitale
Dopamine β-hydroxylase	Production de catécholamines ; synthèse de norépinéphrine	Déséquilibre hypothalamique : chute de tension ; déshydratation ; somnolence ; abaissement de la température corporelle
Facteurs V et VIII	Coagulation sanguine	Saignements
Hephaestine	Activité ferroxidase requise lors du passage du Fe des cellules intestinales dans la circulation sanguine	Anémie microcytique hypochromique
Lysyl oxydase	Pontage du collagène et de l'élastine aux matrices	Fragilité des tissus et vaisseaux ; emphysème ; dilatation anormale de la peau
Métallothionéine	Séquestration du cuivre excédentaire	Toxicité cellulaire
Peptidylglycine- mono-oxygénase	Bioactivation de peptides hormonaux	Déséquilibres hormonaux causant une rupture cardiaque et la mort embryonnaire
Précurseur de la β-amyloïde	Rôle physiologique inconnu	Forme familiale de la maladie Alzheimer
Protéine Prion PrP	Rôle physiologique inconnu	Encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles
Superoxyde dismutase 1	Annihilation des anions superoxydes	Dommages cellulaires causés par des produits réactifs dérivés de l'oxygène ; **agrégats - sclérose latérale amyotrophique
Tyrosinase	Production de mélanine	Albinisme

Tableau I. Rôles de protéines cuivre-dépendantes dans la physiologie cellulaire.

Chez l'homme, le cuivre absorbé par les entérocytes est distribué, *via* la circulation sanguine, dans tout l'organisme. Les entérocytes, tout comme la plupart des cellules humaines, expriment le gène *hCTR1*, dont le produit est un transporteur de la famille Ctr [8]. Ce transporteur (*hCTR1*) a d'ailleurs pu être repéré grâce à son homologie de séquence avec le transporteur Ctr1 de la levure. D'ailleurs, l'expression de *hCTR1* a pour effet de rétablir l'entrée de cuivre dans une souche de levure déficiente en

transporteurs Ctr1 et Ctr3. Chez l'homme, un second transporteur de la famille Ctr, nommé *hCTR2*, a été détecté [8]. Toutefois, sa fonction cellulaire demeure incertaine. Les études chez la souris prouvent à quel point l'incorporation du cuivre est capitale pour le développement de l'organisme. Les souris qui ont subi l'inactivation des deux allèles *CTR1* codant pour le transporteur responsable de l'assimilation du cuivre meurent avant d'atteindre le milieu de la phase embryonnaire [9]. Comme pour le transporteur humain, le Ctr1 murin a tout d'abord été caractérisé à la suite de son expression chez la levure.

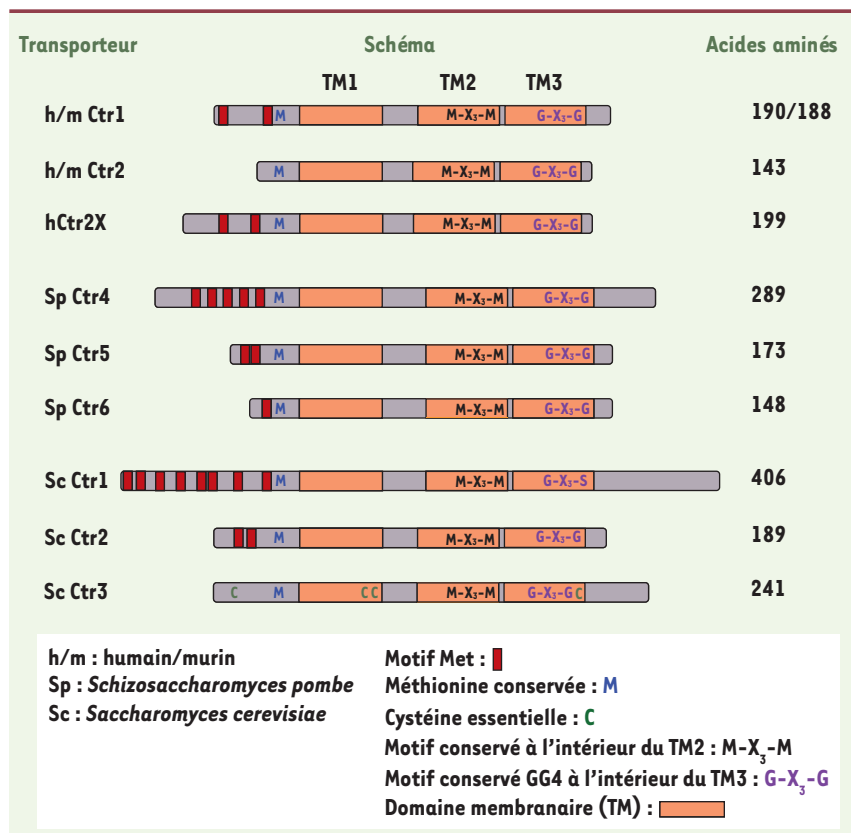


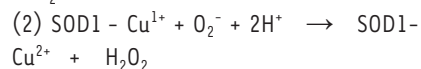
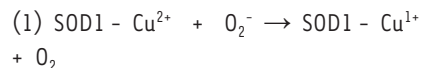
Figure 1. Membres de la famille des transporteurs Ctr_s. Les transporteurs de la famille Ctr possèdent trois domaines transmembranaires, nommés *TM1*, *TM2* et *TM3* (orange). La région amino-terminale extracellulaire des Ctr_s est généralement riche en résidus méthionines. Ces AA forment les motifs Met (*MxxM* et/ou *MxM*) (rouge) qui sont reconnus pour leur potentiel à capter le cuivre extracellulaire. Tous les Ctr_s illustrés ci-contre contiennent des motifs Met, sauf le transporteur humain/murine Ctr2 et celui nommé Ctr3 chez *S. cerevisiae*. Ctr3 est une protéine riche en résidus cystéines. Sur les onze cystéines que comporte le Ctr3, la mutation de quatre d'entre elles (C) (vert) altère sa fonction de transport du cuivre [27]. La majorité des transporteurs Ctr_s répertoriés jusqu'à présent, compte un résidu méthionine (M) (bleu) situé à environ vingt AA en amont du TM1. Ce résidu méthionine pourrait jouer un rôle important dans la coordination du cuivre près de la membrane plasmique, soit l'étape précédant le passage du cuivre à travers la membrane. Les transporteurs Ctr_s présentent également une séquence *MxxxM* (noir) à l'intérieur du TM2. Il semble que le cuivre soit coordonné par ces AA durant le processus de transport à travers la membrane. Il existe un motif composé de deux résidus glycines espacés de trois résidus (*GxxxG*) (mauve) à la hauteur du TM3. Ce motif, nommé GG4, est reconnu pour stabiliser l'interaction hélice-hélice à l'intérieur de la bicouche lipidique composant les membranes et permettre la multimérisation des protéines membranaires [28].

La distribution intracellulaire des ions cuivre

Chez *S. cerevisiae*, il a été démontré que chaque cellule compte moins d'un ion de cuivre libre [10]. En raison de cette rareté, le cuivre intracellulaire est associé à différentes protéines qui le distribuent et l'utilisent (Figure 2). Trois protéines chaperonnes spécifiques pour chacune de leur cible permettent la distribution du cuivre : Ccs1 [10], Cox17 [11] et Atx1 [12].

L'apport en cuivre à la superoxyde dismutase 1 (SOD1) par la chaperonne Ccs1

La SOD1 fait partie de la majorité des organismes. Elle représente un élément-clé du processus de défense contre le stress oxydatif. Cet enzyme de faible masse moléculaire forme des homodimères. Chaque monomère contient un ion de zinc qui joue un rôle structural et un ion de cuivre qui agit en tant que cofacteur catalytique. La SOD1 catalyse la désagrégation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène selon les réactions suivantes :



Chez *S. cerevisiae*, sans la chaperonne Ccs1, il n'y a pas d'incorporation de cuivre à l'enzyme SOD1 qui est toujours synthétisée mais demeure inactive. La chaperonne Ccs1 a été divisée en trois domaines selon des fragments peptidiques obtenus après une digestion partielle à la trypsine [13]. Le premier domaine contient un motif consensus de

liaison au Cu^{1+} , MxCxC, également présent chez la chaperonne Atx1. Le domaine I de Ccs1 peut agir en *trans* avec les domaines II et III pour favoriser l'apport en cuivre à la SOD1. Même si Atx1 montre une ressemblance avec le domaine I de Ccs1, cette chaperonne ne peut pas jouer un rôle équivalent en ce qui a trait à l'apport en cuivre à la SOD1. Le second domaine de Ccs1 partage une homologie de séquence avec la SOD1 et permet une interaction directe avec cet enzyme. La formation de l'hétérodimère Ccs1/SOD1 permet le transfert de l'ion Cu^{1+} d'une protéine à l'autre. Deux acides aminés (AA) essentiels à la dimérisation de la SOD1 figurent aussi dans le domaine II de Ccs1. La mutation de ces AA chez Ccs1 empêche l'interaction Ccs1/SOD1 et rend l'activité SOD1 nulle [13]. Le troisième domaine de la chaperonne Ccs1 est très conservé d'une espèce à l'autre et il est indispensable à l'action de Ccs1. Il contient un motif CxC essentiel à la liaison du Cu^{1+} . Le cytosol constitue un environnement réducteur où très peu de protéines y forment des ponts disulfures. C'est pourtant le cas de la SOD1. Ce pont disulfure joue un rôle important dans le maintien d'une structure optimale pour son activité. Chez *S. cerevisiae*, la chaperonne Ccs1 permet non seulement l'apport en cuivre à la SOD1 mais reconnaît la protéine SOD1 immature, sans pont disulfure et sans cuivre. Par la suite, un pont disulfure transitoire relie la Cys-57 de la SOD1 et l'une

des cystéines du motif CxC de Ccs1. Le pont disulfure intramoléculaire observé chez la SOD1 serait formé à la faveur de cet hétérocomplexe [14].

Bien que les protéines SOD1 et Ccs1 soient pour la plupart localisées dans le cytosol, environ 1-5 % des protéines SOD1 sont localisées dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie (IMS) [15]. Dans l'IMS, la SOD1 est importée seulement sous sa forme immature, sans zinc, ni cuivre, ni pont disulfure et son importation ne dépend pas de la présence de Ccs1. Cependant, la séquestration de la SOD1 mature dans l'IMS est influencée par la localisation de Ccs1 dans ce compartiment cellulaire [16]. La présence d'un *pool* de cuivre, non lié à des protéines, a récemment été mise en évidence dans la matrice mitochondriale. Cette source de cuivre pourrait servir à nourrir les enzymes dépendants du cuivre de la mitochondrie [17].

Chez *S. pombe*, l'orthologue de la chaperonne Ccs1 de *S. cerevisiae* (ScCcs1) a été nommé Pccs [18]. Chez les mammifères incluant l'homme, elle se nomme Ccs1. La chaperonne humaine acquiert le cuivre en liant ce dernier *via* ses domaines I et III. L'holo-molécule adopterait

alors une conformation protégeant l'ion de cuivre jusqu'à son transfert à la SOD1. La passation du Cu de Ccs1 au site actif de la SOD1 relèverait du domaine III; son domaine II quant à lui servirait de point d'arrimage avec la SOD1 [19]. Une particularité de la Ccs1 humaine est qu'elle peut être convertie par une simple mutation ponctuelle en une protéine ayant une activité superoxyde dismutase comparable à celle de la SOD1. Les souris qui ont subi l'inactivation des deux allèles codant pour Ccs1 montrent une diminution significative de l'incorporation de Cu à la SOD1 et ce, particulièrement dans les cellules neuronales [20]. L'hypothèse selon laquelle la chaperonne Ccs1 serait une des causes de certaines formes de sclérose latérale amyotrophique est aujourd'hui encore considérée.

L'activation de la cytochrome c oxydase dans la mitochondrie

L'apport en cuivre à la CcO de la membrane interne de la mitochondrie (IM) est la voie de distribution du cuivre la plus complexe (Figure 3). La CcO est cruciale pour la production d'énergie *via* la phosphorylation oxydative. Cette enzyme est composée de plus de douze sous-unités protéiques à l'intérieur desquelles

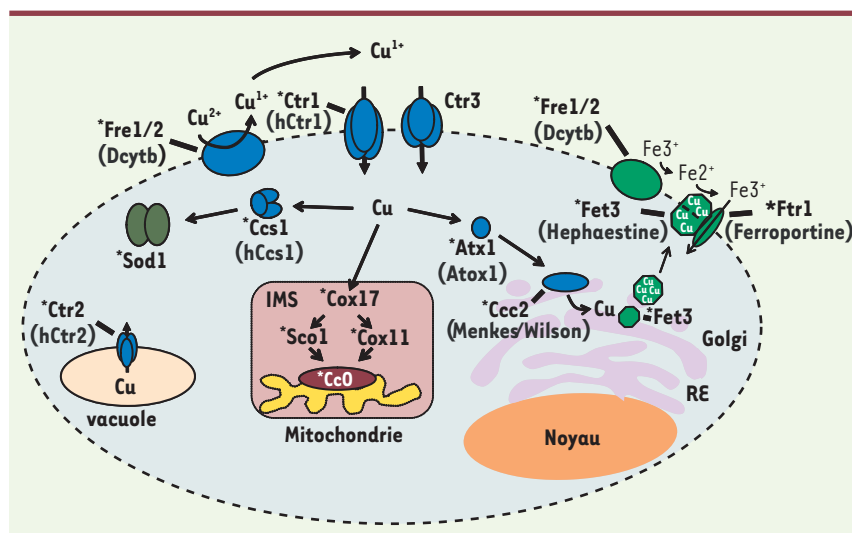


Figure 2. Modèle de la distribution cellulaire du cuivre chez *S. cerevisiae*. La forme oxydée du cuivre (Cu^{2+}) est réduite par les réductases Fre1 et Fre2. Cette première étape est suivie du transport de l'ion par les protéines Ctr1 et Ctr3. Une fois à l'intérieur de la cellule, Ccs1 assure l'apport en cuivre à la SOD1. Cox17 est un élément-clé pour l'incorporation de cuivre à la CcO mitochondriale *via* les protéines Sco1 et Cox11. Atx1 permet l'approvisionnement en cuivre à l'appareil de Golgi de concert avec Ccc2. Dans le sentier de sécrétion, le cuivre est incorporé à diverses metalloprotéines telle la multi-cuivre oxydase Fet3. Dans ce cas précis, une fois le cuivre incorporé à Fet3, cette dernière est sécrétée à la surface cellulaire d'où elle peut catalyser le transport du Fe à l'intérieur de la cellule. Son action s'effectue en compagnie des réductases Fre1 et Fre2, ainsi que de la perméase Ftr1, à laquelle Fet3 est physiquement associée. Ctr2 est un transporteur vacuolaire de cuivre permettant de larguer l'ion dans le cytosol. Les astérisques indiquent les protéines de la levure pour lesquelles des protéines orthologues humaines ont été identifiées. Les noms de ces dernières sont indiqués entre parenthèses. RE : réticulum endoplasmique ; IMS : espace intermembranaire mitochondrial.

agissent divers cofacteurs tels le cuivre, l'hème et le magnésium. Les trois plus grosses sous-unités de CcO sont Cox1, Cox2 et Cox3. La CcO requiert trois ions de cuivre pour être active : deux au centre Cu_A, situé dans la partie de la protéine qui émerge de l'IMS pour Cox2 ; un au centre Cu_B qui se trouve dans l'IM de la mitochondrie pour Cox1 [21].

Le système d'approvisionnement en cuivre à la CcO n'est pas encore totalement défini. Le cuivre doit parvenir à la mitochondrie où les protéines Cox1 et Cox2 sont synthétisées. Chez *S. cerevisiae*, trois protéines contribuent à l'apport en cuivre à la CcO : Cox17, Cox11 et Sco1 [21]. Cox17 est une protéine soluble très conservée à travers les espèces eucaryotes qui vivent en aérobie, incluant l'homme. Cox17 possède la capacité de se lier au cuivre de façon réversible. Chez *S. cerevisiae*, une souche mutante pour COX17 présente une CcO inactive. Le modèle initial suggérait que Cox17 contribuait à l'apport en cuivre à l'intérieur de la mitochondrie [11] bien que l'absence de Cox17 n'affecte pas le niveau de cuivre contenu dans la mitochondrie [21]. De plus, l'environnement réducteur du cytosol laisserait Cox17 sous sa forme réduite, permettant plus facilement son entrée dans l'IMS via le complexe Tom [21]. Des études récentes suggèrent que la forme active de Cox17 opère dans l'IMS. C'est à cet endroit que la protéine acquerrait le cuivre. Cette étape serait alors suivie de l'apport de l'ion métallique par Cox17 aux protéines Sco1 et Cox11 [22].

La protéine Sco1, requise pour l'incorporation du cuivre au site Cu_A de la sous-unité Cox2, est ancrée à l'IM de la mitochondrie via un domaine transmembranaire. Elle interagit directement avec Cox2 [21]. Sco1 et Cox2 partagent une homologie de séquence des motifs (CxxxC) en action dans la coordination du Cu¹⁺. Lorsque le gène *SCO1* est inactivé, la sous-unité Cox2 est rapidement dégradée. Il existe une protéine homologue à Sco1, nommée Sco2 [21]. Chez *S. cerevisiae*, cette protéine n'est pas essentielle à l'apport en cuivre à la CcO. En revanche, lorsqu'elle est surexprimée, Sco2 peut partiellement substituer la fonction de la protéine Sco1 dans l'apport en cuivre à la CcO [21]. Chez l'homme, il a été démontré que Sco1 et Sco2 sont toutes

deux requises pour l'incorporation du cuivre au site Cu_A de Cox2 [23]. De plus, bien que les deux protéines Sco1 et Sco2 soient exprimées de façon ubiquitaire dans tous les tissus et dans tous les types cellulaires examinés, leurs actions sont indépendantes et non-redondantes [23]. De fait, les mutations affectant le gène *SCO1* ne provoquent pas les mêmes symptômes cliniques que ceux causés par des mutations touchant le gène *SCO2*. Les rôles respectifs à l'échelle moléculaire de Sco1 et Sco2 ne sont toujours pas élucidés.

La protéine Cox11 est une composante ancrée à l'IM via un domaine transmembranaire. Cox11 forme un dimère et lie un ion de Cu¹⁺ par monomère. La protéine Cox11 est impliquée dans l'apport en cuivre au site Cu_B de la sous-unité Cox1. D'ailleurs, Cox11 interagit directement avec cette dernière sous-unité [22].

L'approvisionnement en cuivre à l'appareil de Golgi

Chez *S. cerevisiae*, la chaperonne Atx1 est localisée dans le cytosol. Atx1 contient un motif de liaison au cuivre de type MxCxC [12]. Cette

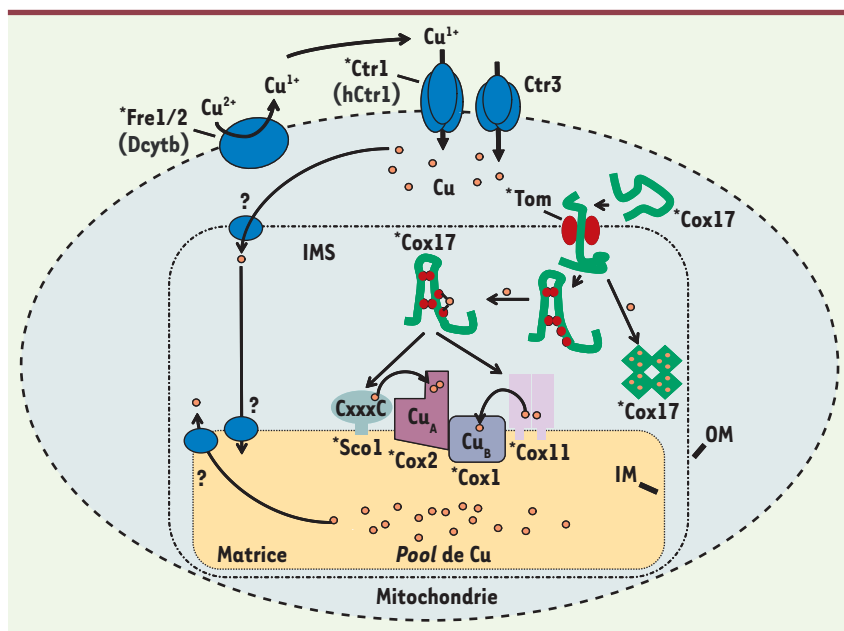


Figure 3. Modèle d'approvisionnement en cuivre pour l'activation de la CcO chez *S. cerevisiae*.

Des travaux ont montré la présence d'un pool de cuivre à l'intérieur de la matrice mitochondriale [17]. Le cuivre présent dans la matrice correspond à ~85 % du cuivre mitochondrial. Dans la matrice, le cuivre serait lié à un ligand inconnu non-protéique de faible masse moléculaire [29]. Le pool de cuivre pourrait agir comme source pour les cuproprotéines de l'IMS. Cependant, les molécules enrôlées dans le transport du cuivre vers l'IMS à partir de la machinerie de transport de haute affinité (Fre1, Fre2, Ctr1 et Ctr3) ou participant à l'acquisition de cet ion au niveau de la matrice mitochondriale, ne sont pas encore identifiées. C'est sous la forme « apo » que Cox17 est importée dans l'IMS via le complexe Tom. Une fois dans l'IMS, Cox17 pourrait prendre une forme tétramérique ou monomérique. La forme tétramérique servirait à séquestrer des ions de cuivre. La forme monomérique serait la forme lui permettant de concéder son cuivre à Sco1 et Cox11. Ces deux dernières protéines peuvent à leur tour fournir le cuivre aux sous-unités Cox1 et Cox2 de la CcO. Les astérisques indiquent les protéines de la levure pour lesquelles des protéines orthologues humaines ont été identifiées. OM : membrane externe ; IM : membrane interne ; IMS : espace intermembranaire mitochondrial.

chaperonne assure l'apport en cuivre à un transporteur intracellulaire situé dans la membrane de l'appareil de Golgi nommé Ccc2 [24]. Huit domaines transmembranaires ancrent Ccc2 à la membrane de l'appareil de Golgi. La région cytosolique amino-terminale de Ccc2 présente également deux motifs de liaison au cuivre de type MxCxC. Des travaux ont démontré qu'Atx1 interagit directement avec la section amino-terminale de Ccc2. Cette interaction est dépendante de la présence de cuivre, prévenant ainsi les interactions improductives entre la forme « apo » de Ccc2 et Atx1 [25]. La protéine Atx1 et la région amino-terminale de Ccc2 possèdent des structures tertiaires similaires bien qu'existe une exposition d'AA de charges négatives chez Ccc2 et d'AA de charges positives chez Atx1 à l'interface de leurs zones d'interactions respectives. La mutation de ces AA chez Atx1 abolit l'interaction Atx1/Ccc2. Le transfert du cuivre dans l'appareil de Golgi requiert l'hydrolyse d'ATP par Ccc2. Une fois dans l'appareil de Golgi, le cuivre est incorporé à des protéines destinées à être sécrétées ou acheminées vers différents compartiments cellulaires. Chez *S. cerevisiae*, l'incorporation du cuivre à la protéine Fet3 a lieu au sein de l'appareil de Golgi. Par la suite, Fet3 est acheminée à la membrane plasmique (Fet3 est l'une des protéines qui composent le système d'acquisition du fer de haute affinité). D'ailleurs, chez des souches mutantes pour les gènes *ATX1* et *CCC2*, le transport de haute-affinité du fer est aboli.

Chez l'homme, il existe un homologue de la chaperonne Atx1 qui se nomme Atox1 [1], ainsi que deux homologues du transporteur Ccc2, soit ATP7A (protéine de Menkes) et ATP7B (protéine de Wilson) [2]. Des travaux ont montré que Atox1 interagit avec les transporteurs ATP7A et ATP7B.

La protéine de Menkes est exprimée dans tous les types cellulaires, sauf dans les hépatocytes. Elle assure l'apport en cuivre à l'appareil de Golgi où certains enzymes acquièrent leur cofacteur : la dopamine β -hydroxylase, la peptidylglycine-mono-oxygénase, la superoxyde dismutase extracellulaire, et la tyrosinase (Tableau 1). Dans les fibroblastes et les cellules épithéliales polarisées de l'intestin, la protéine de Menkes se déplace de l'appareil de Golgi vers la membrane plasmique lorsque la concentration en cuivre augmente. Le cuivre est alors expulsé de la cellule et passe dans la circulation sanguine. Si la concentration en cuivre baisse, la protéine de Menkes regagne l'appareil de Golgi. Elle joue donc un rôle très important dans la mobilisation du cuivre chez l'homme. Chez les patients atteints du syndrome de Menkes, les symptômes cliniques observés sont une dégénérescence cérébrale, un développement osseux inadéquat, des anomalies cardiovasculaires accompagnées de difficultés à maintenir la température corporelle [1]. L'injection intraveineuse de cuivre couplé à l'histidine permet d'atténuer ces symptômes mais n'empêche pas toutefois la dégénérescence des cellules nerveuses [2].

Pour sa part, la protéine de Wilson est exprimée la plupart du temps dans l'appareil de Golgi des hépatocytes où elle permet l'incorporation du cuivre à la céruloplasmine (Tableau 1). Lorsque la concentration en cuivre augmente dans la cellule, la protéine de Wilson se dirige vers des compartiments vésiculaires situés en périphérie de la membrane plasmique. Ces compartiments vésiculaires pourraient s'associer au canal biliaire pour excréter le cuivre excédentaire via la bile. La maladie de

Wilson est caractérisée par l'accumulation d'une quantité excessive de cuivre dans le foie, la protéine ATP7B mutante ne pouvant évacuer l'excès de cuivre. Il s'ensuit une nécrose du foie qui provoque la libération du cuivre dans le système sanguin ; le cuivre s'accumule alors dans divers organes notamment le cerveau et les reins. Les patients atteints de cette maladie souffrent de cirrhose et de troubles neurologiques et psychiatriques [1].

Conclusion

Les études utilisant les organismes modèles unicellulaires comme la levure ont permis de découvrir des protéines de transport et de distribution des ions de cuivre [26]. Les mécanismes en cause sont remarquablement bien orchestrés, permettant à la fois d'assurer les besoins en cuivre et d'éviter la toxicité qu'engendrerait une surcharge. Les études publiées ont établi la preuve que la levure constitue un excellent modèle pour comprendre les bases moléculaires des tares héréditaires auxquelles sont attribuées des défaillances métaboliques chez l'humain. Étant donné l'existence de composantes cuivre-dépendantes importantes en cause dans les maladies de Creutzfeldt-Jakob (protéine prion) et d'Alzheimer (protéine précurseur β -amyloïde), dans la sclérose latérale amyotrophique (SOD1) et dans l'acidose lactique (CcO), il devient primordial d'élucider les divers mécanismes et sentiers moléculaires empruntés par le cuivre afin d'atteindre ces métalloprotéines. \diamond

SUMMARY

The molecular bases for copper uptake and distribution: lessons from yeast

Copper exists in two oxidation states, cuprous (Cu^{1+}) and cupric (Cu^{2+}), which, respectively, can donate or accept electrons. The fact that copper has two readily interconvertible redox states makes it a catalytic co-factor for many important enzymes. Over the past years, work in a number of laboratories has clearly demonstrated that studies in yeast have served as a springboard for identifying cellular components and processes involved in copper uptake and distribution. In several cases, it has been shown that mammalian proteins are capable of functionally replacing yeast proteins, thereby revealing their remarkable functional conservation. For high-affinity copper transport into cells, it has been shown that copper transporters of the Ctr family are required. Upon entering the cell, copper is partitioned to different proteins and into different compartments within the cell. Given the potential toxicity of copper, specialized proteins bind copper after it enters the cell and subse-

quently donate the bound copper to their corresponding recipient proteins. Three copper-binding proteins, Ccs1, Cox17, and Atx1, have been identified that serve as “copper chaperones” to deliver copper. ♦

GLOSSAIRE

AA : acides aminés
ADN : acide désoxyribonucléique
ATP7A : protéine de Menkes
ATP7B : protéine de Wilson
Atx1 : chaperonne de cuivre du transporteur intracellulaire Ccc2
Atox1 : chaperonne de cuivre des protéines de Menkes et Wilson
Ccc2 : transporteur intracellulaire de cuivre permettant le passage de l'ion dans le Golgi
CcO : cytochrome c oxydase
CCS : chaperonne de cuivre de la superoxyde dismutase
Cox1, 2, 3 : sous-unités de la cytochrome c oxydase
Cox11 : protéine permettant l'incorporation de cuivre à la cytochrome c oxydase
Cox17 : chaperonne de cuivre de la cytochrome c oxydase
Ctr : copper transporter
Fet3 : protéine ferroxidase qui est une composante du complexe responsable de l'acquisition du fer
Fre : protéine réductrice des ions Cu^{2+} ou Fe^{3+}
Ftr : iron transporter
IM : membrane interne de la mitochondrie
IMS : espace intermembranaire de la mitochondrie
Met : méthionine
Motifs Met : motifs composés de résidus Met-X₂-Met ou Met-X-Met (où X = n'importe lequel AA)
OM : membrane externe de la mitochondrie
Pccs : chaperonne de cuivre de la superoxyde dismutase chez *S. pombe*
RE : réticulum endoplasmique
Sco1 : protéine permettant l'incorporation de cuivre à la cytochrome c oxydase
Sco2 : protéine participant à l'incorporation de cuivre à la cytochrome c oxydase
S. cerevisiae : *Saccharomyces cerevisiae*
S. pombe : *Schizosaccharomyces pombe*
SOD1 : superoxyde dismutase 1
Tom : système d'importation de protéines mitochondriales
TM : domaine transmembranaire

- Puig S, Lee J, Lau M, Thiele DJ. Biochemical and genetic analyses of yeast and human high affinity copper transporters suggest a conserved mechanism for copper uptake. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 26021-30.
- Rees EM, Lee J, Thiele DJ. Mobilization of intracellular copper stores by the Ctr2 vacuolar copper transporter. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 54221-29.
- Zhou H, Thiele DJ. Identification of a novel high affinity copper transport complex in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 20529-35.
- Beaudoin J, Laliberté J, Labbé S. Functional dissection of Ctr4 and Ctr5 amino-terminal regions reveals motifs with redundant roles in copper transport. *Microbiology* 2006 ; 152 : 209-22.
- Bellemare DR, Shaner L, Morano KA, et al. Ctr6, a vacuolar membrane copper transporter in *Schizosaccharomyces pombe*. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 46676-86.
- Zhou B, Gitschier J. hCTR1, a human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 7481-6.
- Lee J, Prohaska JR, Thiele DJ. Essential role for mammalian copper transporter Ctr1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 6842-47.
- Rae TD, Schmidt PJ, Pufahl RA, et al. Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper chaperone for superoxide dismutase. *Science* 1999 ; 284 : 805-8.
- Glerum DM, Shtanko A, Tzagoloff A. Characterization of COX17, a yeast gene involved in copper metabolism and assembly of cytochrome oxidase. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 14504-9.
- Lin SJ, Pufahl RA, Dancis A, et al. A role for the *Saccharomyces cerevisiae* ATX1 gene in copper trafficking and iron transport. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 9215-20.
- Schmidt PJ, Rae TD, Pufahl RA, et al. Multiple protein domains contribute to the action of the copper chaperone for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 23719-25.
- Furukawa Y, Torres AS, O'Halloran TV. Oxygen-induced maturation of SOD1: a key role for disulfide formation by the copper chaperone CCS. *EMBO J* 2004 ; 23 : 2872-81.
- Sturtz LA, Diekert K, Jensen LT, et al. A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, Ccs, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 38084-9.
- Field LS, Furukawa Y, O'Halloran TV, Culotta VC. Factors controlling the uptake of yeast copper/zinc superoxide dismutase into mitochondria. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 28052-9.
- Cobine PA, Ojeda LD, Rigby KM, Winge DR. Yeast contains a non-proteinaceous pool of copper in the mitochondrial matrix. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 14447-55.
- Laliberté J, Whitson LJ, Beaudoin J, et al. The *Schizosaccharomyces pombe* Pccs protein functions in both copper trafficking and metal detoxification pathways. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 28744-55.
- Rae TD, Torres AS, Pufahl RA, O'Halloran TV. Mechanism of Cu, Zn-superoxide dismutase activation by the human metallochaperone hCCS. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 5166-76.
- Subramaniam JR, Lyons WE, Liu J, et al. Mutant SOD1 causes motor neuron disease independent of copper chaperone-mediated copper loading. *Nat Neurosci* 2002 ; 5 : 301-7.
- Cobine PA, Pierrel F, Winge DR. Copper trafficking to the mitochondrion and assembly of copper metalloenzymes. *Biochim Biophys Acta* 2006 ; 1763 : 759-72.
- Hong YC, Cobine PA, Maxfield AB, et al. Specific copper transfer from the Cox17 metallochaperone to both Sco1 and Cox11 in the assembly of yeast cytochrome c oxidase. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 35334-40.
- Leary SC, Cobine PA, Kaufman BA, et al. The human cytochrome c oxidase assembly factors Sco1 and Sco2 have regulatory roles in the maintenance of cellular copper homeostasis. *Cell Metab* 2007 ; 5 : 9-20.
- Yuan DS, Stearns R, Dancis A, et al. The Menkes/Wilson disease gene homologue in yeast provides copper to a ceruloplasmin-like oxidase required for iron uptake. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 2632-6.
- Banci L, Bertini I, Cantini F, et al. The Atx1-Ccc2 complex is a metal-mediated protein-protein interaction. *Nat Chem Biol* 2006 ; 2 : 367-8.
- Rees EM, Thiele DJ. From aging to virulence: forging connections through the study of copper homeostasis in eukaryotic microorganisms. *Curr Opin Microbiol* 2004 ; 7 : 175-84.
- Peña MM, Puig S, Thiele DJ. Characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* high affinity copper transporter Ctr3. *J Biol Chem* 2000 ; 275 : 33244-51.
- Aller SG, Eng ET, De Feo CJ, Unger VM. Eukaryotic Ctr copper uptake transporters require two faces of the third transmembrane domain for helix packing, oligomerization, and function. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 53435-41.
- Cobine PA, Pierrel F, Bestwick ML, Winge DR. Mitochondrial matrix copper complex used in metallation of cytochrome oxidase and superoxide dismutase. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 36552-9.

RÉFÉRENCES

- Madsen E, Gitlin JD. Copper and iron disorders of the brain. *Annu Rev Neurosci* 2007 ; 30 : 317-37.
- La Fontaine S, Mercer JF. Trafficking of the copper-ATPases, ATP7A and ATP7B: role in copper homeostasis. *Arch Biochem Biophys* 2007 ; 463 : 149-67.

TIRÉS À PART

S. Labbé