

► Les centres fer-soufre (Fe-S) sont des groupements prosthétiques présents dans de très nombreuses protéines chez la plupart des organismes vivants. À titre d'exemple, la bactérie *Escherichia coli* synthétise plus de 130 types de protéines à centres Fe-S différentes. Les protéines à centres Fe-S sont impliquées dans une grande diversité de processus biologiques, de la respiration à la photosynthèse, et du métabolisme à la régulation de l'expression génique ou à la stabilité génomique. Si l'acquisition des centres Fe-S par les protéines, processus que l'on désigne par le mot de maturation, peut se faire spontanément *in vitro*, elle nécessite *in vivo* l'intervention de machineries moléculaires dédiées. Le dysfonctionnement de ces machineries peut conduire à des phénotypes très marqués, de la létalité chez les bactéries à des pathologies graves chez l'homme. Après avoir rappelé les grands principes sous-jacents à la biogenèse des centres Fe-S et à leur incorporation dans les protéines cellulaires, nous illustrerons l'importance de ce processus en décrivant quelques cas de dysfonctionnement de protéines à centre Fe-S et de machineries de biogenèse chez les bactéries et l'homme. ◀

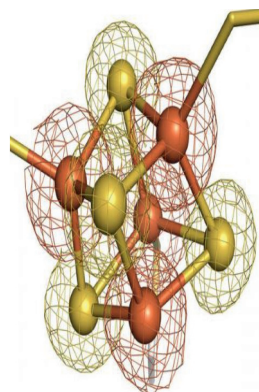
## Les centres Fe-S : histoire et rôles

Les centres Fe-S ont été « recrutés » par les systèmes vivants très tôt durant l'évolution [1]. Il est vraisemblable que, dans les conditions anaérobies primitives, l'abondance et la disponibilité de fer, alors sous forme ferreuse ( $Fe^{2+}$ ), et de soufre, alors sous forme sulfide ( $S^{2-}$ ), ont contribué à leur acquisition par les systèmes enzymatiques émergents. Lors de l'apparition d'une atmosphère aérobie en revanche, le maintien d'une biologie en partie basée sur les centres Fe-S est devenue à la fois plus difficile - le fer étant sous forme oxydée

# Du fer et du soufre dans les protéines

## Comment la cellule construit-elle les cofacteurs fer-soufre essentiels à son fonctionnement ?

Béatrice Py, Frédéric Barras



Laboratoire de Chimie Bactérienne, UMR 7283 CNRS-Aix-Marseille Université, Institut de Microbiologie de la Méditerranée, 31, chemin Joseph Aiguier, 13009 Marseille, France.  
[py@imm.cnrs.fr](mailto:py@imm.cnrs.fr)  
[barras@imm.cnrs.fr](mailto:barras@imm.cnrs.fr)

insoluble - et plus dangereuse - le fer pouvant agir comme catalyseur de la production de formes réactives de l'oxygène (ROS) destructrices des centres Fe-S. Il est admis que c'est dans ce contexte que les organismes vivants ont développé des systèmes multiprotéiques, ou machineries, dédiées à la biogenèse et l'utilisation des centres Fe-S.

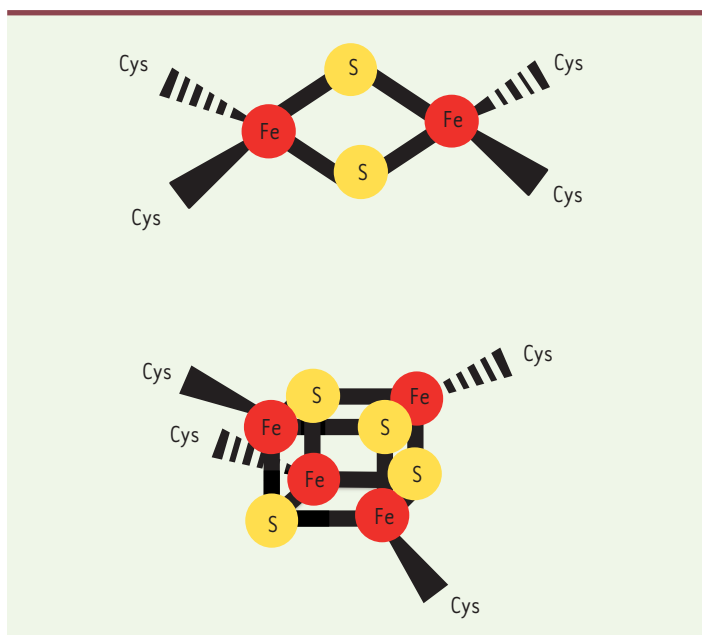
Il existe plusieurs types de centres Fe-S ; les plus courants sont les centres  $Fe_2S_2$  et  $Fe_4S_4$  (Figure 1). Un centre Fe-S est associé à un polypeptide *via* des liaisons non covalentes entre les atomes de fer et les chaînes latérales de résidus d'acides aminés, le plus souvent des résidus Cys, mais d'autres résidus (comme Asp, His, et même Arg) peuvent également servir de ligands. Les différentes valences électroniques du fer et du soufre confèrent aux centres Fe-S des propriétés permettant d'étendre le spectre d'activité des protéines hôtes. Ainsi, les centres Fe-S sont utilisés comme relais électroniques dans les chaînes de transfert d'électrons, senseurs de modification du potentiel redox de l'environnement proche et d'acide de Lewis<sup>1</sup> en participant directement à des réactions catalytiques [1-3].

## Biogenèse des centres Fe-S

Pendant plus de 30 ans, la formation des centres Fe-S fut considérée comme un événement spontané. Dans les années 1990 toutefois, le

Vignette (Photo © Michael Groll, Technische Universität München, Germany).

<sup>1</sup> Pour Lewis, un acide est un accepteur de doublet d'électrons et une base un donneur de doublet d'électrons. Pour Bronsted et Lowry, les acides sont considérés comme des composés capables de libérer en solution un ou plusieurs protons  $H^+$ .



**Figure 1. Structure des deux types de centres Fe-S les plus communs.** Les centres de type Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (haut) et de type Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> (bas) sont représentés. Les atomes de fer sont représentés en rouge, les atomes de soufre en jaune. Dans l'exemple illustré, les centres Fe-S sont liés à la chaîne polypeptidique par des résidus cystéine.

laboratoire de D. Dean (Virginia Tech) découvrit, par des approches génétiques, que l'activité de la nitrogénase d'*Azotobacter vinelandii* nécessitait *in vivo* l'assistance de plusieurs protéines, toutes apparemment requises pour l'insertion des centres Fe-S [4]. Depuis, les études menées sur des organismes tels que *Escherichia coli* et *A. vinelandii* pour les procaryotes, et *Saccharomyces cerevisiae*, *Arabidopsis thaliana* et l'homme pour les eucaryotes, ont permis de distinguer trois machineries nécessaires à la formation des centres Fe-S et à leur insertion dans des protéines cellulaires « clientes » : la machinerie ISC (*iron-sulfur cluster*), présente chez les bactéries et dans les mitochondries, la machinerie SUF, présente chez les bactéries et dans les chloroplastes, et la machinerie NIF, celle-là même initialement identifiée par D. Dean et ses collègues, qui est spécifique de la maturation de la nitrogénase. La construction des centres Fe-S par les machineries ISC et SUF suit des logiques fonctionnelles relativement proches, avec une étape de mobilisation des éléments constitutifs, Fe et S, suivie d'une étape d'assemblage des centres Fe-S, puis une étape de livraison du centre Fe-S aux protéines « clientes » de la cellule (Figure 2). Comme nous le verrons, les machineries ISC et SUF ne sont pas de simples duplications l'une de l'autre. Il apparaît donc que, durant l'évolution, plusieurs solutions différentes ont été sélectionnées pour satisfaire les besoins en centres Fe-S des différents organismes [5-10]. Enfin, les eucaryotes possèdent une troisième machinerie, la CIA (*cytosolic iron-sulfur clusters assembly*), que l'on pourrait désigner comme une « extension de la ligne de distribution » de la machinerie ISC, localisée dans le cytoplasme, et requise pour la maturation des protéines cytoplasmiques, voire nucléaires [11, 12].

## La machinerie ISC

### Rôle de ISC dans la maturation des protéines Fe-S chez *E. coli*

La machinerie ISC a été particulièrement bien étudiée chez *E. coli*, bactérie chez laquelle la synthèse des composants ISC est dirigée par l'opéron *iscRSUA-hscBA-fdx* [5, 6]. Le gène *iscR* (*iron-sulfur cluster regulator*) code pour un régulateur transcriptionnel. C'est une protéine à centre Fe-S dont la maturation dépend de l'activité de la machinerie ISC [13, 14]. Ainsi, lorsque la quantité de centres Fe-S synthétisée par la cellule est limitante, la protéine IscR perd son centre Fe-S et, sous cette forme (apo-IscR), est incapable de réprimer l'expression des gènes *iscRSUA-hscBA-fdx*. La machinerie ISC est alors synthétisée, un centre Fe-S est positionné dans IscR qui, sous cette forme (holo-IscR), se fixe dans la région de contrôle de l'opéron *iscRSUA-hscBA-fdx* et réprime la synthèse de la machinerie ISC. Par ailleurs, IscR régule la synthèse d'un très grand nombre de protéines à centres Fe-S « clientes ». Ainsi, IscR régule l'offre et la demande en Fe-S de la cellule. Il n'est pas inutile de noter que la synthèse de la machinerie ISC est également sous le contrôle d'un petit ARN régulateur non codant, appelé RyhB, qui permet de diminuer la synthèse de la machinerie ISC en conditions de concentration limitante en fer.

IscS (*cysteine desulfurase*) est une enzyme à phosphate de pyridoxal (PLP) qui forme, à partir de la L-cystéine présente dans la cellule, une entité persulfure au niveau d'une cystéine conservée de sa chaîne polypeptidique (Cys-S-SH). Sous cette forme, le soufre est activé, mobilisable et non toxique. IscS s'associe avec IscU (*iron-sulfur cluster scaffold*), une protéine servant de plate-forme d'assemblage pour les centres Fe-S [15, 16].

De façon remarquable, la formation et la stabilisation transitoire de ces centres impliquent trois résidus Cys de IscU, mais aussi le résidu Cys catalytique de IscS [17]. Il faut toutefois noter que la structure utilisée pour proposer ce modèle comprend une protéine IscU mutée au niveau d'un résidu aspartate, et que le mode de coordination du centre Fe-S dans un complexe sauvage pourrait être différent. La ferrédoxine (Fdx) fournirait les électrons nécessaires à la réduction du soufre élémentaire (S<sup>0</sup>) en sulfide S<sup>2-</sup>, la forme rédox du soufre présente dans les *clusters* Fe-S [18, 19].

Les protéines HscB et HscA forment un duo co-chaperon/chaperon du type Hsp40/Hsp70, dont l'action est spécifiquement dédiée à la biogenèse des centres Fe-S [20]. Les protéines HscBA interviennent dans la libération et le transfert du centre Fe-S de la protéine

IscU. La possibilité que le centre Fe-S aille directement de IscU/HscBA aux protéines « clientes » est avérée *in vitro*, mais très improbable *in vivo*, car des protéines dites de transport (IscA, ErpA, voir plus loin), interviennent pour acheminer le centre Fe-S formé vers les protéines « clientes » de la cellule.

La source de fer reste pour le moment inconnue. Compte tenu du pouvoir toxique du fer libre, il est admis que le fer doit être stocké ou coordonné dans des composants cellulaires. La protéine CyaY (homologue de la frataxine) pourrait remplir ce rôle, car elle interagit avec IscS et fixe du fer avec une affinité correcte ( $K_d = 10^{-6}$  M). Toutefois, l'absence de CyaY ne provoque pas de perturbation de l'homéostasie en fer, et ne se solde que par une diminution faible, mais significative, de l'activité de plusieurs protéines Fe-S, ce qui disqualifie CyaY comme unique candidate donneuse de fer. De plus, des expériences de biochimie montrent que l'action de CyaY est probablement centrée sur la modulation de l'activité cystéine désulfurase de IscS [21]. Le rôle de CyaY est discuté plus loin dans une section dédiée au rôle de son homologue structural eucaryote, appelé frataxine (FXN).

Une machinerie ISC similaire à celle décrite précédemment est présente dans de très nombreuses espèces bactériennes, parmi lesquelles des pathogènes de mammifères comme *Salmonella enterica* subsp. *typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, ou *Pseudomonas aeruginosa*, et des pathogènes de plantes comme *Dickeya dadantii* (voir plus loin).

### Rôle de ISC dans la maturation des protéines Fe-S eucaryotes mitochondriales, cytosoliques et nucléaires

Les mitochondries sont connues pour leur rôle de fournisseur d'énergie pour la cellule. Les mitochondries apparaissent aussi désormais comme fournissant les centres Fe-S, la machinerie ISC localisée dans la mitochondrie permettant la maturation des protéines Fe-S mitochondriales, mais également celle des protéines Fe-S cytosoliques et nucléaires [7-9].

La machinerie ISC mitochondriale de *S. cerevisiae* ou de mammifères est similaire à celle de *E. coli* (Figures 2-3). La présence de quelques composants moléculaires supplémentaires est toutefois à noter. Brièvement, la cystéine désulfurase NFS1 forme un complexe hétéromérique avec la protéine ISD11 (*NFS1 interacting protein*), ISCU et la frataxine (FXN). Il s'agit du complexe d'assemblage du centre Fe-S qui est ensuite libéré par l'action de chaperons et cédé à une cohorte de transporteurs qui assurent la livraison vers les apoprotéines « clientes ». ISD11 n'a pas d'homologue dans le système ISC bactérien. *In vitro*, l'activité cystéine désulfurase de NFS1 est augmentée en présence de ISD11 [22, 23].

Au sein du complexe NFS1/ISD11/ISCU/FXN, la frataxine stimule l'activité cystéine désulfurase et aussi l'entrée du fer pour la formation du centre Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> sur ISCU [24, 25]. Les phénotypes des altérations du gène codant pour la FXN sont spectaculaires chez les eucaryotes, la levure ou l'homme. Ce n'est pas le cas des mutants *cyaY* de *E. coli* et de *Salmonella*. De récentes études génétiques suggèrent que la différence d'importance de la FXN entre les eucaryotes et les procaryotes serait contenue dans la connexion FXN/ISCU (CyaY/IscU) [26].

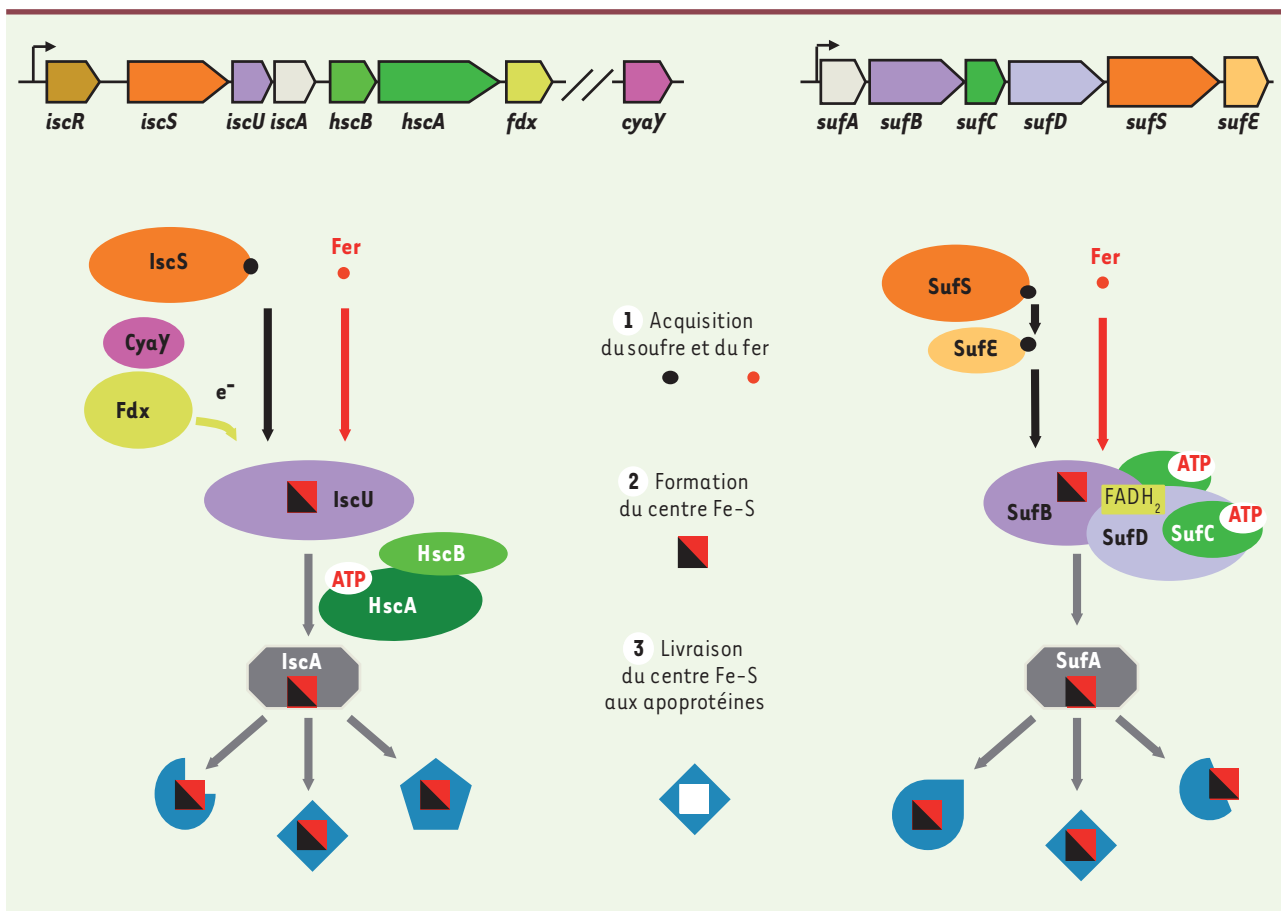
Une fois assemblé sur ISCU, le centre Fe-S est libéré grâce à l'interaction entre ISCU portant le centre Fe-S et un système de chaperon/co-chaperon dédié, constitué chez la levure des protéines Ssq1 (*mitochondrial HSP70 chaperone*) et Jac1 (*mitochondrial J-type co-chaperone*), ainsi que du facteur d'échange Mge1 (*mitochondrial matrix GrpE-related protein*) [27, 28]. Chez les mammifères, il semble que les chaperons généraux soient recrutés pour assister l'étape de transfert du centre Fe-S. Plusieurs protéines de transport interviennent en aval dans l'étape de distribution : GLRX5 (*glutaredoxin-related protein 5*), NFU (*iron-sulfur cluster scaffold protein*), ISCA et NUBPL (*nucleotide binding protein-like*). L'inactivation de *GLRX5* altère la maturation des protéines à Fe-S mitochondriales et cytosoliques, alors que l'inactivation des trois autres affecte la maturation d'un sous-ensemble plus restreint de protéines Fe-S. Ainsi, *GLRX5* pourrait avoir un rôle pléiotrope, alors que les autres auraient une spécificité de cible plus restreinte. Alternativement, des redondances fonctionnelles peuvent masquer la contribution de chacun des composants manquants et, ainsi, expliquer la neutralité apparente des mutations étudiées. BOLA et IBA57 interviennent également dans la maturation des protéines à centre Fe-S, mais leur rôle reste totalement énigmatique. Elles ne fixent pas de centre Fe-S et ne peuvent donc pas jouer le rôle de transporteur.

### La machinerie SUF

#### Rôle de SUF dans la maturation des protéines Fe-S chez *E. coli* en conditions de stress

La machinerie SUF a été particulièrement bien étudiée chez *E. coli*. La machinerie SUF est codée par l'opéron *sufABCDSE* (Figure 2) [5, 6]. L'expression de cet opéron est contrôlée par toute une série de régulateurs transcriptionnels, senseurs de la limitation en fer (Fur), de la présence de formes actives de l'oxygène (OxyR) ou de mono-oxyde d'azote (NsrR). L'expression est également contrôlée par IscR qui, sous sa forme apo, agit comme activateur. L'ensemble de ces différentes régulations convergent vers la même réalité physiologique : lorsque *E. coli* croît dans des conditions défavorables à la formation de centres Fe-S, soit à cause de la présence de toxiques déstabilisants (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO), soit par manque de fer, la machinerie SUF est synthétisée et s'ajoute, voire se substitue, à la machinerie ISC pour assurer la production de centres Fe-S.

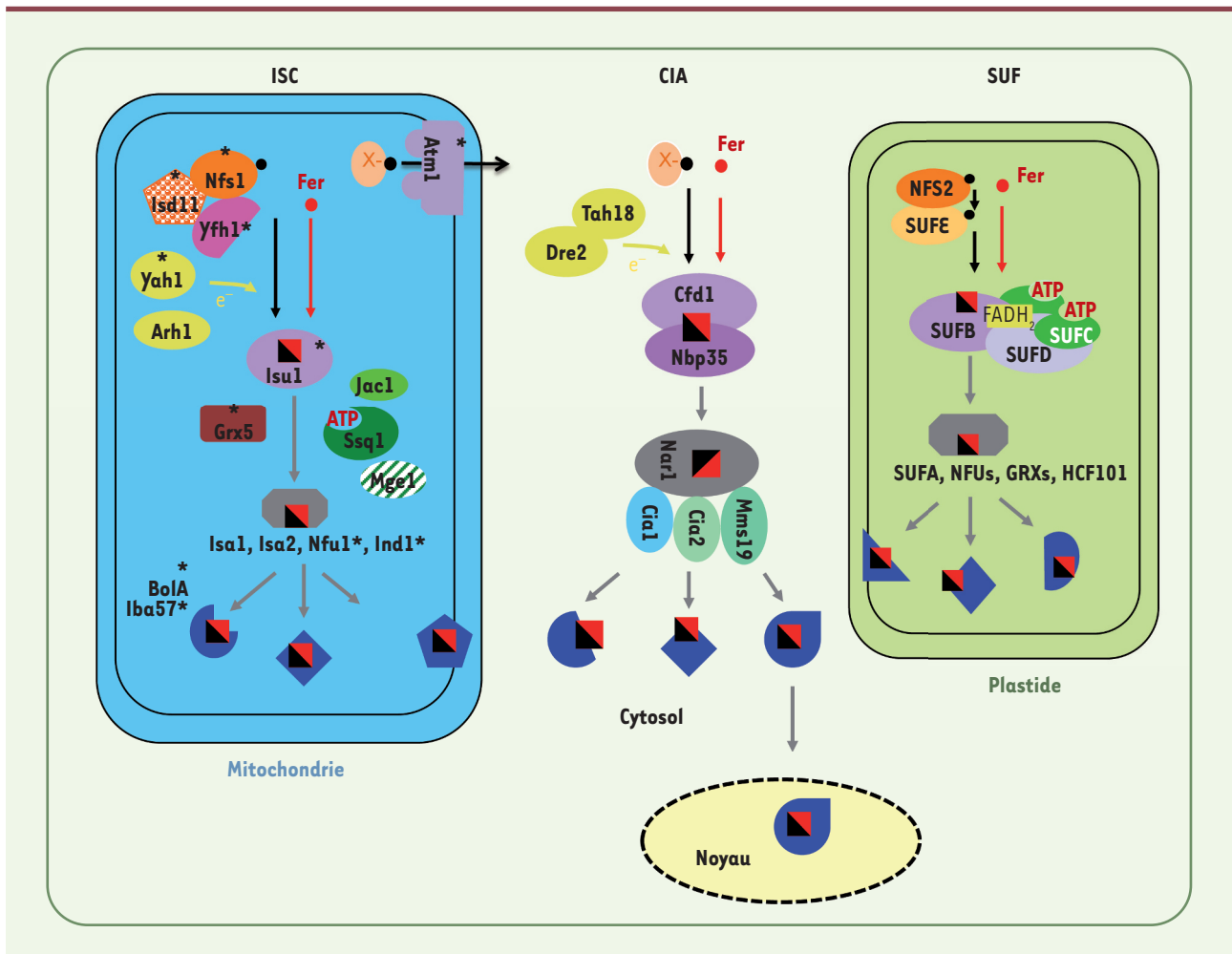
Dans la machinerie SUF, la protéine d'assemblage du centre Fe-S est SufB, qui fonctionne de concert avec SufC, une ATPase, et SufD, dont le rôle est encore inconnu. Il est important de rappeler qu'il n'y a



**Figure 2. Les machineries générales de biogenèse des centres Fe-S chez *E. coli*.** Les gènes codant pour les composants de la machinerie ISC sont organisés en opéron (*iscRSUA-hscBA-fdx*, en haut à gauche). Le gène *cyaY* codant pour la frataxine est localisé hors de l'opéron *isc*. La machinerie ISC comprend : IscS, une cystéine désulfurase qui fournit le soufre à partir de L-cystéine ; CyaY, qui module l'activité de IscS ; la ferrédoxine (Fdx), qui fournit des électrons lors de la formation du centre Fe-S sur IscU ; IscU, la protéine d'assemblage sur laquelle le centre Fe-S est construit ; HscAB, un couple de chaperon/co-chaperon qui facilite la libération du centre Fe-S pré-assemblé sur IscU ; IscA, la protéine de transport du centre Fe-S ; et IscR, un régulateur transcriptionnel de l'expression des opérons *isc* et *suf*. La machinerie SUF comprend : SufSE, un complexe hétérodimérique avec une activité cystéine désulfurase ; SufB, la protéine d'assemblage associée à ses partenaires SufD et à l'ATPase SufC, ainsi que le FADH<sub>2</sub> présent dans le complexe SufBC<sub>2</sub>D, mais dont le rôle n'est pas compris ; et SufA, la protéine de transport du centre Fe-S. Le processus de biogenèse des protéines Fe-S peut se décrire en trois étapes : (1) l'acquisition du soufre (rond noir) et du fer (rond rouge), (2) la formation du centre Fe-S (carré noir et rouge) sur une protéine d'assemblage, et (3) livraison du centre Fe-S aux protéines « clientes » (en bleu), après son chargement sur une protéine de transfert.

aucune ressemblance structurale entre SufBCD et les composants ISC assurant l'assemblage du cluster Fe-S (IscU) ou l'hydrolyse de l'ATP (HscAB). Une possibilité suggérée par les phénotypes des mutants considérés est que, dans la machinerie SUF, le centre Fe-S en construction soit enfoui au sein d'un complexe multiprotéique (SufBCD), alors que dans le système ISC, le centre Fe-S en cours d'assemblage sur IscU serait exposé au solvant. Il est important toutefois de noter que ces assertions ne sont, pour l'heure, validées par aucune étude de biochimie approfondie. Le processus d'acquisition du soufre présente, lui aussi, des différences entre SUF et ISC : l'activité cystéine désulfurase de la machinerie SUF est produite par un hétérodimère SufS/SufE, et le site actif de SufS, la

cystéine désulfurase, est enfoui, alors que celui de IscS est exposé à la surface. De plus, le soufre produit par SufS est capté et stocké sur SufE, et c'est cette dernière qui le transfère ensuite au complexe SufBC<sub>2</sub>D. L'ensemble de ces données structurales et fonctionnelles soutiennent l'idée selon laquelle les centres Fe-S sont plus protégés du solvant lorsqu'ils sont construits par SUF que par ISC, autrement dit que la machinerie SUF fonctionne plus efficacement dans des conditions adverses pour la stabilité des centres Fe-S. En appui de cette idée, il a récemment été montré que le transfert de soufre de SufS vers SufE est



**Figure 3. Les machineries de biogenèse des centres Fe-S chez les eucaryotes.** Chez les eucaryotes on distingue la machinerie ISC, localisée dans la mitochondrie, la machinerie CIA dans le cytosol, et la machinerie SUF pour les organismes possédant des plastides. À gauche de la figure est représentée la machinerie ISC. Les noms indiqués sont ceux des composants présents chez la levure *S. cerevisiae*. Lorsque les noms des composants chez l'humain sont différents, ils sont indiqués entre parenthèses. Nfs1 : cystéine désulfurase ; Yfh1 (FXN) : frataxine ; Yah1 (FDX) : ferrédoxine ; Isu1 (ISCU) : protéine d'assemblage ; Ssq1-Jac1 (HSPA9/HSCB) : couple de chaperon/co-chaperon ; Grx5 (GRLX5) : une glutaredoxine participant au relargage du centre Fe-S formé sur Isu1 ; Isa1 (ISCA), Isa2, Nfu1 et Ind1 : transporteurs de centres Fe-S. BolA et Iba57 sont représentées car elles sont impliquées dans la biogenèse des centres Fe-S, mais leur rôle exact reste à élucider. Sont également représentés des composants n'ayant pas d'équivalent fonctionnel chez *E. coli* ; Isd11 : un partenaire de Nfs1 ; Arh1 (FDXR) : une ferrédoxine réductase qui, à partir du NADH, fournit des électrons à Yah1 ; Mge1 (GRPEL) : un facteur d'échange de nucléotides associé à Ssq1-Jac1. Un composé sulfuré (X), dont la nature exacte n'est pas connue, est synthétisé d'une manière dépendante d'ISC puis exporté, via Atm1 (ABCB7), dans le cytosol où il servirait de source de soufre pour la machinerie CIA. Les astérisques désignent les composants dont l'altération conduit à des pathologies (Tableau 1) [7-9, 42]. Au centre est représentée la machinerie CIA. Les noms indiqués sont ceux des composants présents dans la levure *S. cerevisiae*. Lorsque les noms des composants chez l'homme sont différents, ils sont indiqués entre parenthèses. Tah18 (NDOR1) et Dre2 (CIAPIN1) servent à acheminer des électrons au complexe d'assemblage Cfd1-Nbp35, et les protéines Nar1 (IOPI), Cia1, Cia2 et Mms19 assurent le transfert du centre Fe-S du complexe d'assemblage vers les protéines cytosoliques ou nucléaires. À droite de la figure, est représentée la machinerie SUF. Les noms indiqués sont ceux des composants présents chez *A. thaliana*. NFS2-SUFE est un complexe hétérodimerique avec une activité cystéine désulfurase et transfert du soufre de NFS2 à SUFE ; SUF-BCD est le complexe d'assemblage et SUFA, NFU, GRX, HCF101 sont des transporteurs de centres Fe-S.

moins sensible à la présence de ROS dans l'environnement proche que celui de IscS vers IscU [29]. La source de fer reste là aussi mal définie. Des travaux de génétique avaient suggéré que SUF pourrait s'alimenter en fer à des sidérophores.

L'entrée du fer pourrait se faire directement sur le complexe SufBC<sub>2</sub>D via l'activité réductrice du cofacteur FADH<sub>2</sub> [30]. Enfin, comme dans le cas de ISC, le centre Fe-S formé sur SufB est ensuite libéré et transféré vers une

protéine de transport, SufA, qui est un paralogue de IscA. Il est intéressant de souligner qu'*in vivo*, les centres Fe-S construits dans SufBC<sub>2</sub>D peuvent être transférés au transporteur IscA et que, réciproquement, les centres Fe-S construits dans IscU peuvent être captés par SufA [31]. La machinerie SUF, telle que décrite ci-dessus, est présente dans de nombreuses bactéries, en particulier les cyanobactéries et les mycobactéries, chez lesquelles elle joue un rôle clé dans la virulence (voir plus loin).

### Rôle de SUF dans la maturation des protéines

#### Fe-S chloroplastiques

La maturation des protéines Fe-S chloroplastiques est assurée par une machinerie de type SUF [10]. La présence de SUF dans le chloroplaste est évolutivement liée à sa présence chez les cyanobactéries et au deuxième épisode endosymbiotique<sup>2</sup> durant l'évolution des végétaux. La présence d'un haut niveau de stress oxydatif dans le chloroplaste est probablement une autre contrainte fonctionnelle qui a favorisé l'adoption de SUF par le chloroplaste.

Les protéines SUF chloroplastiques de *A. thaliana* sont homologues à celles de *E. coli* et fonctionnent de manière similaire. On peut cependant noter quelques caractéristiques spécifiques. Par exemple, il y a chez *A. thaliana* trois protéines homologues à SufE. SufE1 interagit avec la cystéine désulfurase et possède un domaine additionnel homologue à BOLA. Dans la protéine SufE3, le domaine SufE est fusionné à un domaine homologue à NADA, une enzyme à centre Fe-S de la voie de biosynthèse du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD). Des insertions dans SufE1 et SufE3 d'*A. thaliana* sont létales au stade embryonnaire, indiquant que ces deux composants ne sont pas redondants. Plusieurs transporteurs de centres Fe-S, SufA, Nfu2, GrxS14 (*glutaredoxin 14*) et GrxS16, ont également été identifiés.

#### Les extensions des machineries ISC et SUF

##### La CIA : une extension de la machinerie ISC chez les eucaryotes

La machinerie de biogenèse des centres Fe-S cytosoliques, appelée CIA (*cytosolic iron-sulfur clusters assembly*) est composée de sept protéines qui ne présentent pas d'homologues parmi les composants ISC ou SUF [11, 12]. L'assemblage des centres par cette machinerie suit le même plan que celui décrit avec ISC et SUF. Après leur assemblage transitoire sur une protéine dédiée, les centres Fe-S sont acheminés jusqu'aux protéines cibles *via* des transporteurs (Figure 3). Il est essentiel de souligner que l'activité de la CIA dépend de celle de la machinerie ISC mitochondriale [11, 12].

La protéine d'assemblage est un complexe hétérotétramérique formé de deux P-loop NTPases (*nucleoside triphosphatases*), CFD1 (*iron-sulfur cluster binding protein*) et NBP35 (*nucleotide binding protein of 35-kDa*). La formation du centre Fe-S requiert l'apport d'électrons qui sont acheminés *via* une chaîne impliquant le NADPH, et deux protéines cytosoliques, la diflavine réductase

Tah18 et Dre2, une protéine à centre Fe-S. Le transfert du centre Fe-S aux cibles fait intervenir les protéines Nar1, CIA1, CIA2 et MMS19. La protéine Nar1 fixe un centre Fe-S, mais n'interagit pas avec les protéines cibles, tandis que CIA1, CIA2, et MMS19 ne fixent pas de centre Fe-S, mais interagissent avec les protéines cibles. Cette séparation des fonctions a conduit à la proposition selon laquelle Nar1 serait le transporteur de centre Fe-S jusqu'à une plate-forme constituée de CIA1, CIA2, et MMS19, à laquelle viendrait s'arrimer les apoprotéines « clientes ».

L'assemblage du centre Fe-S sur le complexe cytosolique CFD1/NBP35 dépend de l'activité des protéines ISC mitochondriales, d'un transporteur de type ABC, ATM1 (*ataxia telangiectasia mutated*), localisé dans la membrane interne mitochondriale, et d'une sulfhydryl oxydase localisée dans l'espace intermembranaire (Erv1). Le substrat de ATM1 est vraisemblablement un composant soufré, car l'activité ATPase de ATM1 est stimulée *in vitro* par des composés possédant un groupement thiol. Il n'est pas encore clair si ce composé est un centre Fe-S associé à une molécule « porteuse », ou s'il s'agit de formes précurseurs soufrées que le complexe CFD1/NBP35 associera ultérieurement à du fer pour faire un centre Fe-S.

##### Les composants non-ISC non-SUF chez *E. coli*

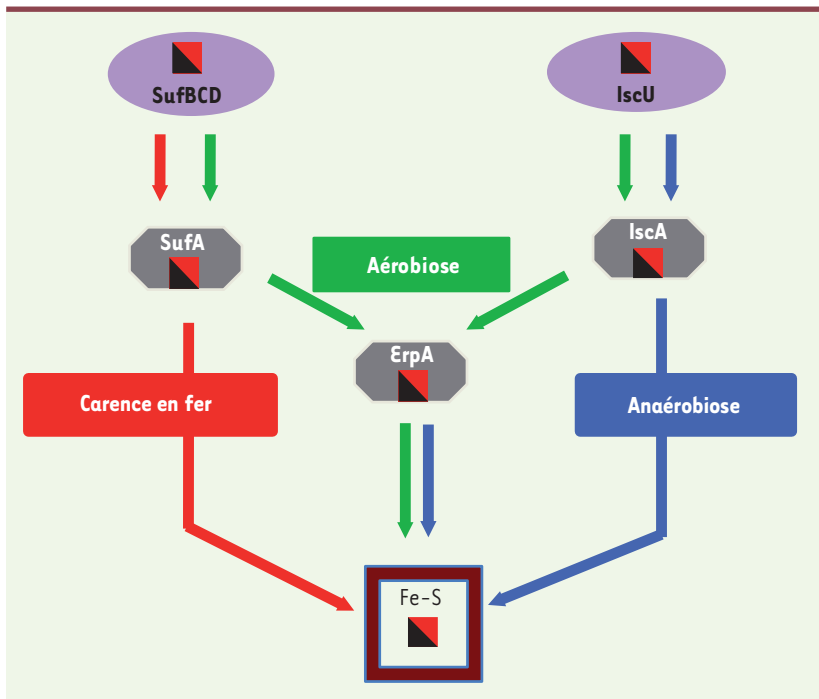
Chez *E. coli*, plusieurs gènes localisés en dehors des opérons *isc* et *suf* codent pour des protéines de transporteurs de centres Fe-S [5, 6]. Ces protéines, parmi lesquelles NfuA et ErpA, ont une importance considérable dans l'homéostasie des centres Fe-S, puisque leur inactivation est extrêmement invalidante, voire létale dans certaines conditions [31-34]. Les études, tant génétiques *in vivo* que biochimiques *in vitro*, ont donné à ErpA et NfuA un rôle majeur en les positionnant en aval des machineries ISC et SUF dont elles peuvent recevoir les centres Fe-S. En aérobie, ErpA est essentielle pour la maturation de toutes les protéines Fe-S testées. La contribution de NfuA dans ces conditions semble être moins décisive, et si l'absence de NfuA est pénalisante pour l'activité des protéines Fe-S testées, l'altération enregistrée n'est jamais totale. En revanche, en conditions de stress (limitation de fer ou présence de superoxydes), la contribution de NfuA est essentielle.

##### Dysfonctionnement de protéines à centre Fe-S : quelques exemples chez les procaryotes et les eucaryotes

La plupart des organismes vivants dépendent de protéines à Fe-S pour faire fonctionner des processus

<sup>2</sup> Le deuxième épisode endosymbiotique est l'hypothèse selon laquelle un eucaryote primitif aurait incorporé une bactérie photosynthétique à l'origine des chloroplastes.





**Figure 4.** Vue schématique des routes suivies par un cluster Fe-S, de son site d'assemblage aux apoprotéines. Sont ici représentées les protéines d'assemblage et de transport de centre Fe-S requises pour la maturation des protéines IspG/H dans différentes conditions de croissance, indiquées sur la figure.

cruciaux. Ainsi, il n'est pas surprenant que la « non maturation » de certaines protéines Fe-S conduise à des phénotypes délétères. Nous en présentons ici quelques-uns.

### Les enzymes de la biosynthèse des isoprénoïdes

Les isoprénoïdes (IPP) sont des précurseurs de dizaines de métabolites secondaires essentiels. Les bactéries et certains champignons synthétisent des IPP grâce à la voie dite MEP (*méthyl érythritol phosphate*) dans laquelle deux étapes sont catalysées par des enzymes à Fe-S, IspG et IspH. Un défaut de maturation de l'une ou l'autre de ces enzymes produit un phénotype létal. De fait, un mutant de *E. coli* ne possédant ni SUF ni ISC n'est pas viable parce qu'il ne produit pas assez d'IPP. Cela a été démontré en apportant dans un tel mutant la voie de biosynthèse des IPP eucaryote, qui n'inclut pas de protéines à Fe-S et dépend du mévalonate comme substrat [31, 34]. La possibilité de supprimer (dans certaines conditions de croissance) les défauts dus à l'absence des systèmes ISC et SUF par l'apport de gènes eucaryotes permettant la synthèse des IPP, a ouvert la voie à une approche génétique des rôles respectifs des systèmes ISC et SUF. La redondance des deux systèmes a ainsi pu être contournée et, en particulier, cela nous a permis de proposer des voies de transport des centres Fe-S de leur site d'assemblage jusqu'aux apoprotéines cibles (Figure 4). Ainsi, des transporteurs différents assistent la maturation de la protéine IspG et/ou IspH en fonction des conditions d'aérobiose ou d'anaérobiose. En aérobiose, le transporteur ErpA est le seul capable de transférer les centres Fe-S à IspG/H mais, en revanche, en anaérobiose, IscA peut également le faire, et IscA et ErpA apparaissent ainsi fonctionnellement redondants. Cela est d'autant plus étonnant qu'en aérobiose, IscA intervient en amont de ErpA à qui il donne le centre Fe-S qui le transfère ensuite à IspG/H. De fait, en aérobiose, ErpA peut également recevoir

un centre de SufA, l'autre transporteur et, dans ces conditions, ce sont IscA et SufA qui sont fonctionnellement redondants. De même, l'analyse à l'aide de suppresseurs extragéniques a permis de mimer les conditions de limitation du fer et d'observer que c'est alors le transporteur SufA qui intervient pour la maturation de IspG/H [31]. Ainsi, l'étude de la maturation de IspG/H nous a permis de proposer qu'une protéine Fe-S acquière ses centres *via* différents transporteurs redondants, et que les règles de redondance soient déterminées par les

conditions environnementales, qui agissent tant sur la synthèse que sur la stabilité des clusters.

### Les déshydratases

Les déshydratases possèdent un centre Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> directement impliqué dans la catalyse, dont un atome de fer qui contacte le substrat, jouant le rôle d'acide de Lewis. Cette géométrie contrainte et façonnée en vue d'une efficacité catalytique optimale s'accompagne d'une fragilité intrinsèque du centre Fe-S vis-à-vis de toxiques. En effet, la géométrie du centre Fe-S permettant l'accès du substrat au site catalytique expose le centre aux entités chimiques délétères, comme le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le peroxydinitrite [35], ou les métaux. La dégradation du centre Fe-S, par oxydation ou déplacement du fer, conduit à l'inactivation de l'enzyme d'une part, mais également à la perte d'un atome de fer. Ce dernier peut alors réagir avec une molécule de peroxyde d'hydrogène et, ainsi, alimenter la production d'ions hydroxyles *via* la réaction de Fenton<sup>3</sup>.

### Les hélicases à centre Fe-S

Les hélicases sont des enzymes permettant de désappairer des doubles brins d'acide nucléique, ADN/ADN, ARN/ARN ou ADN/ARN. Une famille d'hélicase, dont le

<sup>3</sup> La réaction de Fenton :  $H_2O_2 + Fe^{2+} \implies Fe^{3+} + \cdot OH + OH^-$ . Le peroxyde d'hydrogène a un fort pouvoir oxydant, et, en présence de certains métaux de transition, génère le radical hydroxyle.

« membre fondateur » est l'hélicase XPD (*xeroderma pigmentosum complementation group D*), comprend des protéines à centre Fe-S [36]. Des mutations dans le gène codant pour XPD, un élément clé du complexe de transcription TFIIH (*transcription factor II human*) et de la voie de réparation par excision de nucléotides, provoquent une large gamme de symptômes, allant de la prédisposition à certains cancers à des défauts neurologiques et développementaux. Bien que le lien causal entre maladie et altération du centre Fe-S ne soit pas fermement établi, ce dernier est essentiel à l'activité de XPD, probablement *via* un rôle structural. Trois orthologues de XPD, RETL1 (*RET ligand 1*), FANCF (*Fanconi anemia group J*) et CHLR1 (*human cohesin establishment factor*) sont présents chez l'humain et participent à la réparation de l'ADN et la maintenance du génome.

### La ferrochélatase

Dans la voie de biosynthèse des hèmes, la dernière étape consiste en l'insertion d'un atome de fer dans la protoporphyrine IX. Chez les mammifères, cette étape est catalysée par une ferrochélatase possédant un centre Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [37]. Dans la majorité des cas de protoporphyrie érythropoïétique, la cause de la maladie est une mutation dans le gène codant pour la ferrochélatase FECH. Le centre Fe-S intervient dans la dimérisation de l'enzyme et, de plus, ce centre est sensible au NO. Ainsi, le centre Fe-S pourrait être important pour réguler l'activité de l'enzyme en fonction de l'état redox de la cellule, mais il pourrait également être une voie d'entrée pour des toxiques. Comme dans le cas des hélicases, les prochaines études devront explorer la nature du lien, causal ou pas, entre symptômes et centres Fe-S.

### Dysfonctionnement des machineries de biogenèse des centres Fe-S : quelques exemples chez les procaryotes et les eucaryotes

Étant donné le rôle central des protéines Fe-S dans le fonctionnement cellulaire, il n'est pas étonnant que des mutations invalidant ou altérant le fonctionnement des machineries ISC ou SUF provoquent des phénotypes marqués [5-10].

#### Chez les procaryotes

##### La sensibilité aux stress oxydants et métalliques

Nous avons discuté précédemment comment l'exposition et la labilité de leur centre Fe-S rendaient les déshydratases sensibles à des composés chimiques, tels que les métaux ou les formes actives de l'oxygène. Ces composés ont toutefois une autre cible moléculaire qui peut rendre compte de leur toxicité : la machinerie de biogenèse des centres Fe-S elle-même.

Ainsi chez *E. coli*, plusieurs résultats indiquent que la cause de la toxicité du cobalt tiendrait à ce qu'au cours de l'assemblage des centres sur la protéine IscU, le cobalt se substituerait au fer en s'associant au soufre. La conséquence serait une sorte d'empoisonnement de la chaîne de biogenèse par des centres mal caractérisés contenant du soufre et du cobalt (Co-S ? Fe-Co-S ?), qui seraient distribués à toutes les apopro-

téines de la cellule. La toxicité du cuivre pourrait s'exercer de façon autre. D'une part, le cuivre pourrait attaquer les clusters des déshydratases (voir précédemment), mais également interrompre la chaîne de distribution des clusters. En effet, il a récemment été proposé que le cuivre entre en compétition avec le fer et inhibe la fixation du cluster sur la protéine transporteur IscA [38]. La toxicité des ROS ne s'explique pas par un empoisonnement de la machinerie ISC, mais par son inactivation. Là aussi, il semble que ce soit IscU qui soit encore le talon d'Achille du système, le centre Fe-S en formation étant déstabilisé et dégradé par le peroxyde d'hydrogène ou le superoxyde [39].

La machinerie SUF semble être intrinsèquement beaucoup plus résistante aux attaques par les perturbateurs rédox ou métalliques. De fait, les bactéries comme *E. coli*, qui possèdent les deux machineries ISC et SUF, présentent des seuils élevés de tolérance à ces toxiques, car elles peuvent utiliser l'une ou l'autre des machineries en fonction des conditions environnementales rencontrées. Ainsi, une souche de *E. coli* dépourvue de la machinerie ISC ne présente aucun des défauts de résistance aux stress discutés précédemment, car la machinerie SUF assure la production des centres Fe-S dans ces conditions adverses. Nous verrons à la fin de cet article combien la possession de deux machineries ISC et SUF est exploitée avec succès par *E. coli* pour croître en présence limitée de fer et, ainsi, mieux résister à certains antibiotiques.

##### L'atténuation de la virulence bactérienne

La biogenèse des protéines à centres Fe-S a une contribution déterminante quant à la capacité des bactéries pathogènes à s'installer durablement chez un hôte. Ainsi, les mutations altérant les machineries ISC ou SUF se sont avérées être pénalisantes pour l'expression optimale du pouvoir pathogène des bactéries. Dans le cas de *Dickeya dadantii* (précédemment appelée *Erwinia chrysanthemi*), une bactérie pathogène des plantes, nous avons proposé que l'inactivation de la machinerie SUF se solde par une diminution de virulence parce qu'une protéine Fe-S impliquée dans l'import de fer était non fonctionnelle. Il est intéressant de noter que ces mutations *suf* affectent la virulence de *D. dadantii* sur *Saintpaulia ionantha* (la violette du Cap), mais pas sur *Arabidopsis thaliana* (l'arabette des champs), alors que des mutations de la machinerie ISC ont l'effet contraire. Ainsi, l'utilisation de l'une ou l'autre des machineries semble s'inscrire dans un processus d'adaptation de cette bactérie pathogène au type d'hôte qu'elle infecte.

L'inactivation de la machinerie ISC a également été rapportée comme pénalisante pour la virulence de *Shigella*



| Nom et rôle des composants                     | Pathologie associée                                     |
|--|---|
| NFS1 : cystéine désulfurase, donneur de soufre | Déficience infantile des complexes respiratoires II/III |
| FXN : activateur de la cystéine désulfurase    | Ataxie de Friedreich                                    |
| ISD11 : partenaire de la cystéine désulfurase  | Dysfonctionnement mitochondrial multiple                |
| FDX : transport d'électron                     | Myopathie   |
| ISCU : protéine d'assemblage du Fe-S           | Myopathie   |
| GLRX5 : transfert du centre Fe-S               | Anémie sidérolastique                                   |
| IND1 : transporteur de Fe-S                    | Encéphalomyopathie                                      |
| NFU1 : transporteur de Fe-S                    | Dysfonctionnement mitochondrial multiple                |
| BOLA3 : non déterminé                          | Dysfonctionnement mitochondrial multiple                |
| IBA57 : non déterminé                          | Encéphalomyopathie                                      |
| ABCB7 : transporteur de type ABC               | Anémie sidérolastique liée à l'X                        |

**Tableau 1. Maladies humaines causées par un déficit de biogenèse des centres Fe-S.**

*flexneri*. Cette bactérie passe une part importante de son cycle de vie à l'intérieur des cellules épithéliales recouvrant le côlon humain, et un mutant *iscSU* est altéré dans son pouvoir d'invasion. De même, une mutation *nfuA* amoindrit le pouvoir pathogène de la bactérie opportuniste *Acinetobacter baumannii*. Des réductions similaires de pouvoir pathogène ont été rapportées dans le cas de *Vibrio vulnificus* et *Haemophilus influenzae* en conditions de co-infection avec le virus influenza A [40, 41]. Dans les cas évoqués, il est probable que l'incapacité des pathogènes à générer des centres Fe-S dans des conditions d'infection caractérisées par la présence de ROS et une disponibilité limitée en fer, soit la cause de la réduction de virulence. La réduction de virulence serait donc la conséquence globale d'une diminution générale de la production de centres Fe-S par le pathogène. Nous ne pouvons néanmoins exclure que, dans certains cas, la réduction de virulence soit due à la « non-maturation » d'une protéine à centre Fe-S particulière requise pour la virulence. Enfin, nous nous devons également de citer le cas de *Mycobacterium tuberculosis*, qui ne possède que le système SUF, dont l'inactivation est létale.

### Chez les eucaryotes

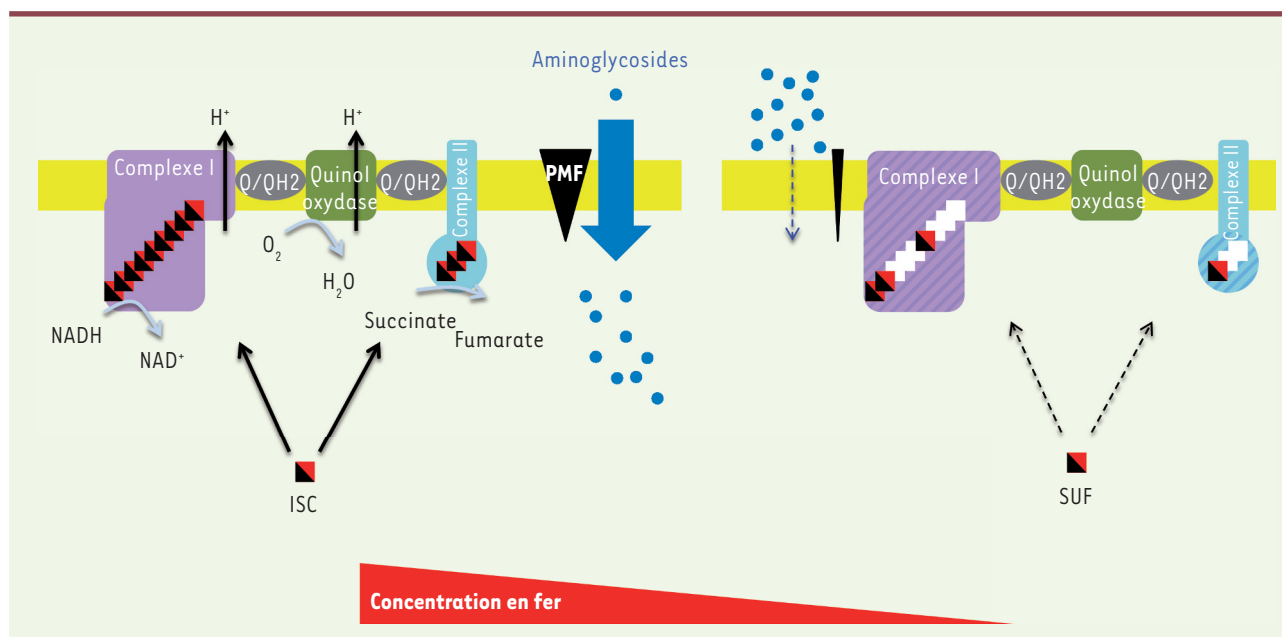
Chez les vertébrés, et particulièrement chez les mammifères, la perte de composants de la machinerie ISC comme la frataxine, la protéine d'assemblage ISCU et le transporteur ABCB7, est létale à une étape précoce du développement embryonnaire. Toutefois, il est important de noter que toutes les mutations identifiées à l'heure actuelle induisent une perte de fonction partielle, soit par haplo-insuffisance (comme dans le cas de l'expansion GAA dans le gène *FXN* ou la mutation d'épissage dans le gène *ISCU*), soit par perte de fonction partielle par des mutations ponctuelles. Il n'en demeure pas moins que des mutations ponctuelles n'altérant l'activité des composants ISC que partiellement se traduisent par des désordres sévères (Tableau 1) [7-9, 42].

### L'ataxie de Friedreich : le rôle de FXN

L'ataxie de Friedreich (FRDA) est la maladie liée à un déficit en centres Fe-S la plus fréquente, avec une prévalence estimée à 1/50 000 dans la population caucasienne [43, 44]. Elle se manifeste par des atteintes neurologiques et non neurologiques (cardiomyopathies, diabète mellitus). Cette pathologie est due à une déficience en FXN généralement causée (98 % des cas) par une expansion homozygote du triplet GAA non codant dans le premier intron du gène *FXN*.

Les marqueurs cellulaires et moléculaires associés à l'ataxie de Friedreich sont le dysfonctionnement de plusieurs protéines mitochondriale à centres Fe-S et l'accumulation de fer dans les mitochondries des tissus atteints. Toutefois, des défauts dans d'autres composants de la voie de biogenèse des centres Fe-S conduisent également à une surcharge en fer dans les mitochondries des tissus atteints. L'accumulation en fer semble donc être une conséquence générale de l'altération du processus de biogenèse des centres Fe-S et non un marqueur spécifique des altérations de FXN.

Il est à présent acquis que FXN interagit physiquement avec la machinerie ISC et stimule l'activité cystéine désulfurase du complexe NFS1/ISD11 et l'entrée du fer. Une question en suspens est de savoir si FXN a un rôle régulateur de l'activité cystéine désulfurase. Le fait qu'une absence totale en frataxine n'abolisse pas entièrement la production de centres Fe-S chez les mammifères renforce l'idée d'un rôle régulateur dans l'assemblage des centres Fe-S.



**Figure 5. Modèle illustrant comment la biogenèse des centres Fe-S peut moduler la sensibilité d'*E. coli* aux aminoglycosides.** Les aminoglycosides (points bleus) pénètrent dans la cellule (flèche bleue) par un mécanisme dépendant de la force proton motrice (PMF) (triangle noir). Cette dernière est générée par l'activité des complexes respiratoires (violet et bleu clair) connus pour dépendre de protéines à centres Fe-S (carré noir et rouge). En conditions limitantes en fer, *E. coli* utilise la voie de biogenèse SUF (droite) qui induit une maturation moins efficace des complexes I et II (centres Fe-S manquants représentés par un carré blanc) et, de surcroît, la synthèse des complexes I et II est réduite (schématisée par des hachures). La synthèse de la machinerie ISC, et celle des complexes I et II, sont sous le contrôle inhibiteur de l'ARNnc RyhB qui est lui-même sous le contrôle répressur de Fur. En conditions limitantes en fer, la répression exercée par Fur est levée, l'ARNnc RyhB est exprimé, la synthèse de la machinerie ISC inhibée, le régulateur IscR sous sa forme apo qui active l'expression de l'opéron *suf*, dont la répression par Fur est également levée. Il en résulte une souche synthétisant ses centres Fe-S par la machinerie SUF. Une telle souche possède un niveau de PMF diminué et une réduction de l'efficacité d'import des aminoglycosides.

### Myopathie héréditaire avec intolérance à l'exercice : le rôle de ISCU

Une myopathie héréditaire, dont les symptômes sont une faiblesse musculaire avec intolérance à l'exercice, des perturbations cardiaques et une acidose, a été initialement décrite dans des familles du nord de l'Europe [7-9]. Un lien entre cette pathologie et les protéines à centre Fe-S a été proposé au début des années 1990, car les patients présentaient une baisse de l'activité de plusieurs protéines à centre Fe-S dont la succinate déshydrogénase et l'aconitase. Différentes mutations touchant le gène *ISCU* ont été associées à ce type de myopathie. Ces mutations provoquent, soit un défaut dans l'épissage des transcrits de *ISCU*, et résultent en un arrêt prématuré de la traduction et en une diminution drastique de la quantité de ISCU dans le muscle, soit le changement d'un acide aminé, conduisant à des protéines altérées dans leur capacité à interagir avec la cystéine désulfurase NFS1 et le co-chaperon HSCB [45].

### L'acidose lactique grave : le rôle de ISD11

Récemment, le séquençage des gènes du MitoExome<sup>4</sup> de deux cousins consanguins qui présentaient une acidose lactique grave a

révélé chez les deux patients une mutation dans le gène *ISD11/LYRM4* (*LYR motif containing 4*) [9, 46]. Cette mutation provoque la substitution d'un résidu arginine conservé en leucine. La protéine ISD11 modifiée – un résidu Arg changé en Leu – n'est pas détectable dans les cellules des muscles squelettiques, le foie et les fibroblastes et, *in vitro*, elle a perdu sa capacité à stimuler l'activité cystéine désulfurase de NFS1. Les conséquences de cette mutation sont multiples, puisque des déficiences dans les complexes respiratoires (I, II et III) mitochondriaux, l'aconitase mitochondriale et cytosolique, et dans la ferrochélatase ont été identifiées. L'un des deux enfants présentait des symptômes métaboliques, qui pourraient indiquer que la protéine à centre Fe-S ETFDH (*electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase*) impliquée dans l'oxydation des acides gras, était également affectée. Des apports en cystéine au cours de la période néonatale pendant laquelle la disponibilité en cystéine est limitée, ont été envisagés pour compenser la faible activité de NFS1 chez ces patients.

<sup>4</sup> Séquençage de l'exome de l'ADN mitochondrial et de l'exome des 1037 gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales.

## Les liens inattendus entre Fe-S et résistance aux antibiotiques chez les bactéries Gram-négatif

Récemment, nous avons découvert qu'une souche d'*E. coli*, fabriquant ses centres Fe-S grâce à la machinerie SUF, présentait un degré de résistance aux aminoglycosides plus élevé que la même souche le fabriquant avec la machinerie ISC [47]. Les bases moléculaires de cette observation surprenante se trouvent dans les mécanismes associant transport et force proton motrice (PMF). En accord avec des résultats anciens [48-51], nous avons démontré dans des conditions *in vivo* que les aminoglycosides pénètrent dans la cellule grâce à la force proton motrice, elle-même produite par l'activité des chaînes respiratoires. Or, ces dernières impliquent des complexes multiprotéiques, comme les complexes I et II, riches en centres Fe-S, dont le niveau d'activité est plus faible lorsqu'ils subissent une maturation par une souche utilisant la machinerie SUF au lieu de la machinerie ISC. De fait, la force proton motrice est inférieure dans une telle souche. Ce modèle a été déduit de l'analyse des phénotypes de souches d'*E. coli* modifiées de telle façon qu'elles ne synthétisent que l'une ou l'autre des machineries (Figure 5).

Une prédiction du modèle est que la souche sauvage, qui possède les deux machineries, présente des niveaux de résistance variables en fonction de la machinerie utilisée, et que ce choix est dicté par les conditions environnementales. En particulier, nous savons que des conditions de limitation en fer favorisent, tant au niveau de leur synthèse que de leur efficacité, l'utilisation des composants de la machinerie SUF. L'expression de l'opéron *suf* est en effet très élevée dans ces conditions, car la répression exercée par Fur est levée et l'activation par la forme apo-IscR efficace. Ainsi, le modèle aboutit à une prédiction provocatrice : la limitation en fer devrait augmenter le niveau de résistance de la bactérie car, dans ces conditions, elle utiliserait la machinerie SUF. C'est effectivement ce que nous avons confirmé expérimentalement. Ce résultat apporte un niveau de complexité supplémentaire à l'analyse des relations hôtes/bactéries, car la restriction en fer est considérée comme une stratégie de limitation du développement de pathogènes. Si ces derniers sont des entérobactéries, *Shigella*, *E. coli* ou *Salmonella* par exemple, une telle restriction serait aussi un mode de protection vis-à-vis des aminoglycosides. Enfin, il est important de souligner que l'équipe du Professeur Collins (université de Boston, États-Unis) avait proposé que la biogenèse des centres Fe-S était au cœur de l'effet bactéricide des antibiotiques *via* la production, dépendante de la réaction de Fenton, de formes réactives de l'oxygène. En ce qui concerne les aminoglycosides au moins, notre étude n'a pas permis de confirmer ce modèle. Nous avons explicité le rôle des centres Fe-S sans avoir recours à leur rôle dans la production éventuelle de ROS, mais en pointant leur implication dans l'import des antibiotiques.

## Conclusion

Depuis 15 ans, l'étude des mécanismes de maturation des protéines à centre Fe-S a transformé notre vision d'un phénomène considéré

comme spontané en celle d'un phénomène requérant un nombre toujours croissant de protéines assistant, catalysant ou régulant l'une ou l'autre des étapes du processus. Production de soufre, acquisition du fer, assemblage du centre Fe-S et livraison aux dizaines de protéines « clientes » sont autant d'étapes dont le fonctionnement est permis par des ensembles multiprotéiques, dont les deux plus connus sont ISC et SUF, conservés des bactéries aux humains.

L'homéostasie des centres Fe-S apparaît soumise à trois contraintes interconnectées. La première est la stabilité intrinsèque du centre Fe-S dans sa protéine hôte. Nous avons vu le cas des déshydratases dont le centre Fe-S exposé est particulièrement labile. Nous pourrions y opposer un grand nombre de protéines dont les centres Fe-S enfouis sont stables et protégés. Ces différences de stabilité créent une variation dans la demande en centres Fe-S au niveau cellulaire et cela nous conduit à la deuxième variable : la capacité de production de centres Fe-S de la cellule. Nous avons vu que plusieurs organismes (*E. coli*, *A. thaliana*) possèdent les deux machineries ISC et SUF et, peut être, trois avec la CIA dans le cas des végétaux. Nous avons aussi vu que *Mycobacterium* n'en possède qu'une, SUF. La démultiplication des machineries permet, outre un accroissement des potentialités de production, une capacité d'adaptation à différentes conditions environnementales. C'est là la troisième variable : les conditions environnementales, parce qu'elles peuvent être plus ou moins favorables à la synthèse (disponibilité de soufre ou de fer) et/ou à la stabilité des centres Fe-S (effets déstabilisateurs des ROS ou de métaux) influencent les deux autres variables et jouent un rôle déterminant dans le contenu en protéines Fe-S d'un organisme. La prise en compte de ces trois facettes interconnectées est une nécessité pour comprendre et, éventuellement, agir pour rétablir l'homéostasie du contenu en centres Fe-S des cellules.

Non seulement notre perception de la biogenèse s'est enrichie de nouvelles protéines auxiliaires, mais encore notre appréciation du rôle des protéines à centres Fe-S a augmenté de façon considérable au fil des années. Initialement identifiées par le Professeur H. Beinert (université du Wisconsin, Madison, États-Unis) dans l'étude des chaînes de transfert d'électrons, les protéines à centres Fe-S ont envahi tout le spectre des processus cellulaires. Des altérations de leur maturation sont synonymes de dysfonctionnements générateurs de pathologies sévères pour ce qui concerne les humains, de réduction de virulence chez les pathogènes ou de modifications des profils de résistance aux antibiotiques chez ces mêmes bactéries.



De nombreuses questions tant fondamentales que finalisées ont émergé ces dernières années. Nous finirons cette revue en en donnant une liste évidemment non exhaustive. Quelle est la source de fer et comment les machineries l'en extraient-elles ? La machinerie SUF est-elle effectivement plus résistante au stress oxydatif et, si oui, quels sont les déterminants moléculaires de cette résistance ? Quelle est la nature du composant soufré exporté par la mitochondrie et capté par la CIA ? Les défauts phénotypiques globaux, les pathologies ou la réduction de la virulence bactérienne, sont-ils dus à un effet cumulatif de déficiences du « protéome Fe-S » ou à celle de protéines Fe-S spécifiquement requises dans le processus considéré ? Des stratégies antibactériennes ciblant les machineries sont-elles envisageables ? ♦

## SUMMARY

### Iron and sulfur in proteins. How does the cell build Fe-S clusters, cofactors essential for life?

Iron-sulfur clusters (Fe-S) are ubiquitous cofactors present in numerous proteins of most living organisms. By way of an example, the *E. coli* bacterium synthesizes more than 130 different types of Fe-S proteins. Fe-S proteins are involved in a great diversity of biological processes, ranging from respiration, photosynthesis, central metabolism, to genetic expression and genomic stability. Proteins can acquire spontaneously Fe-S clusters *in vitro*, but *in vivo*, dedicated molecular machineries are necessary. Dysfunction of these machineries alters cellular capacities leading to lethality in bacteria and severe pathologies in humans. In this review we will describe how cells make Fe-S clusters and deliver them to clients proteins. The importance of Fe-S clusters homeostasis will be illustrated by reporting a list of cellular dysfunctions associated with mutations altering either Fe-S proteins or Fe-S biogenesis machineries. ♦

## REMERCIEMENTS

Nous nous excusons auprès des nombreux collègues dont le travail n'a pu être cité de façon satisfaisante en raison d'espace limité. Nous remercions Pierre Rustin (UMR U676 Inserm-université Paris 7) et les membres du groupe Barras (LCB, UMR7283 CNRS-université d'Aix Marseille) pour les discussions et leurs commentaires sur le manuscrit. Nos recherches sur la biologie des centres Fe-S sont soutenues financièrement par le CNRS, l'université d'Aix-Marseille, l'Institut universitaire de France et l'ANR.

## LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

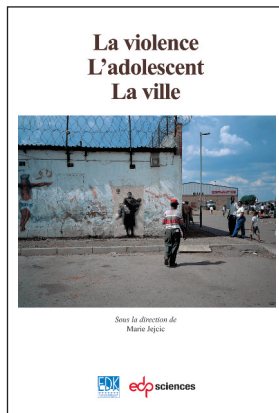
- Beinert H. Iron-sulfur proteins: ancient structures, still full of surprises. *J Biol Inorg Chem* 2000 ; 5 : 2-15.
- Fontecave M. Iron-sulfur clusters: ever-expanding roles. *Nat Chem Biol* 2006 ; 4 : 171-4.
- Kiley PJ, Beinert H. The role of Fe-S proteins in sensing and regulation in bacteria. *Curr Opin Microbiol* 2003 ; 2 : 181-5.
- Jacobson MR, Cash VL, Weiss MC, et al. Biochemical and genetic analysis of the *nifUSVWZM* cluster from *Azotobacter vinelandii*. *Mol Gen Genet* 1989 ; 219 : 49-57.
- Ayala-Castro C, Saini A, Outten FW. Fe-S cluster assembly pathways in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008 ; 72 : 110-25.
- Roche B, Aussel L, Ezraty B, et al. Iron/sulfur proteins biogenesis in prokaryotes: formation, regulation and diversity. *Biochim Biophys Acta* 2013 ; 1827 : 455-69.
- Rouault TA. Biogenesis of iron-sulfur clusters in mammalian cells: new insights and relevance to human disease. *Dis Model Mech* 2012 ; 5 : 155-64.
- Stehling O, Lill R. The role of mitochondria in cellular iron-sulfur protein biogenesis: mechanisms, connected processes, and diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013 ; 5 : a011312.
- Beilschmidt LK, Puccio HM. Mammalian Fe-S cluster biogenesis and its implication in disease. *Biochimie* 2014 ; 100C : 48-60.
- Balk J, Schaedler TA. Iron cofactor assembly in plants. *Annu Rev Plant Biol* 2014 ; 65 : 125-53.
- Sharma AK, Pallesen LJ, Spang, RJ, et al. Cytosolic iron-sulfur cluster assembly (CIA) system: factors, mechanism, and relevance to cellular iron regulation. *J Biol Chem* 2010 ; 285 : 26745-51.
- Netz DJ, Mascarenhas J, Stehling O, et al. Maturation of cytosolic and nuclear iron-sulfur proteins. *Trends Cell Biol* 2013 ; 8924 : 196-7.
- Rajagopalan S, Teter SJ, Zwart PH, et al. Studies of IscR reveal a unique mechanism for metal-dependent regulation of DNA binding specificity. *Nat Struct Mol Biol* 2013 ; 20 : 740-7.
- Vinella D, Loiseau L, Ollagnier de Choudens S, et al. *In vivo* [Fe-S] cluster acquisition by IscR and NsrR, two stress regulators in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2013 ; 87 : 493-508.
- Raulfs EC, O'Carroll IP, Dos Santos PC, et al. *In vivo* iron-sulfur cluster formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008 ; 105 : 8591-6.
- R. Shi A, Proteau M, Villarroya S, et al. Structural basis for Fe-S cluster assembly and tRNA thiolation mediated by IscS protein-protein interactions. *PLoS Biol* 2010 ; 8 : e1000354.
- Marinoni EN, de Oliveira JS, Nicolet Y, et al. (IscS-IscU)<sub>2</sub> complex structures provide insights into Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> biogenesis and transfer. *Angew Chem Int Ed* 2012 ; 51 : 5439-42.
- Kim JH, Frederick RO, Reinen NM, et al. [2Fe-2S]-ferredoxin binds directly to cysteine desulfurase and supplies an electron for iron-sulfur cluster assembly but is displaced by the scaffold protein or bacterial frataxin. *J Am Chem Soc* 2013 ; 135 : 8117-20.
- Yan R, Konarev PV, Iannuzzi C, et al. Ferredoxin competes with bacterial frataxin in binding to the desulfurase IscS. *J Biol Chem* 2013 ; 288 : 24777-87.
- Kampinga HH, Craig EA. The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010 ; 11 : 579-92.
- Adinolfi S, Iannuzzi C, Prischi F, et al. Bacterial frataxin CyaY is the gatekeeper of iron-sulfur cluster formation catalyzed by IscS. *Nat Struct Mol Biol* 2009 ; 16 : 390-6.
- Pandey A, Golla R, Yoon H, et al. Persulfide formation on mitochondrial cysteine desulfurase: enzyme activation by a eukaryote-specific interacting protein and Fe-S cluster synthesis. *Biochem J* 2012 ; 448 : 171-87.
- Pandey A, Gordon DM, Pain J, et al. Frataxin directly stimulates mitochondrial cysteine desulfurase by exposing substrate-binding sites, and a mutant Fe-S cluster scaffold protein with frataxin-bypassing ability acts similarly. *J Biol Chem* 2013 ; 288 : 36773-86.
- Tsai CL, Barondeau DP. Human frataxin is an allosteric switch that activates the Fe-S cluster biosynthetic complex. *Biochemistry* 2010 ; 49 : 9132-39.
- Colin F, Martelli A, Clémancey M, et al. Mammalian frataxin controls sulfur production and iron entry during *de novo* Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> cluster assembly. *J Am Chem Soc* 2013 ; 135 : 733-40.
- Yoon H, Golla R, Lesuisse E, et al. Mutation in the Fe-S scaffold protein Isu bypasses frataxin deletion. *Biochem J* 2012 ; 441 : 473-80.
- Schilke B, Williams B, Knieszner H, et al. Evolution of mitochondrial chaperones utilized in Fe-S cluster biogenesis. *Curr Biol* 2006 ; 16 : 1660-5.
- Vickery LE, Cupp-Vickery JR. Molecular chaperones HscA/Ssq1 and HscB/Jac1 and their roles in iron-sulfur protein maturation. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2007 ; 42 : 95-111.
- Dai Y, Outten FW. The *E. coli* SufS-SufE sulfur transfer system is more resistant to oxidative stress than IscS-IscU. *FEBS Lett* 2012 ; 586 : 4016-22.
- Wollers S, Layer G, Garcia-Serres R, et al. Iron-sulfur (Fe-S) cluster assembly: the SufBCD complex is a new type of Fe-S scaffold with a flavin redox cofactor. *J Biol Chem* 2010 ; 285 : 23331-41.
- Vinella D, Brochier-Armanet C, Loiseau L, et al. Iron-sulfur (Fe/S) protein biogenesis: phylogenomic and genetic studies of A-type carriers. *PLoS Genet* 2009 ; 5 : e1000497.
- Angelini S, Gerez C, Ollagnier-de Choudens S, et al. NfuA, a new factor required for maturing Fe/S proteins in *Escherichia coli* under oxidative stress and iron starvation conditions. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 14084-91.
- Py B, Gerez C, Angelini S, et al. Molecular organization, biochemical function, cellular role and evolution of NfuA, an atypical Fe-S carrier. *Mol Microbiol* 2012 ; 86 : 155-71.

## RÉFÉRENCES

34. Loiseau L, Gerez C, Bekker M, et al. ErpA, an iron-sulfur (Fe-S) protein of the A-type essential for respiratory metabolism in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 13626-31.
35. Imlay JA. The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: lessons from a model bacterium. *Nat Rev Microbiol* 2013 ; 11 : 443-54.
36. Suhasini AN, Brosh RM Jr. DNA helicases associated with genetic instability, cancer, and aging. *Adv Exp Med Biol* 2013 ; 767 : 123-44.
37. Ye H, Rouault TA. Erythropoiesis and iron sulfur cluster biogenesis. *Adv Hematol* 2010 : 329394.
38. Tan G, Cheng Z, Pang Y, et al. Copper binding in IscA inhibits iron-sulfur cluster assembly in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 2014 ; 93 : 629-44.
39. Jang S, Imlay JA. Hydrogen peroxide inactivates the *Escherichia coli* Isc iron-sulphur assembly system, and OxyR induces the Suf system to compensate. *Mol Microbiol* 2010 ; 78 : 1448-67.
40. Lim JG, Choi SH. IscR is a global regulator essential for pathogenesis of *Vibrio vulnificus* and induced by host cells. *Infect Immun* 2014 ; 82 : 569-78.
41. Wong SM, Bernui M, Shen H, et al. Genome-wide fitness profiling reveals adaptations required by *Haemophilus* in coinfection with influenza A virus in the murine lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 ; 110 : 15413-8.
42. Farhan SM, Wang J, Robinson JF, et al. Exome sequencing identifies NFS1 deficiency in a novel Fe-S cluster disease, infantile mitochondrial complex II/III deficiency. *Mol Genet Genomic Med* 2014 ; 2 : 73-80.
43. Koeppe AH. Friedreich's ataxia: pathology, pathogenesis, and molecular genetics. *J Neurol Sci* 2011 ; 303 : 1-12.
44. Martelli A, Napierala M, Puccio H. Understanding the genetic and molecular pathogenesis of Friedreich's ataxia through animal and cellular models. *Dis Model Mech* 2012 ; 5 : 165-76.
45. Saha PP, Kumar SK, Srivastava S, et al. The presence of multiple cellular defects associated with a novel G50E iron-sulfur cluster scaffold protein (ISCU) mutation leads to development of mitochondrial myopathy. *J Biol Chem* 2014 ; 289 : 10359-77.
46. Lim SC, Friemel M, Marum JE, et al. Mutations in LYRM4, encoding iron-sulfur cluster biogenesis factor ISD11, cause deficiency of multiple respiratory chain complexes. *Hum Mol Genet* 2013 ; 22 : 4460-73.
47. Ezraty B, Vergnes A, Banzhaf M, et al. Fe-S cluster biosynthesis controls uptake of aminoglycosides in a ROS-less death pathway. *Science* 2013 ; 340 : 1583-7.
48. Dampier PD, Epstein W. Role of the membrane potential in bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1981 ; 20 : 803-8.
49. Mates SM, Eisenberg ES, Mandel LJ, et al. Membrane potential and gentamicin uptake in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982 ; 79 : 6693-7.
50. Bryan LE, Kwan S. Roles of ribosomal binding, membrane potential, and electron transport in bacterial uptake of streptomycin and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 1983 ; 23 : 835-45.
51. Taber HW, Mueller JP, Miller PF, et al. Bacterial uptake of aminoglycoside antibiotics. *Microbiol Rev* 1987 ; 51 : 439-57.

## TIRÉS À PART

F. Barras



ISBN : 978-2-7598-1138-0 180 pages

**L**a violence s'étend. Comme une mauvaise herbe, elle s'enracine dans nos sociétés européennes avec une sauvagerie nouvelle qui engendre la peur au point de sembler moins l'effet d'une politique locale que d'une civilisation, peut-être même de l'abandon de toute idée de civilisation.

Parce que ce livre est composé à plusieurs voix, il jette un éclairage bref mais précis sur les différentes causes de la violence.

Des auteurs de plusieurs pays et de différents corps de métiers analysent la singularité de la violence selon l'angle où chacun l'observe.

On découvre ainsi que la violence n'est pas monolithique, anonyme, mais qu'elle procède de l'histoire des pays, parfois de l'oubli de leur histoire. Architecte-urbaniste, avocat, journaliste, psychanalystes - psychiatres, psychologues - mais aussi ados d'une de ces banlieues oubliées, aident à préciser les conditions des manifestations de la violence dans la ville, dans la société, dans la clinique et les différentes fonctions qu'elle peut prendre.

Ainsi, ces ados des cités témoignent ici que, convertie, la violence peut aussi devenir vie, énergie et régénérer pour créer, comme ce « polar » qu'ils ont publié alors que brûlaient des autobus...



**BON DE COMMANDE**

À retourner à EDK, 109, avenue Aristide Briand, 92541 Montrouge Cedex - Tél. : 01 41 17 74 05 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

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

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **La violence - L'adolescent - La ville** : 20 € + 3 € de port = **23 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature : .....

Date d'expiration : | | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |