

## **F. Le Système ubiquitine /protéasome : structure et fonction**

### **I. Introduction**

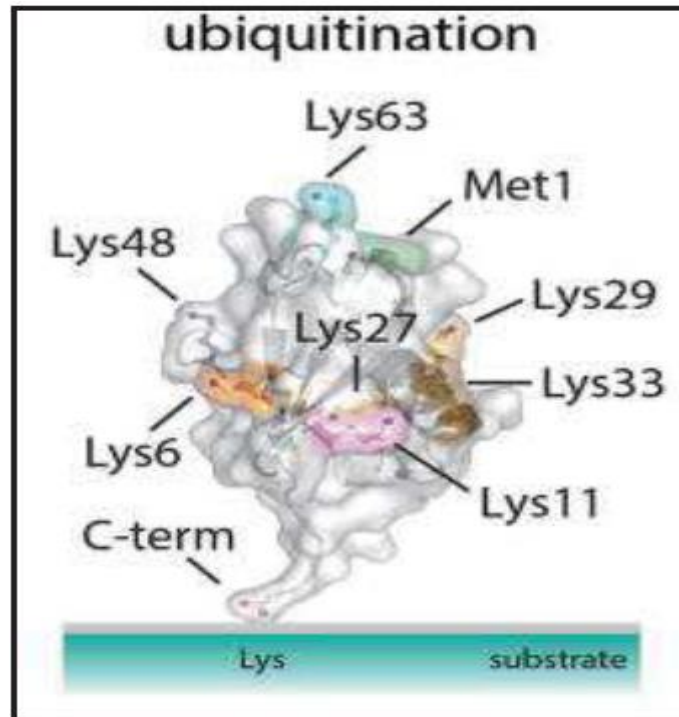
La dégradation intracellulaire des protéines est un processus fondamental qui a lieu dans tous les organismes, depuis les bactéries jusqu'aux êtres humains. Cette dégradation est nécessaire pour réguler les concentrations intracellulaires d'enzymes qui contrôlent toutes les réactions métaboliques, ainsi que le contenu général de toutes les autres protéines, en réponse aux modifications physiologiques. De manière générale, toutes les protéines intracellulaires sont dégradées et leurs demi-vies sont variables (de quelques minutes à plus de 60 h) selon les protéines considérées dans la cellule.

A ce jour, trois systèmes protéolytiques majeurs ont été décrits :

- La dégradation des protéines extracellulaires au sein d'un système vacuolaire riche en protéases (endosome/lysosome). Dans ce cas précis, les protéines ciblées pour la dégradation pénètrent dans la cellule par endocytose et sont dégradées dans cette vacuole après fusion avec un lysosome, qui est un compartiment acide contenant de nombreuses hydrolases acides (protéases de type cathépsines, lipases, ...).
- L'autophagie qui permet de dégrader les constituants cytoplasmiques via les lysosomes.
- Le système ubiquitine protéasome (UPS) qui est un système protéolytique sélectif dans lequel la conjugaison de molécules d'ubiquitines sur le substrat permet de diriger la protéine ubiquitinée vers le protéasome pour dégradation. Le système ubiquitine protéasome représente environ 75 % de la protéolyse cellulaire.

### **II. L'ubiquitine et la cascade enzymatique d'ubiquitylation**

L'ubiquitination est une modification post-traductionnelle qui consiste à lier de façon covalente l'ubiquitine (une protéine de 76 acides aminés) à son substrat. Cette modification débute par la formation d'une liaison iso-peptidique entre l'extrémité C-Terminale de l'ubiquitine et (généralement) un résidu lysine du substrat à ubiquitiner. L'ubiquitine possède sept résidus lysines (K6, K11, K27, K29, K33, K48 et K63) pouvant eux-mêmes être ubiquitinés, formant ainsi un enchaînement de chaînes d'ubiquitines liées entre elles par des liaisons isopeptidiques. Un huitième type de chaîne peut être généré lorsque l'ubiquitine est attachée à l'extrémité N-Terminale d'une autre ubiquitine créant ainsi des chaînes Met1.



**Figure III. 27.** Représentation 3D des résidus ubiquitables de l'ubiquitine [37].

La fixation d'une molécule d'ubiquitine sur un substrat requiert l'action consécutive de trois enzymes. :

- le premier est l'enzyme d'activation de l'ubiquitine, ou E1, qui effectue l'activation ATP-dépendante de l'ubiquitine en formant une liaison thiol-ester à haute énergie entre la glycine C-terminale de l'ubiquitine (via le COOH porté par son carbone  $\alpha$ ) et le groupement thiol (SH) d'une cystéine de l'E1 ;
- le second est une enzyme de conjugaison de l'ubiquitine, ou E2, sur lequel l'ubiquitine activée est transférée au niveau du groupement thiol de sa cystéine active ;
- enfin le troisième, l'E3 appelé ubiquitine-ligase. Il favorise le transfert de l'ubiquitine de l'E2 vers le substrat par formation d'une liaison amide entre le groupement COOH de la glycine C-terminale de l'ubiquitine et le groupement  $\epsilon$ -amine d'une lysine du substrat, formant ainsi une liaison isopeptidique.

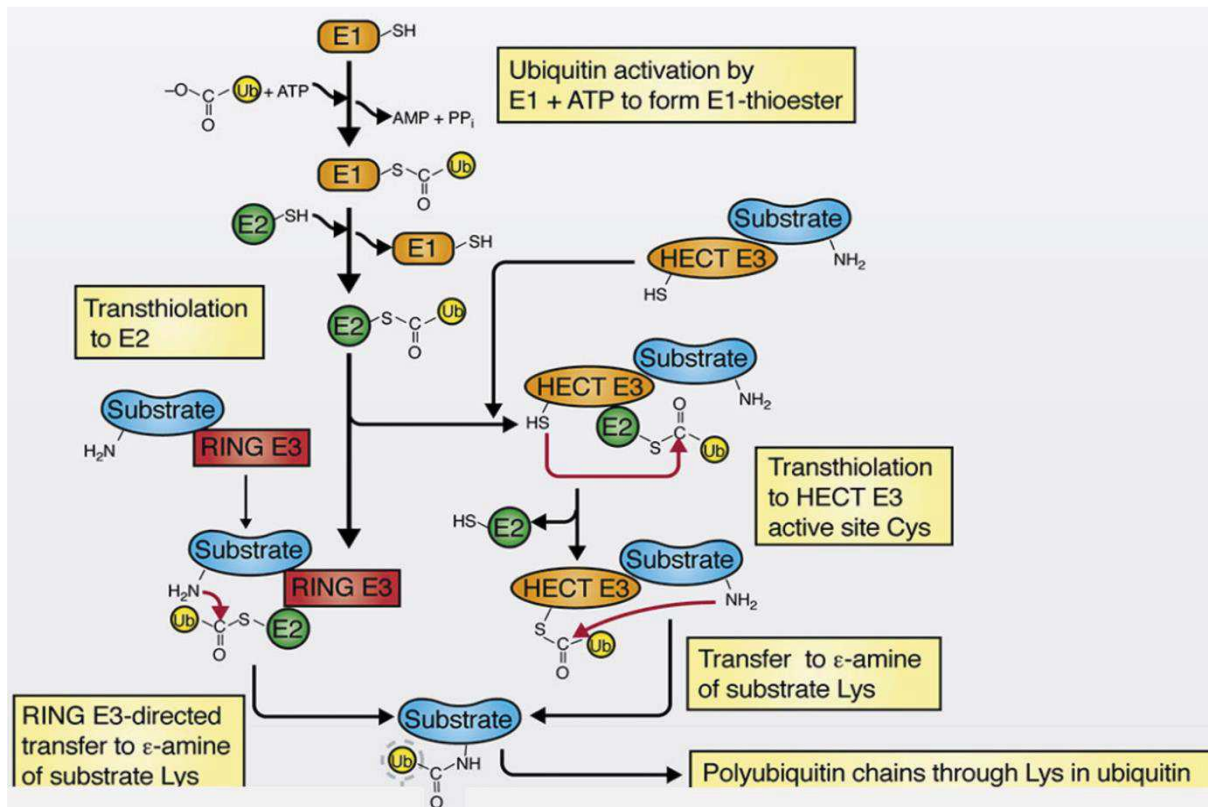
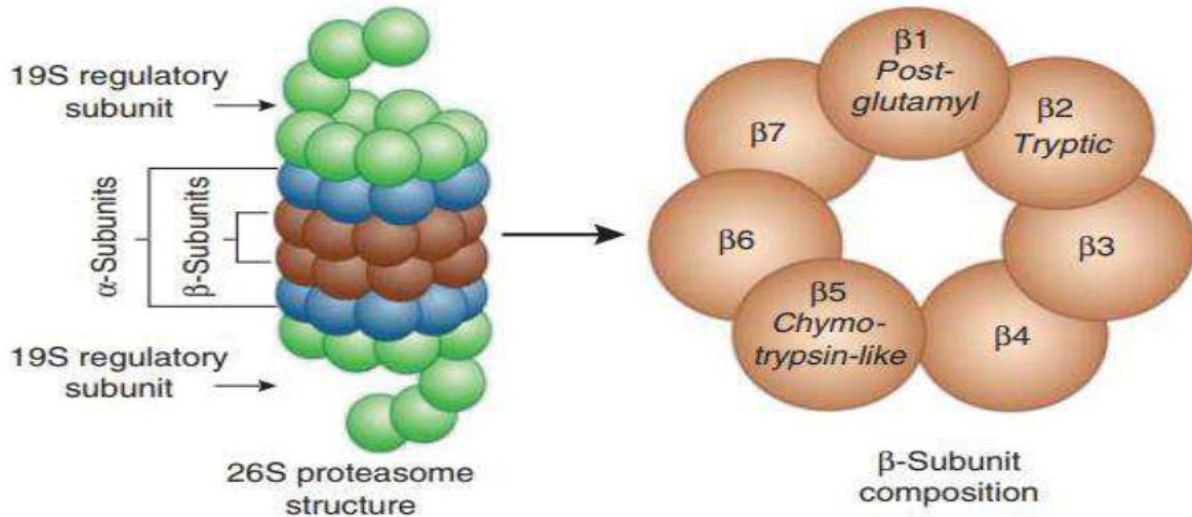


Figure III.28. La cascade d'ubiquitylation [37].

### III. Protéasome et dégradation des protéines

Le protéasome 26S est la composante protéolytique de l'UPS impliquée dans la dégradation des protéines cibles qui sont le plus souvent poly-ubiquitinées. Le protéasome 26S est une machinerie enzymatique de très haut poids moléculaire (2500 kDa) composée d'une soixantaine de protéines. Il s'agit d'une large structure cylindrique localisée à la fois dans le cytoplasme et dans le noyau et qui comporte plusieurs activités protéolytiques. Il comporte trois parties principales : le protéasome 20S qui forme le cœur et la sous unité catalytique du protéasome, et deux coiffes, le protéasome 19S, qui est considéré comme la sous unité régulatrice.



**Figure III.29.** Structure du protéasome 26S et de l'anneau  $\beta$  [37].

### III.1. Structure et fonction du protéasome 20S

La structure protéasome 20S est conservée des bactéries aux mammifères et seule sa composition en sous unités varie. Il est composé de quatre anneaux constitués chacun de 7 sous-unités protéiques formant une cavité de 5 nm de diamètre. Les deux anneaux centraux sont constitués chacun de 7 sous-unités  $\beta$  différentes d'environ 35 kDa (de  $\beta 1$  à  $\beta 7$ ) qui renferment l'activité protéolytique. Deux anneaux  $\alpha$  constitués de 7 sous-unités  $\alpha$  différentes d'environ 25 kDa (de  $\alpha 1$  à  $\alpha 7$ ) sont situés de part et d'autre des anneaux  $\beta$  afin de contrôler l'accès à la cavité catalytique. En effet, l'accès à la chambre catalytique est conditionné à la formation d'un pore au sein des anneaux  $\alpha$  dont l'ouverture est contrôlée par le protéasome 19S.

La chambre catalytique, formée par les deux anneaux  $\beta$ , comporte trois activités protéolytiques distinctes portées par des sous-unités  $\beta$  particulières :

- Une activité de type caspase (clivage après des résidus acides) via la sous-unité  $\beta 1$ ,
- Une activité de type trypsine (clivage après des résidus basiques) via la sous-unité  $\beta 2$ ,
- Une activité de type chymotrypsine (clivage après des résidus hydrophobes) via la sous-unité  $\beta 5$ .

Tout comme les sous-unités  $\alpha$ , les quatre autres sous-unités  $\beta$  ne possèdent pas d'activité catalytique.

### III.2. Structure et fonction du protéasome 19S

Le protéasome 19S, aussi appelé coiffe, est un complexe de 900 kDa composé d'une vingtaine de protéines. Il est constitué d'une base de 10 sous-unités, dont 6 sous-unités ont une activité ATPasique reliée directement à l'anneau  $\alpha$  du protéasome 20S et d'un couvercle composé de 9

sous-unités non ATPasiques. Le protéasome 19S peut être situé sur l'une ou sur les deux extrémités du protéasome 20S. Il est la partie régulatrice du protéasome et assure quatre fonctions principales dont certaines nécessitent de l'énergie.

- L'activation du protéasome 20S (ouverture du pore de l'anneau  $\alpha$ ),
- La reconnaissance des substrats poly-ubiquitinés,
- La déubiquitination des substrats (assure le recyclage de l'ubiquitine),
- Le dépliement et la translocation du substrat vers le protéasome 20S.

#### IV. Fonctionnement du système Ubiquitine/Protéasome

De façon générale, le système ubiquitine protéasome permet de dégrader des substrats (protéines) cibles via deux grandes étapes :

- L'ubiquitination du substrat : grâce à l'action concertée de trois enzymes (E1, E2 et E3) aboutissant à la greffe d'une chaîne de poly-ubiquitine liée de façon covalente à un ou plusieurs résidus Lysine du substrat.
- Une fois ubiquitiné, le substrat va être dirigé et dégradé par le protéasome 26S. La dégradation par le protéasome 26S des protéines ubiquitylées peut intervenir dans le cytoplasme et le noyau et est dépendante de l'ATP.

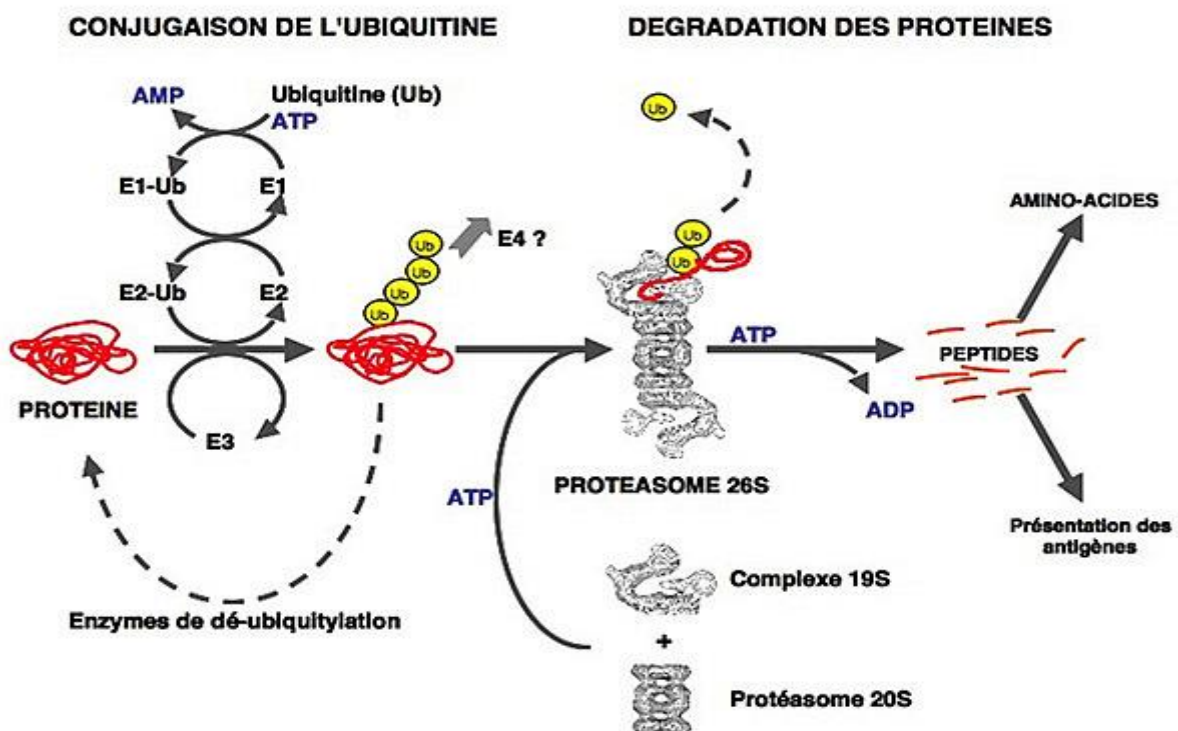


Figure III.30. Mécanisme général de fonctionnement du système ubiquitine protéasome [38].

Le processus de dégradation d'un substrat poly-ubiquitiné peut être simplifié en quelques étapes clés :

- Activation du protéasome 20S (ouverture de l'anneau  $\alpha$ ),
- Reconnaissance du substrat ou protéine ubiquitinée grâce aux récepteurs de l'ubiquitine (sous-unités de coiffe : Rpn10 et Rpn13),
- Engagement partiel du substrat ATP dépendant,
- Déubiquitination de substrat,
- Dépliement et translocation du substrat vers la chambre catalytique,
- Protéolyse via les sous unités  $\beta$  catalytiques,
- Libération des fragments de clivage (3 à 25 résidus) qui seront hydrolysés par des peptidases intracellulaires,
- Recyclage des acides aminés pour la biosynthèse de nouvelles protéines.