

Après MARCKS, p53 augmente le Capital de la protéine kinase C

C'est un ballet d'un nouveau type dont *médecine/sciences* veut présenter l'argument à ses lecteurs. Certains des personnages sont probablement nouveaux pour les fidèles de *m/s* et doivent, de ce fait, être présentés. MARCKS (*myristoylated alanine-rich C kinase substrate*) est l'un des substrats majeurs de la protéine kinase C. Il s'agit d'une protéine inhabituellement riche en alanine, glycine, proline et acide glutamique, ayant une structure en bâtonnet, composée de trois domaines : une région aminoterminal myristoylée, responsable de la fixation à la membrane ; un domaine central conservé et une région basique contenant des sites de phosphorylation par la protéine kinase C et de liaison de la calmoduline et de l'actine. Cette extrémité effectrice carboxyterminale a une structure d'hélice α -amphipatique.

MARCKS, ainsi qu'une autre molécule de la même famille mais de localisation différente (Mac MARCKS/F52), semblent jouer un rôle important dans la régulation de la plasticité du cytosquelette et, notamment, des filaments d'actine. Le modèle privilégié à l'heure actuelle est celui d'une protéine liée à la membrane de cellules au repos. Dans ces conditions, et à basse concentration en calcium cytoplasmique, une molécule MARCKS interagit avec deux filaments d'actine, les liant l'un à l'autre et assurant ainsi une plus grande rigidité des faisceaux d'actine liés à la membrane. Une augmentation de la concentration en calcium intracellulaire, provoquée par différents effecteurs, conduit à la liaison du complexe calmoduline/ Ca^{2+} au site effecteur carboxyterminal ; sous cette forme, la molécule de MARCKS n'interagit plus qu'avec un seul filament d'actine, ce qui aboutit à une moins grande rigidité du cytosquelette cellulaire. Dans d'autres situations où un effecteur extracellulaire met en jeu la voie passant par la protéine kinase

C, et à basse concentration en calcium intracellulaire, la phosphorylation du domaine carboxyterminal de MARCKS s'accompagne de son détachement de la membrane et de sa liaison à un seul filament d'actine. Ces conditions sont propices à un remaniement très profond du cytosquelette tel qu'il apparaît dans diverses situations, par exemple la mobilité cellulaire ou la transformation maligne. Les activateurs de la protéine kinase C étant des promoteurs de la transformation tumorale, cela peut donc constituer l'une des voies par lesquelles les signaux prolifératifs aboutissent à une modification du cytosquelette ([1] et *figure 1*).

Il existe une exclusion entre la liaison de la protéine MARCKS à des protéines fixant le calcium, telle la calmoduline, et son aptitude à être phosphorylée par la protéine kinase C. Une autre calciprotéine, appelée S100b, a un pouvoir inhibiteur encore plus important que la calmoduline sur la phosphorylation de MARCKS.

D'autres personnages de notre ballet sont beaucoup plus familiers à nos lecteurs, par exemple p53, un régulateur négatif de la prolifération cellulaire (*m/s* n° 1, vol. 9, p. 79).

p53 est un facteur de transcription dont la translocation dans le noyau est soumise à différents systèmes de régulation, parmi lesquels la phosphorylation par différentes protéines kinases, la kinase liée au cycle cellulaire p34^{cdc2}, la caséine kinase II et la protéine kinase C. La forme active de p53 semble être oligomérique. D'un point de vue structural, p53 comporte une région carboxyterminale basique étendue pouvant adopter une conformation en hélice α -amphipatique, domaine probablement impliqué dans la liaison à l'ADN et dans la formation des oligomères stables. T.R. Hupp *et al.* du laboratoire de D.T. Vane (Dundee, Écosse) viennent de montrer que la liaison de p53 à l'ADN pouvait être

contrôlée par différentes modifications de cette extrémité carboxyterminale. La protéine recombinante normale se lie en effet extrêmement mal à sa séquence cible d'ADN (*m/s* n° 7, vol. 8, p. 732). La liaison peut être activée par un anticorps monoclonal se liant au domaine carboxyterminal. Un résultat similaire peut être obtenu par différents moyens : utilisation de p53 ayant une délétion carboxyterminale, protéolyse ménagée, action de la protéine dnaK de *E. coli*, ou phosphorylation de l'extrémité carboxyterminale par la caséine kinase II. Tous ces résultats identifient le domaine carboxyterminal de p53 comme un site potentiel de régulation de sa fonction, par l'intermédiaire de modifications covalentes post-traductionnelles (protéolyse, phosphorylation) ou par celui de modification de conformation induite par interaction avec d'autres facteurs cellulaires encore non caractérisés. L'action de la dnaK de *E. coli* est cohérente avec ce modèle puisqu'il s'agit d'une protéine chaperon susceptible de modifier des interactions inter-protéiques.

L'examen attentif par J. Baudier *et al.*, du laboratoire de J.J. Lawrence (INSERM, Centre d'Études Nucléaires, Grenoble, France) du domaine carboxyterminal de p53 lui a révélé des similitudes structurales et de séquences avec la région catalytique de MARCKS. De fait, ces auteurs ont démontré que, comme MARCKS, p53 était un substrat de la protéine kinase C, *in vivo* et *in vitro*, et fixait, en présence de calcium, la protéine S100b [3]. Une interaction très faible a également été démontrée avec la calmoduline. La fixation de p53 à S100b inhibe sa phosphorylation par la protéine kinase C et son oligomérisation. Mieux même, S100b est capable d'entraîner la dissociation des oligomères de p53. Il existe ainsi un antagonisme entre le calcium et des protéines liant le calcium type calmoduline

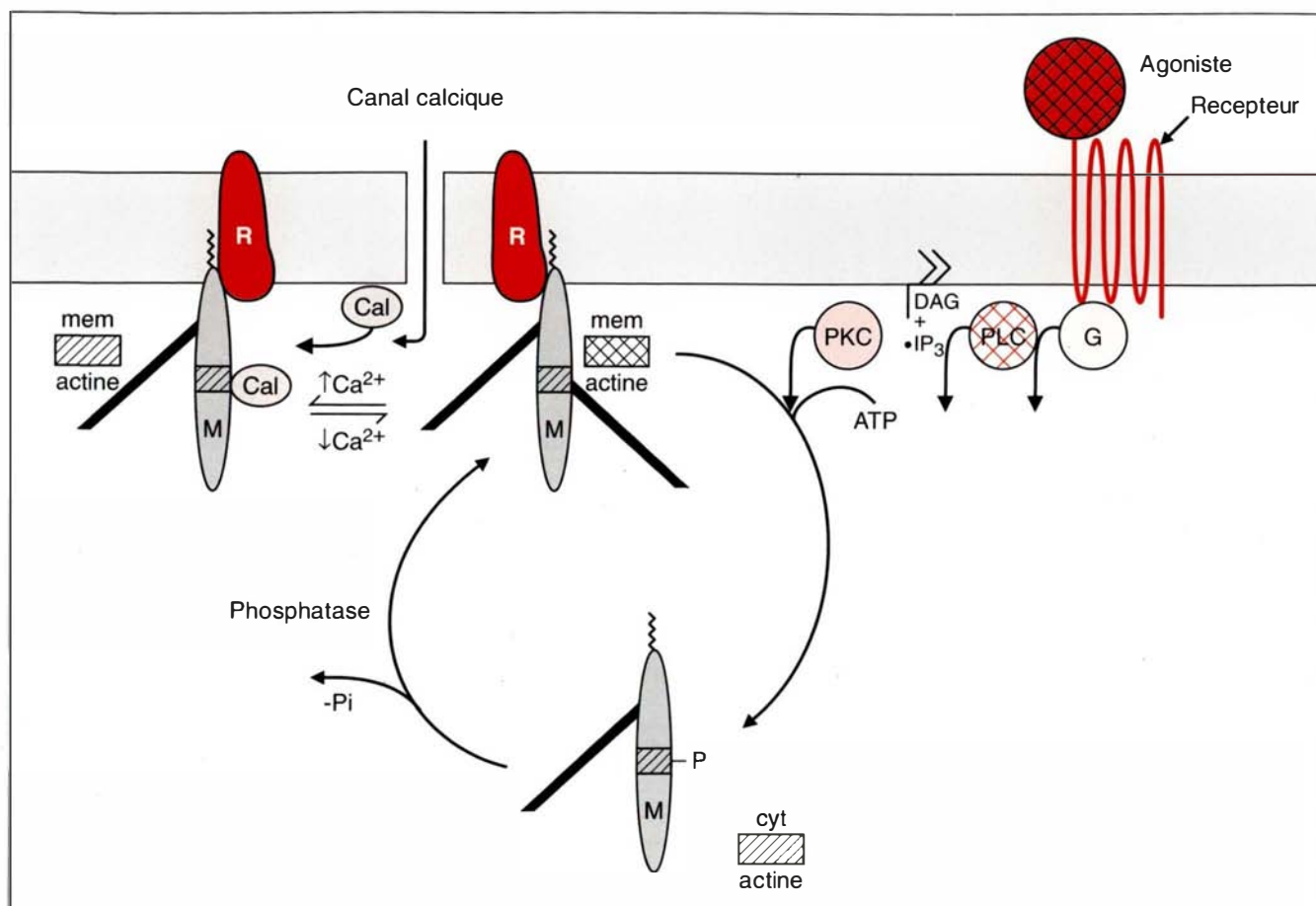


Figure 1. **Modèle de la régulation de la rigidité du cytosquelette par MARCKS, la protéine kinase C et la calmoduline/Ca²⁺.** Au repos, MARCKS (M, ovale gris) est lié à la face interne de la membrane plasmique par son résidu myristoyl (ligne brisée) et, à bas Ca²⁺ intracellulaire, assure la rigidité du cytosquelette en connectant deux fibres d'actine membranaire (mem-actine). Une augmentation du Ca²⁺ intracellulaire, suite, par exemple, à l'activation de récepteurs couplés à des canaux calciques (directement ou indirectement), entraîne la fixation du complexe calmoduline/Ca²⁺ (Cal) sur MARCKS qui ne peut plus alors fixer qu'une fibre d'actine, ce qui aboutit à une diminution de la rigidité du cytosquelette et de son ancrage à la membrane plasmique. L'activation de récepteurs couplés par des protéines G (G) à la phospholipase C (PLC) et, par l'intermédiaire du diacylglycérol (DAG, produit de l'hydrolyse par la PLC du phosphatidyl inositol 4,5 P2 en DAG et en inositol 3 phosphate, IP3), conduit à la phosphorylation de MARCKS. Ainsi modifiée, cette protéine devient insensible au calcium et aux calcioprotéines et se détache de la membrane, ne pouvant rester fixée qu'à une fibre d'actine cytoplasmique (cyt-actine). Cette dernière condition permet un réarrangement profond de l'architecture de cytosquelette. (D'après [1].

et S100b, et la protéine kinase C pour la régulation de l'état structural dans lequel se trouve p53. Cet antagonisme coïncide avec les différentes situations mettant en jeu ces deux types de modulateurs. S100b semble être synthétisée en phase G1, dans la cellule au repos, alors que la protéine kinase C est activée par des agents mitogéniques. Une ambiguïté persiste néanmoins, à la lumière de ces informations, sur l'influence de l'état d'oligomérisation sur la fonction de p53.

La forme active de cette protéine est oligomérique, mais des formes multimériques de haut poids moléculaire semblent être inactives et on connaît mal les mécanismes de la transition multimères inactifs → oligomères actifs. Celle-ci pourrait être catalysée par les mécanismes décrits par Hupp *et al.* (phosphorylation par la caséine kinase II, changement de conformation de l'extrémité carboxyterminale) [2], alors que l'action de la protéine kinase C, dont le résidu cible sur p53 n'est pas

encore connu avec précision, pourrait être de stabiliser les oligomères actifs, de les protéger contre la dissociation inactivante provoquée par les calcioprotéines et le calcium [3]. Il faut remarquer que, quoique étant un régulateur négatif de la prolifération cellulaire, p53 semble être normalement soumis à des influences inactivatrices dans les cellules au repos, en G1 (protéine kinase C inactive, S100b élevée), alors que son pouvoir antiprolifératif, lié à sa fixation à l'ADN (*m/s n° 7, vol. 8,*

p. 732) est stimulé dans des conditions d'induction mitotique (activation de la caséine kinase II et de la protéine kinase C). Cela confirme les données de l'inactivation homozygote du gène p53 par recombinaison homologue, qui n'empêche pas un développement tout à fait normal des souris, indiquant que p53 n'est pas indispensable à la régulation du cycle cellulaire (*m/s* n° 5, vol. 8, p. 492). En fait, dans les cellules normales, p53 pourrait surtout jouer un rôle de limitateur d'une prolifération excessive : inactif en l'absence de mitose, il serait activé lors de l'induction de la prolifération pour la limiter. Un tel schéma expliquerait que l'absence de ce contrôleur des proliférations « pathologiques » conduise à l'émergence de cancers, d'autant plus

qu'un autre rôle de p53 semble être de bloquer les cellules en phase G1 lorsqu'existent des lésions de l'ADN ou en présence d'agents mutagènes (*m/s* n° 9, vol. 8, p. 1002 et n° 1, vol. 9, p. 9), évitant ainsi la « fixation » dans le génome d'altérations génétiques potentiellement transformantes.

A.K.

-
1. Aderem A. The MARCKS brothers : a family of protein kinase C substrates. *Cell* 1992 ; 71 : 713-6.
 2. Hupp TR, Meek DW, Midgley CA, Lane DP. Regulation of the specific DNA binding function of p53. *Cell* 1992 ; 71 : 875-86.
 3. Baudier J, Delphin C, Grunwald D, Khochbin S, Lawrence JJ. Characterization of the tumor suppressor protein p53 as a protein kinase

C substrate and a S100b binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 11627-31.