

**PRIX NOBEL DE MÉDECINE 1992****Protéine kinases  
et phosphatases à l'honneur****Edmond H. Fischer, né le 6 avril 1920  
à Shanghai (Chine)****Edwin Krebs, né le 6 juin 1918 à Lansing  
(Iowa, USA)  
Université Washington, Seattle (WA, USA)****NOBEL 92**

Deux chercheurs américains, Edwin Krebs et Edmond Fischer, viennent de se voir attribuer le prix Nobel de physiologie et médecine pour des travaux sur la régulation de fonctions biologiques par phosphorylation et déphosphorylation d'enzymes et/ou de protéine régulatrices. Pour souligner l'importance de ces travaux, on peut dire qu'actuellement il n'est pas de domaine de recherche en biologie et en médecine, depuis la biochimie métabolique jusqu'à la biologie cellulaire et moléculaire, qu'elles soient humaines, animales ou végétales dans lequel n'interviennent des régulations par des protéine-kinases et des protéine-phosphatases.

C'est en 1938 que Cori *et al.* montrent que la glycogène phosphorylase existe sous deux formes appelées a et b. L'activité de la forme b est complètement dépendante de la présence d'acide adénylique (AMP), tandis que la forme a est active, même en absence d'AMP. On pensa alors que la forme a contenait probablement un AMP fortement lié et que sa conversion en forme b devait être catalysée par une *prosthetic group removing enzyme* (PR enzyme) et impliquait la libération du nucléotide. Cependant, on ne put jamais détecter d'AMP comme

produit de la réaction, et il fallut attendre le milieu des années 1950 pour que Ed Fischer et Ed Krebs montrent que la forme active de la phosphorylase est une phosphoenzyme et que l'interconversion des phosphorylases a et b met en jeu un mécanisme de phosphorylation-déphosphorylation catalysé par des enzymes. C'est 20 années plus tard qu'on a démontré que la conversion de la phosphorylase b en phosphorylase a était le résultat de la formation d'un seul résidu phosphosérine proche de l'extrémité N-terminale de la chaîne polypeptidique. La phosphorylation de la phosphorylase b est donc catalysée par une protéine kinase, enzyme qui catalyse le transfert d'un phosphate de l'ATP à une protéine ; la protéine kinase fut identifiée et nommée phosphorylase b kinase. En 1959, les mêmes auteurs montrent que l'activité de la phosphorylase kinase est, elle aussi, contrôlée par un processus de phosphorylation-déphosphorylation. Cette observation devait conduire en 1968 à l'identification de la protéine kinase stimulée par l'AMPc (PKA), responsable de la régulation par phosphorylation de l'activité de la phosphorylase kinase. Le troisième exemple de régulation

par phosphorylation est la glycogène synthase, qui passe, par phosphorylation, d'une forme déphosphorylée très active à une (ou des) forme(s) phosphorylée(s) dont l'activité dépend de la présence de glucose 6-phosphate. Ainsi les études de Fischer et de Krebs sur le métabolisme du glycogène avaient permis : (1) de démontrer l'importance des phosphorylations dans la régulation d'activités enzymatiques ; (2) de proposer un mécanisme de régulation concertée de deux voies métaboliques opposées ; (3) de décrire un système d'amplification d'un signal biologique par une cascade de phosphorylations.

Parallèlement, on démontrait que la stimulation de cellules par des agonistes adrénérgiques, au cours du stress qui conduit à la mobilisation du glycogène par glycogénolyse, impliquait successivement la liaison d'un agoniste à un récepteur adrénérgique à la surface externe de la membrane plasmique, l'activation de l'adénylate cyclase à la surface interne de la membrane plasmique, et donc un accroissement de la concentration intracellulaire en AMP cyclique (AMPc), par transformation de l'ATP en AMPc. Ce « second messenger » relayait ainsi le premier mes-

sager hormonal à l'intérieur de la cellule en activant une protéine kinase, la PKA. Les événements intervenant entre la liaison d'une hormone à son récepteur et la réponse biologique qu'elle déclenche se trouvaient ainsi complètement décrits. La protéine kinase stimulée par l'AMPc devait faire l'objet des soins attentifs des deux équipes de l'université de Washington à Seattle : elles devaient successivement réaliser la purification à l'homogénéité et en quantités importantes de la sous-unité catalytique de cette kinase ainsi que son séquençage. Un inhibiteur protéique de la PKA devait également être purifié et séquencé par les mêmes équipes. D'autres seconds messagers ont été découverts depuis, qui tous agissent sur des systèmes de phosphorylation-déphosphorylation : calcium et calmoduline sur des kinases et sur une phosphatase (la calcineurine), calcium et diacylglycérol sur la protéine kinase C...

Jusqu'à une date assez récente, la cascade de phosphorylations des enzymes du métabolisme du glycogène était la seule à être connue et il semblait logique de penser que les phosphorylations activent les voies cataboliques tandis qu'elles inhibent les voies anaboliques. Ainsi, si l'on savait depuis longtemps que les lipases responsables de l'hydrolyse des triglycérides et de la mobilisation des acides gras sont activées par phosphorylation, il y a seulement une dizaine d'années que l'on a découvert que la synthèse du cholestérol comme celle des acides gras sont contrôlées par des cascades de phosphorylations ; ces phosphorylations permettent de bloquer deux voies de biosynthèse très consommatrices d'ATP et de NADPH.

Une autre cascade de phosphorylations est apparue avec la protéine kinase qui phosphoryle la protéine ribosomale S6, en réponse à toute stimulation susceptible de conduire à la croissance ou à la division de la cellule. La S6 kinase est elle-même phosphorylée (et activée) par une autre sérine protéine kinase, la MAP2 kinase pour *microtubule associated protein 2 kinase*, connue pour phosphoryler une protéine associée aux microtubules. Ainsi le modèle de

régulation et d'amplification par des cascades de phosphorylations, décrit par Krebs et Fischer, trouvait pour la première fois une application en dehors du métabolisme intermédiaire. Ed Fischer et Ed Krebs sont donc d'une certaine façon les « inventeurs » des protéine kinases, enzymes responsables du transfert de groupes phosphate sur les résidus sérine et/ou thréonine de protéines. Cette famille, déjà très nombreuse, s'est encore agrandie avec la découverte, vers la fin des années 1970, de la phosphorylation de protéines sur des résidus tyrosine. Cette nouvelle classe de protéine kinases, ainsi que la réaction qu'elles catalysent, le transfert d'un groupe phosphate de l'ATP à un résidu tyrosine, a rapidement pris une grande importance du fait que de nombreux produits d'oncogènes sont des protéine tyrosine kinases, comme le produit du premier oncogène connu, l'oncogène *src*, lui-même phosphorylé sur un résidu tyrosine. Plus récemment, il est apparu de façon claire que des phosphorylations de résidus sérine et thréonine et de résidus tyrosine, interviennent dans la régulation de la division cellulaire, où elles maintiennent sous forme inactive la protéine kinase *cdc2* jusqu'à sa déphosphorylation qui déclenche la transition G2 → mitose.

Tout événement régulateur est, par essence, réversible, et l'action des phosphatases est donc également très importante. Les études concernant ces enzymes ont été rendues plus longues et complexes du fait de la difficulté d'obtenir des substrats purifiés et marqués. Fischer et Krebs ont d'abord étudié la glycogène phosphorylase phosphatase qui fut par la suite caractérisée comme la phosphatase I. Plus récemment, ils ont entrepris avec beaucoup de succès l'étude de protéine phosphatases spécifiques des résidus phosphotyrosine. Ils ont en particulier montré l'existence d'une tyrosine phosphatase qui, sans avoir aucune analogie structurale avec les sérine thréonine phosphatases connues, présentait, en revanche, des analogies avec le récepteur leucocytaire CD45, avec un domaine transmembranaire et un domaine extracellulaire présentant les caractéristiques d'un récepteur. Ces résultats ont

trouvé une confirmation avec l'observation que le récepteur CD45 lui-même possède une activité tyrosine phosphatase intrinsèque.

*In fine*, après cette brève description des travaux considérables des deux lauréats et de leur impact, on peut se demander pourquoi la nature a choisi la phosphorylation réversible des protéines comme mécanisme régulateur ubiquiste. Comme le souligne Ed Fischer, l'ATP est présent dans toutes les cellules à une concentration relativement élevée et constante. La liaison pyrophosphate  $\beta$ - $\gamma$  est suffisamment riche en énergie pour que les deux étapes, formation du phospho-monoester par les protéine kinases et son hydrolyse par les phosphatases, soient exergoniques. L'introduction ou l'hydrolyse du groupe phosphate entraîne une variation de charge importante qui peut avoir une action limitée sur l'affinité pour un ligand, comme dans l'isocitrate déshydrogénase ou la kinase *cdc2*, ou être responsable de changements conformationnels importants comme dans la glycogène phosphorylase. Un même couple kinase-phosphatase peut modifier de nombreux effecteurs et un même effecteur peut être lui-même modulé par plusieurs couples kinase-phosphatase différents. Ceci crée des possibilités infinies de régulation en réseau dans le temps et dans l'espace. Toutefois, des mécanismes plus linéaires et néanmoins fondamentaux, comme le mode d'action du couple insuline-récepteur phosphorylé sur le métabolisme intermédiaire, restent à caractériser.

Au-delà de l'importance des voies de recherche ouvertes par les lauréats, le comité Nobel a sans doute voulu aussi récompenser la constance dans l'amitié qui a permis à deux personnalités aussi fortes de collaborer pendant quarante ans avec le succès que l'on sait ■

**Christian J. Le Peuch**  
**Jacques G. Demaille**

Centre de recherche de biochimie macromoléculaire du Cnrs, Inserm U.249, BP 5051, 34033 Montpellier Cedex, France.