

M/S : médecine sciences



## Nouveaux aspects de la biologie de la protéine prion New insights into the biology of the prion protein

Alain Mangé and Sylvain Lehmann

Volume 18, Number 12, décembre 2002

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/000603ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

SRMS: Société de la revue médecine/sciences  
Éditions EDK

ISSN

0767-0974 (print)  
1958-5381 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Mangé, A. & Lehmann, S. (2002). Nouveaux aspects de la biologie de la protéine prion. *M/S : médecine sciences*, 18(12), 1267–1275.

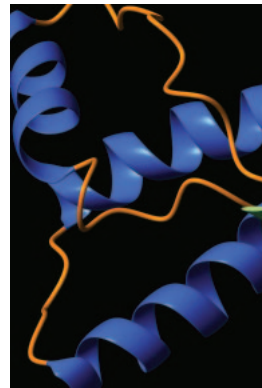
Article abstract

Transmissible spongiform encephalopathies form a group of fatal neurodegenerative disorders represented principally by Creutzfeldt-Jakob disease in humans, and by scrapie and bovine spongiform encephalopathy in animals. Also called prion diseases, these disorders are infectious, sporadic, or genetic in origin. Although the nature of the responsible agent of these diseases is uncertain, it is clear that a protein called PrP<sup>Sc</sup> plays a central role in their pathology. PrP<sup>Sc</sup> is a conformational variant of a normal protein called PrP<sup>C</sup>. PrP<sup>C</sup> is a glycoprotein expressed by most tissues and is attached on the cell membrane through a glycosyl-phosphatidylinositol anchor, which is consistent with roles in cell adhesion, ligand uptake, or transmembrane signaling. NMR studies revealed that the protein has a globular domain and a long amino-terminal tail that contains repeated octapeptide domains, which bind metal ions with high affinities. PrP<sup>C</sup> is localized on the cell membrane in detergent resistant microdomains and may be part of functional complexes with other molecules such as N-CAM, Laminin or kinases. This is particularly relevant in view of the possible role of the molecule in signal transduction, resistance to oxidative stress and neuronal survival. The description both *in vitro* and *in vivo*, of a transmembrane form of PrP that can accumulate in the endoplasmic reticulum has attracted a lot of attention. The role of such isoforms in neurodegeneration, as well as the presence of PrP into the cytoplasm and in the nucleus where it may interact with nucleic acids are still debated. In conclusion, it appeared that the understanding of the PrP biology is essential to the understanding of the physiological function of this protein as well as for its pathological conversion since its trafficking governs the generation of PrP<sup>Sc</sup>.

# Nouveaux aspects de la biologie de la protéine prion

Alain Mangé, Sylvain Lehmann

> La protéine prion joue un rôle majeur dans le déclenchement et la transmission des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles. Au cours de la maladie, cette protéine adopte une conformation différente lui conférant des propriétés biochimiques nouvelles. En dépit d'avancées significatives, il existe encore de nombreuses incertitudes concernant la fonction normale de la protéine prion et les mécanismes impliqués dans la neurodégénérescence liée à la maladie. Cet article détaille les récents développements de la biologie de la protéine prion tels que la description de nouvelles formes topologiques de la molécule, sa localisation dans des compartiments cellulaires multiples et ses interactions potentielles avec des partenaires. Toutes ces données semblent essentielles pour la compréhension des fonctions physiologiques et pathologiques de la protéine. <



Institut de Génétique Humaine,  
Cnrs UPR 1142,  
141, rue de la Cardonille,  
34396 Montpellier Cedex 5,  
France  
[Sylvain.Lehmann@igh.cnrs.fr](mailto:Sylvain.Lehmann@igh.cnrs.fr)

logie de la PrP<sup>C</sup> dont la compréhension semble essentielle pour appréhender la fonction de la protéine et les conséquences de sa conversion en PrP<sup>Sc</sup> au cours de la maladie.

## Du gène à la protéine : structure et expression de la protéine prion

La PrP<sup>C</sup> est une glycoprotéine de 33 à 35 kDa codée par un gène unique localisé sur le chromosome 20 humain (*PRNP*) et le chromosome 2 murin (*Prnp*) [3]. L'analyse des séquences nucléotidiques a montré que ces gènes étaient morcelés, mais que la phase de lecture codant pour la protéine était comprise dans un seul exon (Figure 1). Le gène de la PrP<sup>C</sup> est exprimé de manière constitutive dans la plupart des tissus, avec néanmoins une expression plus importante dans le cerveau. Chez les rongeurs, l'expression du gène *Prnp* varie au cours du développement, avec une augmentation de son expression dès le 10<sup>e</sup> jour embryonnaire [4]. Il existe à l'heure actuelle très peu de données sur la région régulatrice du gène de la PrP<sup>C</sup>, qui a les caractéristiques générales d'un gène dit de « ménage » contrôlé par des facteurs transcriptionnels ubiquitaires [5, 6].

La structure de la PrP<sup>C</sup> est représentée sur la Figure 2A. Elle possède un peptide signal hydrophobe de 22 acides aminés dans la région amino-terminale qui permet sa translocation

Les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) représentent un groupe d'affections neurodégénératives qui comprend principalement, chez l'homme, la maladie de Creutzfeldt-Jakob, et, chez l'animal, la tremblante du mouton et l'encéphalopathie spongiforme bovine. Également appelées maladies à prion, ces affections peuvent avoir une origine sporadique, infectieuse ou génétique. L'agent infectieux à l'origine de ces maladies est dit non conventionnel et serait de nature protéique [1] (→). Cette hypothèse, qui implique une transmission de l'information indépendante de tout matériel génétique, est encore très controversée. L'événement central de la pathogénie de ces maladies semble être la conversion d'une protéine appelée PrP<sup>C</sup> (forme cellulaire de la protéine du prion) en une isoforme pathogénique appelée PrP<sup>Sc</sup> (forme scrapie de la PrP) [2]. Les événements qui conduisent à la transmission ou à la propagation des prions ne sont pas détaillés dans cet article. En revanche, cette synthèse se focalise sur la bio-

dans le réticulum endoplasmique (RE). Dans cette même région, on trouve une répétition de 5 octapeptides de séquence consensus PHGGGWGQ puis, dans une région plus centrale, un domaine hydrophobe très conservé dans toutes les espèces. Une séquence hydrophobe localisée dans la région carboxy-terminale contrôle l'ajout d'une ancre glycosyl-phosphatidylinositol (GPI). La PrP<sup>C</sup> des mammifères contient deux sites de glycosylation et deux résidus cystéines reliés par un pont disulfure. L'analyse par RMN (résonance magnétique nucléaire) de PrP<sup>C</sup> recombinantes de souris ou de hamster révèle que la région amino-terminale de ces protéines est très flexible et peu structurée dans les conditions expérimentales utilisées [7]. Le domaine carboxy-terminal présente une structure globulaire constituée de deux feuillets  $\beta$  et de trois hélices  $\alpha$  (Figure 2, A et B) [8].

## Biosynthèse de la PrP<sup>C</sup>

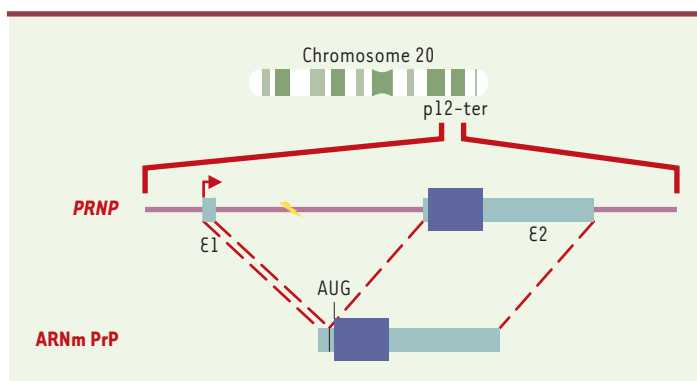
### Une protéine pour trois formes topologiques

La PrP<sup>C</sup>, glycoprotéine présente à la surface cellulaire, suit un cheminement biosynthétique classique (Figure 3). Une fois transportée dans le réticulum endoplasmique et après clivage du peptide signal amino-terminal, la protéine transite jusqu'à la membrane plasmique. Néanmoins, il a été décrit deux autres formes topologiques de la molécule (C<sup>tm</sup>PrP et N<sup>tm</sup>PrP) qui possèdent un domaine transmembranaire correspondant à la séquence hydrophobe conservée de la molécule située entre les positions 111 et 134 (Figure 2C) [9]. L'extrémité carboxy-terminale de la C<sup>tm</sup>PrP est orientée dans la lumière du réticulum endoplasmique. Outre le domaine transmembranaire, la C<sup>tm</sup>PrP est fixée par une ancre GPI et présente la particularité de conserver son peptide signal amino-terminal [10]. La forme N<sup>tm</sup>PrP présente une orientation inversée par rapport à la C<sup>tm</sup>PrP et n'est donc ni glycosylée, ni glypiée [9]. Ces formes ont été initialement observées dans un système de traduction *in vitro* [11]. Par la suite, la C<sup>tm</sup>PrP a pu être détectée *in vivo* et en culture cellulaire [9, 12, 13]. Le mécanisme précis aboutissant à ces formes est encore très largement incompris. Il pourrait impliquer trois séquences clés: le peptide signal, une séquence STE (*stop transfer effector*) (position 103-111) qui induit une pause dans la translocation de la protéine, et la séquence hydrophobe (TMD, *trans membrane domain*) (acides aminés 111-134) qui permet l'ancrage de la protéine sous une forme transmembranaire stable (Figure 2C) [9, 14]. La proportion relative des trois isoformes serait déterminée à la fois par la séquence STE et par des facteurs cytosoliques [15].

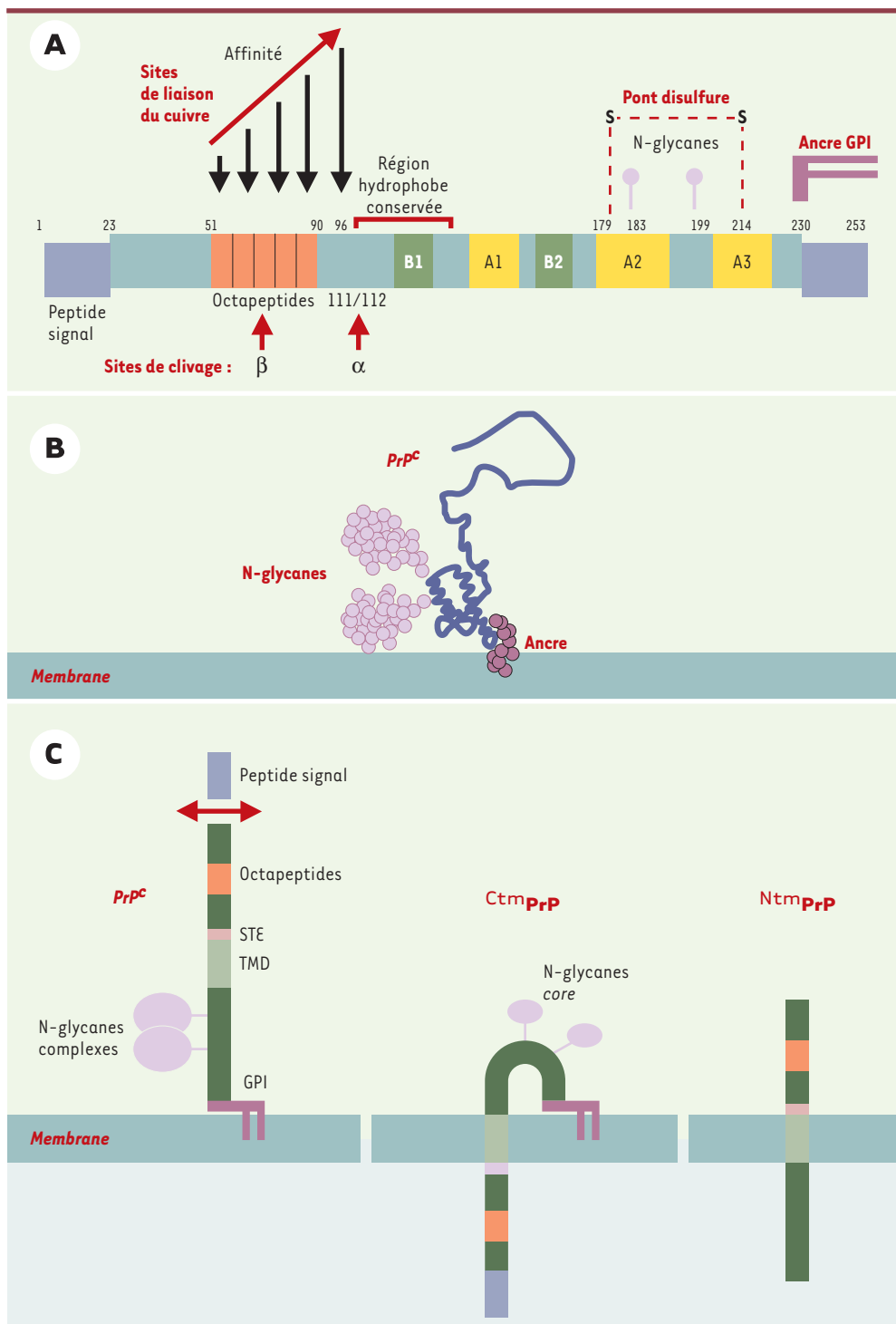
Il a été proposé que l'accumulation de la forme C<sup>tm</sup>PrP soit responsable de la neurodégénérescence observée dans les ESST génétiques et infectieuses [10, 12, 13]. Cependant, ce lien de causalité ne semble pas absolu car certaines mutations pathologiques de la PrP ne semblent pas favoriser la production de C<sup>tm</sup>PrP [10].

### Contrôle/qualité des protéines et protéasome

Les ESST humaines ont une incidence très faible, indiquant que la formation spontanée de PrP<sup>Sc</sup> est un processus rare. Une des caractéristiques de ces maladies réside dans la capacité de la PrP<sup>C</sup> d'adopter des conformations multiples, soit de manière spontanée (forme sporadique), soit à la suite de mutations (forme génétique) ou encore par conversion (forme infectieuse). Des mécanismes cellulaires assurent normalement la détection et la dégradation rapide des protéines de conformation incorrecte. Chez les eucaryotes, un des principaux points de contrôle est localisé dans le réticulum endoplasmique où les protéines anormales sont stockées avant d'être exportées dans le cytoplasme puis dégradées par le protéasome (pour revue, voir [16]). Plusieurs études ont montré récemment qu'un tel système était impliqué dans la dégradation de PrP mutées pathologiques [13, 17], mais également de la PrP<sup>C</sup> elle-même [6, 18]. Ainsi, quand l'activité du système de contrôle/qualité des protéines est altérée artificiellement, notamment par des inhibiteurs du protéasome, environ 10 % de la PrP<sup>C</sup> se retrouve dans le cytoplasme. Cette forme, qui est déglycosylée et ubiquitinylée, se présente en agrégats insolubles et résistants à la protéinase K, deux des caractéristiques de la PrP<sup>Sc</sup>. Ces résultats suggèrent qu'il existe un flux constant de PrP<sup>C</sup> du



**Figure 1. Du gène à la protéine.** Le gène codant pour la PrP<sup>C</sup> est localisé sur le chromosome 20 humain au locus p12-pter. La région promotrice du gène *PRNP* humain est suivie par un exon 1 (E1) transcrit non traduit de 134 paires de bases (pb), d'un intron de 12 696 pb et d'un exon 2 (E2) de 2 355 pb incluant la phase ouverte de lecture de 759 pb et une région 3' transcrite non traduite [5]. Chez la souris et chez le mouton, il existe un exon non traduit supplémentaire de 99 pb localisé 2 303 pb en aval de l'exon 1 [51]. Par ailleurs, le gène *Prnp* de souris possède deux promoteurs distincts en amont des exons non traduits en 5' [52]. Le site d'initiation de la transcription localisé dans l'exon 1 (flèche) permet l'expression d'un ARNm qui contient une région 5' non traduite de 168 nucléotides, un site d'initiation de la traduction (AUG) définissant la phase ouverte de lecture codant pour la PrP<sup>C</sup> et une région 3' transcrite non traduite de 1 562 nucléotides contenant un site unique de polyadénylation.



**Figure 2. Structure de la PrP<sup>C</sup>.**

**A.** Structure primaire de la protéine prion chez l'homme. La PrP<sup>C</sup> humaine possède un peptide signal (résidus 1-22) qui est clivé après l'entrée de la molécule dans le réticulum endoplasmique (RE). Par suite du clivage d'une séquence hydrophobe dans la partie C-terminale, une ancre glycosylphosphatidylinositol (GPI) sialylée est attachée au niveau du résidu 230. Un pont disulfure relie les deux cystéines 179 et 214. La PrP<sup>C</sup> peut être non-, mono- ou di-glycosylée au niveau des deux asparagines 183 et 199. Au cours du trafic intracellulaire, 1 à 5 % des molécules sont clivées entre les résidus 111 et 112 ( $\alpha$ ) dans une région  $\alpha$  hydrophobe très conservée (crochet, résidus 111 à 134). Un deuxième site de clivage ( $\beta$ ) semble exister dans une région répétée de 5 octapeptides (résidus 51 à 90). Cette région qui contient notamment des résidus histidine est capable de lier entre 4 et 6 atomes de cuivre avec une affinité croissante. L'étude en RMN de la protéine recombinante a montré que la moitié N-terminale de la molécule (résidus 23 à 120) était non structurée, alors que deux petits feuillet  $\beta$  (B1 et B2, résidus 128-131 et 161-164) et trois hélices  $\alpha$  (A1, A2 et A3, résidus 144-156, 172-193 et 200-227) sont retrouvés

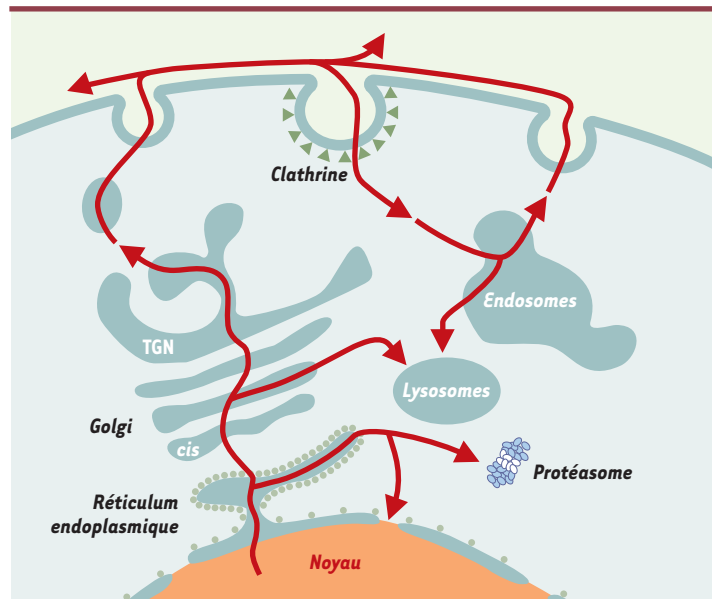
dans la région C-terminale. **B.** Structure de la PrP<sup>C</sup> à la surface cellulaire. La chaîne polypeptidique de PrP<sup>C</sup> est ancrée à la membrane plasmique par son ancre GPI (violet foncé). Elle possède deux N-glycanes (violet clair) attachés dans la région C-terminale globulaire de la molécule. **C.** Formes topologiques de la PrP<sup>C</sup>. La maturation normale de la PrP<sup>C</sup> conduit à une protéine privée de son peptide signal N-terminal, ancrée à la surface membranaire par son ancre GPI. Les sites de glycosylation peuvent être occupés par des N-glycanes complexes. Mais la PrP<sup>C</sup> possède aussi deux séquences qui participent à la production de formes transmembranaires de la protéine : une séquence STE pour *stop transfer effector* (rose) et une région hydrophobe ou TMD pour *trans membrane domain* (vert clair). La C<sup>tm</sup>PrP a son extrémité C-terminale située dans la lumière du RE. Outre le domaine transmembranaire, elle est ancrée par une ancre GPI. Son peptide signal N-terminal n'est pas clivé et ses glycanes ne sont pas matures. La forme N<sup>tm</sup>PrP, quant à elle, a une orientation inverse et ses sites de glycosylation ne sont donc pas utilisés. Cette forme a été décrite principalement *in vitro*.

réticulum endoplasmique vers le cytoplasme en situation non pathologique. Ce flux pourrait augmenter dans le cas de dysfonctionnements du protéasome dû au vieillissement ou à un stress et avoir des conséquences pathologiques. Tout d'abord, cette PrP<sup>C</sup> qui présente des caractéristiques proches de la PrP<sup>Sc</sup> pourrait expliquer l'apparition des ESST sporadiques. Par ailleurs, elle pourrait rendre compte de la neurodégénérescence observée dans les formes génétiques où les PrP mutantes s'accumulent dans le réticulum endoplasmique et pourraient activer certaines voies de signalisation liées au stress du réticulum. Cette localisation cytoplasmique de la PrP<sup>C</sup> pourrait également expliquer, d'une part, l'interaction de la PrP<sup>C</sup> avec des partenaires tels que Bcl-2 ou Hsp60 (Tableau 1) et, d'autre part, la présence de la protéine dans le noyau par un transport actif *via* un signal de localisation nucléaire pré-somptif situé dans la région amino-terminale [19-21]. Pour conclure, il semble exister également une deuxième étape de contrôle au niveau de l'appareil de Golgi, au cours de laquelle les PrP<sup>C</sup> possédant une conformation anormale seraient redirigées vers les lysosomes pour y être dégradées [22].

### Cheminement intracellulaire, clivage et dégradation

Tout au long de son cheminement dans le réticulum endoplasmique puis dans l'appareil de Golgi, la PrP<sup>C</sup> va subir des modifications post-traductionnelles (glycosylation, ancrage GPI, formation d'un pont disulfure (pour revue, voir [23])). Dès son passage dans l'appareil de Golgi, la PrP<sup>C</sup> est concentrée, comme la plupart des autres protéines à ancre GPI, dans de larges domaines enrichis en cholestérol et en sphingolipides. Ces complexes correspondent à des microdomaines spécialisés de la membrane plasmique appelés *raft* ou DRM (*detergent resistant microdomains*). Outre la PrP<sup>C</sup>, ces DRM contiennent également plusieurs molécules impliquées dans des voies de signalisation comme les tyrosine kinases de la famille Src et les protéines G. En revanche, les DRM contenant la PrP<sup>C</sup> semblent avoir une composition lipidique différente de ceux contenant des molécules à ancre GPI classique comme Thy-1 [24]. Cela pourrait expliquer pourquoi la PrP<sup>C</sup>, ainsi synthétisée et exprimée à la membrane, est rapidement « endocytée » de la surface membranaire à la différence de Thy-1 qui y est très stable. Cette endocytose semble suivre principalement les puits de clathrine [25]. Cette voie nécessite une interaction directe avec la clathrine et suggère ainsi que la PrP interagisse directement ou indirectement avec des molécules transmembranaires (Figure 4). La région amino-terminale de la molécule joue un rôle crucial dans cette étape d'internalisation [26]. En effet, le clivage physiologique (voir plus loin) ou la délétion de ce domaine abolit l'endocytose. Après l'internalisation de

la PrP<sup>C</sup>, la majorité des molécules va être recyclée à la surface cellulaire et un faible pourcentage est dirigé vers les lysosomes pour y être dégradé [27]. Au cours de ce cycle, 1 à 5 % des molécules vont subir un clivage dans la région centrale hydrophobe entre les acides aminés 111 et 112 (site  $\alpha$ , Figure 2A). Ce clivage semble réglé par la protéine kinase C et implique les métalloprotéases TACE et ADAM10 [28, 29]. Il est intéressant de noter que ce clivage détruit la région hydrophobe de la PrP<sup>C</sup> qui est décrite comme neurotoxique et que la PrP<sup>Sc</sup>, probablement en raison du changement conformationnel de la protéine, n'est pas clivée au site  $\alpha$ . La molécule clivée est ensuite ré-exprimée à la surface cellulaire où elle reste jusqu'à sa dégradation. Il existe un autre site de clivage de la PrP situé en amont du site  $\alpha$ , dans la région des octapeptides (site  $\beta$ , Figure 2A). Ce clivage, principalement décrit pour la PrP<sup>Sc</sup> [30], semble dépendre à la fois de la présence de cuivre et de radicaux libres [31].



**Figure 3. Cheminement cellulaire de la PrP.** Après sa synthèse, la chaîne polypeptidique de la PrP<sup>C</sup> est transloquée dans le réticulum endoplasmique (RE). Normalement, cette translocation est complète et conduit au clivage du peptide signal N-terminal et à l'attachement de l'ancrage GPI (glycosylphosphatidylinositol). Dans certains cas, la translocation de la molécule n'est pas complète, engendrant ainsi des formes transmembranaires qui s'accumulent dans le RE (Figure 2C) avant d'être dégradées dans le cytoplasme par le protéasome. Ce passage de la PrP dans le cytoplasme pourrait expliquer la détection par certains auteurs de la molécule dans le noyau. La PrP<sup>C</sup> transloquée poursuit sa maturation dans l'appareil de Golgi où un second contrôle de qualité peut conduire au transport des molécules anormales vers les lysosomes. La PrP<sup>C</sup> s'associe aux DRM (*detergent resistant microdomains*) et se retrouve ensuite à la surface plasmique. Elle est l'objet d'un processus continu d'endocytose et de recyclage au cours duquel une fraction des molécules est clivée en deux sites dans leur partie N-terminale. TGN : *trans-Golgi network*.

## PrP<sup>C</sup>: une protéine multifonctionnelle ?

### À la recherche d'une fonction inconnue

Malgré plusieurs pistes sérieuses, la fonction de la PrP<sup>C</sup> reste encore hypothétique. Compte tenu de son ancre GPI, de son trafic intracellulaire et de son transport par le flux axonal rapide à l'extrémité pré-synaptique, il a été proposé que la PrP<sup>C</sup> pourrait contribuer à la stabilisation ou à la transmission synaptique. Néanmoins, d'autres hypothèses ont été avancées, notamment un rôle dans l'adhérence ou la reconnaissance intercellulaires, dans la transduction de signal ou encore comme récepteur.

L'approche classique consistant à invalider le gène de la PrP chez la souris (*PrP*<sup>-/-</sup>) a fourni des résultats contrastés. Ces souris dont le gène de la PrP a été invalidé ont permis de montrer que la protéine du prion était nécessaire au développement et à la transmission des ESST [32], mais n'ont en revanche pas permis de donner une réponse satisfaisante quant à sa fonction. En effet, sur trois lignées transgéniques indépendantes, deux présentent un phénotype quasi normal et sont parfaitement viables [33, 34] et la dernière présente des symptômes neurologiques de type ataxie ainsi qu'une dégénérescence des cellules de Purkinje [35]. Ce dernier phénotype résulte en fait de l'expression ectopique dans le

cerveau d'un gène codant pour une protéine appelée Doppel, localisée juste en aval du gène de la PrP<sup>C</sup> [36]. Doppel présente des analogies avec la PrP<sup>C</sup>, notamment au niveau structural. La réexpression de la PrP<sup>C</sup> dans le cerveau de ces souris est capable d'inverser la dégénérescence induite par Doppel, suggérant que les deux molécules pourraient avoir des effets antagonistes et interagir avec un récepteur commun. Pour les autres souris *PrP*<sup>-/-</sup>, il existe toujours des controverses concernant des anomalies phénotypiques mineures, notamment électrophysiologiques. Il reste que la délétion du gène de la PrP<sup>C</sup> n'entrave pas le développement et n'altère pas significativement le comportement des souris. Cette absence évidente de phénotype suggère que la PrP<sup>C</sup> n'exerce pas de fonction vitale pour l'organisme et/ou que les fonctions assurées par cette protéine peuvent être compensés par d'autres molécules.

### La région amino-terminale: domaine clé de la PrP<sup>C</sup>

De nombreux arguments aussi bien génétiques, biochimiques que structuraux montrent l'importance de la région N-terminale de la PrP<sup>C</sup> dans la physiologie cellulaire et la pathologie des ESST. Cette région contient notamment une série d'octapeptides capables de se lier à des ions métalliques bivalents, en particulier le cuivre et avec des affinités moindres au zinc et au manganèse (Figure 2A) [37]. La PrP<sup>C</sup> pourrait ainsi lier, de façon coopérative, quatre à six atomes de cuivre avec des affinités

de l'ordre du micromolaire jusqu'au femtomolaire [38, 39]. De telles affinités suggèrent que le cuivre est effectivement lié à la PrP<sup>C</sup> *in vivo*. Les résidus histidines des octapeptides, ainsi que ceux situés plus en amont, notamment en position 96, pourraient être impliqués dans la coordination des ions. La signification physiologique de l'interaction PrP<sup>C</sup>/cuivre peut-être interprétée de diverses manières. Tout d'abord, le cuivre pourrait contribuer à l'acquisition d'une structure tridimensionnelle fonctionnelle de la PrP<sup>C</sup> [40]. L'association du cuivre et de la PrP<sup>C</sup> a conduit à l'hypothèse d'un rôle de la protéine dans le transport et le métabolisme de cet ion. Cette

Partenaire	Fonction	Références
66 kDa unidentified membrane protein	Inconnue	[53]
Acide nucléique	-	[47]
Apl1 ( <i>amyloid precursor-like protein 1</i> )	Glycoprotéine associée à la membrane	[54]
Bcl-2	Régulateur de l'apoptose	[55]
Cavéoline	Protéine adaptatrice associée aux cavéoles	[49]
GFAP ( <i>glial fibrillary acidic protein</i> )	Protéine des filaments intermédiaires	[56]
Grb2	Protéine adaptatrice	[57]
HSP60 ( <i>heat shock protein 60 kDa</i> )	Protéine chaperon	[58]
Laminine	Protéine de la matrice extracellulaire	[59]
LRP ( <i>laminin receptor molecule</i> )	Précurseur du récepteur à la laminine	[60]
NCAM ( <i>neural cell adhesion molecule</i> )	Molécule d'adhérence cellulaire neuronale	[61]
Nrf2 ( <i>NF-E2 related factor 2</i> )	Facteur de transcription	[54]
Pint1	Inconnue	[57]
Plasminogène	Précurseur inactif de la protéase plasmine	[62]
Aptamères d'ADN	-	[63]
Synapsine Ib	Phosphoprotéine neuronale	[57]

Tableau 1. Protéines interagissant avec la PrP.

hypothèse repose sur l'observation d'une endocytose de la PrP<sup>C</sup> dépendante d'ions métalliques (cuivre et zinc essentiellement) et sur une étude montrant une réduction de 10 à 15 fois de la concentration en cuivre dans le cerveau de souris transgéniques PrP<sup>-/-</sup> par rapport aux animaux témoins [41, 42]. Cependant, une deuxième étude n'a pas permis de retrouver une telle différence ni de trancher quant au rôle de la PrP<sup>C</sup> comme protéine majeure de liaison et de transport du cuivre [43]. De nombreux résultats impliquent cependant la PrP<sup>C</sup> dans les mécanismes de

défense cellulaire contre le stress oxydant, probablement en relation avec les ions métalliques. Il est en effet établi que les métaux de transition comme le cuivre, le zinc ou le fer peuvent être impliqués dans des réactions oxydantes au niveau cellulaire. De telles réactions jouent un rôle prépondérant dans les processus aboutissant à la mort cellulaire dans de nombreuses maladies neurodégénératives telles que les maladies de Parkinson, d'Alzheimer et de Charcot.

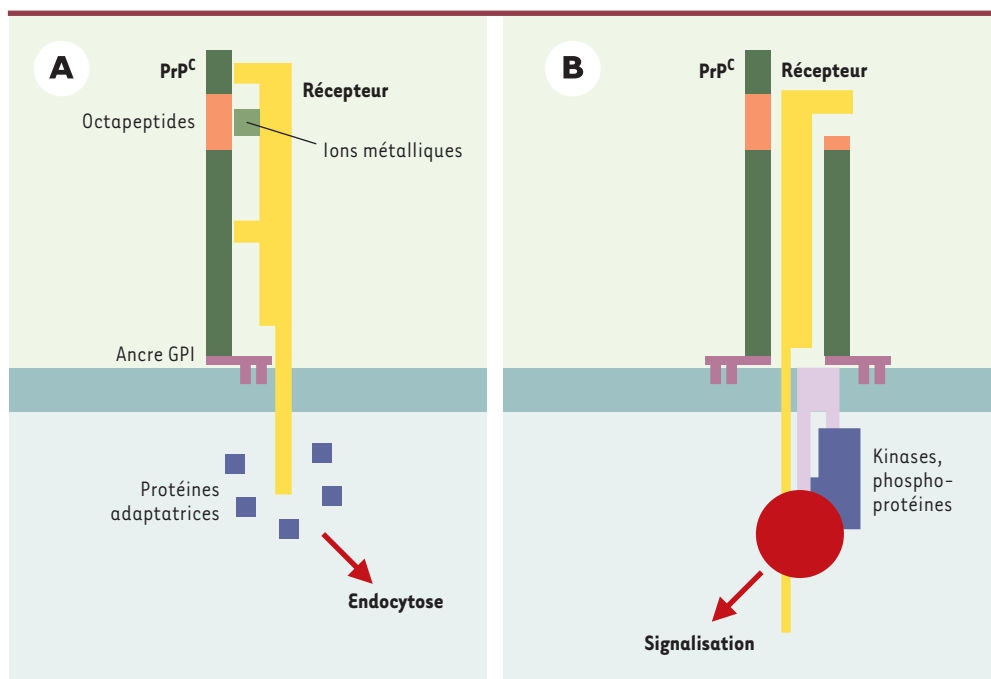
Dans plusieurs modèles expérimentaux d'ESST, le niveau d'expression de la PrP<sup>C</sup> a pu être lié à la résistance cellulaire au stress induit par des radicaux libres ou des ions métalliques, et à l'augmentation de l'activité d'une enzyme clé du système de défense cellulaire contre le stress, la superoxyde dismutase (SOD) [44]. Ces observations seraient dues à une activation de l'enzyme SOD dépendante du cuivre et du zinc *via* la PrP<sup>C</sup> [44] et/ou à une activité SOD-like de la PrP<sup>C</sup> [45]. L'étude de cellules et d'animaux infectés par les prions a montré par ailleurs que la réplication de l'agent infectieux altérerait également la réponse cellulaire au stress oxydant, l'activité d'enzymes anti-oxydantes et le métabolisme des ions métalliques (pour revue, voir [46]).

En conclusion, bien que la relation entre la PrP<sup>C</sup>, le cuivre et les radicaux libres reste à éclaircir, la fonction de la PrP<sup>C</sup> pour-

rait être liée aux mécanismes de défense cellulaire contre le stress oxydant. Dans ce contexte, le clivage de la PrP<sup>C</sup> au niveau du site  $\beta$  pourrait intervenir dans le métabolisme du cuivre en permettant notamment le relargage de l'ion dans un compartiment intracellulaire, ou encore être impliqué dans l'activation d'une voie de signalisation aboutissant à une réponse cellulaire de défense contre le stress oxydant. Dans cette hypothèse, le clivage subséquent au niveau du site  $\alpha$  pourrait permettre l'inactivation de la PrP<sup>C</sup>.

### Les partenaires de la PrP<sup>C</sup>

De nombreuses stratégies, principalement de double hybride, ont été mises en place pour identifier des protéines susceptibles d'interagir avec la PrP<sup>C</sup>. Plus de douze partenaires ont été identifiés et sont donc suppo-



**Figure 4. Interaction de la PrP avec d'autres protéines à la surface cellulaire.** **A.** Endocytose. La PrP<sup>C</sup> (vert foncé) est endocytée rapidement à la surface cellulaire contrairement à d'autres molécules à ancre GPI telle que Thy-1. Cette endocytose s'effectue principalement dans des puits de clathrine. La PrP<sup>C</sup> ne possédant pas de domaine intracytoplasmique, elle doit interagir avec une autre molécule transmembranaire (récepteur jaune) qui induira l'endocytose grâce à des protéines adaptatrices (cubes bleus). La partie N-terminale de la PrP<sup>C</sup> et la région des octapeptides (en orange) jouent un rôle prépondérant dans ce processus. En effet, la délétion de cette région entraîne une diminution de l'endocytose, alors que la fixation d'ions métalliques (cube vert) module la quantité de PrP<sup>C</sup> présente à la surface cellulaire. **B.** Signalisation. Plusieurs travaux ont montré que la PrP<sup>C</sup> pouvait être impliquée et dans des phénomènes de signalisation cellulaire. Différents modèles peuvent être proposés pour rendre compte d'une transduction de signal induite par la PrP<sup>C</sup>. Comme pour l'endocytose, l'intervention d'un récepteur capable de transduire un signal semble le plus probable. Ce récepteur (jaune) pourrait interagir avec la PrP<sup>C</sup> entière, ou clivée, ou encore présente à la surface cellulaire sous la forme d'un dimère. Ce récepteur pourrait faire partie d'un complexe de transduction plus large comprenant des protéines membranaires (violet clair) et cytoplasmiques (cubes bleus, sphère rouge), dont notamment des phosphoprotéines et des kinases de la famille Src.



sés participer à la fonction de la PrP<sup>C</sup> ou aux mécanismes moléculaires aboutissant à la neurodégénérescence observée dans les ESST (Tableau 1). Pour la plupart de ces protéines, la réalité physiologique de ces interactions reste à démontrer. Cependant, les récents résultats sur la localisation cytoplasmique et nucléaire de la PrP<sup>C</sup> suggèrent que certaines de ces interactions, notamment avec les acides nucléiques, ne sont pas fortuites [47]. Parmi les candidats les plus sérieux, on peut citer les molécules d'adhérence cellulaire neuronales (N-CAM), le précurseur du récepteur de la laminine (LRP), le récepteur de la laminine (LR) et la laminine elle-même (Tableau 1). La laminine, protéine de la matrice extracellulaire, joue un rôle central, tout comme les N-CAM, dans la régulation de la prolifération et de la différenciation cellulaires et dans la mort neuronale. On peut donc supposer que l'interaction entre la PrP<sup>C</sup> et ces molécules puisse avoir des conséquences directes sur la survie neuronale, l'extension des neurites ou la différenciation. Par ailleurs, l'interaction entre la PrP<sup>C</sup> et les protéines membranaires LRP/LR induit l'internalisation de la PrP<sup>C</sup>, processus qui pourrait être lié aussi à l'activation d'une voie de signalisation [48]. L'implication potentielle de la PrP<sup>C</sup> dans une cascade de signalisation via la tyrosine kinase de la famille Src, p59<sup>Fyn</sup>, a été décrite dans un modèle cellulaire neuronal [49]. Récemment, une autre étude est venue renforcer ces données en montrant que la PrP<sup>C</sup> est capable d'interagir *in vitro* et *in vivo* avec deux molécules impliquées dans des processus de signalisation neuronale: la synapsine Ib et Grb2 (Tableau 1). Bien qu'encore parcellaires, toutes ces données concordent avec la localisation de la PrP<sup>C</sup> dans les DRM qui sont connus pour concentrer tous les acteurs de la transduction du signal. Dans le cadre des ESST, ces mécanismes pourraient être altérés et induire des effets délétères sur la cellule. Des données très récentes montrent ainsi que l'infection de cultures cellulaires neuronales par des prions affecte les voies de signalisation activées par le récepteur de l'insuline et augmente de façon importante le niveau de la kinase Erk2 sous sa forme phosphorylée [50]. Ce dysfonctionnement induit par la PrP<sup>Sc</sup> pourrait être une cause de la neurodégénérescence observée dans les ESST.

## Conclusions

En dépit d'avancées significatives en biologie cellulaire et moléculaire de la PrP<sup>C</sup>, nos connaissances sont encore parcellaires. Cette protéine étant le précurseur de la forme anormale PrP<sup>Sc</sup>, la compréhension de la physiopathologie des ESST passe par l'étude complète de la biologie de la PrP<sup>C</sup>. À l'heure actuelle, il manque une vision globale de la fonction normale de la PrP<sup>C</sup> dont l'altéra-

tion pourrait jouer un rôle majeur dans la neuropathologie des ESST. Cet article fournit une vue générale de la biologie de la PrP<sup>C</sup>, et en particulier de ses nouveaux aspects. Plusieurs champs de recherche découlent de ces données, notamment concernant le rôle du système ubiquitine/protéasome dans les ESST, les mécanismes d'endocytose de la PrP<sup>C</sup>, les interactions de la PrP<sup>C</sup> avec le cuivre ou ses protéines partenaires, ou encore le lien entre la PrP<sup>C</sup> et les systèmes cellulaires de défense contre le stress oxydant. ♦

## REMERCIEMENTS

*Nous tenons à remercier les membres du laboratoire pour la lecture critique du manuscrit, ainsi que le Cnrs, le GIS-Prion et l'Union européenne (BIO4CT98-6055) pour leur soutien financier.*

## SUMMARY

### New insights into the biology of the prion protein

Transmissible spongiform encephalopathies form a group of fatal neurodegenerative disorders represented principally by Creutzfeldt-Jakob disease in humans, and by scrapie and bovine spongiform encephalopathy in animals. Also called prion diseases, these disorders are infectious, sporadic, or genetic in origin. Although the nature of the responsible agent of these diseases is uncertain, it is clear that a protein called PrP<sup>Sc</sup> plays a central role in their pathology. PrP<sup>Sc</sup> is a conformational variant of a normal protein called PrP<sup>C</sup>. PrP<sup>C</sup> is a glycoprotein expressed by most tissues and is attached on the cell membrane through a glycosyl-phosphatidylinositol anchor, which is consistent with roles in cell adhesion, ligand uptake, or transmembrane signaling. NMR studies revealed that the protein has a globular domain and a long amino-terminal tail that contains repeated octapeptide domains, which bind metal ions with high affinities. PrP<sup>C</sup> is localized on the cell membrane in detergent resistant microdomains and may be part of functional complexes with other molecules such as N-CAM, Laminin or kinases. This is particularly relevant in view of the possible role of the molecule in signal transduction, resistance to oxidative stress and neuronal survival. The description both *in vitro* and *in vivo*, of a transmembrane form of PrP that can accumulate in the endoplasmic reticulum has attracted a lot of attention. The role of such isoforms in neurodegeneration, as well as the presence of PrP into the cytoplasm and in the nucleus where it may interact with nucleic acids are still debated. In conclusion, it appeared that the understanding of the PrP biology is essential to the understanding of the physiological function of this protein as well as for its pathological conversion since its trafficking governs the generation of PrP<sup>Sc</sup>. ♦



## NOTE AJOUTÉE AUX ÉPREUVES

Depuis l'acceptation de cet article pour publication dans *médecine/sciences*, plusieurs articles ont souligné l'importance du transport rétrograde de la PrP<sup>C</sup> au niveau du réticulum endoplasmique. Comme nous l'avons indiqué précédemment, à l'état physiologique, 10 à 15% de PrP<sup>C</sup> mal repliées dans le réticulum endoplasmique sont dégradées par le protéasome. Dans le cas où l'activité du protéasome est altérée, ces formes mal repliées de la PrP<sup>C</sup> s'accumulent dans le cytosol et provoquent la mort neuronale par apoptose comme le décrivent deux travaux récents commentés dans la *Brève* de F. Béranger, p. 1207 de ce numéro [64, 65]. De plus, nous avons montré récemment que la PrP<sup>C</sup> pouvait être transportée de manière rétrograde de la surface cellulaire jusqu'au réticulum endoplasmique et que ce compartiment intracellulaire pourrait jouer un rôle très important dans la conversion de la PrP<sup>C</sup> en PrP<sup>Sc</sup> [66]. Dans la mesure où la conversion s'effectuerait effectivement dans le réticulum endoplasmique, la proportion de PrP<sup>C</sup> mal repliée pourrait alors augmenter dans ce compartiment, entraînant, à la suite d'une accumulation de PrP<sup>C</sup> dans le cytoplasme, la neurodégénérescence cérébrale.

## RÉFÉRENCES

1. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-44.
2. Prusiner SB, Scott MR, Dearmond SJ, Cohen FE. Prion protein biology. *Cell* 1998; 93: 337-48.
3. Sparkes RS, Simon M, Cohn VH, et al. Assignment of the human and mouse prion protein genes to homologous chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7358-62.
4. Manson J, West JD, Thomson V, et al. The prion protein gene: a role in mouse embryogenesis? *Development* 1992; 115: 117-22.
5. Puckett C, Concannon P, Casey C, Hood L. Genomic structure of the human prion protein gene. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 320-9.
6. Ma J, Lindquist S. Wild-type PrP and a mutant associated with prion disease are subject to retrograde transport and proteasome degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 14955-60.
7. Donne DG, Viles JH, Groth D, et al. Structure of the recombinant full-length hamster prion protein PrP (29-231): the N-terminus is highly flexible. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13452-7.
8. Riek R, Hornemann S, Wider G, et al. NMR structure of the mouse prion protein domain PrP (121-231). *Nature* 1996; 382: 180-2.
9. Hegde RS, Mastrianni JA, Scott MR, et al. A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease. *Science* 1998; 279: 827-34.
10. Stewart RS, Harris DA. Most pathogenic mutations do not alter the membrane topology of the prion protein. *J Biol Chem* 2001; 276: 2212-20.
11. Hay B, Barry RA, Lieberburg I, Prusiner SB, Lingappa VR. Biogenesis and transmembrane orientation of the cellular isoform of the scrapie prion protein. *Mol Cell Biol* 1987; 7: 914-20.
12. Hegde RS, Tremblay P, Groth D, et al. Transmissible and genetic prion diseases share a common pathway of neurodegeneration. *Nature* 1999; 402: 822-6.
13. Stewart RS, Drisaldi B, Harris DA. A transmembrane form of the prion protein contains an uncleaved signal peptide and is retained in the endoplasmic reticulum. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 881-9.
14. Kim SJ, Rahbar R, Hegde RS. Combinatorial control of prion protein biogenesis by the signal sequence and transmembrane domain. *J Biol Chem* 2001; 276: 26132-40.
15. Hegde RS, Voigt S, Lingappa VR. Regulation of protein topology by trans-acting factors at the endoplasmic reticulum. *Mol Cell* 1998; 2: 85-91.
16. Coux O, Piechaczyk M. Le système ubiquitine/protéasome: un ensemble (de) complexe(s) pour dégrader les protéines. *Med Sci* 2000; 16: 623-9.
17. Zanusso G, Petersen RB, Jin T, et al. Proteasomal degradation and N-terminal protease resistance of the codon 145 mutant prion protein. *J Biol Chem* 1999; 274: 23396-404.
18. Yedidia Y, Horonchik L, Tzaban S, Yanai A, Taraboulos A. Proteasomes and ubiquitin are involved in the turnover of the wild-type prion protein. *EMBO J* 2001; 20: 5383-91.
19. Pfeifer K, Bachmann M, Schroder HC, Forrest J, Muller WE. Kinetics of expression of prion protein in uninfected and scrapie-infected N2a mouse neuroblastoma cells. *Cell Biochem Funct* 1993; 11: 1-11.
20. Jaegly A, Mouthon F, Peyrin JM, et al. Search for a nuclear localization signal in the prion protein. *Mol Cell Neurosci* 1998; 11: 127-33.
21. Rybner C, Finel-Szermanski S, Felin M, et al. The cellular prion protein: a new partner of the lectin CBP70 in the nucleus of NB4 human promyelocytic leukemia cells. *J Cell Biochem* 2002; 84: 408-19.
22. Gilch S, Winklhofer KF, Groschup MH, et al. Intracellular re-routing of prion protein prevents propagation of PrP (Sc) and delays onset of prion disease. *EMBO J* 2001; 20: 3957-66.
23. Lehmann S, Milhavel O, Mange A. Trafficking of the cellular isoform of the prion protein. *Biomed Pharmacother* 1999; 53: 39-46.
24. Madore N, Smith KL, Graham CH, et al. Functionally different GPI proteins are organized in different domains on the neuronal surface. *EMBO J* 1999; 18: 6917-26.
25. Shyng SL, Heuser JE, Harris DA. A glycolipid-anchored prion protein is endocytosed via clathrin-coated pits. *J Cell Biol* 1994; 125: 1239-50.
26. Shyng SL, Moulder KL, Lesko A, Harris DA. The N-terminal domain of a glycolipid-anchored prion protein is essential for its endocytosis via clathrin-coated pits. *J Biol Chem* 1995; 270: 14793-800.
27. Shyng SL, Huber MT, Harris DA. A prion protein cycles between the cell surface and an endocytic compartment in cultured neuroblastoma cells. *J Biol Chem* 1993; 268: 15922-8.
28. Vincent B, Paitel E, Frobert Y, et al. Phorbol ester-regulated cleavage of normal prion protein in HEK293 human cells and murine neurons. *J Biol Chem* 2000; 275: 35612-6.
29. Vincent B, Paitel E, Saftig P, et al. The disintegrins ADAM10 and TACE contribute to the constitutive and phorbol ester-regulated normal cleavage of the cellular prion protein. *J Biol Chem* 2001; 276: 37743-6.
30. Chen SG, Teplow DB, Parchi P, et al. Truncated forms of the human prion protein in normal brain and in prion diseases. *J Biol Chem* 1995; 270: 19173-80.



31. McMahon HE, Mange A, Nishida N, et al. Cleavage of the amino-terminus of the prion protein by reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2001; 276: 2286-91.
32. Bueler H, Aguzzi A, Sailer A, et al. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 1993; 73: 1339-47.
33. Bueler H, Fischer M, Lang Y, et al. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature* 1992; 356: 577-82.
34. Manson JC, Clarke AR, Hooper ML, et al. 129/Ola mice carrying a null mutation in PrP that abolishes mRNA production are developmentally normal. *Mol Neurobiol* 1994; 8: 121-7.
35. Sakaguchi S, Katamine S, Nishida N, et al. Loss of cerebellar Purkinje cells in aged mice homozygous for a disrupted PrP gene. *Nature* 1996; 380: 528-31.
36. Moore RC, Lee IY, Silverman GL, et al. Ataxia in prion protein (PrP)-deficient mice is associated with upregulation of the novel PrP-like protein doppel. *J Mol Biol* 1999; 292: 797-817.
37. Hornshaw MP, McDermott JR, Candy JM, Lakey JH. Copper binding to the N-terminal tandem repeat region of mammalian and avian prion protein: structural studies using synthetic peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 214: 993-9.
38. Viles JH, Cohen FE, Prusiner SB, et al. Copper binding to the prion protein: structural implications of four identical cooperative binding sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 2042-7.
39. Kramer ML, Kratzin HD, Schmidt B, et al. Prion protein binds copper within the physiological concentration range. *J Biol Chem* 2001; 276: 16711-9.
40. Jackson GS, Murray I, Hosszu LL, et al. Location and properties of metal-binding sites on the human prion protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 3: 3.
41. Brown DR, Qin K, Herms JW, et al. The cellular prion protein binds copper *in vivo*. *Nature* 1997; 390: 684-7.
42. Pauly PC, Harris DA. Copper stimulates endocytosis of the prion protein. *J Biol Chem* 1998; 273: 33107-10.
43. Waggoner DJ, Drisaldi B, Bartnikas TB, et al. Brain copper content and cuproenzyme activity do not vary with prion protein expression level. *J Biol Chem* 2000; 275: 7455-8.
44. Brown DR, Besinger A. Prion protein expression and superoxide dismutase activity. *Biochem J* 1998; 334: 423-9.
45. Brown DR, Wong BS, Hafiz F, et al. Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase. *Biochem J* 1999; 344: 1-5.
46. Milhøvet O, McMahon HE, Rachidi W, et al. Prion infection impairs the cellular response to oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13937-42.
47. Gabus C, Derrington E, Leblanc P, et al. The prion protein has RNA binding and chaperoning properties characteristic of nucleocapsid protein NCP7 of HIV-1. *J Biol Chem* 2001; 276: 19301-9.
48. Gauczynski S, Peyrin JM, Haik S, et al. The 37-kDa/67-kDa laminin receptor acts as the cell-surface receptor for the cellular prion protein. *EMBO J* 2001; 20: 5863-75.
49. Mouillet-Richard S, Ermonval M, Chebassier C, et al. Signal transduction through prion protein. *Science* 2000; 289: 1925-8.
50. Ostlund P, Lindegren H, Pettersson C, Bedecs K. Altered insulin receptor processing and function in scrapie-infected neuroblastoma cell lines. *Brain Res Mol Brain Res* 2001; 97: 161-70.
51. Lee IY, Westaway D, Smit AF, et al. Complete genomic sequence and analysis of the prion protein gene region from three mammalian species. *Genome Res* 1998; 8: 1022-37.
52. Baybutt H, Manson J. Characterisation of two promoters for prion protein (PrP) gene expression in neuronal cells. *Gene* 1997; 184: 125-31.
53. Martins VR, Graner E, Garcia-Abreu J, et al. Complementary hydrophathy identifies a cellular prion protein receptor. *Nat Med* 1997; 3: 1376-82.
54. Yehiely F, Bamborough P, Da Costa M, et al. Identification of candidate proteins binding to prion protein. *Neurobiol Dis* 1997; 3: 339-55.
55. Kurschner C, Morgan JL. The cellular prion protein (PrP) selectively binds to Bcl-2 in the yeast two-hybrid system. *Brain Res Mol Brain Res* 1995; 30: 165-8.
56. Oesch B, Teplow DB, Stahl N, et al. Identification of cellular proteins binding to the scrapie prion protein. *Biochemistry* 1990; 29: 5848-55.
57. Spielhauer C, Schatzl HM. PrPC directly interacts with proteins involved in signaling pathways. *J Biol Chem* 2001; 276: 44604-12.
58. Edenhofer F, Rieger R, Famulok M, Wendler W, Weiss S, Winnacker EL. Prion protein PrP<sup>C</sup> interacts with molecular chaperones of the Hsp60 family. *J Virol* 1996; 70: 4724-8.
59. Graner E, Mercadante AF, Zanata SM, et al. Cellular prion protein binds laminin and mediates neuritogenesis. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 76: 85-92.
60. Rieger R, Edenhofer F, Lasmezas CI, Weiss S. The human 37-kDa laminin receptor precursor interacts with the prion protein in eukaryotic cells. *Nat Med* 1997; 3: 1383-8.
61. Schmitt-Ulms G, Legname G, Baldwin MA, et al. Binding of neural cell adhesion molecules (N-CAMs) to the cellular prion protein. *J Mol Biol* 2001; 314: 1209-25.
62. Fischer MB, Roeckl C, Parisek P, et al. Binding of disease-associated prion protein to plasminogen. *Nature* 2000; 408: 479-83.
63. Weiss S, Prose D, Neumann M, et al. RNA aptamers specifically interact with the prion protein PrP. *J Virol* 1997; 71: 8790-7.
64. Ma J, Lindquist S. Conversion of PrP to a self-perpetuating PrP<sup>Sc</sup>-like conformation in the cytosol. *Science* 2002 (online).
65. Ma J, Wollmann R, Lindquist S. Neurotoxicity and neurodegeneration when PrP accumulates in the cytosol. *Science* 2002 (online).
66. Beranger F, Mangé A, Goud B, Lehmann S. Stimulation of PrP<sup>C</sup> retrograde transport toward the endoplasmic reticulum increases accumulation of PrP<sup>Sc</sup> in prion-infected cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 38972-7.

TIRÉS À PART  
S. Lehmann