

## Colloque IVB : Signalisation et régulation cellulaire

Lucile MOYNIÉ, M-G. Giraud, A. Breton, F. Boissier, B. Daignan-Fornier, A. Dautant.

Institut de Biochimie et Génétique Cellulaires, UMR 5095 CNRS-Université Victor Segalen  
Bordeaux 2, 1 rue Camille Saint-Saëns, 33077 Bordeaux cedex, France

### Structure de l'Hypoxanthine-Guanine PhosphoRibosylTransférase de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

L'Hypoxanthine-Guanine PhosphoRibosylTransférase (HG-PRT) est une enzyme impliquée dans la voie de biosynthèse des nucléotides puriques. Elle catalyse, en présence d'ion magnésium, le transfert du phosphoribosyl du phosphoribosylpyrophosphate (PrPP) à la guanine ou l'hypoxanthine pour former respectivement la guanosine monophosphate (GMP) ou l'inosine monophosphate (IMP) et du pyrophosphate (PPi). Une analyse phylogénétique montre que les PhosphoRibosylTransférases (PRTs) des champignons possédant une très faible homologie de séquence avec les autres PRTs forment une sous-classe. Alors que de nombreuses structures de PRTs de procaryotes et d'eucaryotes ont été résolues [1], des informations structurales sur cette famille de PRTs manquaient. Par ailleurs, des mutants de l'HG-PRT de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, dont l'activité ou la régulation par le GMP est affectée, ont été récemment caractérisés [2].

Les structures de l'enzyme sauvage de la levure *Saccharomyces cerevisiae* et d'une forme tronquée dans la partie C terminale complexées au GMP ont été résolues à 3,5 Å ( $P2_12_12$ ) et à 2,2 Å (I4) respectivement. Ces deux formes cristallines montrent que l'enzyme est dimérique et qu'elle possède le motif structural formant le cœur des PRTs : un feuillet central à 5 brins  $\beta$  parallèles entouré d'hélices  $\alpha$ . Ce motif est chapeauté d'un autre domaine, le "hood", qui chez la levure comprend un petit feuillet à deux brins  $\beta$  parallèles reliant les parties C et N terminales ; du fait de cette particularité l'HG-PRT de levure est plus semblable aux enzymes des bactéries et d'archées qu'à celles des eucaryotes.

Les PRTases sont réputées pour posséder une liaison peptidique non proline en conformation cis qui serait nécessaire pour la fixation du PrPP [3]. L'HG-PRT de levure possède à cet endroit une succession de quatre résidus glycine et une liaison trans. Dans la forme tétragonale, la formation d'un pont disulfure artefactuel entraîne des variations au niveau de l'interface dimérique ainsi qu'à proximité du site catalytique d'une des deux sous-unités. Dans cette sous-unité, le site actif est fermé et la liaison peptidique précédant la liaison *trans* est "flippée". Des tests enzymatiques ont révélé que la formation du pont disulfure entraînait une très forte diminution de l'activité de l'enzyme.

Ces deux structures suggèrent que les levures possèdent une enzyme originale. Nous proposons un modèle de fonctionnement qui diffère, à certaines étapes, de ceux précédemment établis pour la famille des HG-PRTs. Ces derniers mécanismes ne font pas l'unanimité. En effet, certains auteurs ont associé l'isomérisation *cis/trans* de la liaison peptidique à la catalyse [4], alors que d'autres non [5].

[1] Schramm et al., Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol., 78 (2004) 261-304.

[2] Breton et al., Genetics, 178 (2008) 815-824.

[3] Focia et al., Biochemistry, 37 (1998) 15066-15075.

- [4] Héroux et al., *Biochemistry*, 38 (1999) 14495-14506.
- [5] Canyuk et al., *J. Mol. Biol.*, 335 (2004) 905-921