

Colloque VIIB : Complexes d'intérêt biomédical

Anthony CORMIER¹, M. Marchand¹, R.B.G. Ravelli², M. Knossow¹, et B. Gigant¹

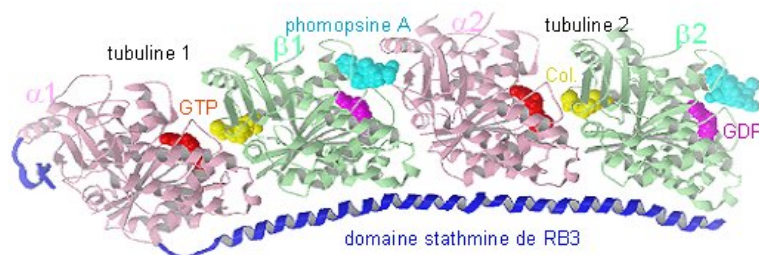
¹Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales (LEBS), CNRS, Bat. 34, 1 avenue de la terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France

²European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Grenoble Outstation, 6 rue Jules Horowitz, BP 181, 38042 Grenoble Cedex 9, France

Inhibition de la tubuline par les ligands peptidiques du site vinca : aperçu structural et biochimique

Les microtubules (MT) sont des composants du cytosquelette impliqués dans de nombreuses fonctions comme le transport intra-cellulaire et la mitose. La tubuline, l'unité de base constituant les MT, est la cible d'une grande variété de composés antimitotiques ; certains d'entre eux déstabilisent les MT et interfèrent avec la fixation de la vinblastine, ce sont les ligands du domaine vinca [1]. Nous avons résolu la structure cristalline par diffraction des rayons X du complexe tubuline-colchicine-domaine de type stathmine de la protéine RB3 [(Tc)2R] en complexe avec deux peptides anti-mitotiques, la phomopsine A [2] (fig. 1) ou la soblidotine [3]. La comparaison de ces structures avec celle de (Tc)2R en complexe avec la vinblastine [4] montre que les sites de fixation des deux ligands se superposent partiellement à celui de la vinblastine.

Bien que ces ligands inhibent tous l'activité GTPase de la tubuline en solution, les deux nouvellement étudiés inhibent totalement l'échange du nucléotide de la tubuline, alors que la vinblastine a un effet moindre [3,5]. La Tyrosine b224 de la boucle H6-H7 de la tubuline contacte la soblidotine ainsi que la phomopsine A mais pas la vinblastine ; il semble donc que ces ligands plaquent cette tyrosine sur la base du nucléotide et l'empêchent ainsi d'être échangé. De plus, contrairement à la soblidotine et à la vinblastine qui ne sont présentes qu'au site à l'interface des sous-unités b1 et a2 dans (Tc)2R (1er site), la phomopsine A est également présente dans le demi-site formé par la sous-unité b2 (2nd site, fig. 1). L'étude de l'inhibition de l'échange du nucléotide sur (Tc)2R montre que la soblidotine a une affinité dramatiquement moins bonne que la phomopsine A pour le 2nd site, donnant ainsi une justification biochimique aux résultats structuraux. Ces nouveaux éléments permettent d'étendre la définition structurale et fonctionnelle du domaine vinca de la tubuline et de mieux comprendre le mécanisme d'échange du nucléotide. C'est ce mécanisme qui permet à la tubuline de se recharger en GTP pour polymériser en MT.



: Figure 1 : Structure du complexe (Tc)2R avec la phomopsine A à une résolution de 4.1 Å

[1] Hamel, E., Pharmacol Ther, 55 (1992) 31-51.

- [2] Tonsing, E.M., Steyn, P.S., Osborn, M. and Weber, K., *Eur. J. Cell Biol.*, 35 (1984) 156-164.
- [3] Natsume, T., Watanabe, J., Tamaoki, S., Fujio, N., Miyasaka, K. and Kobayashi, M., *Jpn J Cancer Res*, 91 (2000) 737-747.
- [4] Gigant, B., Wang, C., Ravelli, R.B., Roussi, F., Steinmetz, M.O., Curmi, P.A., Sobel, A. and Knossow, M., *Nature*, 435 (2005) 519-522.
- [5] Bai, R.L., Pettit, G.R. and Hamel, E., *J Biol Chem*, 265 (1990) 17141-17149.