



mais aussi et surtout que les marqueurs moléculaires témoignent de cette sélection et sont de fait des outils puissants pour identifier des individus élites.

Afin de créer de nouvelles variétés, un plan de croisements entre les individus à haut rendement en artémisinine précédemment identifiés a d'ores et déjà été mis en œuvre. Parmi les descendances issues de ces croisements, certaines présentent des rendements en artémisinine 30 à 60 % plus élevés que celui d'Artemis. D'autres croisements en cours d'établissement pourront aussi bénéficier des outils moléculaires développés dans cette étude pour l'identification de descendances encore plus performantes.

Les descendances ainsi sélectionnées feront ensuite l'objet d'évaluations dans les futures zones de production (Afrique et Asie) afin de confirmer leur haut rendement dans ces conditions climatiques particulières et ainsi de fournir de nouvelles variétés à l'horizon 2011. Celles-ci seront exploitées directement dans les zones touchées par le paludisme où elles permettront une production accrue d'artémisinine. ♦

### Genetic and breeding of *Artemisia annua* L. for a sustainable production of the antimalarial drug artemisinin

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. World Malaria Report 2008, World Health Organisation. <http://apps.who.int/malaria/wmr2008/malaria2008.pdf>
2. Dondorp AM, Nosten F, Poravuth Y, et al. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *N Engl J Med* 2009; 361 : 455-67.
3. Covello PS, Teoh KH, Polichuk DR, et al. Functional genomics and the biosynthesis of artemisinin. *Phytochemistry* 2007; 68 : 1864-71.
4. Ro DK, Paradise EM, Ouellet M, et al. Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. *Nature* 2006; 440 : 940-3.
5. Doebley JF, Gaut BS, Smith BD. The molecular genetics of crop domestication. *Cell* 2006; 127 : 1309-21.
6. <http://www.york.ac.uk/org/cnap/artemisiaproject/>
7. Graham IA, Besser K, Blumer S, et al. The genetic map of *Artemisia annua* L. identifies loci affecting yield of the antimalarial drug artemisinin. *Science* 2010; 327 : 328-31.

## NOUVELLE

### Nedd4/PTEN : un couple très branché !

Laure Stochlic

CNRS UMR 8194 - CEsM (Centre d'étude de la sensorimotricité), Université Paris Descartes, 45, rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cedex 06, France. [laure.stochlic@inserm.fr](mailto:laure.stochlic@inserm.fr)

> Le système nerveux humain adulte se compose d'environ 100 milliards de neurones, chacun se connectant à plus de 1 000 cibles cellulaires générant ainsi un circuit très complexe. L'établissement de la connectivité neuronale au cours de l'embryogenèse représente une étape fondamentale pour le bon fonctionnement du système nerveux et s'effectue de manière hautement spécifique. Le développement de ces connexions implique l'extension des neurites vers leurs cibles synaptiques et la formation de branchements axonaux permettant la construction de réseaux neuronaux.

#### L'arborisation des axones et des dendrites

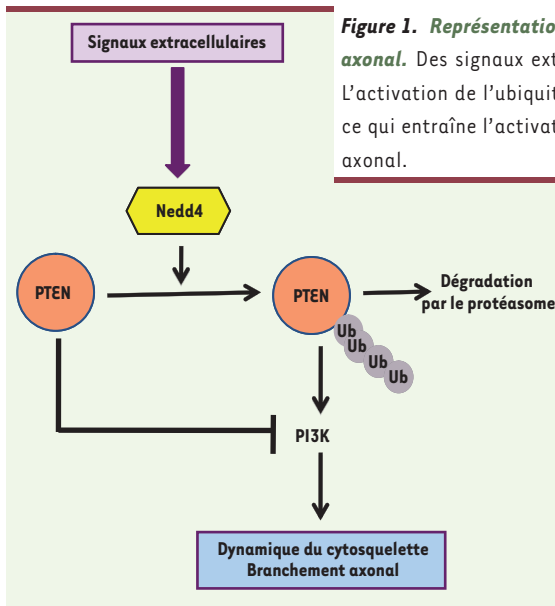
Le processus qui guide les axones vers leur destination finale fait intervenir des molécules de signalisation présentes dans l'environnement qui jouent un rôle

répulsif ou attractif détecté par le cône de croissance, structure motile à l'extrémité de l'axone [1]. Une fois la cible atteinte, l'axone perd son cône de croissance et acquiert une structure terminale branchée dans laquelle vont se former les contacts synaptiques. L'arborisation des axones et des dendrites, qui contrôle à la fois le nombre de partenaires cellulaires établis par un neurone et le nombre de connexions synaptiques avec chaque cible, est une étape déterminante dans le développement des circuits neuronaux [2]. Ce processus est contrôlé par des mécanismes à la fois extrinsèques et intrinsèques. En effet, comme c'était le cas dans le guidage des axones, des molécules de signalisation extracellulaires fournissent des informations spatiales nécessaires au branchement et induisent l'activation de programmes transcriptionnels spécifiques à un type

de cellule et qui contrôlent la structure du branchement. De plus, plusieurs mécanismes de transduction du signal relient les signaux extracellulaires à des voies de signalisation aboutissant au remaniement du cytosquelette impliqué dans la formation du branchement [2].

#### Importance de la dégradation de protéines ubiquitinylées dans le développement neuronal

Au cours de ces dix dernières années, il est apparu que l'un des mécanismes utilisés pour réguler le développement des circuits neuronaux est la dégradation des protéines par la voie ubiquitine/protéasome (UPS) [3, 13]. Ce mécanisme fait intervenir le marquage des protéines destinées à la dégradation par des chaînes de poly-ubiquitine grâce à l'action concertée de plusieurs enzymes telles que l'enzyme d'activation



**Figure 1. Représentation schématique de l'implication du couple Nedd4/PTEN dans le branchement axonal.** Des signaux extracellulaires régulent la formation du branchement axonal par le système UPS. L'activation de l'ubiquitine ligase Nedd4 induit la dégradation de son substrat PTEN par le protéasome, ce qui entraîne l'activation de la voie de signalisation PI3K et, en conséquence, favorise le branchement axonal.

de l'ubiquitine (E1), l'enzyme de conjugaison de l'ubiquitine (E2) et une ubiquitine ligase (E3). Les protéines ainsi marquées sont reconnues par le protéasome 26S et dégradées [4]. Nedd4 (*neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4*) appartient à la famille des ubiquitines ligases E3 qui possèdent un domaine HECT (*homologous to E6-AP carboxy terminus*). Ces ligases sont composées d'un domaine amino-terminal C2 de liaison aux phospholipides régulant leur localisation intracellulaire, un domaine WW impliqué dans les interactions protéines-protéines et un domaine carboxy-terminal HECT, partie catalytique de l'enzyme qui lie l'ubiquitine au substrat [5]. Chez les invertébrés, Nedd4 est impliquée dans de nombreux processus de développement neuronal : guidage axonal, synaptogenèse et formation de la jonction neuromusculaire [6-9]. Cependant, bien que la protéine soit fortement exprimée dans les neurones de mammifères, sa fonction dans la formation des connexions neuronales reste encore largement inexplorée.

### Rôle central de l'ubiquitine ligase Nedd4

L'implication du système UPS dans le guidage des cônes de croissance des

cellules ganglionnaires rétiniennes (CGR) de Xénope en réponse à des molécules de signalisation extracellulaires telles que la nétrine [14] a d'abord été démontrée par D.S. Campbell et C.E. Holt [10]. J. Drinjakovic *et al.*, dans la même équipe, ont ensuite étudié le rôle *in vivo* du système UPS et de la ligase Nedd4 dans le développement des connexions neuronales [11]. Dans ce travail, nous avons démontré le rôle du système UPS dans le guidage et le branchement des axones *in vivo* par électroporation d'un mutant dominant négatif de l'ubiquitine dans les CGR d'embryons de xénope. L'introduction de ce dominant négatif ne perturbe pas le mécanisme qui guide les axones de la rétine vers leur destination, le tectum. Cependant, une fois la cible des axones atteinte, leur branchement ne se fait plus correctement et ceux-ci gardent leur structure de cône de croissance. Le rôle de la ligase Nedd4 dans la fonction du système UPS dans le branchement axonal a été ensuite recherché. Nous avons montré que Nedd4 est exprimée dans les axones des CGR et que l'inhibition de sa fonction *in vivo* par injection d'un dominant négatif ou d'un morpholino induit des défauts importants de branchement des axones, défauts similaires à ceux observés avec le dominant négatif de l'ubiquitine.

Le substrat de Nedd4 impliqué dans la formation du branchement axonal a de plus été identifié. Nedd4 interagit avec la phosphatase de PIP3 (phosphatidylinositol 3, 4, 5 triphosphate) nommée PTEN (*phosphatase and tensin homolog*

*deleted on chromosome 10*). C'est un substrat connu de Nedd4 qui en contrôle le niveau d'expression dans les axones des CGR. PTEN est un régulateur négatif de la voie de signalisation PI3K (phosphatidylinositol 3 kinase) impliquée dans la dynamique du cytosquelette neuronal et le processus qui guide les axones. Une observation-clé est que la surexpression de PTEN inhibe le branchement axonal des CGR, mimant le phénotype observé lorsque Nedd4 est inhibée, tandis que son inhibition restaure le branchement axonal. Enfin, le traitement des CGR par la nétrine induit la rétraction des cônes de croissance rétiniens de façon dépendante du système UPS et provoque une diminution rapide de l'expression de PTEN.

L'ensemble de ces résultats conduit au modèle suivant : la nétrine exprimée dans le tectum pourrait induire au niveau du cône de croissance la dégradation de PTEN *via* la ligase Nedd4. La voie de signalisation PI3K serait ainsi activée, ce qui enclencherait la réorganisation du cytosquelette et permettrait la formation du branchement axonal (Figure 1). Parallèlement à cette étude, le travail de H. Kawabe *et al.* a montré que l'enzyme Nedd4 est aussi impliquée dans le branchement dendritique *via* la dégradation d'un autre substrat, la protéine GTPase Rap2A [12]. Ces résultats démontrent le rôle central de la ligase Nedd4 dans le développement des branchements neuritiques et ouvrent de nouvelles perspectives quant à la spécificité cellulaire des couples ligases/substrats dans le développement des connexions neuronales. ♦

### Nedd4/PTEN in axonal branching

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Guan KL, Rao Y. Signalling mechanisms mediating neuronal responses to guidance cues. *Nat Rev* 2003 ; 4 : 941-56.
2. Parrish JZ, Emoto K, Kim MD, Jan YN. Mechanisms that regulate establishment, maintenance, and remodeling of dendritic fields. *Annu Rev Neurosci* 2007 ; 30 : 399-423.
3. Yi JJ, Ehlers MD. Emerging roles for ubiquitin and protein degradation in neuronal function. *Pharmacol Rev* 2007 ; 59 : 14-39.
4. Glickman MH, Adir N. The proteasome and the delicate balance between destruction and rescue. *PLoS Biol* 2004 ; 2 : E13.
5. Rotin D, Kumar S. Physiological functions of the HECT family of ubiquitin ligases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009 ; 10 : 398-409.
6. Kumar S, Tomooka Y, Noda M. Identification of a set of genes with developmentally down-regulated expression in the mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1992 ; 185 : 1155-61.
7. Myat A, Henry P, McCabe V, et al. Drosophila Nedd4, a ubiquitin ligase, is recruited by Commissureless to control cell surface levels of the roundabout receptor. *Neuron* 2002 ; 35 : 447-59.
8. Schmitz C, Kinge P, Hutter H. Axon guidance genes identified in a large-scale RNAi screen using the RNAi-hypersensitive *Caenorhabditis elegans* strain *nre-1(hd20) lin-15b(hd126)*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 834-9.
9. Sieburth D, Ch'ng Q, Dybbs M, et al. Systematic analysis of genes required for synapse structure and function. *Nature* 2005 ; 436 : 510-7.
10. Campbell DS, Holt CE. Chemotropic responses of retinal growth cones mediated by rapid local protein synthesis and degradation. *Neuron* 2001 ; 32 : 1013-26.
11. Drinjakovic J, Jung H, Campbell DS, et al. E3 ligase Nedd4 promotes axon branching by downregulating PTEN. *Neuron* 2010 ; 65 : 341-57.
12. Kawabe H, Neeb A, Dimova K, et al. Regulation of Rap2A by the ubiquitin ligase Nedd4-1 controls neurite development. *Neuron* 2010 ; 65 : 358-72.
13. Andermarcher E, Bossis G, Farras R, et al. La dégradation protéasomique. De l'adressage des protéines aux nouvelles perspectives thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 141-9.
14. Mehlen P, Rama N. Nétrine-1 et guidage axonal : signalisation et traduction asymétrique. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 311-5



# Promega Tour 2010

## L'Analyse cellulaire et la Bioluminescence

A partir d'avril 2010 : Bordeaux / Grenoble / IDF / Lille / Lyon / Marseille  
Montpellier / Nantes / Nice / Paris / Rennes / Strasbourg / Toulouse

**15 Réunions Scientifiques gratuites organisées dans toute la France sur la Bioluminescence et l'Analyse cellulaire *in Vivo* et *in Vitro***

Des moments d'échanges et de découvertes entre chercheurs à travers des présentations de nombreuses applications *in Vivo* et *in Vitro* de la Luciférase. Notre objectif : vous présenter l'état de l'art des techniques en gènes rapporteurs, en viabilité cellulaire et en apoptose pour maîtriser toutes les possibilités qu'offrent ces méthodes. Ces réunions scientifiques sont gratuites et se déroulent sur moins d'une demi-journée.

N'hésitez pas à vous renseigner auprès de votre délégué scientifique ou en téléphonant au **0 800 487 999** ou sur **[www.promega.com/fr](http://www.promega.com/fr)**

GloMax-MultiPlus  
Detection System

Promega