

1. Yarden Y, Sliwkowski MK. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2 : 127-37.
2. Ni CY, Murphy MP, Golde DE, Carpenter G.  $\gamma$ -secretase cleavage and nuclear localization of ErbB-4 receptor tyrosine kinase. *Science* 2001; 294 : 2179-81.
3. Lin SY, Makino K, Xia W, et al. Nuclear localization of EGF receptor and its potential new role as a transcription factor. *Nat Cell Biol* 2001; 3 : 802-8.
4. De Strooper B, Annaert W. Proteolytic processing and cell biological functions of the amyloid precursor protein. *J Cell Sci* 2000; 113 : 1857-70.
5. Weinmaster G. Notch signal transduction: a real Rip and more. *Curr Opin Genet Dev* 2000; 10 : 363-9.
6. Okamoto I, Kawano Y, Murakami D, et al. Proteolytic release of CD44 intracellular domain and its role in the CD44 signaling pathway. *J Cell Biol* 2000; 155 : 755-62.
7. De Strooper B, Annaert W. Presenilins and the intramembrane proteolysis: facts and fiction. *Nat Cell Biol* 2000; 3 : E221-5.
8. Brown MS, Ye J, Rawson RB, Goldstein JL. Regulated intramembrane proteolysis: a control mechanism conserved from bacteria to humans. *Cell* 2000; 100 : 391-8.
9. Cao X, Sudhoff TC. A transcriptionally active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase Tip60. *Science* 2001; 293 : 115-20.
10. Wesley CS, Saez L. Notch responds differently to Delta and Wingless in cultured *Drosophila* cells. *J Biol Chem* 2000; 275 : 9099-101.

## NOUVELLE

### A la recherche d'inhibiteurs de N-WASP

Christophe Le Clainche

Dynamique du cytosquelette, LEBS, Cnrs  
UPR 9063,  
Gif-sur-Yvette, France.  
[Christophe.LeClainche@lebs.cnrs-gif.fr](mailto:Christophe.LeClainche@lebs.cnrs-gif.fr)

> Une cellule n'est jamais immobile, elle se déplace et change de forme. On sait depuis longtemps que le cytosquelette d'actine joue un rôle majeur dans ces processus dynamiques. Ce qui excite maintenant la curiosité des biologistes, c'est de comprendre comment la signalisation contrôle la dynamique du cytosquelette d'actine. Un grand pas a été franchi avec la découverte des protéines de la famille WASP (*Wiskott Aldrich syndrome protein*). Ces protéines fonctionnent comme des centres d'intégration vers lesquels convergent les signaux activateurs comme le phosphoinositide PIP<sub>2</sub>, les protéines Grb2 et Nck liées aux récepteurs à activité tyrosine kinase ou la petite protéine G Cdc42. Ces activateurs déplacent l'équilibre conformationnel des protéines WASP de la forme fermée inactive vers la forme ouverte active. L'ouverture de la protéine WASP démasque un domaine appelé VCA (Verproline-Cofiline-Acide), qui fixe et active le complexe Arp2/3 dont la fonction est de multiplier les filaments d'actine en créant des branches (*Figure 1*) (pour revue, voir [1]). Ces récentes découvertes ont accéléré la

mise au point de nouvelles approches. Alors que les techniques de vidéo-microscopie se développaient à grands pas, on ne voyait pourtant pas apparaître de nouvelles molécules adaptées à l'étude de phénomènes aussi transitoires que le remodelage du cytosquelette d'actine. Les petites molécules sont des outils précieux pour l'étude de phénomènes dynamiques dans des cellules en culture quand elles sont capables de traverser les membranes et d'agir instantanément. Depuis longtemps, des molécules comme la cytochalasine D, qui inhibe la polymérisation de l'actine, font merveille pour ce type d'étude. Malheureusement, ces molécules sont rares car ce sont souvent des composés naturels. Aujourd'hui, la synthèse de banques de peptides par chimie combinatoire offre un réservoir illimité de molécules dans lequel les biologistes peuvent puiser pour trouver de nouvelles drogues. C'est cette approche que le groupe de Kirschner a utilisé pour rechercher des peptides synthétiques capables d'inhiber spécifiquement l'assemblage des filaments d'actine branchés induit par la voie PIP<sub>2</sub> [2]. Cette équipe a mis au point un test

dans lequel des liposomes sont incubés avec de l'actine marquée à la rhodamine et un extrait d'œuf de xénope qui contient notamment Cdc42, N-WASP et Arp2/3. Ils observent alors l'assemblage de l'actine, induit par la voie PIP<sub>2</sub> à la surface des liposomes, grâce à la fluorescence de la rhodamine. Ce test leur a permis de cribler des banques combinatoires de peptides cycliques. Les peptides cycliques sont plus rigides que les peptides linéaires, cela augmente leur affinité pour la cible en diminuant le coût énergétique de leur fixation. Parmi les composés testés, les auteurs ont identifié un peptide appelé 187-1 qui inhibe complètement la polymérisation de l'actine induite par PIP<sub>2</sub>. L'étude approfondie du mécanisme d'inhibition montre que ce peptide se fixe à N-WASP et stabilise sa conformation inactive (*Figure 1*). La conformation inactive de N-WASP fait intervenir une interaction intramoléculaire entre deux domaines de N-WASP pour masquer le domaine VCA qui active Arp2/3. La nature des domaines de N-WASP qui interagissent est actuellement discutée. Il a été proposé que le domaine qui fixe Cdc42 (GBD) interagit avec le



domaine acide (A) ou le domaine cofiline (C) de VCA [3-5]. La structure cristalline de N-WASP sous la forme fermée inactive devrait clore le débat. Cependant, il est difficile de cristalliser une protéine en équilibre conformationnel. La structure du complexe N-WASP/187-1 dans lequel N-WASP est bloqué en conformation inactive devrait y remédier.

La caractéristique principale des protéines WASP est de contenir plusieurs domaines cibles pour différentes voies de signalisation. Il serait donc tentant de rechercher des peptides qui inhibent spécifiquement chaque domaine de N-WASP. On disposerait alors d'outils capables de bloquer le branchement des filaments d'actine par une voie de signalisation donnée sans affecter les autres effecteurs de ces voies. Pour cela, il est nécessaire de prédéfinir la cible d'un peptide. Grâce à des logiciels informatiques, il est actuellement possible de modéliser la structure d'un peptide en fonction de sa séquence et de tester son interaction avec un motif structural donné. On peut ainsi obtenir une séquence peptidique où des acides aminés sont déjà déterminés et à partir de

laquelle on peut dériver de nombreux peptides par synthèse combinatoire. La structure complète de N-WASP n'est pas encore résolue, mais il est possible de s'appuyer sur les structures du domaine GBD de WASP qui forment un complexe avec Cdc42 [6] ou VCA [7].

L'utilisation de peptides en recherche clinique est parfois limitée par la solubilité, la perméabilité aux membranes et la sensibilité à la protéolyse.

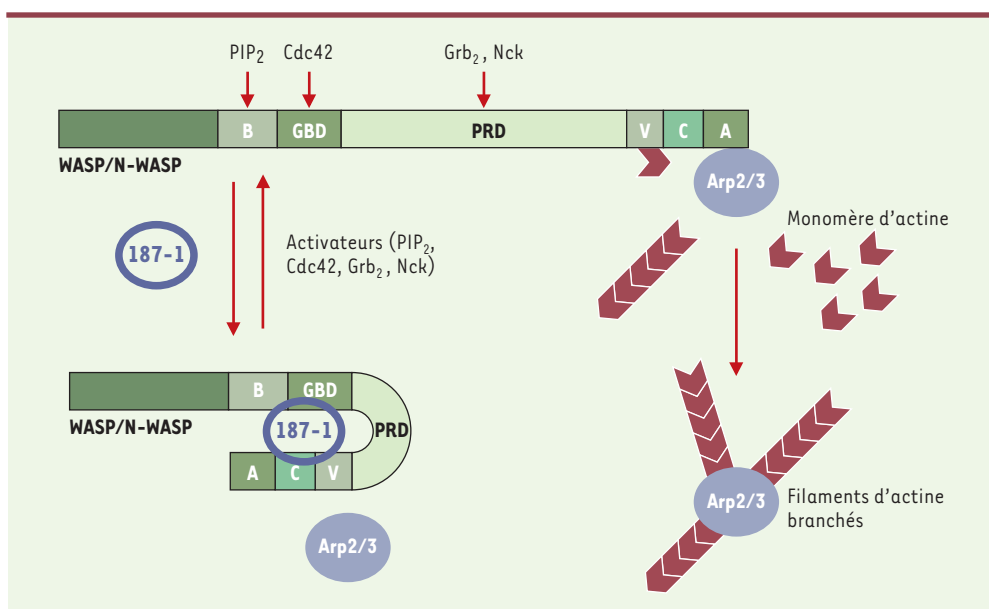
Cependant, les applications thérapeutiques de peptides inhibiteurs de N-WASP sont réelles. La bactérie *Shigella flexneri* exprime la protéine IcsA pour recruter la protéine N-WASP de son hôte et se propulser dans la cellule grâce à la polymérisation de l'actine [8]. Un peptide qui inhibe spécifiquement l'interaction entre IcsA et N-WASP pourrait être utilisé pour combattre cette infection. L'inhibition totale de N-WASP par sta-

bilisation de la conformation inactive pourrait fournir une solution à une maladie génétique causée par une mutation dans le domaine GBD qui rend N-WASP constitutivement actif [9] (→). **◇**

#### A search for inhibitors of N-WASP

(→) m/s  
2001, n°6-7,  
p. 794

1. Pantaloni D, Le Clainche C, Carlier MF. Mechanism of actin-based motility. *Science* 2001 ; 292 : 1502-6.
2. Peterson JR, Lokey RS, Mitchison TJ, Kirschner MW. A chemical inhibitor of N-WASP reveals a new mechanism for targeting protein interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 10624-9.
3. Rohatgi R, Ho HY, Kirschner MW. Mechanism of N-WASP activation by CDC42 and phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate. *J Cell Biol* 2000 ; 150 : 1299-310.
4. Prehoda KE, Scott JA, Mullins RD, Lim WA. Integration of multiple signals through cooperative regulation of the N-WASP-Arp2/3 complex. *Science* 2000 ; 290 : 801-6.
5. Suetsugu S, Miki H, Takenawa T. Identification of another actin-related protein (Arp) 2/3 complex binding site in neural Wiskott-Aldrich syndrome protein (N-WASP) that complements actin polymerization induced by the Arp2/3 complex activating (VCA) domain of N-WASP. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 33175-80.
6. Abdul-Manan N, Aghazadeh B, Liu GA, et al. Structure of Cdc42 in complex with the GTPase-binding domain of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Nature* 1999 ; 399 : 379-83.
7. Kim AS, Kakalis LT, Abdul-Manan N, Liu GA, Rosen MK. Autoinhibition and activation mechanisms of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Nature* 2000 ; 404 : 151-8.
8. Egile C, Loisel TP, Laurent V, et al. Activation of the CDC42 effector N-WASP by the *Shigella flexneri* IcsA protein promotes actin nucleation by Arp2/3 complex and bacterial actin-based motility. *J Cell Biol* 1999 ; 146 : 1319-32.
9. Devriendt K, Kim AS, Mathijs G, et al. Constitutively activating mutation in WASP causes X-linked severe congenital neutropenia. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 313-7.



**Figure 1. Mécanisme d'inhibition de N-WASP par le peptide 187-1.** PIP<sub>2</sub>, Cdc42, Grb<sub>2</sub> ou Nck se fixent respectivement au domaine basique (B), au domaine de fixation des protéines G (GBD) et au domaine riche en proline (PRD) de N-WASP pour stabiliser sa forme ouverte active. 187-1 stabilise la forme fermée dans laquelle le domaine Verproline-Cofiline-Acide (VCA) de N-WASP ne peut activer le complexe Arp2/3 pour brancher des filaments d'actine.

