



HAL
open science

Pep-1 transporte des protéines dans les cellules de mammifères

May C Morris, Frédéric Heitz, Gilles Divita

► **To cite this version:**

May C Morris, Frédéric Heitz, Gilles Divita. Pep-1 transporte des protéines dans les cellules de mammifères. Médecine/Sciences, 2002, 18 (6-7), pp.672-674. 10.1051/medsci/20021867672. hal-03129164

HAL Id: hal-03129164

<https://hal.umontpellier.fr/hal-03129164>

Submitted on 17 Mar 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/270776202>

Pep-1 transporte des protéines dans les cellules de mammifères

Article in *Medecine sciences: M/S* - June 2002

DOI: 10.1051/medsci/20021867672

CITATIONS

0

READS

18

3 authors, including:



May Morris

Université de Montpellier

115 PUBLICATIONS 7,695 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Gilles Divita

DIVINCELL

148 PUBLICATIONS 10,444 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Psoriasis & Cdk-cyclins [View project](#)



Fluorescent Biosensors [View project](#)

thérapeutiques. On peut en effet rappeler que, chez la femme ménopausée, la chute des hormones stéroïdes sexuelles s'accompagne d'une diminution importante des taux de relaxine. Compte tenu de certains symptômes associés à la ménopause tels que la prédisposition au développement de fibroses, les défauts de cicatrisation ou les troubles vasculaires, une hormonothérapie substitutive à base d'agonistes de la relaxine pourrait offrir des perspectives intéressantes. ♦

The receptor for relaxin has finally been identified

RÉFÉRENCES

1. Hisaw FL. Experimental relaxation of the pelvic ligament of the guinea pig. *Proc Soc Exp Biol Med* 1926 ; 23 : 661-3.
2. Schwabe C, McDonald JK. Primary structure of the B-chain of porcine relaxin. *Biochem Biophys Res*

Commun 1977 ; 75 : 503-10.

3. Weiss G, O'Byrne EM, Steinetz BG. Relaxin : a product of the human corpus luteum of pregnancy. *Science* 1976 ; 194 : 948-9.
4. Ivell R, Hunt N, Khan-Dawood F, Dawood MY. Expression of the human relaxin gene in the corpus luteum of the menstrual cycle and in the prostate. *Mol Cell Endocrinol* 1989 ; 66 : 251-5.
5. Sherwood OD. Relaxin. In : *Physiology of reproduction*, 2nd ed. New York : Raven press, 1994 : 861-1009.
6. Tellmann R, Gellersen B. Marker genes of decidualization : activation of the decidual prolactin gene. *Hum Reprod Update* 1998 ; 4 : 472-9.
7. Unemori EN, Erikson ME, Rocco SE, et al. Relaxin stimulates expression of vascular endothelial growth factor in normal human

endometrial cells *in vitro*

and is associated with menometrorrhagia in women. *Hum Reprod* 1999 ; 14 : 800-6.

8. Hsu SY, Nakabayashi K, Nishi S, et al. Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science* 2002 ; 295 : 671-4.
9. Vaudry H, Braun B, Chartrel N. La pharmacologie inverse marque des points : découverte d'un nouveau peptide stimulant la sécrétion de prolactine. *Med Sci* 1998 ; 14 : 1118-20.
10. Vaudry H, Anouar Y, Galas L, Tonon MC, Chartrel N, Llorens-Cortes C. La ghréline, un nouveau neuropeptide stimulant la sécrétion de l'hormone de croissance. *Med Sci* 2000 ; 16 : 555-7.
11. Vaudry H, Coulouarn Y, Lihmann I, et al. Deux neuropeptides orphelins trouvent enfin leur récepteur. *Med Sci* 2000 ; 16 : 426-9.
12. Nef S, Parada LF. Cryptorchidism in mice mutant for INSL3. *Nat Genet* 1999 ; 22 : 295-9.
13. Overbeek PA, Gorlov IP, Sutherland RW, et al. A transgenic insertion causing cryptorchidism in mice. *Genesis* 2001 ; 30 : 26-35.
14. Hsu SY, Kudo M, Chen T, et al. The three subfamilies of leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptors (LGR): identification of LGR6 and LGR7 and the signalling mechanism for LGR7. *Mol Endocrinol* 2000 ; 14 : 1257-71.
15. Osuga Y, Kudo M, Kaipia A, Kobilka B, Hsueh AJ. Derivation of functional antagonists using N-terminal extracellular domain of gonadotropin and thyrotropin receptors. *Mol Endocrinol* 1997 ; 11 : 1659-68.

NOUVELLE

Pep-1 transporte des protéines dans les cellules de mammifères

May Catherine Morris, Frédéric Heitz, Gilles Divita

Centre de Recherche en Biochimie Macromoléculaire (CRBM), Cnrs UPR 1086, 1919, route de Mende, 34293 Montpellier, France. divita@crbm.cnrs-mop.fr

> Au cours des dix dernières années, la recherche dans le domaine de la thérapie génique a été principalement focalisée sur l'amélioration des vecteurs viraux et non viraux pour le transfert de gènes. Toutefois, les formulations proposées pour l'introduction de « transgènes » restent encore limitées en raison de difficultés liées à leur pouvoir immunogène, à leur toxicité et à leur faible efficacité *in vivo*. Face à ces limitations, l'alternative était d'imaginer de nouvelles stratégies qui permettraient le transfert direct de la protéine d'intérêt dans un grand nombre de cellules [1]. Le développement de peptides ou pro-

téines à visée thérapeutique reste limité par la faible perméabilité membranaire et par la présence, à la surface de la cellule, de protéines ou de récepteurs qui contrôlent sélectivement le transport cellulaire de molécules. Récemment, ces restrictions ont été levées par la découverte de petits domaines protéiques, appelés *protein transduction domains* (PTD). Ces derniers, de nature basique, sont capables de traverser les membranes biologiques indépendamment de la présence de transporteurs ou de récepteurs spécifiques à la surface des cellules, et permettent le transfert de peptides ou de protéines dans

les cellules [1, 2]. Les trois domaines PTD qui ont été le mieux caractérisés et utilisés dérivent de la protéine Tat du virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1) [3], de la troisième hélice de l'homéo-domaine d'Antennapedia (Antp) [4], et de la protéine de structure Vp22 du virus de l'herpès simplex [5]. À ce jour, le PTD de la protéine Tat constitue le système le plus efficace pour le transfert des protéines *in vitro* et *in vivo* [6, 7]. Cependant, l'utilisation des vecteurs PTD présente un certain nombre de contraintes réduisant leur exploitation



in vivo. D'une part, cette approche nécessite dans tous les cas la formation d'une protéine de fusion entre la séquence PTD et la protéine d'intérêt. Cette fusion peut être obtenue soit par voie chimique (Antp et Tat), soit par clonage (Vp22 et Tat). D'autre part, leur efficacité pour la transduction de protéines de grande taille reste faible et nécessite une étape de dénaturation de la protéine avant la transduction, introduisant ainsi un délai avant que ne soit restaurée la forme active de la protéine dans la cellule.

Depuis plusieurs années, notre laboratoire travaille au développement d'outils peptidiques facilitant le transport cellulaire d'acides nucléiques, de peptides et de drogues [8, 9]. Récemment nous avons proposé une nouvelle stratégie pour le transfert de protéines dans les cellules, fondée sur un vecteur peptidique unique (Pep-1), permettant de s'affranchir des étapes de couplage et/ou de dénaturation des protéines d'intérêt [10]. Le choix de la

séquence de Pep-1 est fondé sur le criblage d'une série de peptides amphiphatiques ayant la capacité de traverser la membrane plasmique des cellules. Contrairement aux vecteurs PTD, Pep-1 est un peptide amphiphatique primaire de 21 résidus. Il comporte trois domaines : (1) un domaine hydrophobe riche en résidus tryptophane, qui est essentiel pour la formation de complexes stables avec la protéine d'intérêt, par l'intermédiaire de liaisons non covalentes, et pour l'association avec la membrane cellulaire ; (2) un domaine hydrophile riche en résidus lysine qui favorise le transfert cellulaire ; et enfin (3) un court bras peptidique reliant les deux domaines, qui est essentiel pour l'intégrité des propriétés de Pep-1 [10]. Pep-1 piège la protéine d'intérêt dans une cage peptidique, dont le transport cellulaire est uniquement contrôlé par Pep-1 et indépendant des caractéristiques de la protéine d'intérêt. La balance hydrophobe/ hydrophile est nécessaire pour le

mécanisme de translocation membranaire, et l'association du domaine hydrophile avec un ou plusieurs résidus tryptophane du domaine hydrophobe semble cruciale pour le transport de protéines. Pep-1 n'est pas toxique, est stable dans les milieux physiologiques et insensible à la présence de sérum.

Le peptide vecteur (Pep-1) traverse rapidement la membrane plasmique et la majeure partie se localise dans le noyau, suivant un mécanisme d'internalisation indépendant des voies d'endocytose. Pep-1 est capable de former des complexes non covalents stables avec des protéines et des peptides de taille variable (3 kDa à 500 kDa). La caractérisation de ces complexes a permis de mettre en évidence l'existence d'un réseau de Pep-1 autour de la protéine ou du peptide d'intérêt. Cette cage peptidique stabilise le complexe dans un milieu biologique et limite la dégradation de la molécule à vectoriser. L'application de cette technologie à des séries de peptides et de protéines a démontré que les complexes Pep-1/protéine étaient rapidement internalisés (1-2 h), avec une efficacité de l'ordre de 60 à 90 % selon les lignées cellulaires. De plus, la présence de Pep-1 ne perturbe ni la localisation cellulaire de la protéine ni son activité biologique. Le mécanisme de transduction de protéines par Pep-1 comporte plusieurs étapes : la formation d'une cage peptidique autour de la protéine d'intérêt, suivie de son transport rapide à travers la membrane cellulaire et enfin la dissociation du complexe Pep-1/protéine qui intervient immédiatement après son entrée dans la cellule (Figure 1). Nous avons démontré que le mécanisme d'internalisation des complexes Pep-1/protéine était indépendant de l'état du cycle cellulaire, de la présence de récepteurs cellulaires spécifiques et des voies classiques d'endocytose, se rapprochant ainsi des mécanismes proposés pour les PTD [7]. L'utilisation de Pep-1 pour le transfert de protéines permet d'envisager des applications multiples en biologie cellu-

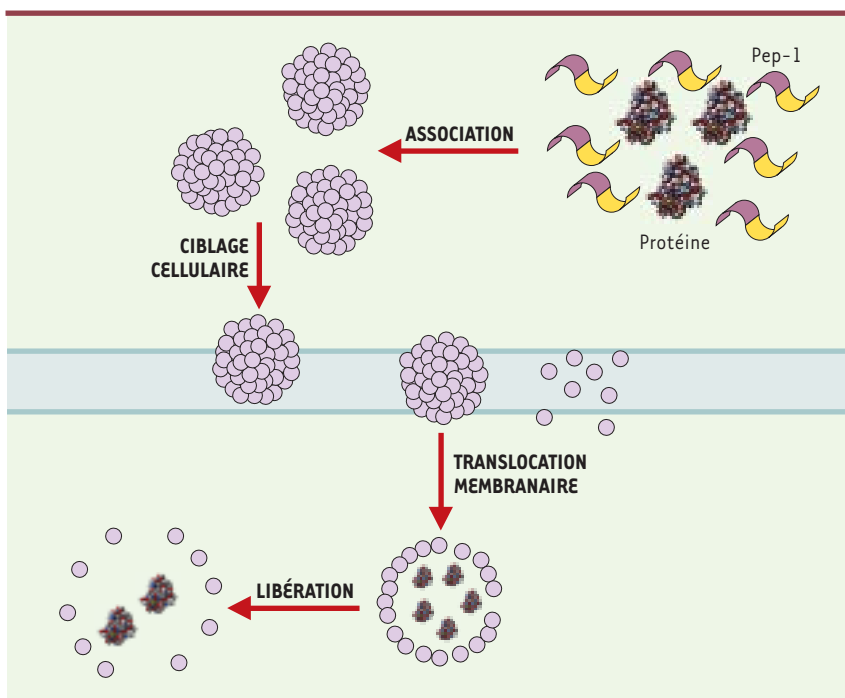


Figure 1. Différentes étapes du mécanisme de transduction de protéines par Pep-1. Le mécanisme de Pep-1 comporte quatre étapes majeures : (1) la formation d'une « cage » peptidique stable autour de la protéine d'intérêt ; (2) l'interaction du complexe Pep-1/protéine avec la membrane cellulaire ; (3) suivie de son internalisation ; et enfin (4) de la libération dans le cytoplasme de la protéine d'intérêt.

laire et en thérapeutique. Nous avons déjà appliqué Pep-1 à la vectorisation d'anticorps ou d'inhibiteurs protéiques contrôlant la progression du cycle cellulaire. Actuellement, nous focalisons notre activité sur l'identification du potentiel d'un tel vecteur *in vivo*.

Les vecteurs peptidiques constituent des outils très prometteurs dans le domaine du transfert de molécules biologiquement actives. Ils sont facilement accessibles par voie de synthèse, ce qui rend possible la conception de multiples analogues. La stratégie mise au point avec le vecteur Pep-1 offre un puissant outil utilisable tant en recherche fondamentale que pour le criblage de protéines et de peptides potentiellement thérapeutiques. Le développement des méthodes facilitant le transfert de protéines présente plusieurs avantages. En particulier, elles permettent d'envisager l'utilisation directe de protéines ou domaines protéiques en thé-

rapeutique sans avoir besoin de recourir à la thérapie génique ou à l'élaboration de drogues, ce qui contournerait les contraintes qui leur sont associées. ♦

Peptidic transport across cell membranes

RÉFÉRENCES

1. Wadia JS, Dowdy SF. Protein transduction technology. *Curr Opin Biotechnol* 2002 ; 13 : 52-6.
2. Schwarze SR, Dowdy SF. *In vivo* protein transduction: intracellular delivery of biologically active proteins, compounds and DNA. *Trends Pharmacol Sci* 2000 ; 21 : 45-8.
3. Frankel AD, Pabo CO. Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus. *Cell* 1998 ; 55 : 1189-93.
4. Prochiantz A. Messenger proteins : homeoproteins, TAT and others. *Curr Opin Cell Biol* 2000 ; 12 : 400-6.
5. Elliott G, O'Hare P. Intercellular trafficking and protein delivery by a Herpesvirus structural protein. *Cell* 1997 ; 88 : 223-33.
6. Schwarze SR, Ho A, Vocero-Akbani A, Dowdy SF. *In vivo* protein transduction: delivery of a biologically active protein into the mouse. *Science* 1999 ; 285 : 1569-72.
7. Lindgren M, Hällbrink M, Prochiantz A, Langel U. Cell-penetrating peptides. *Trends Pharmacol Sci* 2000 ; 21 : 99-103.
8. Morris MC, Vidal P, Chaloin L, Heitz F, Divita G. A new peptide vector for efficient delivery of oligonucleotide into nontransformed mammalian cells. *Nucleic Acids Res* 1997 ; 25 : 2730-6.
9. Morris MC, Chaloin L, Heitz F, Divita G. Translocating peptides and proteins and their use for gene delivery. *Curr Opin Biotechnol* 2000 ; 11 : 461-6.
10. Morris MC, Depollier J, Mery J, Heitz F, Divita G. A peptide carrier for the delivery of biologically active proteins into mammalian cells. *Nat Biotechnol* 2001 ; 19 : 1173-6.

Pensez Imagerie Pensez Bio-Rad

BIO-RAD

Bio-Rad 3, Boulevard Raymond Poincaré • 92430 Marnes-la-Coquette
Tél : 01 47 95 69 65 • Fax : 01 47 95 61 21 • Email : isabelle_dias@bio-rad.com