

# RÉGULATION DE LA PROTÉOLYSE MUSCULAIRE UBIQUITINE-PROTÉASOME-DÉPENDANTE PAR LES HORMONES ET LES NUTRIMENTS

par

D. ATTAIX\*, L. COMBARET\*, D. TAILLANDIER\* et D. BÉCHET\*

## INTRODUCTION

Le système protéolytique ubiquitine-protéasome-dépendant fait intervenir deux étapes distinctes, l'ubiquitination des substrats contrôlée par les enzymes d'ubiquitination, et la dégradation sélective des protéines polyubiquitinées par le protéasome 26S. Cette machinerie complexe est régulée par plusieurs centaines de gènes (au moins cent à deux cents pour le seul système d'ubiquitination et au moins cinquante pour les sous-unités des différentes formes de protéasomes et leurs activateurs ou inhibiteurs). Cette voie de la protéolyse assure des fonctions de « ménage cellulaire » correspondant au renouvellement basal de la majorité des protéines tissulaires à demi-vie courte et longue [1] et à l'élimination des protéines anormales ou produites en excès [2], mais est également impliquée dans de nombreuses fonctions biologiques majeures, directement ou indirectement. Par exemple, elle assure la genèse des peptides antigéniques provenant de l'hydrolyse des protéines virales qui sont présentés sur les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I [3]. Elle joue également un rôle critique dans le contrôle du cycle cellulaire, de la transcription, de l'adressage des protéines, et de la transduction des signaux [4, 5] en dégradant des protéines clef impliquées dans ces voies (par exemple les cyclines mitotiques). Enfin, elle intervient dans la production d'énergie, via la dégradation des protéines musculaires dans de nombreux états pathologiques [6-9]. En effet, les muscles constituent le réservoir majeur des protéines de l'organisme. Lors d'agressions, les protéines musculaires sont mobilisées d'une part pour augmenter la production d'énergie par oxydation directe des acides aminés libérés par la protéolyse, ou via leur entrée dans la néoglucogenèse. D'autre part, les acides aminés d'origine musculaire sont également utilisés pour assurer

\* Centre de Recherche en Nutrition Humaine de Clermont-Ferrand, INRA de Theix, Unité de Nutrition et Métabolisme Protéique, 63122 Ceyrat, France.

la synthèse de protéines spécifiques, comme celle des protéines de la réaction inflammatoire [6].

Cette revue bibliographique est essentiellement focalisée sur la régulation de la protéolyse musculaire ubiquitine-protéasome-dépendante par les hormones et les nutriments.

## LE SYSTÈME D'UBIQUITINATION

### La polyubiquitination cible les substrats protéiques vers la dégradation

L'ubiquitine est une petite protéine (76 acides aminés) dont la séquence est hautement conservée chez les eucaryotes. Elle se fixe de façon covalente aux protéines cibles par une liaison isopeptidique entre le groupement COOH de sa glycine C-terminale, et le groupement  $\epsilon\text{NH}_2$  d'un résidu lysine du substrat. L'ubiquitination des substrats est réalisée par une série de réactions mettant en jeu plusieurs familles d'enzymes [10].

Schématiquement, l'ubiquitine est d'abord activée par l'enzyme activant l'ubiquitine, E1, puis transférée sur l'une des enzymes de conjugaison de l'ubiquitine, E2s ; ces enzymes E2s catalysent la liaison de l'ubiquitine aux substrats protéiques soit directement, soit en présence d'une des ubiquitine protéine ligases, E3s, qui reconnaissent les protéines cibles. Toutes les réactions impliquant des E3s conduisent à la formation de conjugués polyubiquitinés, l'ubiquitine se fixant généralement sur le résidu lysine<sup>48</sup> de l'ubiquitine précédemment liée au substrat.

#### ENZYME ACTIVANT L'UBIQUITINE, E1

Deux isoformes de E1 (110 et 117 kDa) dérivant d'un seul gène existent dans le cytoplasme et le noyau des cellules eucaryotes. Chez la levure, la délétion de E1 est létale malgré l'existence de protéines « E1-like » [11]. E1 active l'ubiquitine en présence d'ATP en formant une liaison thiol ester entre un résidu cystéine de son site catalytique et l'ubiquitine, puis transfère l'ubiquitine activée sur l'une des E2s.

#### ENZYMES CONJUGUANT L'UBIQUITINE, E2S

Ces enzymes forment une superfamille de protéines apparentées ayant un poids moléculaire généralement compris entre 14 et 35 kDa. Il existe quatre classes d'E2s, possédant un domaine catalytique central renfermant également un résidu cystéine critique pour la formation d'une liaison thiol ester avec l'ubiquitine, et des extensions N et/ou C-terminale variables [12]. Onze enzymes E2s existent chez la levure, et les mammifères posséderaient au moins 25 isoformes différentes [13]. Un nombre limité d'enzymes E2s intervient directement dans la formation des signaux de polyubiquitination et donc dans la protéolyse (trois sur onze chez la levure). En effet, il est très important de noter que l'ubiquitination des substrats n'est pas uniquement un signal de dégradation. Il s'agit d'une modification post-traductionnelle dirigeant les protéines vers de multiples fonctions. Les protéines mono-, di- ou tri-ubiquitinées sont généralement des protéines

stables qui ne sont pas dégradées. Le marquage de ces protéines par l'ubiquitine semble servir essentiellement à leur adressage et à la régulation de leur localisation (par exemple l'internalisation de certains récepteurs hormonaux). En fait, seules les protéines conjuguées à au moins 4 molécules d'ubiquitine sont reconnues par le protéasome 26S et dégradées. La formation de ces protéines polyubiquitinées peut être réalisée uniquement en présence de l'enzyme E1 et de l'une des E2s.

#### UBIQUITINE PROTÉINE LIGASES, E3s

Dans leur grande majorité, les protéines polyubiquitinées sont formées en présence de E1, une E2 et une E3 [10]. Certaines E2s interagissent avec plusieurs E3s, et inversement. Un substrat donné peut également être polyubiquitiné par plusieurs combinaisons d'enzymes E2 et E3 différentes. L'intérêt probable de ces combinaisons multiples est de générer plusieurs voies de polyubiquitination d'un substrat particulier susceptibles d'être différentiellement régulées en réponse à des stimuli donnés [5]. De plus, comme les enzymes E3s portent des sites de reconnaissance des substrats [10], la multiplicité de ces combinaisons permet de cibler spécifiquement vers la dégradation un nombre très élevé de protéines différentes. Ce phénomène est encore amplifié par le fait qu'une enzyme E3 donnée peut reconnaître différentes protéines [14].

Les enzymes E3s présentent une très grande hétérogénéité de structure, mais appartiennent à deux classes différentes [10]. La première classe comprend les E3s possédant un domaine HECT (*Homologous to E6-Associated Protein C-Terminus*). Ce domaine d'environ 350 acides aminés dans la région C-terminale des enzymes est nécessaire et suffisant pour la formation d'une liaison thiol ester avec l'ubiquitine. La portion N-terminale des protéines HECT serait impliquée dans la reconnaissance des substrats. Le génome humain code pour au moins 20 enzymes de ce type, qui interagissent avec 2 classes d'enzymes E2s [15]. La deuxième classe correspond aux E3s dites à « RING-finger ». Le motif RING-finger (*Really Interesting New Gene*) est défini par 8 résidus cystéine et/ou histidine coordonnant 4 atomes de zinc [10]. Cette famille comprend quelques protéines monomériques reconnaissant les substrats via la nature de leur acide aminé en position N-terminale (*N-end rule* ou règle de l'extrémité N-terminale [16]). On distingue ainsi E3 $\alpha$  reconnaissant les acides aminés basiques et hydrophobes, et E3 $\beta$  ayant une affinité pour les petits acides aminés apolaires. Les classes les plus vastes d'E3s à RING-finger correspondent à des complexes formés de plusieurs sous-unités. Ceux-ci comprennent le cyclosome ou APC (*Anaphase Promoting Complex*), responsable de l'ubiquitination de protéines régulatrices du cycle cellulaire, les enzymes E3s de type SCF (*Skp1-Cdc53-F-box protein family*), et la famille des VCB-like E3s (*Von Hippel-Lindau tumor suppressor-Elongin C/Elongin B protein family*) [10]. La particularité de ces complexes est de renfermer des protéines adaptatrices interchangeables et spécifiquement responsables de la reconnaissance des substrats [17]. Par exemple, les complexes SCF contiennent des protéines adaptatrices appelées protéines à boîte F (par homologie de séquence avec la cycline F) qui reconnaissent différents substrats via des interactions protéine-protéine telles que des domaines répétés riches en leucine. L'existence de centaines de protéines à boîte F dans les banques de données suggère que de très nombreuses E3s de ce type existent chez les mammifères [17].

## LES PROTÉASOMES

### Le protéasome 20S

Le protéasome 26S dégrade les conjugués polyubiquitinés. Il est constitué d'un cœur catalytique, le protéasome 20S, porteur des activités peptidasiques et protéolytiques, et de deux complexes régulateurs 19S, régulant ces activités [5, 18]. Le protéasome 20S est la protéase neutre la plus abondante connue à l'heure actuelle (environ 1 % des protéines solubles). Il est majoritairement présent dans le cytoplasme et le noyau, mais est également associé au réticulum endoplasmique, où il dégrade les protéines anormales immédiatement après leur biosynthèse. Chaque protéasome 20S est composé de 14 sous-unités différentes assemblées en quatre anneaux comportant chacun 7 sous-unités. Les deux anneaux internes, constitués de sous-unités  $\beta$ , portent les sites actifs responsables des activités protéolytiques et peptidasiques. Les anneaux externes sont formés de sous-unités  $\alpha$  sur lesquelles se lient différents complexes régulateurs du protéasome 20S [5]. Le protéasome 20S a donc une composition moléculaire de type  $\alpha 7\beta 7\beta 7\alpha 7$ . L'empilement de ces anneaux délimite deux antichambres et une chambre catalytique centrale renfermant au moins cinq activités peptidasiques de type trypsine, chymotrypsine et peptidylglutamyl peptide hydrolase, ou clivant préférentiellement les liaisons peptidiques après un acide aminé à chaîne ramifiée ou un petit acide aminé neutre [18]. Le protéasome 20S est donc virtuellement capable d'hydrolyser la plupart des liaisons peptidiques. C'est une protéase auto-compartmentée, car l'assemblage des sous-unités  $\alpha$  en anneau forme un pore central de très faible diamètre. Les anneaux  $\alpha$  constituent une barrière physique limitant l'accès des substrats à la chambre protéolytique délimitée par les anneaux  $\beta$ . Cette architecture complexe prévient tout d'abord l'hydrolyse incontrôlée des protéines intracellulaires. En effet, pour être dégradé le substrat devra être dénaturé avant d'accéder à la chambre catalytique. De plus, le confinement des sites peptidasiques dans un nanocompartiment permet l'hydrolyse rapide des substrats en peptides comprenant entre 3 et 20 acides aminés et donc peu susceptibles de conserver une activité biologique.

### Complexe 19S et protéasome 26S

Le complexe 19S est un activateur ATP-dépendant du protéasome 20S. Il comprend au moins 18 sous-unités polypeptidiques différentes, ATPasiques et non ATPasiques [18] et peut être dissocié en deux sous-complexes appelés le « couvercle » et la « base » [19]. La base du complexe 19S humain contient 3 sous-unités non ATPasiques et 6 sous-unités ATPasiques différentes. Ces dernières fournissent l'énergie nécessaire à l'assemblage du protéasome 20S et des complexes 19S en un protéasome 26S, à l'hydrolyse des conjugués polyubiquitinés en peptides, et à l'ouverture des pores du protéasome 20S délimités par les sous-unités  $\alpha$ . L'hydrolyse de l'ATP servirait également à la destruction de la structure tertiaire des substrats et à leur introduction à l'intérieur de la chambre catalytique du protéasome 20S. Inversement, la base possède une activité de type protéine chaperon, susceptible de rétablir la forme native d'une protéine dénaturée [20]. Le « couvercle » est uniquement formé de sous-unités non ATPasiques dont le rôle précis est encore inconnu. Il est indispensable à la reconnaissance spécifique des chaînes de polyubiquitine [19] et

contient également une activité isopeptidasique permettant d'hydrolyser ces chaînes en ubiquitine libre [18]. Les capacités fonctionnelles du protéasome 26S semblent varier selon le statut physiologique. Par exemple, lors d'atrophies musculaires, l'expression et les teneurs de certaines sous-unités ATPasiques et non ATPasiques du complexe 19S sont profondément modifiées [21, 22]. Ces adaptations contribuent vraisemblablement à l'accélération de la dégradation globale des protéines.

### **Le protéasome 26S reconnaît les protéines polyubiquitinées et dénaturées**

Comme nous l'avons déjà mentionné, le protéasome 26S ne reconnaît que les protéines marquées par une chaîne de polyubiquitine comprenant au moins 4 molécules d'ubiquitine. À l'heure actuelle, seule la sous-unité non ATPasique S5a du complexe 19S a été identifiée comme étant un récepteur spécifique des chaînes de polyubiquitine [23]. D'autres sous-unités doivent cependant être impliquées dans la reconnaissance de ces chaînes car la délétion de cette sous-unité chez la levure n'affecte pas la protéolyse ubiquitine-dépendante [24]. De nombreux travaux visent actuellement à préciser le rôle et la topologie des différentes sous-unités du complexe 19S [25, 26].

Les substrats polyubiquitinés doivent avoir perdu leur conformation native pour être reconnus par le protéasome 26S [27]. La base du complexe 19S et/ou des protéines chaperon extraprotéasomales [27] seraient impliquées dans ces altérations de conformation. Le complexe 19S contient également un ou plusieurs sites responsables de la reconnaissance des protéines mal conformées ou partiellement dénaturées, indépendamment de leur état d'ubiquitination [28].

### **Le protéasome 26S dégrade également des substrats non ubiquitinés et interagit avec d'autres systèmes protéolytiques**

Le protéasome 26S dégrade plusieurs substrats non ubiquitinés comme l'ornithine décarboxylase et I $\kappa$ B $\alpha$ , l'inhibiteur du facteur de transcription NF- $\kappa$ B [5, 29]. Dans le muscle, au moins la troponine C peut être dégradée par le protéasome 26S de façon ubiquitine-indépendante [29].

Le protéasome 26S ne génère que des peptides. Excepté pour ceux présentés sur les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, l'hydrolyse finale de ces peptides en acides aminés fait appel à d'autres protéases fonctionnellement associées aux protéasomes. Ces peptides sont séquentiellement hydrolysés par une protéase géante appelée tripeptidyl peptidase II (TPP II) puis des aminopeptidases [30]. Les protéasomes ne sont donc qu'un maillon d'un système protéolytique beaucoup plus complexe rassemblant plusieurs protéases (protéasomes, TPP II) et aminopeptidases, ainsi que certains cofacteurs (comme des protéines chaperon), aboutissant à l'hydrolyse complète des substrats. À l'inverse, d'autres protéases agiraient en amont des protéasomes musculaires. Il est admis à l'heure actuelle – mais non démontré – que la m-calpaïne, une protéase Ca<sup>2+</sup>-dépendante, pourrait intervenir dans la dissociation des protéines myofibrillaires [31]. Enfin, la cathepsine L, une protéase lysosomale, est systématiquement activée dans de nombreux états cataboliques musculaires et les variations de son expression sont parfaitement corrélées à la protéolyse protéasome-dépendante, ce qui suggère également une relation fonctionnelle entre les deux systèmes [32].

## ADAPTATIONS DU SYSTÈME PROTÉOLYTIQUE UBIQUITINE-PROTÉASOME-DÉPENDANT DANS LE MUSCLE

Les cathepsines et les calpaïnes représentent un faible pourcentage de la protéolyse musculaire (5 à 20 %), et ne semblent pas stimulées dans de nombreux états cataboliques [6, 7] à l'exception de la cathepsine L [32]. De plus et surtout, ces protéases ne dégradent pas directement les protéines contractiles majeures (actine et myosines) [6-9]. À l'inverse, le système protéolytique ubiquitine-protéasome-dépendant est systématiquement activé dans tous les états cataboliques étudiés à ce jour chez l'animal et caractérisés par une perte rapide de protéines (diabète, infections bactériennes, jeûne, cancers, brûlures, atrophies induites par dénervation, conditions simulant l'apesanteur, etc.). En bref, ces états sont caractérisés par une augmentation de la transcription de l'ubiquitine [6-10, 33, 34], une hyperexpression de certaines enzymes E2s (14 kDa E2 [6-10], Ub-E2G, et isoforme 2E de l'enzyme 17 kDa E2 [35]) et E3s (E3 $\alpha$  [36], SCF E3s appelées atrogin-1 [37] et MAFbx (*Muscle Atrophy F-box*) [38] et une E3 à RING-finger appelée MuRF1 (*Muscle RING-Finger 1*) [38]). 14 kDa E2 et E3 $\alpha$  sont impliquées dans l'ubiquitination de protéines musculaires solubles [36]. Les substrats de l'atrogin-1, MAFbx et MuRF1 ne sont pas identifiés, mais des souris « knock-out » pour les enzymes MAFbx ou MuRF1 sont partiellement résistantes aux atrophies musculaires [38]. En accord avec les variations d'expression de l'ubiquitine et des enzymes E2s et E3s précédemment mentionnées, la vitesse d'ubiquitination des protéines solubles est augmentée [36], et les protéines myofibrillaires ubiquitinées s'accumulent dans divers états cataboliques musculaires [6-10, 22].

In vitro, la dégradation de l'actine et des myosines est uniquement bloquée par des inhibiteurs spécifiques du protéasome [39], et associée à une hyperexpression des sous-unités du protéasome 20S [6-10] et de certaines sous-unités du complexe 19S [22, 40] au cours de nombreux états cataboliques étudiés chez les rongeurs. Ces adaptations correspondent à des augmentations de certaines activités des protéasomes musculaires [41, 42]. Chez l'homme, une hyperexpression de quelques sous-unités du protéasome 20S a également été mise en évidence dans des biopsies musculaires de patients atteints de traumatismes crâniens [43], d'infections bactériennes [44] ou de cancers [45]. Cette adaptation n'est cependant pas observée lors de fontes protéiques chroniques lentes et progressives comme les dystrophies musculaires [46], ou le syndrome de Cushing [47].

## RÉGULATION DU SYSTÈME PROTÉOLYTIQUE UBIQUITINE- PROTÉASOME-DÉPENDANT PAR LES HORMONES

### Insuline

L'insuline est classiquement décrite comme une hormone antiprotéolytique dans le muscle squelettique [6, 48]. La transcription de l'ubiquitine et de sous-unités du protéasome 20S [33] et la protéolyse ubiquitine-protéasome-dépendante [33, 49] augmentent dans les muscles de rats ou de lapins diabétiques. Chez le rat, un clamp

hyperinsulinémique et euglycémique diminue l'expression de l'ubiquitine et inhibe la protéolyse protéasome-dépendante dans les muscles de type II (muscles à contraction rapide les plus abondants de l'organisme), mais pas dans les muscles de type I [50]. Cet effet n'est cependant pas corrélé à une réduction du taux des conjugués ubiquitinés. En effet, la teneur intracellulaire en ubiquitine libre n'est pas censée être limitante dans le système [50]. Le clamp hyperinsulinémique n'a aucun effet sur les teneurs en ARNm et en protéines de 14 kDa E2 ou de diverses sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  du protéasome 20S [50]. L'insuline inhiberait la protéolyse musculaire via d'autres mécanismes qui comprennent une altération de l'expression de certaines sous-unités du complexe 19S (qui module les activités peptidasiques du protéasome 20S) [40], des changements de conformation des protéasomes et/ou une inhibition de l'activité de ces particules via l'*insulin-degrading enzyme* [51, 52].

### **Insulin-like growth factor-I**

L'*insulin-like growth factor-I* (IGF-I) est également une hormone antiprotéolytique puissante [6]. Comme pour l'insuline, cet effet est médié par la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) et la p70 S6 kinase (p70S6K), et non pas par la MAP kinase [53]. Les effets de l'IGF-I sur le système musculaire ubiquitine-protéasome-dépendant semblent cependant très limités. En effet, l'IGF-I réduit l'expression de l'ubiquitine et de 14 kDa E2 dans les muscles de rats infectés mais n'affecte pas la protéolyse musculaire [54]. De même, l'IGF-I n'exerce aucun effet dans la suppression de la protéolyse musculaire protéasome-dépendante après un exercice [55]. L'hormone normalise l'expression musculaire de plusieurs enzymes E2s chez des rats traités par un glucocorticoïde, sans qu'un effet sur la protéolyse n'ait été mesuré dans ces conditions [35].

### **Glucocorticoïdes**

À l'inverse de l'insuline et de l'IGF-I, les glucocorticoïdes ont un puissant effet catabolique dans le muscle squelettique [6, 56]. L'administration de dexaméthasone chez l'animal jeune ou adulte induit dans les muscles des animaux traités une hyper-expression de l'ubiquitine, de 14 kDa E2, Ub-E2G et 17 kDa E2, et de plusieurs sous-unités du protéasome 20S [35, 56] ou du complexe 19S (Combaret et Attaix, données non publiées). Une partie de cet effet passe par une voie de transduction impliquant NF- $\kappa$ B [57]. En effet, NF- $\kappa$ B est un répresseur constitutif de la transcription de la sous-unité C3 du protéasome 20S. En présence de glucocorticoïdes cet effet est bloqué, ce qui stimule la transcription de C3 [57].

## **RÉGULATION DE LA PROTÉOLYSE MUSCULAIRE PAR LES NUTRIMENTS**

Le jeûne stimule la protéolyse musculaire lysosomale et ubiquitine-protéasome-dépendante [6, 7]. Les nutriments, dont les acides aminés, semblent avoir également avoir un puissant effet antiprotéolytique musculaire au moins sur la voie lysosomale. In vitro, dans des myotubes C2C12, la leucine, l'isoleucine, la tyrosine,

l'histidine et l'arginine inhibent fortement cette voie de la protéolyse (Tassa et Béchet, données non publiées). Cette régulation passerait par la PI3KIII. In vivo, il semble qu'à la fois l'insuline et les acides aminés n'aient qu'un effet inhibiteur très limité sur la protéolyse musculaire lysosomale et ubiquitine-protéasome-dépendante chez le rat renourri après un jeûne [48, 58].

## CONCLUSION

La voie protéolytique ubiquitine-protéasome-dépendante joue un rôle clef dans la dégradation des protéines musculaires. Cependant, en raison de la complexité du système, de nombreux acteurs appartenant à cette voie dans le muscle squelettique ne sont même pas encore caractérisés. Par exemple, l'existence de plusieurs enzymes E3s spécifiquement exprimées dans les états cataboliques musculaires vient seulement d'être révélée à l'aide des techniques de *differential display* et de *cDNA microarray* [37, 38]. De même, les voies de transduction par lesquelles les hormones et les nutriments contrôlent les activités d'ubiquitination et/ou des protéasomes sont encore très peu explorées. De tels travaux sont cependant indispensables à d'éventuelles manipulations du système, notamment chez des patients cachectiques.

*Remerciements* : Les travaux des auteurs sont financés par l'Association pour la Recherche sur le Cancer, le Conseil Régional d'Auvergne, l'Institut National de la Recherche Agronomique, l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, le Ministère de la Recherche, et Nestlé.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ROCK KL, GRAMM C, ROTHSTEIN L et al. Inhibitors of the proteasome block the degradation of most cell proteins and the generation of peptides presented on MHC class I molecules. *Cell*, 1994, 78 : 761-771.
2. RECHSTEINER M. Natural substrates of the ubiquitin proteolytic pathway. *Cell*, 1991, 66 : 615-618.
3. ROCK KL, GOLDBERG AL. Degradation of cell proteins and the generation of MHC class I-presented peptides. *Annu Rev Immunol*, 1999, 17 : 739-779.
4. PETERS JM, HARRIS JR, FINLEY D. Ubiquitin and the Biology of the Cell. New York, Plenum Press, 1998, 472 pages.
5. ATTAIX D, COMBARET L, POUCH MN, TAILLANDIER D. Regulation of proteolysis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2001, 4 : 45-49.
6. ATTAIX D, TAILLANDIER D. The critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in muscle wasting in comparison to lysosomal and Ca<sup>2+</sup>-dependent systems. In : EE Bittar, AJ Rivett. *Intracellular Protein Degradation*, Greenwich (CT, USA), JAI Press Inc., 1998 : 235-266.
7. LECKER SH, SOLOMON V, MITCH WE, GOLDBERG AL. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Nutr*, 1999, 129 (*IS Suppl*) : 227S-237S.
8. HASSELGREN PO, FISCHER JE. Muscle cachexia : current concepts of intracellular mechanisms and molecular regulation. *Ann Surg*, 2001, 233 : 9-17.

9. JAGOE RT, GOLDBERG AL. What do we really know about the ubiquitin-proteasome pathway in muscle atrophy ? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2001, 4 : 183-190.
10. PICKART CM. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70 : 503-533.
11. HAAS AL, SIEPMANN TJ. Pathways of ubiquitin conjugation. *FASEB J*, 1997, 11 : 1257-1268.
12. SCHEFFNER M, SMITH S, JENTSCH S. The ubiquitin-conjugation system. *In* : JM Peters, JR Harris, D Finley. *Ubiquitin and the Biology of the Cell*, New York, Plenum Press, 1998 : 65-98.
13. WEISSMAN AM. Themes and variations on ubiquitylation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2 : 169-178.
14. MARTI A, WIRBELAUER C, SCHEFFNER M, KREK W. Interaction between ubiquitin-protein ligase SCF5K2 and E2F-1 underlies the regulation of E2F-1 degradation. *Nat Cell Biol*, 1999, 1 : 14-19.
15. SCHWARZ SE, ROSA JL, SCHEFFNER M. Characterization of human HECT domain family members and their interaction with UbcH5 and UbcH7. *J Biol Chem*, 1998, 273 : 12148-12154.
16. VARSHAVSKY A. The N-end rule : functions, mysteries, uses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93 : 12142-12149.
17. TYERS M, WILLEMS AR. One ring to rule a superfamily of E3 ubiquitin ligases. *Science*, 1999, 284 : 601-604.
18. VOGES D, ZWICKL P, BAUMEISTER W. The 26S proteasome : a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annu Rev Biochem*, 1999, 68 : 1015-1068.
19. GLICKMAN MH, RUBIN DM, COUX O et al. A subcomplex of the proteasome regulatory particle required for ubiquitin-conjugate degradation and related to the COP9-signalosome and eIF3. *Cell*, 1998, 94 : 615-623.
20. BRAUN BC, GLICKMAN M, KRAFT R et al. The base of the proteasome regulatory particle exhibits chaperone-like activity. *Nat Cell Biol*, 1999, 1 : 221-226.
21. DAWSON SP, ARNOLD JE, MAYER NJ et al. Developmental changes of the 26S proteasome in abdominal intersegmental muscles of *Manduca sexta* during programmed cell death. *J Biol Chem*, 1995, 270 : 1850-1858.
22. COMBARET L, TILIGNAC T, CLAUSTRE A et al. Torbafylline (HWA 448) inhibits enhanced skeletal muscle ubiquitin-proteasome-dependent proteolysis in cancer and septic rats. *Biochem J*, 2002, 361 : 185-192.
23. YOUNG P, DEVERAUX Q, BEAL RE et al. Characterization of two polyubiquitin binding sites in the 26S protease subunit 5a. *J Biol Chem*, 1998, 273 : 5461-5467.
24. VAN NOCKER S, SADIS S, RUBIN DM et al. The multiubiquitin-chain-binding protein Mub1 is a component of the 26S proteasome in *Saccharomyces cerevisiae* and plays a nonessential, substrate-specific role in protein turnover. *Mol Cell Biol*, 1996, 11 : 6020-6028.
25. GORBEA C, TAILLANDIER D, RECHSTEINER M. Mapping subunit contacts in the regulatory complex of the 26S proteasome. S2 and S5b form a tetramer with ATPase subunits S4 and S7. *J Biol Chem*, 2000, 275 : 875-882.
26. KOHLER A, CASCIO P, LEGGETT DS et al. The axial channel of the proteasome core particle is gated by the Rpt2 ATPase and controls both substrate entry and product release. *Mol Cell*, 2001, 7 : 1143-1152.
27. THROWER JS, HOFFMAN L, RECHSTEINER M, PICKART CM. Recognition of the polyubiquitin proteolytic signal. *EMBO J*, 2000, 19 : 94-102.
28. STRICKLAND E, HAKALA K, THOMAS PJ, DEMARTINO GN. Recognition of misfolding proteins by PA700, the regulatory subcomplex of the 26S proteasome. *J Biol Chem*, 2000, 275 : 5565-5572.
29. BENAROUJI N, TARCSA E, CASCIO P, GOLDBERG AL. The unfolding of substrates and ubiquitin-independent protein degradation by proteasomes. *Biochimie*, 2001, 83 : 311-318.
30. HASSELGREN PO, WRAY C, MAMMEN J. Molecular regulation of muscle cachexia : it may be more than the proteasome. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290 : 1-10.
31. HUANG J, FORSBERG NE. Role of calpain in skeletal-muscle protein degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95 : 12100-12105.
32. DEVAL C, MORDIER S, OBLED C et al. Identification of cathepsin L as a differentially-expressed message associated with skeletal muscle wasting. *Biochem J*, 2001, 360 : 143-150.
33. PRICE SR, BAILEY JL, WANG X et al. Muscle wasting in insulinopenic rats results from activation of the ATP-dependent, ubiquitin-proteasome proteolytic pathway by a mechanism including gene transcription. *J Clin Invest*, 1996, 98 : 1703-1708.

34. BAILEY JL, WANG X, ENGLAND BK et al. The acidosis of chronic renal failure activates muscle proteolysis in rats by augmenting transcription of genes encoding proteins of the ATP-dependent ubiquitin-proteasome pathway. *J Clin Invest*, 1996, *97* : 1447-1453.
35. CHRYSIS D, UNDERWOOD LE. Regulation of components of the ubiquitin system by insulin-like growth factor I and growth hormone in skeletal muscle of rats made catabolic with dexamethasone. *Endocrinology*, 1999, *140* : 5635-5641.
36. LECKER SH, SOLOMON V, PRICE SR et al. Ubiquitin conjugation by the N-end rule pathway and mRNAs for its components increase in muscles of diabetic rats. *J Clin Invest*, 1999, *104* : 1411-1420.
37. GOMES MD, LECKER SH, JAGOE RT et al. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, *98* : 14440-14445.
38. BODINE SC, LATRES E, BAUMHUETER S et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*, 2001, *294* : 1704-1708.
39. HOBLER SC, TIAO G, FISCHER JE et al. Sepsis-induced increase in muscle proteolysis is blocked by specific proteasome inhibitors. *Am J Physiol*, 1998, *274* : R30-R37.
40. ATTAIX D, TAILLANDIER D, COMBARET L et al. Expression of subunits of the 19S complex and of the PA28 activator in rat skeletal muscle. *Mol Biol Rep*, 1997, *24* : 95-98.
41. HOBLER SC, WILLIAMS A, FISCHER D et al. Activity and expression of the 20S proteasome are increased in skeletal muscle during sepsis. *Am J Physiol*, 1999, *277* : R434-R440.
42. FANG CH, LI BG, FISCHER DR et al. Burn injury upregulates the activity and gene expression of the 20 S proteasome in rat skeletal muscle. *Clin Sci (Lond)*, 2000, *99* : 181-187.
43. MANSOOR O, BEAUFRÈRE B, BOIRIE Y et al. Increased mRNA levels for components of the lysosomal, Ca<sup>2+</sup>-activated and ATP-ubiquitin-dependent proteolytic pathways in skeletal muscle from head trauma patients. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, *93* : 2714-2718.
44. TIAO G, HOBLER S, WANG JJ et al. Sepsis is associated with increased mRNAs of the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway in human skeletal muscle. *J Clin Invest*, 1997, *99* : 163-168.
45. BOSSOLA M, MUSCARITOLI M, COSTELLI P et al. Increased muscle ubiquitin mRNA levels in gastric cancer patients. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, *280* : R1518-R1523.
46. COMBARET L, TAILLANDIER D, VOISIN L et al. No alteration in gene expression of components of the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway in dystrophin deficient muscles. *FEBS Lett*, 1996, *393* : 292-296.
47. RALLIÈRE C, TAVERON I, TAILLANDIER D et al. Glucocorticoids do not regulate the expression of proteolytic genes in skeletal muscle from Cushing's syndrome patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, *82* : 3161-3164.
48. COMBARET L, TAILLANDIER D, ATTAIX D. Nutritional and hormonal control of protein breakdown. *Am J Kidney Dis*, 2001, *37* (Suppl 2) : S108-S111.
49. GALBAN VD, EVANGELISTA EA, MIGLIORINI RH, KETTELHUT IC. Role of the ubiquitin-proteasome-dependent proteolytic process in degradation of muscle protein from diabetic rabbits. *Mol Cell Biochem*, 2001, *225* : 35-41.
50. LARBAUD D, BALAGE M, TAILLANDIER D et al. Differential regulation of the lysosomal, Ca<sup>2+</sup>-dependent and ubiquitin/proteasome-dependent proteolytic pathways in fast-twitch and slow-twitch rat muscle following hyperinsulinaemia. *Clin Sci (Lond)*, 2001, *101* : 551-558.
51. HAMEL FG, BENNETT RG, DUCKWORTH WC. Regulation of multicatalytic enzyme activity by insulin and the insulin-degrading enzyme. *Endocrinology*, 1998, *139* : 4061-4066.
52. DUCKWORTH WC, BENNETT RG, HAMEL FG. Insulin acts intracellularly on proteasomes through insulin-degrading enzyme. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, *244* : 390-394.
53. DARDEVET D, SORNET C, VARY T, GRIZARD J. Phosphatidylinositol 3-kinase and p70 S6 kinase participate in the regulation of protein turnover in skeletal muscle by insulin and insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, 1996, *137* : 4087-4094.
54. FANG CH, LI BG, SUN X, HASSELGREN PO. Insulin-like growth factor I reduces ubiquitin and ubiquitin-conjugating enzyme gene expression but does not inhibit muscle proteolysis in septic rats. *Endocrinology*, 2000, *141* : 2743-2751.
55. KEE AJ, TAYLOR AJ, CARLSSON AR. Exogenous IGF-I has no effect on post-exercise suppression of ubiquitin-proteasome dependent proteolysis in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 2002 (sous presse).

- 
56. DARDEVET D, SORNET C, TAILLANDIER D et al. Sensitivity and protein turnover response to glucorticoids are different in skeletal muscle from adult and old rats. Lack of regulation of the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway in aging. *J Clin Invest*, 1995, 96 : 2113-2119.
  57. DU J, MITCH WE, WANG X, PRICE SR. Glucocorticoids induce proteasome C3 subunit expression in L6 muscle cells by opposing the suppression of its transcription by NFkB. *J Biol Chem*, 2000, 275 : 19661-19666.
  58. KEE AJ, TILIGNAC T, COMBARET L et al. Ubiquitin-proteasome-dependent skeletal muscle proteolysis responds poorly and slowly to insulin release and refeeding following nutrient deprivation. (soumis à publication), 2002.