

INTRODUCTION

AAA proteins: movers and shakers

The 8th International conference on AAA proteins (<http://www.utoronto.ca/aaaplus/>) was held at the Kingbridge Centre near Toronto 12–16 July 2009. The conference was a great success, with almost 100 leading researchers from around the world including Australia, Austria, Canada, France, Germany, Grenada, Israel, Italy, Japan, Mexico, Switzerland, the United Kingdom, and the United States. This meeting has traditionally provided an international forum for researchers interested in understanding the structure, molecular mechanisms, physiological function, and role of AAA proteins in human diseases.

It was in the early 1990s when the importance of the AAA protein superfamily was recognized, and the first international meeting was held in 1995 in Gif-sur-Yvette, France. The International Conference on AAA Proteins is now a regular biennial conference that rotates between Europe, Japan, and North America:

1. 1995, Gif-sur-Yvette, France – organized by F. Confalonieri, D. Duguet, and K.-U. Frölich
2. 1997, Tutzing, Germany – organized by H. Feldmann, T. Langer, and A. Lupas
3. 1999, La Jolla, California – organized by M. Latterich and S. Subramani
4. 2001, Kyoto, Japan – organized by K. Ito and T. Ogura
5. 2003, Warrenton, Virginia – organized by M.R. Maurizi and A.C. Steven
6. 2005, Graz, Austria – organized by K.-U. Frölich and H. Bergler
7. 2007, Cirencester, UK – organized by R.J. Mayer and P. Freemont
8. 2009, Toronto, Ontario – organized by W.A. Houry and J. Ortega

Today, more than 24 000 sequences from all forms of life containing an AAA domain can be found in the Pfam database. These proteins are a group of ATPases that carry out a wide variety of functions essential to cell physiology, including control of DNA replication, recombination, chromatin remodeling, ribosomal RNA processing, molecular targeting, organelle biogenesis, and membrane fusion. Furthermore, AAA proteins also power bacterial secretion systems and are part of ATP-dependent proteolytic machines of prokaryotes and eukaryotes that play a major role in protein quality control.

The AAA superfamily's defining features are the structurally conserved Walker A and Walker B motifs responsible for nucleotide binding and hydrolysis, and an oligomeric structure with subunits arranged into hexameric, sometimes heptameric, rings. The Walker A and Walker B motifs act as the engine for the motor that produces energy from ATP hydrolysis. The motor module is attached to other protein domains acting as tool heads that interact with substrates either directly or through adaptor molecules. These tool head domains convert the energy from ATP hydrolysis into a specialized motion required for a particular activity.

There has been substantial progress in identifying the structure and cellular function of a large number of AAA proteins. However, little is known of the unique features underlying the mechano-chemical coupling mechanism used to apply

forces to various substrates. Many of the presentations at this year's meeting aimed at addressing this very issue.

There were 12 oral sessions and 1 poster session. Having 47 speakers and 32 poster presenters set the stage for a very busy, dynamic, and interactive conference. Since presentations at the meeting remain confidential, a general description of these presentations is given here. The full conference schedule can be found on the conference website (<http://www.utoronto.ca/aaaplus/>). The first two sessions of the meeting dealt with the ClpX/ClpA system involved in protein unfolding and degradation. Several new structures were shown, including a structure of *Escherichia coli* ClpX, the adaptor protein ClpS, and the MoxR protein RavA. Several scenarios were highlighted about the mechanism of function of these Clp proteins. In the third session, the controversial issue surrounding the structure of ClpB/Hsp104 was debated by several speakers. One structure shows ClpB/Hsp104 to adopt an expanded state compared with published structures. Although it was difficult to reconcile the different structures, the general consensus seems to be that ClpB/Hsp104 might undergo large nucleotide-dependent conformational changes. Session 4 addressed the biochemistry and structure of the Lon protease. This protease has the AAA domain fused to the proteolytic domain. Furthermore, Lon is unique in its capacity to bind DNA in addition to acting as a protease. The mechanism and structure of Lon was discussed. The protease was shown to switch between a high ATPase, proteolytically inactive state and a low ATPase, proteolytically active state.

Sessions 5 and 6 addressed the multiple roles played by p97. This protein is a highly abundant protein constituting approximately 1% of the proteins in the cell. Its ability to extract Aurora B from chromatin and its role in ERAD were discussed in detail. The structure and the biochemical aspects of p97 activity were also described. The discovery of inhibitors of p97 and their possible use to treat cancers was shown. The roles of mutations in p97 causing IBMPFD disease (or VCP disease) were described, as were advances made in the development of mouse models of this disease. p97 was also shown to play central roles in aging and polyQ-related diseases such as Huntington's.

The role of several AAA proteins in different cellular organelles was highlighted in session 7. The role of Vps4 in cellular trafficking was discussed and several structures of this ATPase were described. The mechanism of function of the mitochondrial Yta10–Yta12 membrane-anchored proteolytic complex was described in detail, showing an intersubunit signaling between the Yta10 and Yta12 subunits, which suggests a sequential mechanism of ATP hydrolysis around the hexameric Yt10–Yta12 ring. The role of the AAA peroxins Pex1 and Pex6 in peroxisome biogenesis was illustrated.

In session 8, several speakers described the beautiful structure and function of the dynein motor. Dynein has 6 AAA domains fused on a single polypeptide chain. A detailed analysis of the dynein microtubule-binding domain was provided showing a 6-helix bundle. The organization of dyneins in the axoneme of the green algae *Chlamydomonas* was also addressed using electron microscopy techniques.

Sessions 9 and 10 concentrated on the latest developments in the proteasome field. The mechanism of gate opening mediated by the HbYX motif present at the C-terminus of

the Rpt subunits and substrate translocation into the core particle was discussed in detail. The arrangement of the subunits in the regulatory particle was described, particularly the presence of Rpn1 and Rpn2 within the Rpt hexameric ring. A newly derived structure of the 26S proteasome complex using electron tomography techniques was presented. The structure showed that the regulatory particles sit off-center with respect to the core particle. The roles of Nas6, Rpn14, and Hsm3 in chaperoning proteasome assembly were depicted. The structure of the archaeal proteasome containing the PAN cap was also shown. The role of the proteasome in neurodegeneration was strongly suggested using mouse models that had a conditional deletion mutation of Rpt2. The biochemistry behind the newly discovered prokaryotic ubiquitin-like pupylation pathway was described.

Sessions 11 and 12 highlighted the role of AAA proteins in DNA–RNA binding. The role of DnaA in the initiation of chromosomal replication was discussed. The structure and biochemistry of function of T7 and Rvb1/2 helicases were described. The mechanism by which PspF activates the sigma54-dependent transcription was illustrated using biochemical and structural approaches. Lastly, the role of Drg1 in the early steps of cytoplasmic rRNA biogenesis was presented. Drg1 is 47% identical to p97 and is shown to be required for the release of shuttling proteins.

The conference featured a wide range of topics related to AAA proteins. The strength of such a conference stems from the intimate interactions between the different attendees exchanging results, expertise, and ideas. Consequently, the conference allowed for the development of new inter- and multi-disciplinary collaborations while reinforcing existing ones. In this special issue of *Biochemistry and Cell Biology*, several

speakers at the meeting are providing a number of peer-reviewed Reviews. We hope that they will provide the reader with an overview of the multifunctionality of the AAA proteins.

Finally, the organizers wish to thank many of their colleagues for their dedication, help, and advice, including the co-organizers Dr. Christine Bear (Hospital for Sick Children, Toronto, Ontario), Dr. Lori Burrows (McMaster University, Hamilton, Ontario), Dr. Isabelle Rouiller (McGill University, Montreal, Québec); the scientific committee of Dr. Bernd Bukau (Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg, Germany), Dr. Paul Freemont (Imperial College London, UK), Dr. Phyllis Hanson (Washington University, St. Louis, Missouri), Dr. Mike Maurizi (National Cancer Institute, Bethesda, Maryland), Dr. John Mayer (University of Nottingham, UK), Dr. Hemmo Meyer (ETH Zurich, Switzerland), Dr. Teru Ogura (Kumamoto University, Japan), Dr. Dale Wigley (London Research Institute, UK); and the conference planner, Mr. Rob Reedijk. A special thanks to the editor of *Biochemistry and Cell Biology*, Dr. James R. Davie, and his assistant, Ms. Deborah L. Regier, for their excellent and professional efforts in organizing this special AAA issue. The conference has received generous support from academic, institutional and corporate sponsors. They are all listed on the conference website (<http://www.utoronto.ca/aaaplus/>). Dr. Teru Ogura and his colleagues have agreed to host the next AAA meeting in 2011 in Japan. Best of luck, and see you in Japan.

Walid A. Houry
University of Toronto

Joaquin Ortega
McMaster University

INTRODUCTION

Protéines AAA: macromolécules d'action

Le 8^e Congrès international sur les protéines AAA (<http://www.utoronto.ca/aaaplus/>) s'est tenu au Kingbridge Centre, près de Toronto, du 12 au 16 juillet 2009. Ce congrès a remporté un vif succès et a réuni une centaine de chercheurs de renom des quatre coins du monde, y compris l'Allemagne, l'Australie, l'Autriche, le Canada, les États-Unis, la France, la Grenade, l'Israël, l'Italie, le Japon, le Mexique, le Royaume-Uni et la Suisse. Traditionnellement, cette rencontre offre une tribune internationale aux chercheurs intéressés à la compréhension de la structure, des mécanismes moléculaires, du fonctionnement physiologique et du rôle des protéines AAA dans les maladies humaines.

La reconnaissance de l'importance de la superfamille des protéines AAA remonte au début des années 1990, et c'est en 1995, à Gif-sur-Yvette (France), qu'a eu lieu la première rencontre internationale. Le Congrès international sur les protéines AAA est maintenant un congrès biennal régulier qui se tient en alternance en Amérique du Nord, en Europe et au Japon:

1. 1995, Gif-sur-Yvette (France) – organisé par F. Confalonieri, D. Duguet, et K.-U. Frölich
2. 1997, Tutzing (Allemagne) – organisé par H. Feldmann, T. Langer, et A. Lupas
3. 1999, La Jolla (É.-U.) – organisé par M. Latterich et S. Subramani
4. 2001, Kyoto (Japon) – organisé par K. Ito et T. Ogura
5. 2003, Warrenton (É.-U.) – organisé par M.R. Maurizi et A.C. Steven
6. 2005, Graz (Autriche) – organisé par K.-U. Frölich et H. Bergler
7. 2007, Cirencester (R.-U.) – organisé par R.J. Mayer et P. Freemont
8. 2009, Toronto (Canada) – organisé par W.A. Houry et J. Ortega

À ce jour, la base de données des familles protéiques (Pfam) compte plus de 24 000 séquences de toutes les formes de vie qui comportent un domaine AAA. Ces protéines constituent un groupe d'ATPases qui accomplissent toute une série de fonctions essentielles à la physiologie cellulaire, dont la régulation de la réplication de l'ADN, la recombinaison, les processus de remodelage de la chromatine, la maturation de l'ARN ribosomique, le ciblage moléculaire, l'organitogénèse et la fusion membranaire. De plus, les protéines AAA assurent également le fonctionnement des systèmes de sécrétion des bactéries et font partie des machines protéolytiques dépendantes de l'ATP des procaryotes et des eucaryotes, lesquelles jouent un rôle dans le contrôle de la qualité des protéines.

Les caractéristiques distinctes de la superfamille des AAA consistent en des motifs Walker A et Walker B structurellement conservés, responsables de la liaison et de l'hydrolyse des nucléotides et en une structure oligomérique comportant des sous-unités disposées en anneaux hexamériques ou parfois heptamériques. Les motifs Walker A et Walker B jouent un rôle de propulseur de moteur qui produit de l'énergie à partir de l'hydrolyse de l'ATP. Ce module de moteur est fixé à d'autres domaines protéiques, lesquels jouent le rôle de « têtes porte-outils » qui interagissent avec les substrats, soit directement ou par l'intermédiaire de molécules adaptatrices.

Ces domaines convertissent l'énergie provenant de l'hydrolyse de l'ATP en un déplacement spécialisé nécessaire à une activité en particulier.

Des progrès importants ont été accomplis dans la détermination de la structure et du fonctionnement cellulaire d'un grand nombre de protéines AAA. Toutefois, on en connaît bien peu sur les caractéristiques uniques qui sont à la base du mécanisme de couplage mécano-chimique qui sert à appliquer des forces sur divers substrats. Bon nombre des exposés présentés au cours de cette rencontre ont traité de cette question.

Ce congrès comportait douze séances d'exposés et une séance de présentation par affiches. La présence de 47 conférenciers et de 32 présentateurs d'affiches a ouvert la voie à un congrès qui s'est avéré bien rempli, dynamique et interactif. Comme les exposés de cette rencontre demeurent confidentiels, on trouvera ci-après une description générale de ces derniers. Le programme complet de cette rencontre se trouve dans le site Web du Congrès (<http://www.utoronto.ca/aaaplus/>). Les deux premières séances de cette rencontre ont porté sur le système ClpX/ClpA qui intervient dans le dépliement et la dégradation des protéines. Plusieurs nouvelles structures ont été présentées, dont une de ClpX d'*Escherichia coli*, de la protéine adaptatrice ClpS et de la protéine RavA (sous-famille des MoxR). Plusieurs scénarios ont été mis en évidence quant au mécanisme de fonctionnement des protéines de la famille Clp. Au cours de la troisième séance, plusieurs conférenciers ont débattu la question controversée qui entoure la structure du système ClpB/Hsp104. Une structure montre que ClpB/Hsp104 adopte un état étendu contrairement à celles déjà publiées. Même s'il a été difficile de concilier les différentes structures, un consensus semble s'en être dégagé, à savoir que ClpB/Hsp104 pourrait subir de grands changements de conformation qui dépendent des nucléotides. La quatrième séance a porté sur la biochimie et la structure de la protéase Lon. Le domaine AAA de cette protéase est fusionné au domaine protéolytique. Par ailleurs, en plus de jouer le rôle de protéase, Lon est unique puisqu'il est capable de lier l'ADN. Le mécanisme et la structure de Lon ont été abordés. Il a été montré que cette protéase peut passer d'un état inactif protéolytiquement et élevé en ATPase à un état actif protéolytiquement et faible en ATPase et vice versa.

Les cinquième et sixième séances ont abordé les rôles multiples joués par la protéine p97. Cette protéine se trouve en très grande quantité et représente environ 1% des protéines présentes dans la cellule. Sa capacité d'extraire l'Aurora B de la chromatine et son rôle dans la dégradation associée au réticulum endoplasmique (ERAD) ont été examinés en détail. La structure et les aspects biochimiques de l'activité de p97 ont également été décrits. On a montré qu'il existe des inhibiteurs de p97 et qu'ils pourraient être utilisés dans le traitement des cancers. On a également fait état du rôle des mutations dans le gène codant la p97, qui causent la myopathie à inclusions avec maladie de Paget et démence frontotemporale (ou myopathie à VCP) et des progrès accomplis dans la mise au point de modèles de souris atteintes de cette maladie. Il a également été démontré que la p97 joue un rôle important dans le vieillissement et les maladies liées à la polyglutamine (polyQ) telles que la chorée de Huntington.

Au cours de la septième séance, on a mis en évidence le rôle de plusieurs protéines AAA présentes dans diverses or-

ganelles cellulaires. On s'est penché sur le rôle de la protéine Vps4 dans le trafic cellulaire, et plusieurs structures de cette ATPase ont été décrites. Le mécanisme de fonctionnement moléculaire du complexe protéolytique Yta10-Yta12 ancré à la membrane mitochondriale a été présenté en détail et on a démontré la présence d'une transmission de signaux entre les sous-unités Yta10 et Yta12, ce qui permet de penser qu'il existe un mécanisme séquentiel d'hydrolyse de l'ATP autour de l'anneau hexamérique Yta10-Yta12. Enfin, le rôle des protéines AAA peroxines, Pex1 et Pex6 dans la biogenèse des peroxysomes a été présenté.

Au cours de la huitième séance, plusieurs conférenciers ont décrit la structure et le fonctionnement superbes du moteur moléculaire dynéine. La dynéine possède six domaines AAA fusionnés sur une seule chaîne polypeptidique. Le domaine de liaison de la dynéine aux microtubules a fait l'objet d'une analyse détaillée, montrant la présence d'un faisceau comportant six hélices. L'organisation des dynéines dans l'axonème de l'algue verte *Chlamydomonas* a également été examinée au moyen de techniques de microscopie électronique.

Les neuvième et dixième séances ont porté principalement sur les plus récents progrès réalisés dans le domaine des protéasomes. Le mécanisme d'ouverture du protéasome, régulé par le motif HbYX présent à la partie C-terminale des sous-unités Rpt, et la translocation du substrat dans la chambre centrale catalytique du protéasome ont été exposés en détail. L'agencement des sous-unités dans le complexe de régulation a été décrit, notamment la présence de Rpn1 et de Rpn2 dans l'anneau hexamérique Rpt. On a présenté une nouvelle structure dérivée du complexe du protéasome 26S au moyen de techniques de tomographie électronique. Cette structure montre que les complexes de régulation sont « décentrés » par rapport au complexe central. Le rôle de Nas6, de Rpn14 et de Hsm3 en tant que chaperon moléculaire dans l'assemblage du protéasome a été décrit. La structure du protéasome des archéobactéries qui contient le « couvercle » PAN (Proteasome Activating Nucleotidase) a également été démontrée. L'utilisation de modèles de souris qui présentent une mutation conditionnelle par délétion de la Rpt2 semble fortement indiquer que le protéasome jouerait un rôle dans la neurodégénérescence. La biochimie derrière la voie nouvellement découverte de « pupylation », analogue à l'ubiquitinylation chez les procaryotes, a été décrite.

Les onzième et douzième séances ont mis en évidence le rôle des protéines AAA dans les liaisons ADN/ARN. Il a été question du rôle de la DnaA dans l'initiation de la réplication chromosomique. La structure et la biochimie du fonctionnement des hélicases T7 et Rvb1/2 ont été décrites. Le mécanisme par lequel PspF active la transcription dépendante de sigma54 a été illustré au moyen d'approches biochimiques et structurales. Enfin, le rôle de Drg1 dans les premières étapes

de la biogenèse de l'ARNr cytoplasmique a été présenté. La protéine Drg1 est identique dans une proportion de 47% à la p97 et se révèle indispensable à la libération de protéines de transport.

Ainsi, ce congrès a mis en vedette un large éventail de sujets liés aux protéines AAA. La force d'un tel congrès est due aux liens étroits tissés entre les différents participants, grâce au partage de leurs résultats, de leur expertise et de leurs idées. Par conséquent, ce congrès a permis aussi bien de créer de nouvelles collaborations inter et multidisciplinaires que d'entretenir celles déjà existantes. Dans ce numéro spécial de la revue *Biochimie et biologie cellulaire*, plusieurs conférenciers présents lors de ce congrès livrent une série d'exposés de synthèse évalués par les pairs. Nous espérons que ces articles permettront de donner au lecteur une vue d'ensemble de la multifonctionnalité des protéines AAA.

Enfin, les organisateurs désirent remercier bon nombre de leurs collègues pour leur engagement, leur aide et leurs conseils, dont les coorganisateurs suivants: Christine Bear, Ph.D. (Hospital for Sick Children, Toronto, Ontario), Lori Burrows, Ph.D. (Université McMaster, Hamilton, Ontario) et Isabelle Rouiller, Ph.D. (Université McGill, Montréal, Québec); le comité scientifique: Bernd Bukau, Ph.D. (Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg, Allemagne), Paul Freemont (Imperial College London, R.-U.), Phyllis Hanson (Université de Washington, St. Louis, Missouri), Mike Maurizi (National Cancer Institute, Bethesda, Maryland), John Mayer, Ph.D. (Université de Nottingham, R.-U.), Hemmo Meyer, Ph.D. (ETH Zurich, Suisse), Teru Ogura, Ph.D. (Université de Kumamoto, Japon) et Dale Wigley, Ph.D. (London Research Institute, R.-U.); et le planificateur du Congrès: M. Rob Reedijk. Nous désirons remercier particulièrement le rédacteur en chef de la présente revue *Biochimie et biologie cellulaire*, James R. Davie, Ph.D. et son assistante Deborah L. Regier pour leur excellent travail professionnel dans la conception de ce numéro spécial sur les protéines AAA. Cet événement a également reçu un soutien généreux de la part de commanditaires des secteurs universitaire, institutionnel et privé. Une liste de ces commanditaires se trouve dans le site Web du Congrès (<http://www.utoronto.ca/aaaplus/>). M. Teru Ogura et ses collègues ont accepté d'accueillir le prochain Congrès international sur les protéines AAA qui se tiendra au Japon en 2010. Nous vous souhaitons la meilleure des chances et au plaisir de se voir au Japon.

Walid A. Houry
Université de Toronto

Joaquin Ortega
Université McMaster