

Des toxines aux mini-protéines

Les toxines de scorpion ont une structure commune très stable qui sert de plate-forme pour créer de nouvelles protéines.

Depuis une vingtaine d'années, les biologistes savent modifier la séquence et la structure des protéines. Ils tentent désormais de créer des protéines aux fonctions nouvelles, ce que la nature réalise depuis des centaines de millions d'années avec une économie de moyens remarquable. Les protéines du venin de scorpion illustrent cette adaptation : au cours de l'évolution, le scorpion a acquis un arsenal de toxines aux cibles et aux séquences étonnamment diverses, mais qui sont stabilisées par un même motif structural. On utilise aujourd'hui cette structure en ingénierie des protéines, car elle constitue une plate-forme de choix pour insérer des sites fonctionnels issus d'autres protéines.

Les toxines du venin de scorpion sont des protéines de petite taille (de 30 à 70 acides aminés) qui bloquent de façon spécifique les canaux ioniques, notamment ceux qui laissent passer les ions sodium et potassium. Grâce à l'effet paralysant dû au blocage de ces canaux, les scorpions immobilisent leurs proies et échappent à leurs prédateurs.

Les toxines des différentes espèces de scorpion agissent sur des canaux ioniques différents, mais présentent un motif structural commun composé d'une hélice α et d'un feuillet β . Ces structures, que l'on rencontre dans la plupart des protéines, sont ici reliées par trois ponts disulfure, des liaisons covalentes qui confèrent à l'ensemble du motif une stabilité remarquable : la structure reste ordonnée, même dans l'eau portée à ébullition ou après traitement par des agents dénaturants. Les seuls acides aminés présents à la même position dans toutes ces toxines sont les six cystéines qui forment deux à deux les ponts disulfure, ce qui indique que la substitution d'acides aminés (sauf les cystéines) dans la séquence de ces protéines ne devrait pas en altérer la structure. Cette «permissivité» du motif α/β , jointe à la petite taille des toxines, à leur stabilité et à la présence de structures typiques des protéines globulaires, en font un support idéal en ingénierie des protéines.

En exploitant ces caractéristiques, notre équipe essaye de donner à ces protéines des fonctions qu'elles n'ont pas

dans la nature. Afin de tester la souplesse de la plate-forme, nous y avons créé un site de liaison des métaux lourds en prenant pour modèle le site de liaison du zinc de l'anhydrase carbonique (dont l'activité catalytique dépend de ce métal). Ce site est formé principalement par trois résidus histidine qui sont les ligands du métal et qui sont stabilisés dans la conformation optimale par d'autres acides aminés. La modélisation moléculaire assistée par ordinateur nous avait indiqué que l'on pouvait recréer ce site dans la région en feuillet β d'une toxine de scorpion, la charybdotoxine, en ne modifiant que neuf de ses 37 acides aminés.

Nous avons synthétisé chimiquement cette nouvelle molécule et nous l'avons étudiée par diverses techniques spectroscopiques en présence de différents ions métalliques. Cette analyse détaillée a confirmé que la nouvelle protéine possédait une architecture presque identique à celle de la toxine naturelle de scorpion et que le site introduit possédait exactement la structure attendue. En outre, il liait les métaux avec une grande affinité et présentait des spécificités pour les différents ions similaires à celles de l'anhydrase carbonique.

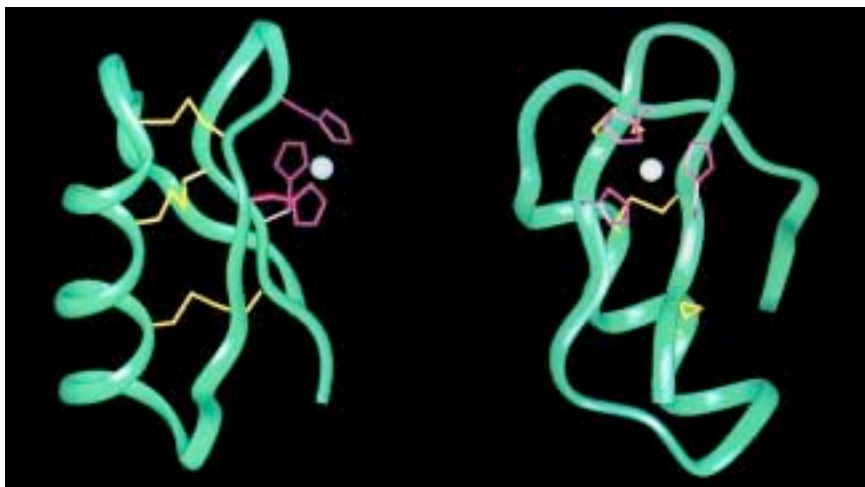
RECRÉER DES SITES

Ce résultat prouve la valeur de cette plate-forme pour l'ingénierie des protéines et confirme ses qualités : une grande tolérance quant à l'insertion de nouvelles séquences ; une conformation stable, même après de nombreuses mutations ; la possibilité d'introduire les nouvelles séquences dans des régions à la structure prédéterminée et d'en fixer ainsi la conformation. Sur la base de ces résultats encourageants, nous allons poursuivre l'exploitation de ces plates-formes structurales en y recréant d'autres sites. Ces futures mini-protéines seront facilement produites et offriront des activités intéressantes la médecine et l'industrie.

De nouveaux ligands activant ou bloquant des récepteurs neuronaux sont en cours d'élaboration. Nous réalisons également des mini-protéines qui reproduisent la surface d'interaction de protéines virales avec les protéines cellulaires cibles (par exemple, la protéine gp120 du virus du SIDA et la protéine CD4 des lymphocytes humains), ou celle de protéines responsables de l'adhésion cellulaire avec les protéines de la matrice extracellulaire. Ces mini-protéines, nous l'espérons, deviendront des molécules-pilotes pour la mise au point de nouveaux médicaments.

Claudio VITA

Département d'Ingénierie
et d'Étude des protéines – CEA, Saclay



Le squelette protéique d'une toxine de scorpion, la charybdotoxine (en vert, vue latérale à gauche et frontale à droite), est stabilisé par trois ponts disulfure (en jaune). Le motif commun à toutes les toxines de scorpion est composé d'une hélice α (à gauche) et de deux chaînes antiparallèles formant un feuillet β («épingle à cheveux» à droite), sur lesquelles on a recréé le site de liaison du zinc de l'anhydrase carbonique par l'introduction de trois histidines (en rose, atome de zinc en blanc).