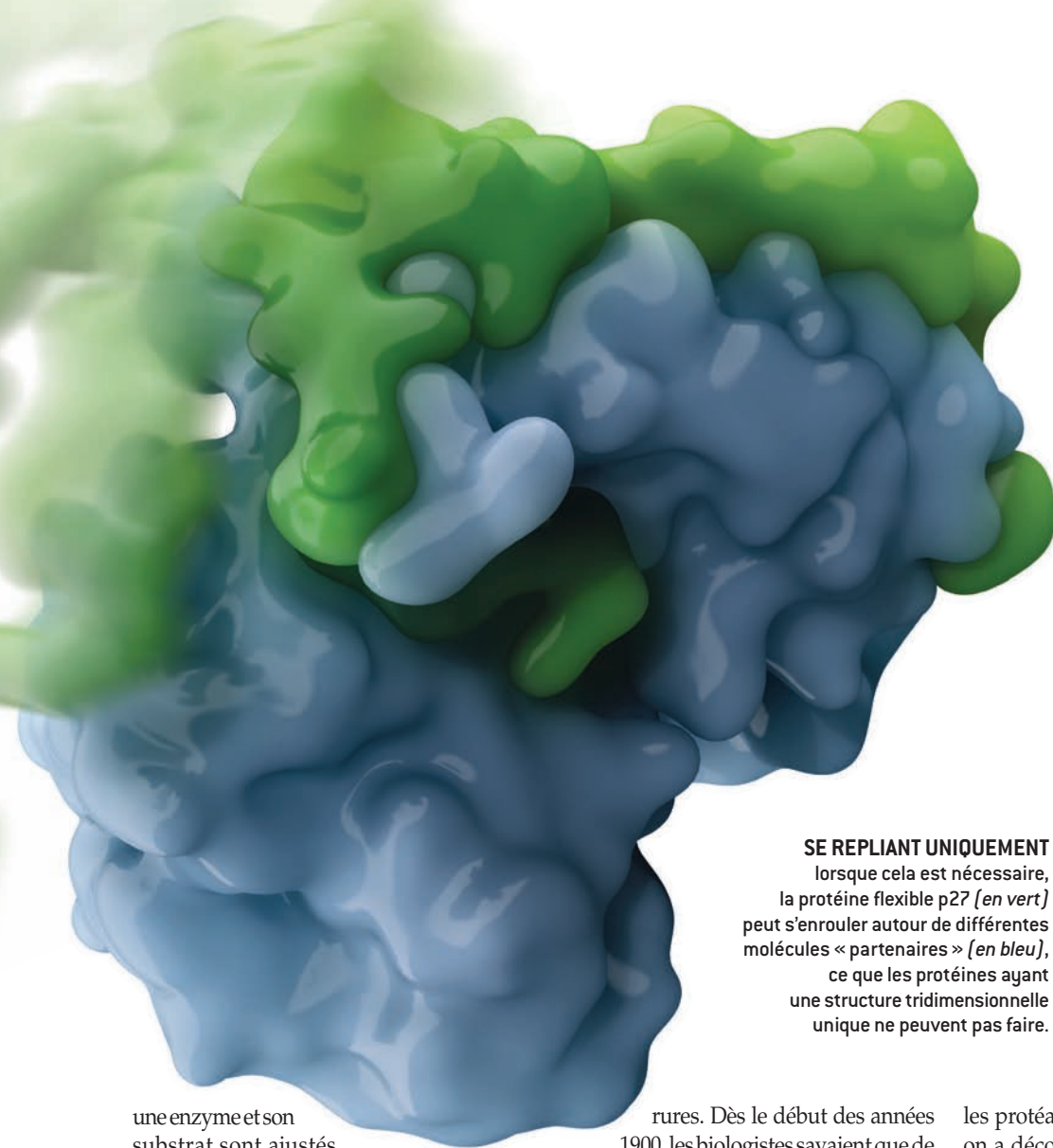




L'ESSENTIEL

✓ Selon le modèle classique, les protéines doivent adopter une forme rigide afin d'accomplir certaines tâches, par exemple fixer des molécules cibles spécifiques.

✓ Pourtant, d'après des travaux récents, au moins un tiers des protéines existant chez l'homme sont partiellement ou complètement non structurées.

✓ Loin d'être pathologique, cette absence de structure rigide est souvent cruciale pour la fonction de la protéine.

SE REPLIANT UNIQUEMENT
lorsque cela est nécessaire, la protéine flexible p27 (en vert) peut s'enrouler autour de différentes molécules « partenaires » (en bleu), ce que les protéines ayant une structure tridimensionnelle unique ne peuvent pas faire.

une enzyme et son substrat sont ajustés comme une clé et une serrure.

À l'époque où Fischer a formulé son modèle, on ignorait la nature des protéines. Durant les décennies qui ont suivi, les biologistes ont découvert que les protéines sont des chaînes d'acides aminés et ont supposé qu'elles devaient se replier en une conformation précise pour assurer correctement leur fonction. En 1931, le biochimiste chinois Hsien Wu confirma cette hypothèse, en montrant que la dénaturation des protéines, c'est-à-dire la perte de leur structure tridimensionnelle naturelle, conduit à une perte complète de la fonction.

En 1958, John Kendrew et ses collègues ont pour la première fois décrit la structure tridimensionnelle d'une protéine, la myoglobine du cachalot, en utilisant la technique de la cristallographie aux rayons X. Depuis, les biochimistes ont déterminé l'architecture de plus de 50 000 types de protéines, généralement en les cristallisant puis en analysant les cristaux aux rayons X.

Toutefois, le monde des protéines n'est pas aussi figé que celui des clés et des ser-

rures. Dès le début des années 1900, les biologistes savaient que de nombreux anticorps se lient à de multiples molécules cibles, nommées antigènes – une première observation qui ébranla le modèle « clé-serrure ». Dans les années 1940, le chimiste Linus Pauling découvrit que certains anticorps se replient de différentes façons, le repliement de chaque configuration étant guidé par l'antigène, afin que les deux formes soient ajustées au mieux.

Depuis les années 1940, d'autres observations ont remis en cause le dogme d'une structure tridimensionnelle rigide. Mais on considérait encore les protéines qui ne respectaient pas la règle comme des exceptions, rares et bizarres. L'un d'entre nous (K. Dunker) fut parmi les premiers à collecter de tels exemples et à faire remarquer que, peut-être, les conformations rigides étaient beaucoup plus rares que prévu. En 1953, par exemple, les scientifiques ont remarqué que la caséine, la principale protéine du lait, est essentiellement non structurée. Cette flexibilité facilite probablement sa digestion par les enfants en la rendant plus facilement dégradable par

les protéases. Au début des années 1970, on a découvert qu'une protéine du sang nommée fibrinogène contient une région de grande taille dont la structure n'est pas figée. Cette région, comme d'autres plus petites découvertes plus tard, joue un rôle clé dans la coagulation du sang.

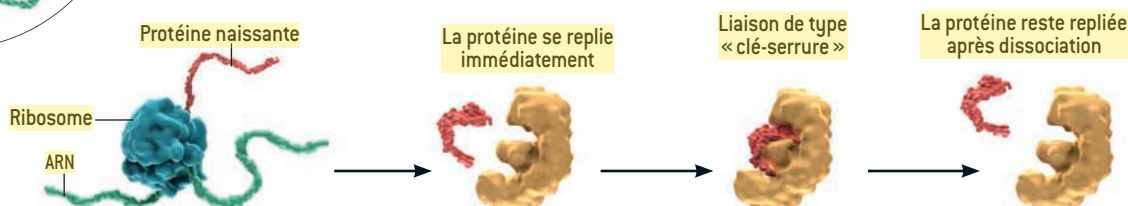
Puis, dans les années 1970, on a mis en évidence un autre exemple: la capsid du virus de la mosaïque du tabac, c'est-à-dire la protéine qui forme l'enveloppe protégeant le matériel génétique du virus; il s'agit d'un virus à ARN infectant les plantes, dont le tabac. Lorsque la capsid est vide, la protéine présente de grandes régions non structurées flottant librement à l'intérieur de la cavité. Ce manque de compacité permet à de l'ARN, synthétisé pendant la réplication virale dans une cellule infectée, d'entrer dans la capsid. À mesure que l'ARN s'accumule, la protéine s'y lie et sa conformation devient plus rigide.

Les expérimentateurs qui n'arrivaient pas à obtenir des protéines repliées dans leurs expériences ont alors supposé se tromper quelque part. *In vivo*, les chaînes d'acides aminés devaient sûrement trouver une

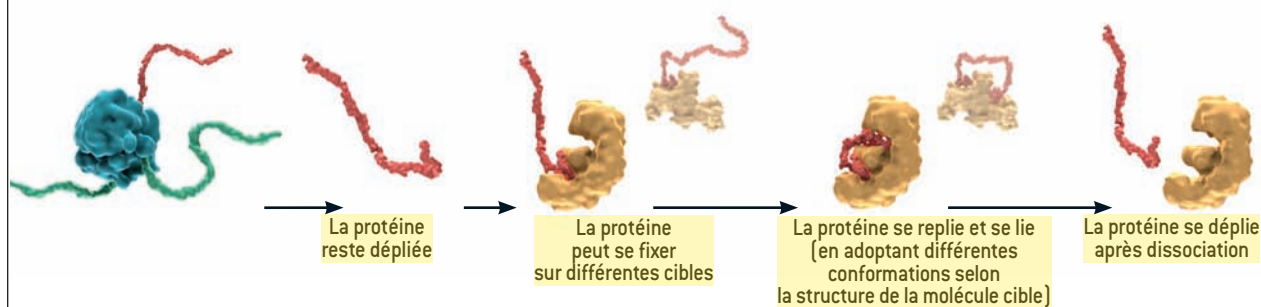
ORDRE CONTRE DÉSORDRE

La machinerie moléculaire des cellules transcrit l'information codée dans des séquences d'ADN – les gènes – en ARN et traduit cet ARN pour former les chaînes d'acides aminés qui composent les protéines. On pensait qu'une protéine doit ensuite se replier selon une configuration unique (*en haut*) pour accomplir correctement sa fonction, par exemple se lier à une molécule spécifique, comme une clé s'adapte à une serrure donnée. Cependant, de nombreuses protéines restent, au moins en partie, dépliées. Cette flexibilité leur permet de se lier à des molécules diverses (*en bas*) ou d'accomplir différentes fonctions.

CONCEPTION CLASSIQUE DE L'ACTIVITÉ DES PROTÉINES



MÉCANISME DÉCOUVERT RÉCEMMENT



AXS Biomedical Animation Studio

conformation repliée « correcte » dans le cytoplasme des cellules. Par exemple, quand des chercheurs plaçaient des solutions contenant des protéines isolées dans des éprouvettes et les examinaient avec un spectromètre à résonance magnétique nucléaire (RMN) – l'outil par excellence pour l'étude des protéines –, ils obtenaient parfois des résultats difficilement interprétables. Ils en ont déduit que ces protéines n'étaient pas parvenues à se replier.

Protéines spaghetti

Mais ces données avaient une histoire bien plus riche à raconter. La spectroscopie par RMN utilise de puissantes impulsions radiofréquences pour déclencher la rotation synchrone des spins (moments magnétiques) des noyaux atomiques d'éléments particuliers, tel l'hydrogène. La réaction des noyaux présente de légers décalages de fréquences que l'on peut relier à la position des atomes dans les acides aminés et à la position de ces acides aminés les uns par rapport aux autres. Ainsi, à partir de ces décalages en fréquences, les biochimistes parviennent à reconstituer la struc-

ture des protéines rigides. Mais si les acides aminés bougent – comme ce serait le cas dans une protéine non repliée –, les décalages en fréquences deviennent difficiles à interpréter.

En 1996, l'un de nous (R. Kriwacki, alors à l'Institut de recherche Scripps) réalisait une spectroscopie par RMN sur une protéine nommée p21, impliquée dans le contrôle de la division cellulaire, lorsqu'il remarqua quelque chose de surprenant. Selon ses données de RMN, p21 était presque entièrement déstructurée. Les acides aminés tournaient librement autour des liaisons chimiques qui les maintenaient ensemble, ne restant jamais dans une conformation donnée plus d'une fraction de seconde. Et pourtant – et c'est cela qui était surprenant –, p21 continuait à accomplir sa fonction de régulation. Cela constituait la première démonstration que l'absence de structure ne faisait pas perdre sa fonction à une protéine.

La spectroscopie par RMN reste la principale technique pour déterminer si une protéine est repliée ou désordonnée et, avec d'autres techniques, elle a permis de confirmer que de nombreuses protéi-

nes sont intrinsèquement désordonnées (voir l'encadré page 59). Ces molécules se transforment constamment sous l'action du mouvement brownien et de leur propre agitation thermique, et pourtant elles restent parfaitement fonctionnelles.

Cette nouvelle conception des protéines est bien illustrée par la protéine p27, qui est présente chez la plupart des vertébrés. Comme p21, p27 est l'une des principales protéines qui régulent la division cellulaire. La RMN montre que p27 est très flexible, avec des parties qui se plient et se déplient rapidement pour former des structures, soit en tire-bouchon (hélice alpha), soit en feuillets (feuillets bêta). La plupart des cellules cancéreuses chez l'homme ont des quantités réduites de p27, et plus ce déficit est important, moins le pronostic est bon.

La protéine p27 agit comme un frein sur la division cellulaire en se liant à au moins six types différents de kinases (des enzymes) et en inhibant leur activité. Les kinases sont les principaux régulateurs de la réplication de l'ADN et de la division cellulaire. Elles transportent le phosphate (PO_4) et le fixent sur les autres protéines (on dit qu'elles les « phosphorylent »), ce qui déclen-

che une cascade d'événements. En exécutant sa tâche, la molécule p27 s'enroule autour d'une kinase, comme une corde, recouvrant une partie de sa surface, y compris ses sites actifs. Ce blocage empêche la phosphorylation et stoppe ainsi la division cellulaire. Grâce à sa flexibilité, p27 peut s'enrouler autour de différents types d'enzymes et les inhiber.

Comment la fonction est-elle conciliable avec le désordre ?

La protéine p27, qui est presque complètement déstructurée, se trouve près de l'extrémité « désordonnée » d'une échelle qui va du désordre total (protéine totalement déstructurée) à l'ordre total (protéine totalement rigide). Les kinases se trouvent près

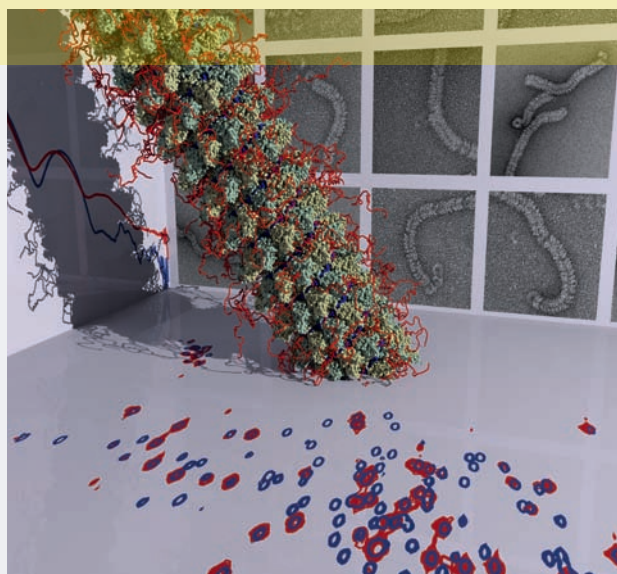
de l'extrémité opposée de cette échelle. De nombreuses autres protéines se situent entre ces deux extrémités, portant des régions structurées et des régions non structurées.

La calcineurine, qui participe aux réactions immunitaires (et qui est la cible des médicaments antirejet), est l'inverse d'une kinase : elle retire les groupes phosphates des protéines phosphorylées. Elle porte une région structurée qui est le site actif de l'enzyme et fonctionne sur le mode classique clé-serrure pour enlever les phosphates portés par d'autres protéines. Mais elle présente aussi une région non structurée qui se lie au site actif de cette enzyme et l'inactive quand il n'est pas nécessaire de retirer un groupe phosphate. Ainsi, la calcineurine représente deux protéines en une seule : la région structurée effectue la catalyse et la région non structurée régule cette fonction catalytique.

Modélisation des protéines intrinsèquement désordonnées

Les protéines intrinsèquement désordonnées sont maintenant considérées comme des actrices cruciales dans le fonctionnement des organismes. De par leur importante flexibilité, leur comportement ne peut être expliqué par le modèle clé-serrure, qui suppose que deux partenaires biologiques ne peuvent interagir que s'ils présentent une complémentarité de forme. De surcroît, il est extrêmement difficile de caractériser en détail ces protéines intrinsèquement désordonnées, car leur conformation change sans cesse, aucune ne durant plus d'une fraction de seconde. La résonance magnétique nucléaire (RMN) permet d'obtenir des informations sur les conformations adoptées par ces protéines au cours du temps. Mais si cette technique demeure la plus adaptée pour étudier ces objets complexes, la combinaison avec d'autres approches permet d'améliorer notre compréhension de ces systèmes.

De nombreuses équipes de recherche françaises y travaillent, et la récente étude de la nucléoprotéine du virus de la rougeole est un exemple des travaux menés sur les protéines intrinsèquement désordonnées. Cette étude a été conduite par les équipes grenobloises de Martin Blackledge, de l'Institut de biologie



La figure montre une reconstruction de la capside du virus de la rougeole à partir des données de microscopie électronique (*au fond*), de diffusion aux petits angles (*à gauche*) et résonance magnétique nucléaire à très haut champ (*au premier plan*). Les parties rouges de la capside représentent le domaine désordonné qui contrôle le déclenchement de la réplication du virus.

structurale, et de Rob Ruigrok, de l'Unité Interaction virus-cellule hôte, et l'équipe de Sonia Longhi du Laboratoire marseillais Architecture et fonction des macromolécules biologiques. En utilisant une combinaison de trois techniques complémentaires, la RMN, la microscopie électronique et la diffusion des rayons X aux

petits angles, ce consortium a proposé le premier modèle intégral de la nucléocapside. Cette dernière est formée de plusieurs copies de la nucléoprotéine, composée d'un domaine structuré protégeant l'ARN génomique et d'une longue région désordonnée qui contrôle la réplication du virus. La microscopie élec-

tronique a permis de déterminer la forme globale de la partie structurée de la capside : un enroulement hélicoïdal supramoléculaire formé d'un ensemble de protéines enrobant un brin d'ARN viral. Mais comme cette technique ne permet pas de « voir » les parties non structurées du système, la diffusion des rayons X aux petits angles a été utilisée pour localiser ces parties flexibles à l'extérieur de la capside. Enfin, la RMN a permis d'étudier en détail le comportement moléculaire de cette partie désordonnée avec une résolution atomique.

Ces différents résultats suggèrent que la partie désordonnée de la nucléoprotéine joue son rôle dans la transcription et la réplication du virus de la rougeole en sortant de la capside ; elle exploite sa flexibilité pour explorer l'espace environnant afin de pouvoir interagir avec les machines moléculaires qui permettront la lecture du génome du virus. Ces études combinant différentes techniques et expertises permettent ainsi de préciser le rôle de la flexibilité des protéines intrinsèquement désordonnées, et cela dans leur environnement biologique.

Martin Blackledge,

Institut de biologie structurale,
CEA-CNRS-UJF, Grenoble