

En l'absence de données expérimentales convaincantes, les biophysiciens ont abordé le problème par le calcul théorique. Les modélisations ont indiqué que la forme la plus stable – et donc la plus probable – était celle où les brins en conformation bêta étaient disposés de façon antiparallèle, tête-bêche. Cette hypothèse a été dominante jusqu'à la fin du XX^e siècle. Mais récemment, grâce au développement d'une nouvelle méthode expérimentale applicable aux protéines insolubles, la résonance magnétique nucléaire en phase solide, des biophysiciens ont montré que dans la majorité des fibres amyloïdes, l'arrangement des brins bêta est parallèle (tous les brins sont orientés de la même façon) et non antiparallèle.

Tout d'abord, en 1998, grâce au marquage d'un même atome dans les fragments

du peptide bêta-amyloïde (de la maladie d'Alzheimer), Stephen Meredith, de l'Université de Chicago aux États-Unis, et ses collègues ont déterminé la distance qui sépare, dans les fibres, les mêmes acides aminés de deux brins bêta voisins. Cette distance de 0,48 nanomètre implique que les brins bêta sont en registre, c'est-à-dire exactement les uns au-dessus des autres. Cette découverte a été suivie par une avalanche de travaux utilisant la même technique ou la toute récente résonance électronique de spin. Ces études ont confirmé la présence de feuilletés parallèles dans les fibres amyloïdes obtenues avec une douzaine de protéines associées à différentes maladies neurodégénératives.

Cependant, les méthodes spectrales ne peuvent enregistrer qu'un signal total

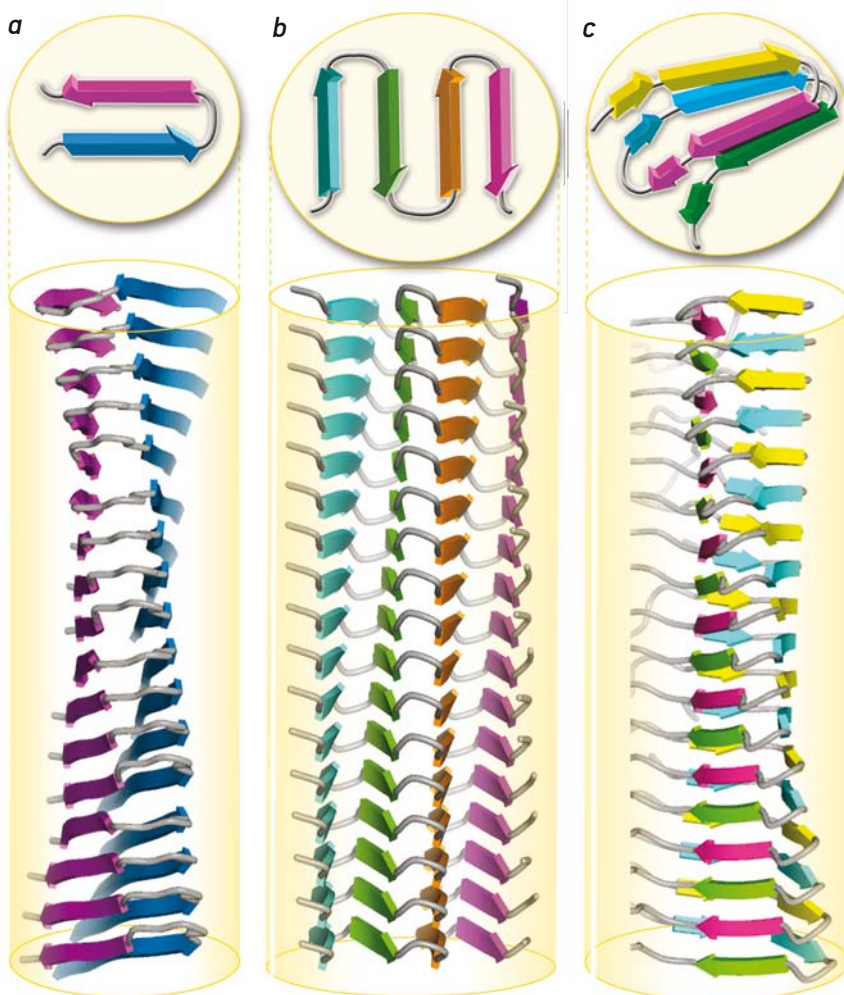
moyen sur l'ensemble des fibres d'un tube à essai. Les mêmes conditions expérimentales pouvant conduire à la formation de différents types de fibres, il était indispensable de développer de nouvelles techniques expérimentales permettant d'étudier des fibres isolées. Parmi ces méthodes, la cryomicroscopie électronique a permis de déterminer avec précision le diamètre et la forme de fibrilles, et la microscopie électronique à balayage par transmission, de définir le nombre de protéines dans une section de fibre.

L'application de ces méthodes à l'étude des fibres amyloïdes durant les dix dernières années a clarifié certains détails des structures amyloïdes associées à des maladies neurodégénératives majeures (voir la figure 3) : les structures formées par le peptide bêta-amyloïde, associées à la maladie d'Alzheimer ; les fibres constituées de chaînes à un acide aminé répété, la glutamine, retrouvées chez les patients présentant une ataxie (perte de coordination des mouvements), notamment ceux atteints de la maladie de Huntington ; ou les fibres d'alpha-synucléine identifiées chez les personnes souffrant de la maladie de Parkinson.

Un même noyau structurel

Les biophysiciens se sont ainsi aperçus que, d'une maladie à l'autre, la structure interne des fibres varie. D'autres différences ont aussi été observées. Par exemple, une fibre peut être l'assemblage de une à plusieurs protofibrilles enroulées. Néanmoins, en réexaminant les fibres amyloïdes connues, ils ont observé que, malgré leur diversité, les fibres associées aux maladies ont toutes un noyau structurel similaire, qui a été nommé arcade bêta (voir la figure 2). Fait remarquable, ces arcades bêta sont absentes dans la structure des protéines normales. Quelle est donc cette structure délétère ?

La brique d'une arcade bêta, nommée arche bêta, présente une conformation bêta courbée en son milieu à 180 degrés. À première vue, des milliers de protéines inoffensives ont des structures bêta pliées de façon similaire. Toutefois, une différence essentielle sépare ces deux types de structures : dans la protéine normale, la chaîne forme une épingle stabilisée par des liaisons hydrogène entre deux brins bêta



3. TROIS MODÈLES DE PROTOFIBRILLES AMYLOÏDES. Dans le premier, celui du peptide bêta-amyloïde de la maladie d'Alzheimer, deux brins bêta séparés par un coude sont répétés (a). Dans le deuxième, identifié dans la maladie de Parkinson, des ataxies et plusieurs prions de levure, l'unité répétée est une suite de plusieurs brins séparés par des coudes (b). Dans le troisième, trouvé dans le prion d'un champignon filamenteux, l'unité répétée est formée de deux boucles contenant plusieurs brins bêta séparés par des coudes (c).

adjacents, alors que dans les arches bêta, les deux brins bêta adjacents interagissent non par des liaisons hydrogène entre des groupes peptidiques, mais majoritairement par des interactions de plus courte portée, dites de van der Waals, entre les groupes latéraux des acides aminés. Des liaisons hydrogène existent, mais entre les arches bêta. En d'autres termes, les fibres amyloïdes sont des empilements axiaux d'arches bêta scellées par des liaisons hydrogène.

Pour former l'arche bêta, une chaîne doit comporter au moins une douzaine d'acides aminés. *In vitro*, à des concentrations très élevées, il est possible de former des fibres amyloïdes avec des chaînes plus courtes, mais à notre connaissance, aucun cas de maladie n'est causé par des peptides courts. Cela suggère que seuls les peptides longs, capables de former des arches bêta, sont dangereux pour la santé humaine.

Des arches fragiles, mais des fibres stables

Aucune des dizaines de milliers de structures de protéines identifiées n'est semblable à l'arche bêta. Quelles propriétés différencient cette structure des protéines normales ? En premier lieu, les arcades bêta présentent l'incomparable pouvoir de croître indéfiniment ; elles sont toujours prêtes à se joindre comme les blocs d'un jeu de construction, alors que les protéines natives ont une taille bien définie. Autre différence majeure, alors que la structure des protéines normales est stabilisée par un noyau hydrophobe (des acides aminés hydrophobes, dits non polaires), les arcades bêta sont stabilisées non seulement par des acides aminés hydrophobes, mais aussi par des acides aminés à groupes latéraux hydrophiles (polaires), l'asparagine et la glutamine. Les fibrilles étant des empilements non décalés d'arcades, les liaisons hydrogène entre ces groupes latéraux hydrophiles forment une sorte de pilier à l'intérieur des fibrilles, jouant un rôle similaire à la structure d'acier qui stabilise le béton armé.

Enfin, la troisième différence entre les arches bêta et les protéines natives réside dans le polymorphisme des fibres. Habituellement, si la séquence de la protéine est capable de former une structure stable, elle est unique. Dans le cas des arcades bêta, la même séquence peut former un grand nombre de fibrilles différentes. Par

exemple, le coude de l'arche bêta n'est pas toujours au même endroit. Et selon la localisation du coude, les fibrilles auront des morphologies différentes (chaque fibrille s'assemble uniquement à partir de la même arche bêta). Ces fibrilles se distinguent soit en nombre de protofibrilles enroulées, soit en degrés d'enroulements. Une seule séquence protéique peut donner plusieurs types de fibrilles différents selon l'environnement et l'amorce de la réaction de polymérisation.

De nombreuses protéines portent à la fois des acides aminés polaires et non polaires, et seraient donc susceptibles de former des arcades bêta. Pourquoi de telles structures ne se déposent-elles pas dans tout l'organisme ? La raison envisagée est qu'une arche bêta isolée est une structure très fragile, qui se forme accidentellement et disparaît sous la seule influence du mouvement thermique. Pour s'agréger, l'arche bêta a besoin d'un noyau stable, ce qui nécessiterait d'associer plusieurs de ces « fragiles » arches bêta – un événement peu probable. Déchiffrer le mécanisme qui préside à la formation de ces briques constitue une étape essentielle pour comprendre l'origine des maladies associées aux structures amyloïdes. Dans le cas des maladies à prions, de telles structures en provenance d'une personne atteinte, par contact, ingestion ou injection, pénètrent dans le corps sain et l'infectent.

Déjà, ces résultats ouvrent de nouvelles pistes de diagnostic et de traitement. La découverte de la structure de base universelle des fibrilles devrait aider au développement de médicaments ciblés qui ralentiront ou bloqueront la formation de fibres amyloïdes. En outre, la connaissance des structures délétères permettrait de déterminer la prédisposition des personnes aux maladies neurodégénératives et aux démences par l'analyse informatique de leur génome. Des méthodes sont en cours de développement pour prédire quelles séquences de protéines peuvent former des arcades. Toutefois, un tel dépistage n'aura d'intérêt que le jour où l'on disposera d'un traitement efficace de ces maladies.

Les recherches actuelles se concentrent sur les structures intermédiaires qui conduisent aux fibrilles. Composées de seulement quelques protéines anormales, elles présentent une toxicité élevée, fatale aux cellules de l'organisme. Elles pourraient être la clé pour comprendre l'apparition des fibrilles amyloïdes. ■

■ LES AUTEURS



Andrey KAJAVA est directeur de recherche du CNRS au sein du Centre de recherche de biochimie macromoléculaire (CRBM, UMR 5237), à Montpellier.

Jean-Pierre LIAUTARD est directeur de recherche INSERM à la retraite. Il poursuit ses travaux au Centre d'études d'agents pathogènes et biotechnologies pour la santé, à l'Université Montpellier 2.

■ BIBLIOGRAPHIE

A. Ahmed et A.V. Kajava, *Breaking the amyloidogenicity code: methods to predict amyloids from amino acid sequence*, *FEBS L.*, vol. 587, pp. 1089-1095, 2013.

A. V. Kajava *et al.*, *Beta-arcades: recurring motifs in naturally occurring and disease-related amyloid fibrils*, *FASEB J.*, vol. 24, pp. 1311-1319, 2010.

R. Nelson et D. Eisenberg, *Structural models of amyloid-like fibrils*, *Adv. Protein Chem.*, vol. 73, pp. 235-282, 2006.

A. V. Kajava *et al.*, *A model for Ure2p prion filaments and other amyloids: the parallel superpleated beta-structure*, *PNAS*, vol. 101, pp. 7885-7890, 2004.

T. L. Benzinger *et al.*, *Propagating structure of Alzheimer's beta-amyloid (10-35) is parallel beta-sheet with residues in exact register*, *PNAS*, vol. 95, pp. 13407-13412, 1998.