

L'ANALYSE BIDIMENSIONNELLE DES SÉQUENCES DE PROTÉINES (HCA) OUTIL DE RECHERCHE FONDAMENTALE ET APPLIQUÉE

Récemment, la caractérisation d'une protéine «phare» au carrefour des systèmes endocrinien et immunitaire (Heat Shock Binding Immunophilin, I. Callebaut & coll. (1992), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 6270-6274) a de nouveau attiré l'attention sur les bénéfices que la biologie peut attendre d'une analyse minutieuse des séquences de protéines. Ce n'est pas son seul avantage ; en effet, il s'agit également d'un outil intéressant pour explorer la physicochimie des protéines et notamment le repliement de leurs chaînes, encore incompris pour l'essentiel. Cette compréhension reste en effet un enjeu scientifique majeur.

A partir de vingt acides aminés (briques des chaînes polypeptidiques), la nature a élaboré au cours de centaines de millions d'années un nombre extrêmement élevé de protéines différentes (probablement une centaine de mille chez l'homme), dont la plupart sont globulaires. Ces polymères biologiques (de quelques centaines à plusieurs milliers d'atomes) sont avant tout caractérisés par l'enchaînement des acides aminés : leur séquence ou structure primaire. C'est l'information de base, désormais d'accès très aisé au travers du séquençage des gènes et qui permet l'étude de génomes entiers, dont celui de l'homme. Les messages structuraux et fonctionnels que l'on peut détecter par comparaison de séquences sont brouillés par un bruit important résultant de la grande interchangeabilité des acides aminés entre eux. Ce moteur de l'évolution peut, au travers de nombreuses mutations spontanées, ne conserver seulement que l'identité d'un acide aminé sur dix tout en conservant à la protéine une structure tridimensionnelle similaire et des fonctions apparentées.

Détecter alors ces conservations à partir des seules séquences est un véritable défi,

La méthode HCA

Basée sur la dualité fondamentale gouvernant la structure des protéines globulaires (coeur interne hydrophobe, surface externe hydrophile) et gérée par des principes simples et généraux, HCA permet, dans l'analyse des séquences de protéines, de filtrer le bruit de fond important issu de la forte et «anarchique» interchangeabilité des acides aminés observée à repliements tridimensionnels sensiblement constants (on estime que pour un domaine globulaire typique de 150 acides aminés, il existe environ 10^{33} combinaisons de séquences très différentes pouvant conduire au même repliement 3D!).

En effet HCA, s'appuyant sur une représentation bidimensionnelle particulière**, permet de visualiser et d'analyser directement la structuration

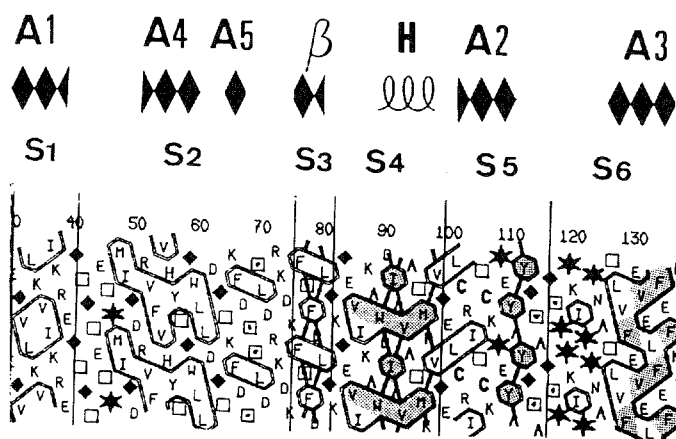


Diagramme HCA du premier domaine de la protéine HBI. La séquence, en code à une lettre (à l'exception de la proline (étoile), de la glycine (losange), de la thréonine (carré) et de la sérine (carré pointé), se lit quasi verticalement, la structuration secondaire régulière associée aux amas hydrophobes (contours) se "lit" alors comme un texte dans le sens horizontal. Les positions probables des brins β et de l'hélice α constituant l'ossature du domaine sont indiquées.

secondaire et en domaine(s) des protéines, véritables «signatures» du repliement 3D. Ceci quelle que soit la classe structurale des protéines étudiées (α , β , $\alpha+\beta$, α/β ou membranaires). Des informations structurales et fonctionnelles particulièrement utiles peuvent ainsi être décelées comme l'illustrent les applications réalisées par de nombreux laboratoires.

De par ses principes de base et ses potentialités, HCA est une approche originale, comparé aux autres méthodes, y compris les plus récentes.

** la représentation α hélicoïdale utilisée avait été proposée dès 1968, pour d'autres usages, mais n'avait pas jusqu'à présent retenu de façon durable l'attention de la communauté scientifique.

relevé pour la première fois en routine par une méthode d'exploitation bi-dimensionnelle des séquences, la méthode Hydrophobic Cluster Analysis (HCA) proposée dès 1987 par le laboratoire de Minéralogie-Cristallographie URA 09 (C. Gaboriaud & coll. (1987), FEBS Lett., 224, 149-151).

Simultanément, HCA se révèle être un outil prometteur pour explorer plus avant la structure et le repliement des protéines et en premier lieu leurs structures secondaires, c'est-à-dire les segments

locaux de repliement régulier hélicoïdaux (hélices α) ou étendus (brins β , éléments des feuillettes β). Une étude récente, réalisée sous l'impulsion de Bernard Henrissat (Centre de Recherches des Macromolécules Végétales, CNRS Grenoble) en donne l'illustration (S. Woodcock & coll. (1992), Prot. Engng., 5, sous presse). Sur une base statistique incontestable, il est démontré qu'il est possible, uniquement à partir des séquences, de localiser les centres de gravité d'une majorité de structures

secondaires régulières (et, par voie de conséquence, ceux des boucles assurant en surface des protéines, la connection entre les structures régulières). Par ailleurs, le support α hélicoïdal constitue le meilleur révélateur des informations structurales inscrites dans les séquences. C'est une étape marquante qui, combinée à d'autres facettes actuellement développées à Paris et à Grenoble, devrait conduire à de nouveaux développements dans un futur proche.

Contact :

Jean-Paul MORNON

Laboratoire de Minéralogie-Cristallographie
Département des Macromolécules Biologiques
UP6-UP7, CNRS - URA 09, 4 place Jussieu, T 16, 75252 Paris cedex 05
Tél. 44 27 45 87 - Fax 44 27 37 85

La protéine HBI (Heat shock binding immunophilin)

Cette protéine identifiée et étudiée par le laboratoire du Pr. E.E. Baulieu (INSERM, U33, Kremlin-Bicêtre) et par le laboratoire de Minéralogie-Cristallographie CNRS URA 09 à Paris Jussieu (I. Callebaut et J.P. Mornon), présente la particularité d'être au carrefour des systèmes endocrinien et immunitaire. Il s'agit clairement d'une protéine «chapelet» constituée de plusieurs domaines successifs. Le premier d'entre eux possède toutes les caractéristiques structurales et fonctionnelles d'une immunophiline, protéine de liaison d'immunosuppresseurs (macrolides naturels utilisés pour prévenir le rejet de greffes). Le second domaine qui conserve une large similarité avec le premier pourrait lier l'ATP.

HCA prévoit qu'un troisième domaine structuralement semblable mais ayant très fortement divergé au niveau de sa séquence, intervient avant le segment terminal de la protéine. Sa fonction demeure inconnue. Cependant, elle pourrait être reliée à la complexation de HBI avec la protéine de choc thermique Hsp90. En effet, cette protéine chaperone associée à HBI se lie elle-même aux récepteurs hormonaux nucléaires activateurs de gènes (récepteurs des hormones stéroïdes). HBI intervient donc aussi directement dans le contrôle du système endocrinien en participant au trafic intracellulaire de protéines essentielles.

UNE RÉUSSITE SUR CLIO

En juillet dernier une équipe de LURE a réussi la synchronisation de CLIO, le laser à électron libre dans l'infra-rouge de LURE, avec un laser YAG à modes bloqués doublé en fréquence.

Cette réalisation, qui conditionne le développement de la spectroscopie non linéaire pour la physico-chimie des

surfaces, ouvre de nombreuses perspectives, par exemple pour l'étude vibrationnelle d'adsorbats par génération de somme de fréquence résonnante dans le domaine spectral étendu de CLIO (2 à 20 microns).

La technique est en effet sélectivement sensible à l'adsorbat, quel que soit son

environnement. Parmi les premières applications actuellement en cours, elle va permettre par exemple, l'étude in-situ de phénomènes interfaciaux en électrochimie. Plusieurs autres possibilités devraient être rapidement testées.