

SWING

En apprendre sur la structure des protéines membranaires

Une modélisation hybride basée sur des données de SAXS

Les protéines membranaires jouent un rôle crucial dans le transport et la signalisation cellulaires, et sont de ce fait des cibles-clés pour de nombreux médicaments. Leur localisation spécifique et leurs propriétés amphiphiles sont autant d'obstacles à l'étude de leurs structures. Sur la ligne SWING, une stratégie a été développée pour s'attaquer à ces protéines réfractaires.

Les protéines membranaires sont des protéines qui sont fonctionnelles au sein des membranes lipidiques qui entourent les cellules biologiques et les compartiments cellulaires. Étant simultanément en contact avec l'intérieur et l'extérieur du compartiment cellulaire, elles jouent un rôle crucial dans le transport et la signalisation cellulaires, et constituent souvent des cibles essentielles des molécules médicamenteuses. Les protéines membranaires ont toutes en commun un domaine structural dont la surface est hydrophobe, ce qui leur permet d'être insérées au sein de la membrane, l'intérieur de celle-ci étant elle-même constituée de chaînes lipidiques hydrophobes. C'est principalement pour cette raison que ce sont des objets notoirement difficiles à étudier. Malgré une augmentation continue, le nombre de structures connues de protéines membranaires (dont une base de données est accessible à l'adresse http://blanco.biomol.uci.edu/Membrane_Proteins_xtal.html) reste inférieur à 2 % du nombre total de structures de protéines, alors qu'elles sont le produit d'environ 30 % du génome. La diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) est une méthode expérimentale qui permet de distinguer

précisément différents modèles structuraux de protéines en solution. Son apport est précieux dans toutes les études structurales, et en particulier celles basées sur la cristallographie des protéines. Cependant, à l'instar des autres techniques, l'étude de protéines membranaires par SAXS n'est pas une tâche aisée.

Celles-ci sont non seulement difficiles à surexprimer, à extraire et à purifier, mais elles doivent aussi être maintenues dans un environnement amphiphile, ce qui empêche de les étudier de manière isolée. Pour être maintenues repliées en solution, les protéines membranaires doivent être associées à des molécules amphiphiles (le plus souvent des détergents, mais des environnements lipidiques sont de plus en plus utilisés), dont les chaînes hydrophobes couvrent la surface transmembranaire de la protéine et la masquent vis-à-vis du solvant (l'eau). Or, lorsque leur concentration atteint des valeurs permettant de dissoudre les protéines membranaires (i.e. supérieures à leur concentration micellaire critique ou cmc), les molécules de détergent s'associent elles-mêmes spontanément en micelles libres, avec un pouvoir de diffusion des rayons X comparable à celui des protéines. La coexistence de particules de

différente nature dans l'échantillon nécessite alors d'employer une stratégie spécifique pour tirer des informations structurales des protéines, une méthode mise au point sur la ligne SWING [1].

Chromatographie d'exclusion de taille en ligne

Pour mettre en œuvre cette stratégie, il est nécessaire d'utiliser un système de chromatographie en ligne (SEC-SAXS). La solution concentrée de protéines (par un processus qui conduit également à concentrer les micelles de détergent) est éluée à travers une colonne pré-équilibrée avec un tampon contenant le détergent. Le processus de chromatographie garantit alors non seulement une concentration en micelles libres autour de la protéine identique à celle du tampon, mais également l'éluion de l'excédent de micelles libres issu de la solution injectée à un volume de rétention différent, généralement supérieur, de celui du complexe protéine-détergent. Les données SAXS collectées sous le pic des protéines peuvent alors être traitées de la même manière que pour une protéine soluble, c'est-à-dire par la soustraction expérimentale des données du tampon collectées juste avant l'éluion.

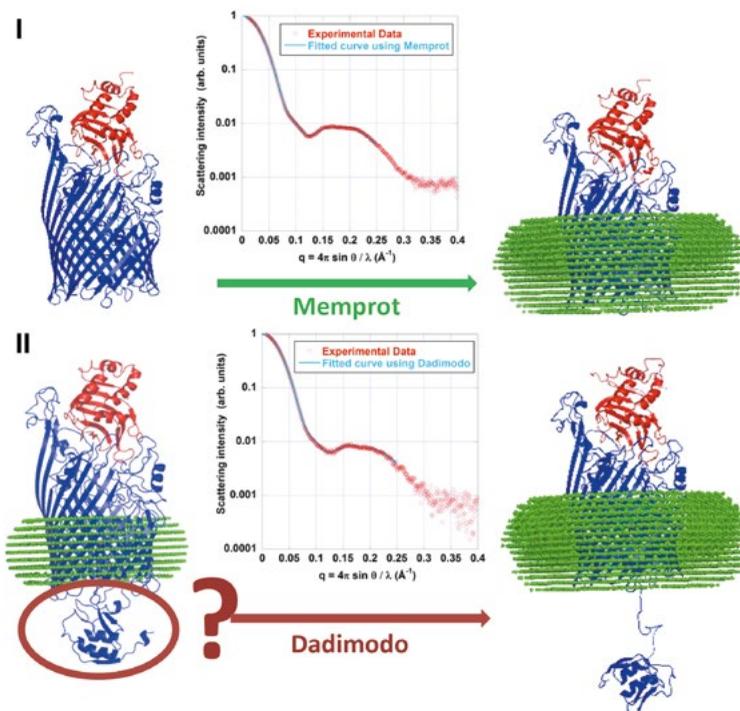


Figure 1. Sur SWING a été développée une stratégie en deux étapes pour modéliser la conformation d'une protéine transmembranaire. Cette stratégie est basée sur une information structurale partielle à haute résolution, et des contraintes expérimentales issues de diffusion de rayons X aux petits angles couplée à un système de chromatographie en ligne.

Un modèle hybride protéine/détergent, grâce à Memprot

La première étape de la stratégie consiste alors à utiliser le programme Memprot développé sur SWING pour modéliser par une approche « gros grain » une couronne de détergent en forme de tore elliptique autour d'une construction de structure atomique connue de la protéine (Fig. 1, partie supérieure). Le programme a été mis au point sur la ligne SWING sur la base de données expérimentales collectées sur l'aquaporine-0, solubilisée en dodécylmaltozide (DDM). L'existence d'un jeu optimal unique de paramètres pour lequel la courbe expérimentale est parfaitement ajustée a pu être montrée, ce qui suggère que l'approche hybride gros grain/structure atomique peut être considérée comme une base fiable de modélisation [2].

Étude des interactions, avec Dadimodo

La seconde étape consiste ensuite à mettre à profit le modèle de la construction connue, pour analyser les interactions (inconnues) de celle-ci avec des partenaires protéiques solubles, qu'il s'agisse de domaines supplémentaires dans la même chaîne ou de protéines distinctes formant un complexe avec la protéine membranaire (Fig. 1, partie inférieure). Ainsi, Wojtowicz *et al.* [3] ont pu étudier les interactions entre le domaine de signalisation périplasmique du transporteur d'hème HasR et sa partie transmembranaire en présence ou en l'absence de l'hémophore extérieur HasA. Étant donné l'absence de symétrie de HasR, la conception de la couronne de détergent a dû être améliorée pour imiter la forme de la protéine dans le plan transmembranaire sans augmenter

pour autant le nombre de paramètres. L'optimisation de la position du domaine de signalisation a été réalisée avec une version spécialement modifiée du programme d'amarrage Dadimodo, basé sur un algorithme génétique et également développé à SOLEIL, qui devrait prochainement être mise à disposition des utilisateurs sur le Web. Les résultats de l'étude indiquent que le domaine de signalisation de HasR se rapproche de la partie principale lorsque la protéine est associée à HasA.

→ **Contact:**
javier.perez@synchrotron-soleil.fr

- Références :
- 1- A. Berthaud *et al.*, JACS (2012), 134, 10080.
 - 2- J. Pérez & A. Koutsioubas, Acta Cryst. (2015), D71, 86.
 - 3- H. Wojtowicz *et al.*, Biochem. J. (2016) 473, 2239.