

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.

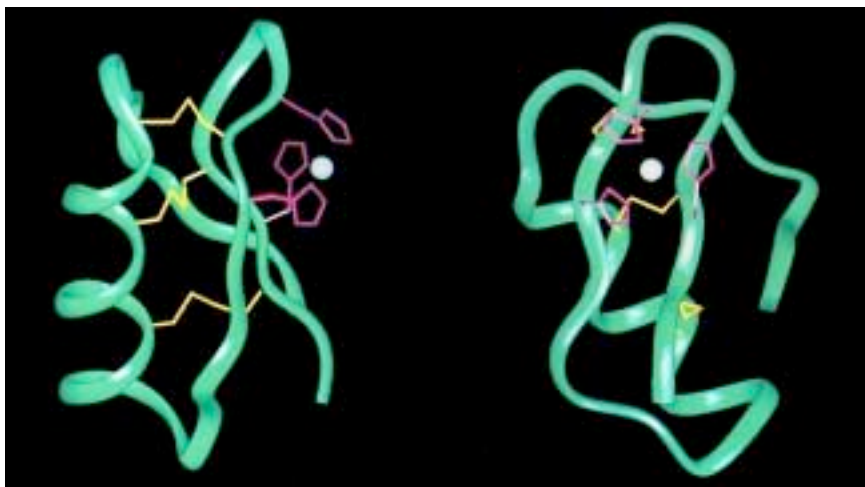
RECRÉER DES SITES

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).

Pollution spatiale

Comment protéger les satellites des débris en orbite autour de la Terre ?

Les «tempêtes de météorites» ne sont-elles que de la science-fiction ? La carte établie par Nicholas Johnson de l'Institut des sciences Kamen détaille les 7 800 des plus grands objets de facture humaine – parmi eux, des satellites morts – qui orbitent autour de la Terre. Le ciel ne va pas encore nous tomber sur la tête, mais il se remplit d'obstacles.

Aucun satellite actif n'a encore été endommagé par collision avec ces déchets spatiaux ; néanmoins, le danger est réel. Les vitesses relatives des objets en orbite autour de la Terre atteignent 15 kilomètres par seconde (la vitesse d'une balle de fusil est inférieure au kilomètre par seconde). Un boulon perdu peut détruire un satellite ou mettre en danger la vie des astronautes.

On distingue, suivant leur taille trois catégories de débris. Les petits débris de taille inférieure au centimètre et qui sont indétectables par les techniques actuelles. Les débris «moyens» de taille comprise entre 1 et 10 centimètres, également indétectables, et contre lesquels il est difficile de se prémunir. Enfin, les «gros» objets, de taille supérieure à 10 centimètres. La plupart de ces derniers sont répertoriés et leurs trajectoires connues.

Si les débris présentent un risque pour les satellites de haute altitude, dans les zones où les astronautes travaillent (autour de 400 kilomètres d'altitude) le frottement sur les couches supérieures de l'atmosphère fait tomber les débris en quelques mois. Pour les navettes spa-

tiales, les débris en orbite ne constituent pas un danger majeur : les collisions avec des petits déchets sont rares et les gros objets sont esquivés par des manœuvres d'évitement.

En raison de sa taille importante et de sa durée de vie prévue (10 ans), la station spatiale internationale actuellement en projet sera menacée. Pour pallier le danger, des blindages protégeront les éléments sensibles de la station (moteurs, zones habitées, etc.) des débris de petite taille. Par ailleurs, à l'instar de la navette spatiale, la station a été conçue pour esquiver les plus gros débris. Il reste les débris moyens qui, indétectables, constituent un risque faible, mais indéniable.

La densité de débris est maximale entre 800 et 1 500 kilomètres d'altitude. Beaucoup plus haut, sur l'orbite géostationnaire, à 36 000 kilomètres d'altitude, les places sont chères et les satellites risquent d'entrer en collision.

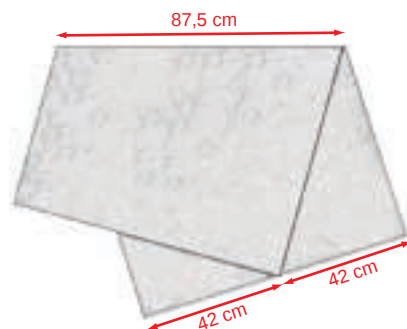
Éliminer la pollution spatiale n'est pas une tâche aisée et il serait souhaitable de ne pas produire de débris. Une source de pollution est la formation des débris résultant de l'explosion de lanceurs : aujourd'hui, on prévient cette pollution en réduisant le nombre des débris et en faisant retomber les étages sur le sol. On nettoie également l'orbite géostationnaire en «réorbitant» les satellites inutiles sur une trajectoire située à 300 kilomètres au-dessus de cette orbite où ils résideront sans constituer une menace pendant des millions d'années. ■

JEU-CONCOURS

par Pierre TOUGNE N°19

PLIAGE ET GÉOMÉTRIE

L'art du pliage réserve des problèmes délicats. Cette feuille pliée a une largeur de 84 cm, et la longueur du pli vaut exactement 87,5 cm. Le coin est au milieu du petit coté opposé. Quelle est la longueur de la feuille ?



Envoyez vos réponses à *Pour la Science*, 8, rue Férou, 75006 Paris. Parmi les réponses reçues en janvier 1996, dix gagnants recevront un livre.

RÉPONSE AU JEU-CONCOURS N°17

Si un nombre d divise ABC , alors il divise $100A + 100B + C$. De même, divisant BCA et CAB , il divise $100B + 10C + A$ et donc $100C + 10A + B$. Dès lors, d doit diviser :

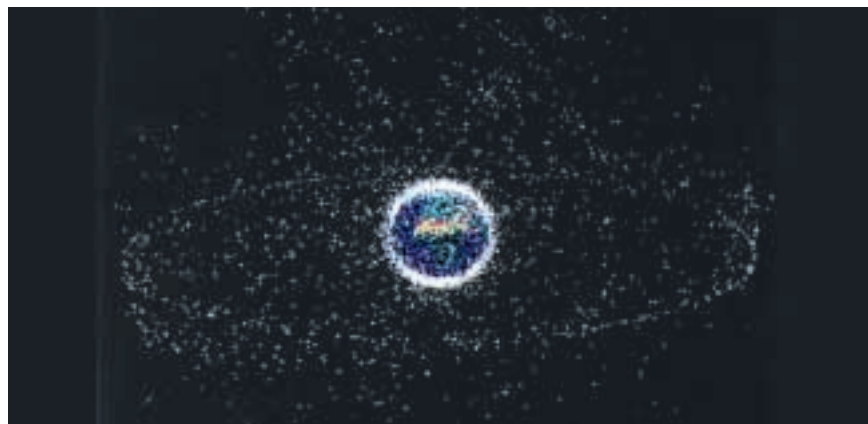
$$10(ABC) - (BCA) = 10(100A + 10B + C) - (100B + 10C + A) = 999A$$

ainsi que

$$10(CAB) - (ABC) = 999C \text{ et } 10(BCA) - (CAB) = 999B$$

Cela étant vrai quels que soient les chiffres A, B et C , d doit diviser 999. Soit $d = 1, 3, 9, 27, 37, 111, 333, 999$. Cependant si $d = 111, 333$ et 999 , cela implique $A = B = C$ solutions que l'on peut considérer comme triviales. Il y a d'ailleurs d'autres cas si $A = B = C$, on doit avoir $kd = 111A$, d'où les solutions triviales, 111, 222, 333, ..., 888, 999.

À propos de la grille de nombres croisés du jeu-concours n° 15, la solution est unique si comme cela est dit dans ses définitions tous les carrés étaient différents. En revanche, si l'on enlève cette condition, plusieurs lecteurs ont montré, à l'aide de programmes informatiques, qu'il y avait 136 solutions.



CARTE DES DÉBRIS de taille supérieure à 10 centimètres orbitant autour de la Terre. Les débris ont été grossis pour une meilleure lisibilité.

Du coton «vert»

La culture de coton naturellement coloré en France.

Les viticulteurs du Languedoc-Roussillon ont le «blues» : ils arrachent 3 000 hectares de vignes par an. Ils pourraient bientôt chanter le «blues», en cultivant du coton, grâce au projet lancé par des agronomes du CIRAD de Montpellier. Les producteurs de rouge ne se convertiront toutefois pas au plus blanc que blanc : leur coton sera vert ou marron. L'absence de teinture polluante dans la chaîne de production sera un argument clé de la commercialisation des produits de cette nouvelle filière. En outre, les couleurs se renforceraient plutôt au lavage.

Le cotonnier est un arbuste vivace dont les fruits, les capsules, contiennent des fibres, que l'on file : une seule capsule fournit jusqu'à 30 mètres de fil. Depuis deux siècles, les agronomes ont sélectionné les espèces qui fournissent les meilleurs rendements et les fibres les plus longues possible. Ils ont aussi décoloré le coton : alors que les espèces sauvages produisent des fibres aux couleurs pastel variées, le coton de *Gossypium Hirsutum*, l'espèce la plus cultivée dans le monde, est blanc. Il est facilement teint pour répondre à la demande colorée changeante des industriels et des consommateurs.

Comment colorer le coton en conservant les avantages de *Gossypium Hirsutum*? La couleur des fibres dépend d'un seul gène, qui contrôle la production par la plante d'un colorant de la cellulose des fibres. Les allèles qui produisent des fibres colorées sont tous dominants sur celui qui produit des fibres blanches : si l'on féconde un plant «blanc» avec le pollen d'un plant «coloré», les graines résultantes produisent des plants à fibres colorées. Afin de conserver les autres caractéristiques de l'espèce «blanche», l'hybride ainsi obtenu est utilisé pour féconder à nouveau un plant «blanc», et ainsi de suite jusqu'à la quatrième génération.

L'idée de cultiver du coton en France date vraisemblablement du blocus continental, imposé par Napoléon à la Grande-Bretagne et à ses importations coloniales. Les dernières tenta-



Le coton naturellement coloré rend inutile la teinture. En Languedoc-Roussillon les cultures expérimentales laisseront la place à une production à grande échelle en 1998.

tives remontent aux années 1950. Les espèces utilisées étaient toutefois trop difficiles à cultiver : les rendements n'étaient pas assez réguliers. Le cotonnier ne pousse que si la température extérieure est supérieure à 12 °C. Il a aussi besoin, au moment de son développement végétatif, d'apports suffisants en eau. En outre, tout au long de la culture, il faut maintenir un juste équilibre entre le développement des branches et des feuilles, qui assurent la photosynthèse, et celui des fruits. Les agronomes du CIRAD achèvent aujourd'hui la définition des techniques de culture et des traitements à réaliser. Ils visent un rendement moyen de deux tonnes de coton non égrené à l'hectare.

La production de coton coloré débutera à grande échelle en 1998. Des usines d'égrenage seront construites pour séparer les fibres des graines, et de grandes surfaces seront plantées en cotonniers : 1 500 à 5 000 hectares sont nécessaires pour alimenter une usine. Les producteurs de fil devront aussi promouvoir ce nouveau produit, respectueux de l'environnement, mais plus cher que le coton blanc : aujourd'hui, le kilogramme de coton coloré non égrené coûte environ 25 francs, contre quatre francs pour le coton blanc. Si le coût de la teinture inclut celui de la dépollution, l'écart de prix entre les tissus teints et ceux de couleur naturelle est toutefois faible. Des réglementations anti-pollution établiraient une concurrence équitable entre les deux types de produits. ■

Un contrat de thèse

La clarification des relations entre les doctorants et leur encadrement valoriserait le doctorat.

Le doctorat se porte mal. Est-ce une crise de croissance ? Le nombre de nouveaux diplômés augmente chaque année, mais pas le nombre d'emplois correspondant à leurs compétences. La valorisation de la formation par la recherche, auprès des employeurs qui la méconnaissent, requiert une clarification de son contenu. La création d'un contrat de thèse réglant les droits et les devoirs du doctorant et du directeur de thèse le permettrait. Ce contrat, qui engagerait aussi l'université, décrirait la formation acquise pendant la préparation de la thèse : il faciliterait l'insertion des docteurs dans le monde professionnel non académique.

Environ 9 000 doctorats ont été soutenus en 1993. Le nombre d'emplois offerts correspondant à cette qualification atteint à peine 7 000 : 3 000 dans l'enseignement supérieur et la recherche, 1 100 dans le secteur privé, 1 000 dans l'enseignement secondaire et les administrations, et 1 400 dans les pays d'origine des docteurs étrangers. En outre, environ 2 500 docteurs sont actuellement en stage postdoctoral à l'étranger : ils reviendront un jour chercher un emploi en France. Les universités françaises produisent un «surplus» annuel de 1 500 à 2 000 docteurs, près de 20 pour cent. Que deviendront-ils ? C'est la survie même du système de formation par la recherche qui est menacée par cette inadaptation.

Paradoxalement, les besoins en docteurs existent. Pour les universités, les étudiants des premier et second cycles l'ont fait savoir ces dernières semaines en réclamant plus d'enseignants. Les grandes entreprises, ainsi que les PME, sont encouragées, au moins verbalement, à innover et à faire de la prospective pour maintenir et développer leur compétitivité internationale. Dans son rapport annuel sur l'évaluation de la politique nationale de recherche et de développement techno-

logique, publié en septembre 1995, le Conseil supérieur de la recherche et de la technologie affirme que l'effort de formation doctorale doit être maintenu.

Dans ce contexte, que peut faire la communauté scientifique ? Réclamer des créations de postes peut-être, améliorer la qualité de la formation par la recherche sans doute. La mauvaise définition du sujet de recherche, l'indisponibilité ou la démotivation de l'encadrement, l'absence d'insertion dans la vie sociale et scientifique du laboratoire et l'absence de relations avec le monde extra-académique pénalisent le doctorant et engen-



drent des gaspillages d'argent et de ressources humaines.

Un contrat de thèse, qui lierait le doctorant, le directeur de thèse et le directeur du laboratoire au travers d'un projet scientifique cohérent et clair, remédierait à ces dysfonctionnements et valoriserait la formation auprès des entreprises. Ce contrat préciserait le sujet de la thèse, sa place dans le projet scientifique du laboratoire, son caractère novateur, ainsi que les éventuels partenaires industriels. Le laboratoire indiquerait les moyens de travail alloués au doctorant, les attentes à son égard et les possibilités d'enseignement et de formation pédagogique.

UNE JUSTE RÉMUNÉRATION

La préparation d'un doctorat est une activité professionnelle à plein temps : le doctorant doit être financé et disposer d'une couverture sociale complète. Le contrat de thèse préciserait le montant du salaire ou de l'allocation, ainsi que les droits sociaux. Sur ce chapitre des droits, les modalités de représentation des doctorants au sein des instances locales (conseil de laboratoire, conseil scientifique) devraient être clarifiées.

Le contrat s'achèverait par la soutenance de la thèse et l'obtention du diplôme, ou par l'abandon avant terme. Dans le premier cas, la soutenance serait décidée par le directeur de thèse en accord avec tous les signataires du contrat. Celui-ci serait complété par les rapports scientifiques, le mémoire de soutenance, la description des formations complémentaires et les éventuels autres diplômes obtenus. Le contrat décrirait alors complètement le doctorat. En cas d'abandon avant terme, les cosignataires en partageraient la responsabilité. Les motifs de cette rupture seraient fournis, indépendamment, par les différentes parties, au responsable de la formation doctorale.

Pour améliorer les conditions d'encadrement, la limitation du nombre de doctorants simultanément encadrés par un même chercheur habilité est nécessaire. La formalisation de la présence d'un doctorant au sein d'un laboratoire par la signature d'un contrat le favoriserait et permettrait d'inclure la contribution à la formation dans l'évaluation des chercheurs et des unités de recherche.

Pour prévenir et gérer les éventuels conflits, un médiateur, ou parrain, extérieur au laboratoire, cosignerait le contrat de thèse. Il responsabiliserait aussi le doctorant sur son projet de carrière. Le recrutement de parrains issus du milieu industriel serait une étape de plus vers l'amélioration du transfert de docteurs vers le secteur privé, non nécessairement lié à la recherche.

William El Kaïm
doctorant à l'Université Paris 6
membre du groupe Hot-Docs

Ces réflexions résument des propositions du rapport Hot-Docs. Le groupe Hot-Docs a une adresse sur Internet : <http://www-masi.ibp.fr/guille>