

forme et à adopter la conformation pathogène : ce serait un moyen d'assurer sa multiplication. Cela expliquerait pourquoi les maladies à prions sont transmissibles, pour autant que les prions ingérés avec les aliments parviennent au cerveau.

Selon le modèle de S. Prusiner, une protéine PrP normale et un prion pathogène s'assembleraient pour former un hybride et se sépareraient lorsque la conformation anormale serait transmise. À chaque nouveau cycle, les molécules infectieuses devraient doubler, mais ce n'est que lorsque leur concentration est suffisante qu'elles s'assembleraient en longues chaînes, c'est-à-dire en fibrilles amyloïdes (voir la figure 2).

Peter Lansbury et ses collègues de la faculté de médecine, de l'Université Harvard, à Cambridge, ont proposé un autre modèle, dit de la formation de germes. Les deux formes de protéines seraient en équilibre thermodynamique, passant d'une forme à l'autre ; dans le cas normal, l'équilibre serait déplacé vers la forme «saine» qui prédominerait. C'est seulement lorsque plusieurs molécules anormales parviendraient à constituer un germe de polymérisation, qu'elles formeraient alors un piège à prions pathogènes, déplaçant l'équilibre. Parfois, les amas en croissance se rompent et forment de nouveaux germes de polymérisation, assurant une multiplication rapide des germes.

L'équipe de Manfred Eigen, à l'Institut Max Planck de chimie-physique et biologie, à Göttingen a analysé en détail la cinétique de ces modèles (voir *L'énigme des prions*, page 86 à 91). Toutefois, personne n'a encore réussi à reproduire le modèle sur de véritables molécules : on ignore encore comment produire, par génie génétique, un prion qui adopterait d'emblée la conformation anormale.

D'après des expériences réalisées par l'équipe de S. Prusiner sur des souris transgéniques, un facteur complémentaire – un cofacteur – semble nécessaire au changement de conformation. Ces facteurs pourraient être des protéines chaperonnes, qui, naturellement, aident les protéines à se replier correctement. Elles participeraient au dépliement des protéines mal conformées, mais les protéines dépliées, échappant à la vigilance de leurs protéines chaperonnes, adopteraient la conformation pathogène au lieu de la conformation normale.

Ensuite, la conformation anormale étant très stable, les prions pathogènes échapperaient à tout traitement correcteur. Ainsi, contrairement à leur mission, les protéines chaperonnes favoriseraient la conformation pathogène en abaissant la barrière énergétique qui doit être franchie lors de la transformation d'une forme repliée en une autre.

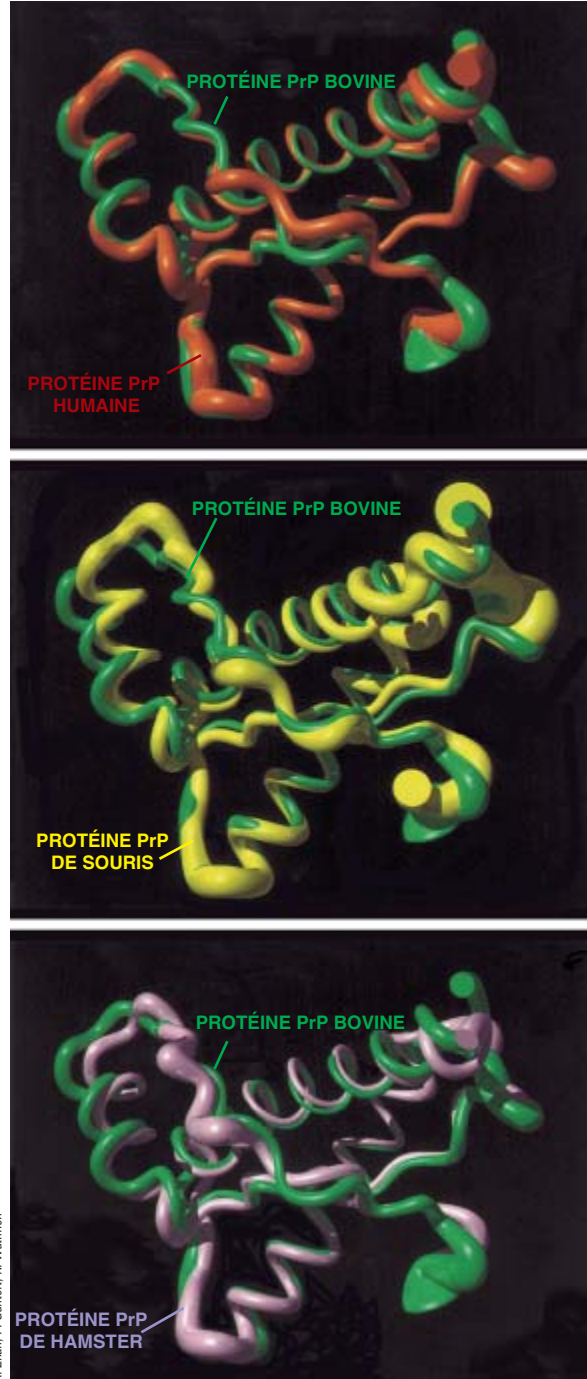
Une protéine à queue mobile

Les détails de la transformation d'une protéine PrP cellulaire inoffensive en un prion infectieux restent encore mystérieux. Pour les préciser, on doit d'abord déterminer la conformation spatiale des deux formes de protéines. On pourrait alors étudier pourquoi et comment la protéine PrP normale se convertit en prion pathogène.

Depuis 1996, nous étudions la structure de ces protéines. Nous travaillons sur une protéine produite par des bactéries modifiées qui absorbent du carbone 13 et de l'azote 15. Ces isotopes nous permettent de déterminer la structure spatiale de cette protéine par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, ou RMN. Connaissant la structure d'une protéine, on en déduit son mécanisme de repliement et ses interactions avec d'autres protéines.

En collaboration avec Francisco Lopez Garcia et Kurt Wüthrich, nous avons récemment élucidé la structure tridimensionnelle des protéines PrP «saines» d'origines bovine et humaine (voir la figure 3). Les deux protéines ont une longue terminaison mobile – une queue –, attachée à un «corps», plutôt sphérique, comprenant trois segments enroulés en hélices alpha et un élément en forme de tôle ondulée (les feuillets bêta).

Nous avons également découvert les mouvements de la queue, très mobile, de la protéine (voir la figure 1). Les protéines ont rarement de telles terminaisons dépourvues de structure fixe, et cette particularité pourrait jouer un rôle – que nous ignorons encore – dans la fonction normale de la protéine PrP. Nous n'avons pas encore identifié le rôle de la protéine normale, car, chez la souris, l'élimination totale du gène qui la code n'a aucune conséquence : les souris se développent normalement. Quoi qu'il en soit, nous savons que cette protéine est surtout



3. LA COMPARAISON DES PROTÉINES PrP de différentes espèces animales révèle les différences et les ressemblances. La protéine PrP bovine (en vert) a une silhouette plus proche de celle de la protéine PrP humaine (en rouge) que de celle de la protéine PrP de la souris (en jaune) ou du hamster (en violet). Les molécules ont été représentées sans leur région mobile. La grande similarité des protéines humaine et bovine aurait favorisé la transmission de l'encéphalopathie spongiforme bovine à l'homme.

présente dans le système nerveux, et qu'elle se fixe sur la surface externe des neurones au moyen d'un sucre, lié à l'acide aminé placé en fin de chaîne, à la position 230.

La protéine participe peut-être à la transmission des signaux entre neurones voisins, car elle est présente sur les synapses, les zones de contact entre neurones. Peut-être intervient-elle

LA TERRE

50 expériences pour découvrir



Comment naissent les dunes ?
Comment une rivière creuse-t-elle une vallée ?
Comment se forment les grottes ?
Pourquoi les pierres éclatent-elles sous le froid ?
Ce livre propose une série d'expériences pour comprendre comment le vent, la pluie, la glace, les cours d'eau modèlent le visage de la Terre.

ANDRÉ PROST est géologue, ancien enseignant à l'université d'Orléans et à Paris VI, et ingénieur au Bureau des Recherches Géologiques et Minières à Orléans.

Code 002401-100 F-128 pages

Voir bon de commande page 98

BELIN • POUR LA SCIENCE

dans le transport des ions cuivre à travers la membrane, car la partie mobile de la protéine présente une forte affinité pour ces ions, importants pour le fonctionnement de certaines enzymes qui protègent les cellules contre le stress oxydatif.

Séquences superflues, séquences clés

Malheureusement, on ne peut pas encore analyser le prion pathogène, car les fibrilles ont tendance à s'agréger, ce qui interdit leur analyse aux rayons X ou par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, laquelle n'est pas utilisable pour les grosses protéines en solution, qui, de surcroît, sont insolubles. L'équipe de C. Weissmann a réussi à repérer les zones de la protéine PrP normale qui ne sont pas indispensables à la conversion en prion pathogène. Ils ont produit des souris chez qui certaines séquences du gène codant la protéine PrP avaient été éliminées. La délétion d'un long fragment constitué des acides aminés 23 à 88 de la queue flexible n'avait aucune conséquence : les animaux pouvaient toujours être infectés par le prion.

En revanche, quand la protéine était raccourcie encore davantage, les souris devenaient résistantes, comme si elles ne synthétisaient plus du tout de protéine PrP normale. Dès 1993, l'équipe de S. Prusiner avait montré que de longues séquences de la protéine PrP normale adoptent une structure en feuillets bêta, lors de la conversion en prion pathogène. Il s'agit notamment de la séquence des acides aminés 90 à 120 de la terminaison libre, qui, une fois repliée en feuillets bêta, résiste aux enzymes protéolytiques. Outre les questions que posent encore la structure de la protéine PrP normale et celle du prion pathogène, reste une autre question ouverte : comment un prion d'une espèce peut-il se transmettre à une autre espèce et devenir pathogène ?

Pour comprendre comment les barrières d'espèces peuvent être franchies, les biologistes ont d'abord injecté des prions directement dans le cerveau de différents animaux de laboratoire. Ainsi, des hamsters ont reçu des prions extraits de cervelles de souris contaminées ; ils sont devenus malades après une durée d'incubation d'environ 380 jours. La durée d'incubation pour des souris à qui l'on aurait injecté les mêmes prions aurait été trois fois

plus courte. La durée d'incubation pour une transmission de prions de hamster à d'autres hamsters n'est que de 60 jours, et les souris résistent aux prions de hamster. Ainsi, l'efficacité de la barrière d'espèce dépend à la fois de l'espèce réceptrice et de l'origine des prions. Elle pourrait être franchie quand les prions transmis et ceux de l'espèce réceptrice interagissent.

Nous nous sommes demandé dans quelle mesure la structure des protéines PrP normales participe à l'efficacité de la barrière d'espèce. Nous avons comparé des structures modélisées des protéines PrP de la souris, du hamster, de la vache et de l'homme. Nous avons ensuite montré que les protéines PrP normales de la souris, du hamster et de la vache présentent, localement, des différences. Cela expliquerait pourquoi on peut transmettre expérimentalement l'encéphalopathie spongiforme bovine à la souris et au hamster, et confirmerait qu'il existe tout de même une barrière d'espèce plus ou moins élevée. Les protéines de la vache et de l'homme ont une ossature presque identique. Pour autant, cela signifie-t-il qu'il n'y a pas de barrière d'espèce pour la transmission du prion bovin à l'homme ?

L'évaluation des risques

Une protéine n'a pas seulement un «squelette», elle a aussi une «musculature» : les résidus d'acides aminés. C'est pourquoi nous avons simulé sur ordinateur les surfaces – les rondeurs – des protéines PrP normales humaine et bovine. Nous avons fait apparaître les charges électrostatiques de surface (voir la figure 4). Les deux protéines ont des ossatures semblables (seuls huit acides aminés diffèrent), mais les répartitions des charges présentent 21 différences. Ainsi, la protéine PrP bovine normale porte en un site une charge négative, absente dans la version humaine. Inversement, la molécule humaine porte plusieurs charges négatives absentes de la protéine bovine. Ces différences de charges électriques de surface expliquent vraisemblablement – du moins en partie – la barrière d'espèce qui protège l'homme de l'encéphalopathie spongiforme bovine.

Malheureusement, on ne sait pas préciser davantage les risques encourus, et les estimations de l'ampleur de l'épidémie due au nouveau variant

PROTÉINE PrP BOVINE

PROTÉINE PrP HUMAINE

CHARGE POSITIVE

ZONE DE NEUTRALITÉ ÉLECTRIQUE

CHARGE NÉGATIVE

4. LA RÉPARTITION DES CHARGES DE SURFACE des protéines PrP humaine et bovine diffère. Les flèches jaunes indiquent les domaines chargés négativement (en rouge) dans la protéine PrP humaine, mais qui sont absents de la protéine PrP bovine. Au contraire, les flèches

blanches montrent des charges négatives présentes sur la protéine PrP bovine et absentes de la protéine humaine. Ces différences renforcent sans doute la barrière d'espèce entre l'homme et la vache, et limite la transmission de l'encéphalopathie spongiforme bovine à l'homme.

de la maladie de Creutzfeldt-Jakob varient notablement : dans le meilleur des cas, quelques centaines de personnes seraient atteintes ; dans le pire, plus de 100 000 personnes auraient déjà été contaminées. Jusqu'à présent, toutes les victimes avaient des spécificités génétiques qui se retrouvent chez 35 pour cent des Européens : la susceptibilité à la maladie différerait d'une personne à l'autre.

En Grande-Bretagne, probablement 750 000 bovins infectés sont entrés dans la chaîne alimentaire. Les tissus et les organes sont plus ou moins infectieux. Lorsque la maladie est déclarée chez l'animal, le cerveau, la moelle épinière et les yeux contiennent de grandes quantités de prions : près d'un milliard de protéines pathogènes par gramme de tissus. C'est également le cas de la moelle osseuse, des ganglions lymphatiques, des amygdales, de certaines parties de l'intestin grêle et du gros intestin, ainsi que de la rate et des glandes surrénales : environ un million de prions par gramme. En revanche, on n'a jamais réussi à détecter de prions dans le lait ou dans les muscles. Toutefois, lors de l'abattage et de la préparation, des

prions risquent d'être transmis par des couteaux ou par des scies contaminés à des morceaux de bœuf normalement sains. Les produits d'origine bovine sont également utilisés en dehors de l'industrie agroalimentaire : 70 pour cent des produits pharmaceutiques contiennent des extraits bovins, notamment de la gélatine. Néanmoins, son utilisation semble être sans risque, en raison des procédés de fabrication et de surveillance mis en œuvre.

Aujourd'hui, les tests rapides de dépistage de l'encéphalopathie spongiforme bovine utilisés sur les animaux abattus n'offrent pas une sécurité totale, car ils détectent le prion seulement lorsque sa concentration cérébrale est

élevée. Plusieurs équipes recherchent des tests beaucoup plus sensibles de détection du prion chez l'animal. La sensibilité requise dépendra du nombre de prions nécessaires pour infecter un être humain, ce qui n'est pas encore connu. Toujours est-il qu'une vache peut être contaminée par l'ingestion de seulement un gramme de cervelle infectée.

Pour juguler la crise de l'encéphalopathie spongiforme bovine, nous devons continuer à étudier l'agent pathogène et à élucider sa structure interne. C'est sur ces seules bases que l'on pourra développer des méthodes diagnostiques performantes, ainsi que des médicaments efficaces contre la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

Ralph ZAHN mène ses recherches à l'Institut de biologie moléculaire et de biophysique de l'École Eidgenössischen Technische Hochschule, à Zurich.

Stanley PRUSINER, *Prions*, in *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 95, pp. 13 363-13 383, 1998.

Ralph ZAHN, *Prion propagation and molecular chaperones*, in *Quarterly*

Reviews of Biophysics, vol. 32, pp. 309-370, 1999.

Hans KRETZSCHMAR et al., *Function of PrP^c as a copper-binding protein at the synapse*, in *Archives of Virology*, suppl. 16, pp. 239-249, 2000.

Adriano AGUZZI et al., *Prions : pathogenesis and reverse genetics*, in *Annual Reviews of the New York Academy of Sciences*, vol. 920, pp. 140-157, 2000.