

## Biologie ultrarapide

**Une réaction enzymatique a été «photographiée» grâce à des impulsions laser ultrabrèves.**

**D**urant la lecture de cet article, de la perception des mots à la compréhension du sens, votre organisme est le siège de millions de réactions enzymatiques : des molécules seront transformées, liées ou dissociées par des protéines. Ces dernières, de la classe des enzymes, accélèrent des réactions chimiques qui seraient normalement très lentes. L'équipe INSERM de Jean-Louis Martin, à l'École polytechnique, a utilisé des «lasers femtosecondes», c'est-à-dire dont les impulsions se mesurent en milliardièmes de milliardièmes de seconde), pour étudier les mécanismes de l'une d'entre elles.

Lors d'une réaction enzymatique, une molécule, nommée substrat, se lie au site actif d'une enzyme. Pendant un bref instant, l'enzyme et le substrat se modifient et adoptent une nouvelle conformation. Puis, le substrat transformé chimiquement par cette interaction est libéré ; l'enzyme retrouve son état initial, la réaction est terminée. Lors de la courte étape intermédiaire, le complexe enzyme-substrat est dans un état dit de transition pendant quelques centaines de femtosecondes (milliardièmes de milliardièmes de seconde) ; le complexe évolue alors selon les vibrations des atomes et la probabilité de réarrangement des électrons. Pour comprendre le fonctionnement d'une enzyme, on doit analyser cet état de transition fugace et déterminer les événements moléculaires de la réaction enzymatique.

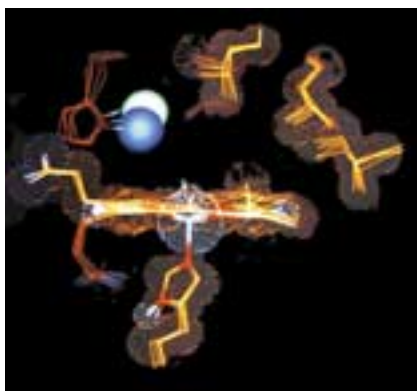
J.-L. Martin et ses collègues ont analysé les états de transition au sein de la

cytochrome oxydase, une enzyme qui, pour évacuer les électrons produits pendant la synthèse cellulaire d'énergie, réduit une molécule d'oxygène en molécule d'eau.

Pour cette étude, les biophysiciens éclairent la molécule d'enzyme par une impulsion d'un laser ultrarapide ; puis ils utilisent les impulsions suivantes du même laser pour effectuer une «spectroscopie» de la molécule. L'analyse spectroscopique détermine la position des différents atomes en examinant les rayons lumineux partiellement absorbés et déviés lorsqu'ils traversent l'enzyme et les molécules liées à celle-ci.

Les molécules diatomiques, tels l'oxygène ( $O_2$ ), mais aussi le monoxyde de carbone (CO) ou le monoxyde d'azote (NO), que produit l'organisme en petite quantité, se fixent sur le site actif de l'enzyme, soit sur un atome de fer, soit sur un atome de cuivre.

Ainsi l'oxygène moléculaire se fixe à l'atome de cuivre, puis à l'atome de fer avant d'être transformé en eau qui se détache de l'enzyme. Toutefois, les trois réactions sont spontanées : à un instant donné, les enzymes observées dans un milieu réactionnel sont dans des états différents, ce qui rend l'étude spectroscopique impossible.

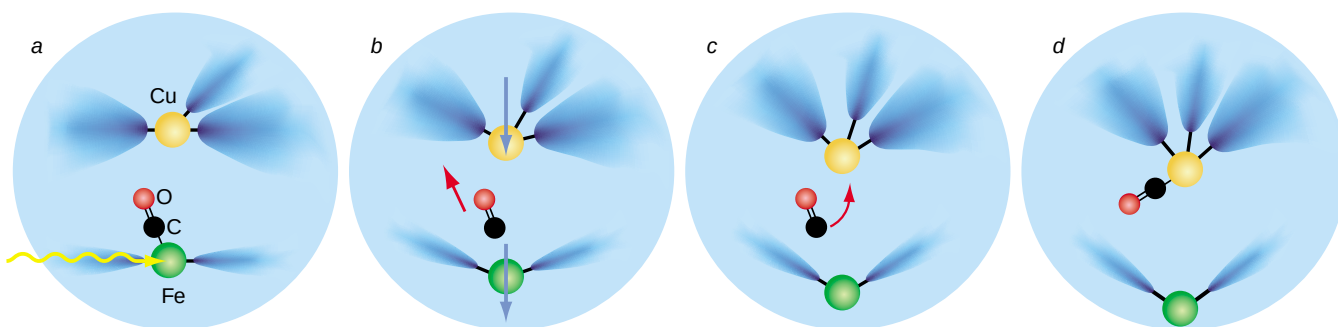


Aussi, les biophysiciens ont utilisé le monoxyde de carbone : celui-ci se fixe à l'atome de fer, mais, à l'inverse de l'oxygène, il ne se détache et ne rejoint l'atome de cuivre que s'il reçoit de l'énergie. Cette énergie est apportée par une impulsion laser qui déclenche la réaction.

Dans l'obscurité, les molécules de monoxyde de carbone sont liées à l'atome de fer. Puis, la première impulsion laser provoque la rupture de cette liaison en moins de 50 femtosecondes. Le monoxyde de carbone est alors éjecté, tandis que la partie du site actif à laquelle il était fixé se déforme. Simultanément, la partie du site actif qui porte l'atome de cuivre rapproche celui-ci du monoxyde de carbone qui subit une translation, suivie d'une rotation, lesquelles le placent dans une position propice à l'établissement d'une liaison avec l'atome de cuivre (voir la figure).

J.-L. Martin et ses collègues ont mesuré que le transfert du monoxyde de carbone s'effectue en 350 femtosecondes avec une probabilité de 85 pour cent à la première tentative : une telle réussite montre que la dissociation créée, au sein de l'enzyme, des mouvements cohérents qui optimisent le déplacement du monoxyde de carbone de l'atome de fer à l'atome de cuivre. En l'absence de ces mouvements internes, le substrat ne se déplacerait que par diffusion dans la cavité du site actif. La vitesse du transfert mesurée dans la cytochrome oxydase est bien supérieure à celle d'une diffusion.

Naguère la théorie était le seul moyen, peu efficace, d'étudier ces états de transition. Grâce aux lasers femtosecondes, les biochimistes photographient les états de transition des réactions enzymatiques qu'ils étudient depuis des années. Ainsi, on conçoit de façon rationnelle des inhibiteurs ou des activateurs spécifiques fondés sur la dynamique de l'enzyme et non plus seulement sur sa structure.



Dans l'enzyme cytochrome oxydase, le site actif (zones foncées du disque clair, lequel représente une partie de l'enzyme) a un atome de cuivre (en orange) et un atome de fer (en vert) capables de fixer un substrat, tel le monoxyde de carbone (en rouge et noir). Lorsque ce dernier est lié à l'atome de fer (a), l'impulsion lumineuse d'un laser femtoseconde libère le monoxyde de carbone. Le changement de conformation de l'enzyme (flèches bleues) rapproche l'atome de cuivre

du monoxyde de carbone qui, après une translation (b) et une rotation (c), s'y lie (d). Le monoxyde de carbone sera ensuite libéré. La modélisation (en haut) est formée de la superposition de conformations, espacées dans le temps de 50 femtosecondes, de l'hémoglobine, une protéine dont le site de fixation est semblable à celui de la cytochrome oxydase, après la dissociation du monoxyde de carbone (en sphères pleines).

# Où sont-ils?

**IAN CRAWFORD**

*Malgré des années de recherche, aucune intelligence extraterrestre n'a été trouvée. Serions-nous seuls dans la Galaxie?*

**C**ombien d'autres civilisations l'Univers abrite-t-il? Plusieurs découvertes ont ravivé l'intérêt pour cette question fascinante. En premier lieu, l'existence de planètes hors de notre Système solaire est désormais avérée.

Ces cinq dernières années, les astronomes ont découvert des planètes d'une masse proche de celle de Jupiter autour d'une quarantaine d'étoiles analogues au Soleil. Ils n'ont pas trouvé de planètes de type terrestre – les instruments n'étant pas encore assez sen-

sibles –, mais ces dernières sont vraisemblablement aussi nombreuses que leurs grandes sœurs. Si l'on admet que les planètes sont nécessaires à la genèse et à l'évolution de la vie, ces découvertes confortent l'idée de l'omniprésence de la vie dans l'Univers.

La vitesse incroyable à laquelle la vie s'est établie sur notre planète corrobore également cette idée. En 1993, William Schopf, de l'Université de Los Angeles, a trouvé des bactéries fossilisées dans des roches d'Australie vieilles de 3,5 milliards d'années. Ces

organismes relativement complexes étaient le fruit d'une longue évolution. Ainsi, si la vie est née sur Terre, elle a dû y apparaître il y a environ quatre milliards d'années. Or, la Terre elle-même s'est formée il y a 4,6 milliards d'années : l'apparition rapide de la vie (à l'échelle des temps géologiques) indique que cette première étape est relativement facile à franchir. Selon le biochimiste belge Christian de Duve (prix Nobel de chimie en 1974), l'apparition de la vie est quasi inéluctable partout où les conditions physiques

