

animales avaient transmis l'encéphalopathie aux bovins (toutefois, cette hypothèse n'a pas été formellement démontrée).

Dès 1967, Tikvah Alper, de l'Hôpital Hammersmith de Londres, avait découvert que des extraits cérébraux de moutons malades restent infectieux même après avoir été traités par des rayons ionisants de faible longueur d'onde. La dose utilisée aurait normalement dû détruire tout matériel génétique constitué d'acides nucléiques, ou du moins l'endommager. Cet échec était très étonnant, car, d'après les connaissances de l'époque, tous les agents infectieux étaient censés contenir du matériel génétique composé d'acides nucléiques. John Griffith, à Londres, proposa alors une hypothèse quasi hérétique : l'agent responsable de la tremblante serait constitué en partie, voire en totalité, de protéines. Par la suite, des expériences similaires, réalisées avec des extraits cérébraux de personnes décédées de la forme classique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, semblèrent confirmer l'hypothèse. Toutefois, la plupart des spécialistes pensaient qu'il s'agissait plutôt d'une espèce particulière de virus.

Ce fut Stanley Prusiner et ses collègues de l'Université de Californie, à

San Francisco, qui précisèrent la nature biochimique de l'agent de la tremblante du mouton. Au début des années 1980, ils montrèrent que «l'agent infectieux» est constitué de protéines et de quelques sucres. S. Prusiner donna à l'agent infectieux le nom de protéine prion.

Pour devenir infectieuse, la concentration en protéines prions doit atteindre environ 100 000 molécules. Avec des méthodes extrêmement sensibles, Detlev Riesner et ses collègues de l'Université de Düsseldorf n'ont mis en évidence aucun matériel génétique. D'après leurs essais, on peut exclure qu'il n'y a, parmi les 100 000 molécules d'une protéine prion, pas plus d'une molécule d'acide nucléique de plus de 80 nucléotides. Un fragment aussi court ne pourrait pas coder une protéine. À titre de comparaison, les plus petits virus contiennent plusieurs milliers de nucléotides.

Dès lors, comment les prions se multiplient-ils, sans informations génétiques classiques ? Il ne faisait aucun doute qu'ils se reproduisent, puisqu'après une injection intracérébrale de prions de la tremblante à des hamsters de laboratoire, la quantité détectée dans le cerveau des animaux qui deviennent malades est notablement supérieure à la quantité injectée. En

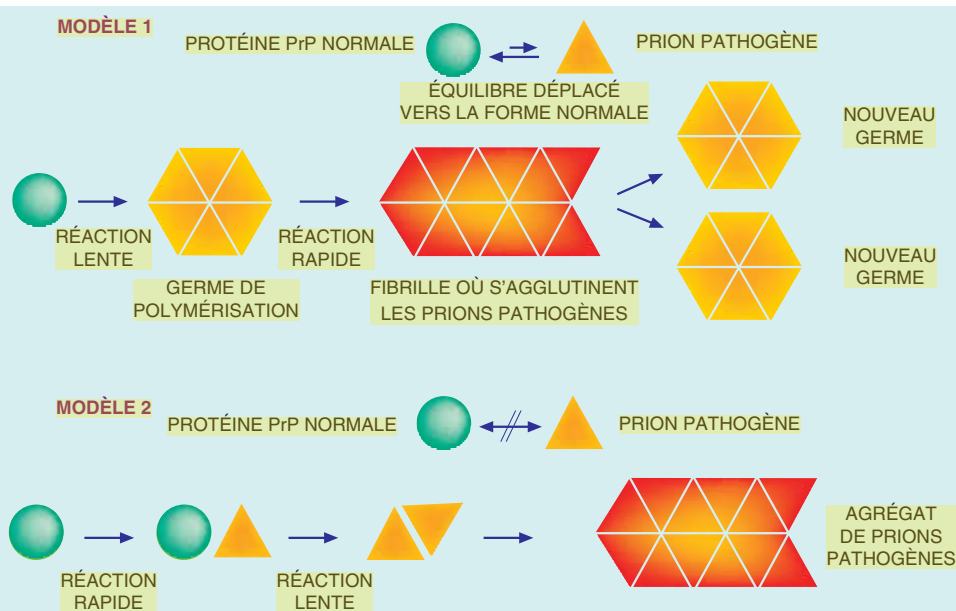
1985, Charles Weissmann, à Londres, découvrit que les hamsters contaminés, mais également leurs congénères sains, produisent leur propre protéine normale. Alors, on distingua deux formes : la forme cellulaire normale, PrP^C, et la forme pathogène, infectieuse, PrP^{Sc}, C pour cellule et Sc initialement pour scrapie, mais ensuite pour toutes les maladies à prions. Quelles sont les différences entre les deux formes ? En ce qui concerne la composition, aucune. En revanche, l'arrangement géométrique est spécifique de l'une ou de l'autre des deux formes.

Alors que la protéine PrP «saine», inoffensive, se dissout dans l'eau, les prions «pathogènes» s'agglomèrent en filaments. Dans le cerveau des patients atteints de la maladie de Creutzfeldt-Jakob ou d'animaux contaminés par des maladies à prions, ces filaments forment de véritables grumeaux. De surcroît, contrairement aux protéines PrP normales, les prions pathogènes sont extrêmement résistants aux enzymes qui découpent les protéines, les protéases. Cela signifie qu'une fois formées, les plaques amyloïdes ne peuvent pratiquement plus être éliminées du cerveau, et que les prions infectieux ingérés avec les aliments ne sont pas découpés dans le tube digestif en petits fragments inoffensifs.

Une troisième propriété est encore plus grave : pour réduire de 30 pour cent le pouvoir infectieux d'extraits de bovins, on doit les chauffer pendant 20 minutes à 133 °C, sous une pression égale à trois fois la pression atmosphérique. Le premier cas d'encéphalopathie spongiforme bovine est vraisemblablement apparu parce que ces conditions n'ont pas été respectées.

De la protéine inoffensive au prion pathogène

Un prion pathogène apparaît lorsqu'une protéine PrP normale prend une conformation anormale. Cela se produit parfois de façon spontanée en raison d'une anomalie de repliement de la protéine naturelle, mais la probabilité augmente quand le gène codant la protéine PrP normale porte une mutation telle que la protéine adopte préférentiellement la conformation anormale. Comme le proposait S. Prusiner en 1987, un prion devenu pathogène pourrait obliger des protéines PrP normales à changer de



2. DEUX MODÈLES de transformation de la protéine PrP normale en prion pathogène ont été proposés. Dans le modèle de la formation de germes (*modèle 1*), il règne un équilibre thermodynamique entre la protéine PrP normale et le prion pathogène, dont la structure spatiale a été modifiée : l'équilibre est normalement déplacé du côté de la forme inoffensive. Lorsque des molécules pathogènes s'agglutinent pour constituer un germe de polymérisation, il se forme des amas, ou «fibrilles». Parfois, ces amas se rompent et forment de nouveaux germes, de sorte que la quantité de prions pathogènes augmente. Dans le second modèle, une molécule pathogène aurait un effet «contaminateur», imposant sa conformation anormale à toute la protéine PrP normale avec laquelle elle serait en contact. Des fibrilles commenceraient à se former quand les molécules pathogènes seraient assez nombreuses.

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.

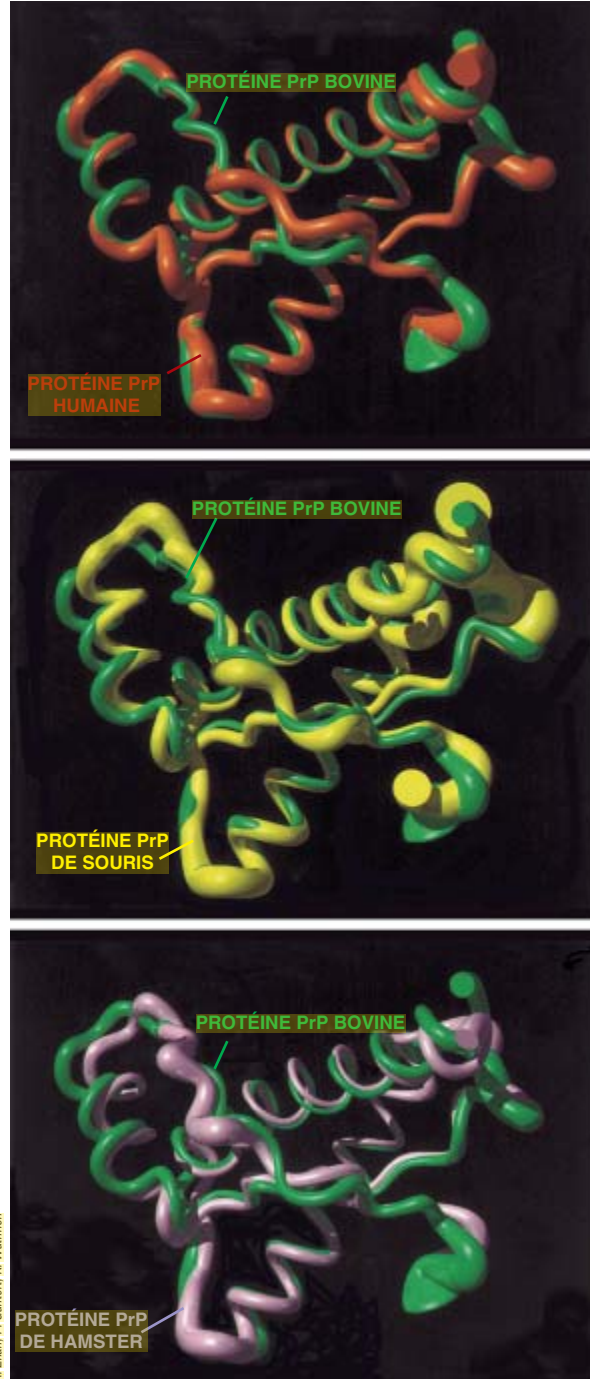
Une protéine à queue mobile

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