

peptide de 16 acides aminés (les constituants des protéines) synthétisé à l'image de ce domaine était aussi capable de franchir la membrane des cellules. La synthèse d'un fragment de protéine aussi court est facile et rentable. De la description de ce « peptide de pénétration cellulaire » (*cell penetrating peptide* ou CPP) nommé pénétratine par ses découvreurs à la recherche d'applications biotechnologiques, il n'y avait qu'un pas : si ce peptide, une fois couplé à d'autres molécules, assurait leur entrée dans les cellules, les perspectives seraient nombreuses. Le premier succès fut le transport d'un peptide qui inhibe une enzyme, la protéine kinase C.

Les biologistes ont aussi recherché les propriétés structurelles conférant au peptide pénétratine sa capacité de transporteur. Ils eurent rapidement la réponse. Deux ingrédients étaient nécessaires pour une absorption efficace des molécules dans les cellules : des chaînes d'acides aminés portant une charge électrique positive et quelques longues chaînes d'acides aminés hydrophobes.

### Des peptides qui pénètrent dans les cellules

Dès 1988, Maurice Green et Paul Lowenstein, à l'Université de Saint Louis, dans le Missouri aux États-Unis, ainsi qu'Alan Frankel et Carl Pabo, de l'Université Johns Hopkins, à Baltimore dans le Maryland, avaient publié des observations similaires avec la protéine TAT du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) : les cellules absorbaient spontanément la protéine, qui y activait alors la transcription des gènes du virus.

L'équipe de Bernard Lebleu, de l'Institut de génétique moléculaire de Montpellier, identifia par la suite dans la protéine TAT un domaine de 11 acides aminés responsable du processus. Ce fragment a ensuite été étudié plus en détail, lui aussi en tant que peptide de pénétration cellulaire.

Les observations de la pénétration dans les cellules ont immédiatement suscité un grand intérêt en biotechnologie, car elles réfutaient un dogme selon lequel les grosses molécules hydrophiles (ayant une affinité pour l'eau) ne pouvaient pas accéder au milieu intérieur de la cellule, le cytoplasme, sans endommager la membrane. C'était ce qu'avaient montré notamment des essais antérieurs, réalisés avec des peptides et des polymères agissant sur la membrane. Ces molécules, qui ressemblent par certaines propriétés aux peptides de pénétration cellulaire, facilitent certes l'entrée de protéines dans les cellules, mais ce faisant, elles perturbent les membranes, parfois s'y incorporant et modifiant leurs propriétés jusqu'à les détruire.

Ainsi, Hugues Ryser et Ronald Hancock, de l'Université Harvard à Boston, avaient montré dès 1965 qu'en présence de chaînes composées de nombreux acides aminés portant une charge positive – une succession d'acides aminés lysine (ou polylysine), par exemple –, la protéine albumine pénètre plus de 50 fois mieux dans les cellules. Et la même expérience reproduite dans les années 1970 avec la polylysine couplée à des protéines et à des molécules plus petites que l'albumine a donné des résultats similaires. Toutefois, il s'est révélé que les polymères de lysine endommagent les cellules en raison de leur effet sur la membrane, à l'instar des peptides testés avant la découverte des peptides de pénétration cellulaire.

En revanche, le transport de molécules couplées à ces nouveaux peptides est bien moins perturbant pour les cellules. Ces peptides rendent le cytoplasme accessible à des molécules qui, de par leurs propriétés, ne peuvent diffuser à travers la membrane et pour lesquelles il n'existe pas non plus de canaux ou de transporteurs membranaires. Ces molécules sont par exemple de courtes séquences d'ADN ou d'ARN – des oligonucléotides –, tels les petits ARN interférants (ARNi) qui contrôlent l'activité des gènes, mais aussi des protéines, des peptides et même des nanoparticules (voir la figure 2).