

Le prix Nobel de chimie 1997

Pierre V. Vignais* professeur émérite, **Paulette M. Vignais**** directeur de recherche émérite CNRS

Summary : Nobel prize 1997 in chemistry

The Royal Swedish Academy of Sciences has decided to award the 1997 Nobel Prize in chemistry with : one half to Professor Paul D. Boyer (University of California, Los Angeles, USA) and Dr John E. Walker (Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, United Kingdom), for their elucidation of the enzymatic mechanism underlying the synthesis of adenosine triphosphate (ATP), and with one half to Professor Jens C. Skou (Aarhus University, Denmark) for the first discovery of an ion-transporting enzyme, Na^+ , K^+ -ATPase.

The three laureates have performed pioneering work on enzymes that participate in the conversion of the « high-energy » compound adenosine triphosphate (ATP).

Mots clés : ATP synthase, ATPase, pompe Na^+/K^+ , bioénergétique.

Key-words : Key-words : ATP synthase, ATPase, Na^+/K^+ pump, bioenergetics.

L'ATP est la monnaie énergétique utilisée pour les travaux cellulaires (biosynthèses, transports actifs des ions et des molécules, travail mécanique nécessaire au mouvement). L'ATP synthase est l'enzyme qui, dans tous les organismes vivants (micro-organismes, plantes, animaux), synthétise l'ATP à partir d'ADP et de phosphate. Chez les plantes, l'ATP synthase des chloroplastes permet de récupérer l'énergie lumineuse sous forme d'ATP. Chez les animaux, l'ATP synthase est localisée dans les mitochondries où la synthèse d'ATP est couplée à la respiration mitochondriale. Au cours de l'évolution, l'ATP synthase a conservé une même structure composée de 2 secteurs : un secteur F_1 catalytique, de nature hydrophile, et un secteur F_0 transmembranaire, de nature hydrophobe. John Walker a établi la structure tridimensionnelle du secteur F_1 de l'ATP synthase mitochondriale et Paul Boyer a formulé un mécanisme catalytique de synthèse d'ATP.

Un des mécanismes essentiels à la vie de la cellule est le maintien d'un potentiel électrique au niveau de la membrane qui entoure les cellules (membrane plasmique). Ce potentiel est assuré par le fonctionnement asymétrique d'une ATPase Na^+/K^+ , ou pompe Na^+/K^+ , qui couple l'hydrolyse d'ATP en ADP et phosphate à l'exportation de 3 ions Na^+ contre l'importation de 2 ions K^+ . Cette pompe consomme le tiers de l'ATP synthétisé dans les cellules vivantes. Jens Skou a réalisé dans les années 50 un travail de pionnier qui devait aboutir à la découverte de la pompe K^+/Na^+ .

Pour fonctionner, croître et se multiplier, les cellules vivantes consomment en continu de l'énergie. Cette énergie est apportée sous forme d'énergie chimique contenue dans la molécule d'adénosine 5'-triphosphate (ATP) et est relâchée

lors de l'hydrolyse de l'ATP en ADP et phosphate. L'ATP constitue la monnaie universelle d'énergie libre dans les systèmes biologiques. L'énergie libre libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP peut être transformée en travail mécanique (lors de la contraction musculaire et lors d'autres mouvements cellulaires), en travail osmotique pour le transport actif d'ions et de molécules au travers des membranes cellulaires, en énergie chimique lors de la biosynthèse de molécules à partir de précurseurs simples. La resynthèse de la molécule d'ATP à partir d'ADP et de phosphate est catalysée par

un complexe enzymatique appelé ATP synthase qui, dans les cellules vivantes, fonctionne grâce à l'énergie libérée lors de l'oxydation des nutriments (respiration cellulaire) ou à l'énergie lumineuse (chez les plantes et les micro-organismes photosynthétiques).

Dans la cellule, l'ATP est la petite monnaie énergétique de tous les instants. Il est consommé au fur et à mesure qu'il est formé. Le « turnover » de l'ATP est très élevé. On a évalué qu'un homme au repos consomme et resynthétise 60 kg d'ATP en 24 heures. Au cours d'un exercice intense, cette

* Université Joseph Fourier, Grenoble I et CEA/Grenoble (CEA/CNRS UMR 314), DBMS/BBSI, 17, avenue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9. Tél. : 04.76.88.52.58/30.36. Fax : 04.76.88.51.85. E-mail : pvv@miage.ceng.cea.fr

** CEA/Grenoble (CEA/CNRS UMR 314), DBMS/BBSI, 17, avenue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9. Tél. : 04.76.88.33.99. Fax : 04.76.88.51.85. E-mail : pmv@miage.ceng.cea.fr

consommation peut s'élever à 0,5 kg d'ATP par minute, ce qui nécessite une resynthèse immédiate d'une égale valeur d'ATP. C'est dire que la capacité catalytique de l'ATP synthase est considérable ; elle s'ajuste aux besoins des organismes vivants en ATP.

Les travaux de John Walker et de Paul Boyer ont permis de clarifier le mode d'action de l'ATP synthase mitochondriale, à travers l'étude de sa structure tridimensionnelle aux rayons X. L'ATP synthase sert à régénérer l'ATP à partir d'une molécule d'ADP et d'une molécule d'orthophosphate ; comme elle fonctionne réversiblement, on l'appelle aussi ATPase.

L'ATP synthase, qui sert à recouvrer l'énergie d'oxydo-réduction sous forme d'ATP, à partir d'ADP et de phosphate, est localisée non seulement dans la membrane des mitochondries de toutes les cellules eucaryotes, mais aussi dans la membrane plasmique de tous les procaryotes. Dans les organismes photosynthétiques capables de capter l'énergie solaire, une ATP synthase de structure similaire à celle des mitochondries permet de récupérer l'énergie lumineuse sous forme d'ATP ; cette transformation se fait dans les thylakoïdes des chloroplastes de plantes vertes ou dans les membranes des micro-organismes photosynthétiques.

L'ATP synthase mitochondriale est une protéine géante d'une masse moléculaire proche de 500 kDa. Elle est composée d'un secteur transmembranaire hydrophobe appelé F_0 et d'un secteur extramembranaire hydrophile, F_1 . Le secteur F_1 est constitué de 5 types de sous-unités dans un rapport stœchiométrique $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$. D'après d'anciens travaux du Britannique Peter Mitchell, lauréat du prix Nobel de chimie en 1977, on savait que l'énergie d'oxydo-réduction libérée par le transport d'électrons, à travers les centres d'oxydo-réduction de la chaîne respiratoire mitochondriale, était récupérée sous forme d'une force proton motrice par couplage du transfert des électrons à un transfert vectoriel de protons depuis l'intérieur de la mitochondrie vers l'extérieur. La force proton motrice est utilisée pour la synthèse d'ATP au niveau du secteur catalytique F_1 de l'ATP synthase, et l'on admet que le secteur F_0 transmembranaire sert, en l'occurrence, de canal à protons.

Une avancée considérable, au tout début des années 80, a été le décryptage par John Walker de la séquence des résidus d'acides aminés dans les 5 types de sous-unités du secteur F_1 de l'ATP synthase des mitochondries de cœur de bœuf, avec 510 résidus pour α , 482 pour β , 272 pour γ , 146 pour δ et 50 pour ϵ . Les sous-unités β portent les sites catalytiques. Walker a poursuivi son investigation structurale par l'étude de la structure 3D du secteur F_1 cristallisé. L'analyse des spectres de diffraction aux rayons X lui a montré que les sous-unités majeures, α et β , sont organisées en une couronne ménageant une cavité occupée par la sous-unité γ . C'est là où se greffe la contribution de Paul Boyer.

Les travaux d'Ephraïm Racker et de son équipe, dans les années 70, avaient permis de conclure que le secteur F_1 de l'ATP synthase pouvait être séparé du secteur F_0 et qu'il catalysait l'hydrolyse de l'ATP en ADP et phosphate. En utilisant le secteur F_1 purifié, en présence d'ATP et d'eau marquée par ^{18}O , Boyer a montré que, contrairement à ce à quoi l'on pouvait s'attendre, plus d'un atome d' ^{18}O était incorporé dans le phosphate relâché au cours de l'hydrolyse de l'ATP. Jusqu'à trois atomes d' ^{18}O pouvaient être incorporés dans la molécule de phosphate. Il ne s'agissait donc pas d'une hydrolyse irréversible, mais bien plutôt d'une réaction réversible d'hydrolyse et de synthèse d'ATP fortement lié à F_1 procédant avec un équilibre proche de 1. Sur la base de ces expériences et de celles d'autres chercheurs démontrant l'existence d'un mécanisme coopératif, Boyer postula un mécanisme enzymatique de rotation où les sous-unités α et β serviraient de stator et les sous-unités γ et ϵ serviraient de rotor. L'image serait celle d'un carrousel où la sous-unité γ défilerait par rotation devant chacune des 3 sous-unités β entraînant, par contact séquentiel, des changements de conformation alternés des sous-unités β . L'une des sous-unités β fixerait de l'ADP et du phosphate pour le condenser en ATP avec extrusion d'eau, la sous-unité β voisine relâcherait de l'ATP néosynthétisé dans une réaction nécessitant de l'énergie, la troisième sous-unité β encore vide attendrait de se remplir en ADP et phosphate.

C'est à la fin des années 50 que le Danois Jens Skou avait mis en évidence le fait que l'hydrolyse d'ATP, par des

préparations de nerf de crabe, était stimulée par la présence d'ions Na^+ et K^+ . Ceci devait conduire à la découverte de la première enzyme transmembranaire électrogénique ATP-dépendante, l'ATPase Na^+/K^+ . Cette ATPase Na^+/K^+ , appelée pompe Na^+/K^+ , couple l'hydrolyse d'une molécule d'ATP à l'expulsion de 3 Na^+ et à l'entrée de 2 K^+ dans la cellule, c'est-à-dire à un transport électrogénique. La pompe Na^+/K^+ est un dimère formé d'une sous-unité α de 100 kDa et d'une sous-unité β de 40 kDa, associées dans une stœchiométrie $1\alpha/1\beta$. La sous-unité α fixe et hydrolyse l'ATP, tandis que la sous-unité β assure le transport des ions Na^+ et K^+ . La pompe Na^+/K^+ est présente dans la membrane plasmique de toutes les cellules eucaryotes. Elle est d'une importance fondamentale dans l'économie énergétique cellulaire. En effet, de part son caractère électrogénique, elle engendre et maintient un potentiel transmembranaire et, du fait de ce potentiel, elle contrôle la composante électrique du transport électrogénique de certains oses et de certains acides aminés à l'intérieur de la cellule. Dans les cellules nerveuses où la transmission de l'influx nerveux est accompagnée d'une perte neuronale de K^+ et d'une entrée de Na^+ , la pompe Na^+/K^+ permet le rétablissement permanent des concentrations intraneuronales en Na^+ et K^+ en chassant les ions Na^+ et en réincorporant les ions K^+ . La pompe Na^+/K^+ consomme le tiers de l'ATP synthétisé dans les cellules vivantes par l'ATP synthase pour maintenir le potentiel membranaire des membranes plasmiques.

Références

- [1] Boyer P.D., The ATP synthase - A splendid molecular machine, *Annual Reviews of Biochemistry*, **1997**, 66, p. 717-749.
- [2] Skou J.C., Enzymatic basis for active transport of Na^+ and K^+ across cell membrane, *Physiological Reviews*, **1965**, 45, p. 596-617.
- [3] Abrahams J.P., Leslie A.G.W., Lutter R., Walker J. E., Structure at 2.8 Å resolution of F_1 -ATPase from bovine heart mitochondria, *Nature*, **1994**, 370, p. 621-628.
- [4] Junge W., Lill H., Engelbrecht S., ATP synthase : an electrochemical transducer with rotatory mechanics, *Trends in Biochemical Sciences (TBS)*, november **1997**, 22, n° 11, p. 420-423.