

- [3] J. Bonnefoy, J. Moiroux, J.M. Laval, C. Bourdillon, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*, **1988**, 84, 941.
- [4] A. Anne, P. Apiot, J. Moiroux, P. Neta, J.M. Savéant, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 4694.
- [5] R. Ruppert, S. Herrmann, E. Steckhan, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 6583.
- [6] a : R. Di Cosimo, C.H. Wong, L. Daniels, G.M. Whitesides, *J. Org. Chem.*, **1981**, 46, 4622.
b : H. Durliat, M. Comtat, J.L. Séris, *Anal. Lett.*, **1991**, 24, 1471.
- c : J. Cantet, A. Bergel, M. Comtat, *Enz. Microbiol. Technol.*, **1996**, 18, 72.
- [7] a : D.C.S. Tse, T. Kuwana, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, 1315.
b : C. Degrand, L.L. Miller, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 5728.
c : B.W. Carlson, L.L. Miller, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 479.
d : L. Gorton, A. Torstensson, H. Jaegfeldt, G.J. Johansson, *J. Electroanal. Chem.*, **1985**, 196, 81.
e : B. Persson, L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.*, **1990**, 292, 115.
f : B. Keita, K. Essaaki, L. Nadjjo, R. Contant, Y. Justun, *J. Electroanal. Chem.*, **1996**, 404, 271.

Électrochimie des protéines d'oxydo-réduction

Pierre Bianco

Dans deux processus physiologiques fondamentaux, la respiration et la photosynthèse, les cellules vivantes emmagasinent de l'énergie sous la forme de molécules dont l'une des plus connues est l'adénosine triphosphate (ATP). Cette énergie peut provenir de l'oxydation de composés organiques (respiration) ou de la lumière (photosynthèse) ; dans les deux cas, elle est consacrée à la fabrication d'ATP, qui sert de « réservoir d'énergie » dans lequel les cellules puisent au fur et à mesure de leurs besoins.

Les réactions chimiques qui aboutissent à la synthèse de l'ATP sont assez bien connues. On sait en outre que dans les chloroplastes des cellules des plantes vertes, l'eau fournit des électrons et des protons qui peuvent finalement se combiner au dioxyde de carbone pour former des molécules organiques. Dans le cas des mitochondries, de l'eau est synthétisée. La réaction $1/2 O_2 + H_2 \rightarrow H_2O$ n'est en fait qu'une réaction globale très simplifiée recouvrant des processus bien plus complexes dont les mécanismes sont loin d'être connus.

Ces transferts d'électrons sont assurés dans des chaînes complexes par certaines molécules appelées transporteurs d'électrons ; par exemple la chaîne de transporteurs de la membrane du chloroplaste comprend la chlorophylle (P-680), la plastoquinone (PQ/PQH₂), le cytochrome f. Les protéines d'oxydoréduction ont des structures parfois très complexes, et seules quelques unes d'entre elles commencent à être relativement bien connues, surtout celles dont les masses molaires sont assez faibles. Citons, par exemple, certaines ferrédoxines (6000 - 10000 Da), des cytochromes de type c (10000 - 15000 Da), des hydrogénases (70000 Da).

Les protéines présentant une activité enzymatique comprennent deux parties principales :

1) La chaîne polypeptidique formée par une suite d'acides aminés ; ces acides aminés se répartissent en trois groupes :

- a) ceux qui ne possèdent pas de fonctions latérales ionisables,

- b) ceux qui sont porteurs de fonctions latérales acides - COOH (acide glutamique, acide aspartique) se déprotonant à des pH relativement bas,

- c) ceux qui sont porteurs de fonctions latérales basiques - NH₃⁺ (lysine, arginine) se déprotonant aux pH élevés. Il en résulte qu'aux pH physiologiques, la charge globale d'une protéine peut varier en fonction de la nature des acides aminés qu'elle contient. La répartition des charges à la surface de la protéine peut lui conférer un moment dipolaire, donc lui donner une orientation privilégiée dans un champ électrique et ces facteurs doivent être pris en compte pour évaluer l'électroactivité d'une protéine.

2) Le centre « actif » de la protéine d'oxydoréduction, qui passe de l'état oxydé à l'état réduit, et inversement est le siège d'échanges d'électrons.

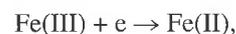
On connaît quelques centres actifs comme :

- les clusters [Fe-S], rencontrés dans les ferrédoxines et dans certaines hydrogénases,

- les hèmes, dans lesquels les atomes de fer sont au centre d'un complexe plan-carré, les ligands axiaux étant des résidus d'acides aminés de la chaîne polypeptidique,

- la flavine, que l'on rencontre chez les flavoprotéines.

Avec les métalloprotéines à fer, on assiste généralement à l'échange :



mais d'autres réactions plus complexes peuvent aussi être envisagées.

1. L'électrochimie : une autre approche pour étudier les protéines d'oxydoréduction

Depuis longtemps, la potentiométrie constitue un outil fort utile pour étudier les systèmes d'intérêt biologique, en particulier certaines protéines. Les travaux les plus anciens faits par des biochimistes, consistaient à effectuer des

titrages potentiométriques, au cours desquels on utilisait des médiateurs chargés d'établir un équilibre entre l'électrode et la solution étudiée [1]. Malgré son intérêt, cette technique présente plusieurs inconvénients : ajouts de substances étrangères dans le milieu étudié et donc impossibilité de réutiliser la solution de protéine, limitation dans le domaine des bas potentiels par l'agent réducteur (généralement le dithionite).

L'électrochimie des transporteurs d'électrons, développée depuis une vingtaine d'années, a trois objectifs : accéder aux valeurs des potentiels d'oxydo-réduction utiles aux biochimistes, connaître la cinétique des échanges d'électrons, fournir des modèles utiles permettant des comparaisons avec le comportement de cette protéine *in vivo*.

Il est également possible d'étudier les échanges d'électrons entre deux protéines « partenaires », et de faire un pas supplémentaire vers la connaissance des mécanismes de transfert d'électrons dans une chaîne de transporteurs.

2. Étude électrochimique des protéines d'oxydoréduction

On a longtemps pensé qu'il était difficile, voire impossible, de mettre en évidence un transfert d'électron entre une protéine et une électrode. Les travaux les plus anciens sur la question concernent l'étude par polarographie de la réduction du cytochrome *c* mitochondrial [2]. Ils ont fait l'objet d'une mise au point par Bowden et coll. [3]. Plusieurs modèles furent proposés ; ils tenaient compte, par exemple, de la diffusion du cytochrome à travers une couche de molécules de protéine dénaturées, de la médiation par l'intermédiaire du centre redox des molécules de protéine adsorbées. Dans ces conditions, la couche de cytochrome *c* adsorbé interagissait avec les espèces en solution, ce qui impliquait que la surface ainsi modifiée de l'électrode pouvait promouvoir le transfert direct des électrons.

Un grand pas dans l'étude des protéines d'oxydoréduction fut accompli autour des années 1977-1979, lorsque furent publiés presque simultanément des résultats concernant, d'une part le cytochrome *c* mitochondrial, et d'autre part des cytochromes de type *c* polyhémiques d'origine bactérienne.

2.1. Cytochrome *c*

Il s'agit là de la protéine la plus largement étudiée par électrochimie. Sa structure et ses principales propriétés sont bien connues : c'est une métalloprotéine monohémique très fortement basique (pI ~ 10,5), dont le potentiel normal, déterminé par titrage, est élevé (+ 260 mV / ENH). En outre, cette protéine est facile à extraire, stable, et vendue dans le commerce.

Ce fut en 1977 qu'Eddowes et Hill [4] mirent en évidence par voltammétrie cyclique la réduction - réoxydation réversible du cytochrome *c*, en utilisant une électrode d'or en présence de 4,4' - bipyridine. La séparation entre les pics cathodique et anodique était voisine de 60 mV, ce qui

démontrait la bonne réversibilité du système électrochimique monoélectronique constitué par le cytochrome *c*. Le potentiel de demi-vague obtenu était en excellent accord avec la valeur du potentiel normal donné dans la bibliographie. Pour expliquer ce résultat, les auteurs admettaient que la 4,4' - bipyridine s'adsorbait sur la surface de l'électrode d'or ; cette surface ainsi modifiée devait présenter des « fonctions » chimiques, des sites, pouvant interagir spécifiquement et réversiblement avec la surface de la protéine elle-même [5].

Ce travail fut à l'origine de toute une série de recherches particulièrement fructueuses, au cours desquelles plusieurs autres composés promoteurs susceptibles d'interagir favorablement avec le cytochrome *c* furent testés. Les travaux de Taniguchi et coll. [6] mirent en évidence le rôle bénéfique joué par le bis (4-pyridyl) disulfure sur la réponse des électrodes d'or. Cette molécule a la propriété de s'adsorber rapidement et irréversiblement sur l'or.

Par la suite, d'autres promoteurs furent examinés, en utilisant là aussi l'électrode d'or comme électrode de travail : purine et ses dérivés, thiols, composés à pont S - S, phosphine, etc. Hill et coll. [7] en conclurent que des liaisons hydrogène entre les résidus de lysine entourant la face exposée de l'hème et les atomes d'azote à la surface de l'électrode permettaient la stabilisation d'un complexe transitoire, dont l'orientation permettait aux électrons de circuler vers (ou depuis) le groupement hémique. Un tel complexe protéine - électrode devrait présenter des analogies avec le complexe [protéine - protéine] rencontré dans la chaîne respiratoire où le cytochrome *c* est impliqué. Le moment dipolaire élevé du cytochrome *c* (qui résulte de la forte asymétrie dans la distribution des charges à la surface de cette métalloprotéine) serait responsable de son orientation spécifique en présence de ses partenaires physiologiques. Il semblerait donc que les résidus de lysine se trouvant au voisinage de l'hème soient largement impliqués dans les interactions entre le cytochrome *c* et ses partenaires.

En 1977, Yeh et Kuwana [8] obtinrent aussi une réponse voltammétrique rapide en employant une électrode à oxyde d'indium dopée par de l'étain. Ce fut le point de départ de nombreuses recherches basées sur l'utilisation d'électrodes à oxyde, développées indépendamment par les groupes de Hawkrige et de Hill [9, 10].

Plus récemment, on a aussi utilisé des électrodes de graphite pyrolytique. La structure du graphite (à « plan de base » ou à « plan latéral ») conduit ainsi à deux types d'électrodes. On a constaté que les voltammogrammes cycliques obtenus avec des électrodes du type « plan latéral » étaient mieux définis, mais néanmoins relativement moins reproductibles en fonction du temps.

2.2. Cytochromes de type *c* polyhémiques

Dans un intervalle de temps assez court, Niki et coll. [11] et Bianco et Haladjian [12] publièrent les premiers travaux concernant l'étude électrochimique directe des cytochromes de type *c* polyhémiques d'origine bactérienne. Ces cytochromes ont la propriété remarquable pour des métalloprotéines d'être des systèmes électrochimiques pra-

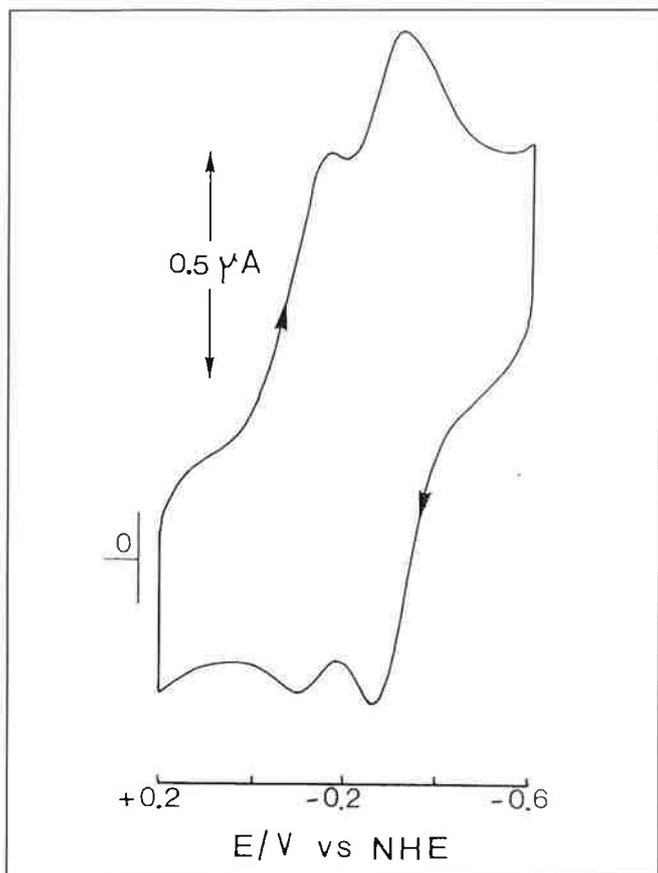


Figure 1 - Un exemple de voltammogramme cyclique obtenu dans le cas d'un cytochrome polyhémique constituant un système électrochimique rapide : le cytochrome *c3* de *Desulfovibrio desulfuricans* Norway. Vitesse de balayage : 20 mV s^{-1} .

tiquement rapides, sans qu'il soit besoin d'utiliser de promoteurs (fig. 1), quelle que soit l'électrode de travail (mercure, or, carbone, argent) utilisée. Ils donnèrent lieu à de nombreuses recherches originales, développées indépendamment au Japon (groupe Niki) [13], en France (groupe Bianco - Haladjian) [14], au Portugal (groupe Xavier - Moura) [15] et aux Pays-Bas [16]. Les résultats de ces recherches sont la conséquence de collaborations entre biochimistes (études des séquences), physiciens (études par RPE), cristallographes (établissement des structures tridimensionnelles) et électrochimistes. Les problèmes clés résolus sont l'étude des corrélations [structure / fonction], ainsi qu'une meilleure compréhension du rôle joué par ces protéines dans les chaînes dont elles sont extraites. On a dû ainsi faire appel à des méthodes plus sophistiquées passant par la modification chimique des cytochromes, puis, récemment, par la mutagenèse dirigée, pour essayer notamment de préciser les rôles respectifs de chacun des hèmes [17].

2.3. Autres cytochromes de type *c*

D'autres cytochromes de type *c* existent dans les bactéries. Même si leur rôle est encore loin d'être connu, l'électrochimie a permis de déterminer leurs potentiels d'oxydoréduction et de comparer leurs comportements électrochimiques en vue d'éventuelles corrélations [18].

2.4. Quelques hypothèses liées à l'électrochimie des cytochromes de type *c*

Ces travaux ont permis de montrer que les cytochromes de type *c*, étudiés à l'aide d'électrodes classiques non modifiées, étaient soit des systèmes lents voire non électroactifs, soit des systèmes rapides (cytochromes *c3* tétrahémiques, cytochrome *c7* trihémique, cytochrome *c553* monohémique, par exemple). Plusieurs hypothèses sont invoquées pour tenter d'expliquer ces différences de comportement :

– *L'accessibilité des hèmes au solvant.*

Selon Stellwagen [19], plus l'hème est accessible, plus le potentiel d'oxydoréduction de l'espèce correspondante est négatif. Cette hypothèse est basée sur des constatations expérimentales, et non sur des considérations théoriques. En extrapolant cette conclusion, et compte tenu des valeurs des potentiels d'oxydoréduction relevées dans les travaux qui ont vu le jour par la suite, il devient tentant de dire que plus les potentiels d'oxydoréduction sont bas, plus les hèmes sont accessibles au solvant, ce qui est d'ailleurs vrai dans le cas des cytochromes polyhémiques : pour des masses moléculaires assez voisines de celle du cytochrome *c* (de l'ordre de 12000 Da), on conçoit que quatre hèmes soient moins bien enveloppés par la chaîne polypeptidique - donc plus exposés au solvant - que l'hème unique du cytochrome *c* mitochondrial [20].

– *Interaction de nature électrostatique.*

Pour qu'une protéine oxydoréductible réagisse à une électrode donnée, il convient qu'il y ait une compatibilité électrostatique entre la protéine et la surface de cette électrode. Par exemple, on peut s'attendre à ce qu'une molécule de plastocyanine (une protéine à cuivre), dont le point isoélectrique est bas, soit « repoussée » par une électrode porteuse de charges négatives. Par contre, si l'on modifie la charge de l'interface par addition de cations, on favorise l'approche de la métalloprotéine en direction de l'électrode, donc les échanges d'électrons ont plus de chances de devenir détectables.

2.5. Ferrédoxines et flavodoxines

Bien qu'elles aient généralement des potentiels d'oxydoréduction bas, mais ne sortant pas des domaines d'électroactivité couramment explorés, les ferrédoxines sont en général des métalloprotéines « silencieuses » en présence des électrodes classiquement utilisées en électrochimie. Dans un travail datant de 1977, Landrum et coll. [21] avaient bien mis en évidence un signal pouvant correspondre à la réduction - réoxydation de la ferrédoxine d'épinard étudiée par ces auteurs, mais la présence de méthylviologène (même polymérisé) à la surface de l'électrode d'or pouvait jeter un doute sur la validité des conclusions avancées.

Par la suite, dès 1982, les travaux d'Armstrong et coll. [22] montrèrent que l'addition de cations polyvalents (Mg^{2+}) permettait d'observer la réduction - réoxydation réversible de plusieurs protéines à bas points isoélectriques, dont les ferrédoxines. Ils furent à l'origine de nombreuses recherches concernant les protéines de bas point isoélectrique [23]. Des

résultats bien marqués furent également obtenus par addition de polypeptides de nature cationique. Les potentiels de demi-vague mesurés étaient chaque fois en parfait accord avec ceux obtenus à partir des titrages potentiométriques classiques.

On aboutit à des résultats très semblables dans le cas des flavodoxines (qui ne sont pas des métalloprotéines, mais dont le point isoélectrique est bas). On a même pu montrer que le partenaire direct de la flavodoxine de *Desulfovibrio vulgaris Hildenborough*, le cytochrome *c3*, qui est une protéine à point isoélectrique élevé, pouvait promouvoir l'électroréduction de celle-ci [24].

3. Utilisation des électrodes modifiées

Puisque des incompatibilités essentiellement de caractère électrostatique apparaissent comme l'un des éléments majeurs pouvant entraver les échanges d'électrons, il peut sembler judicieux de modifier la surface des électrodes pour réduire ces incompatibilités et ainsi faciliter de tels échanges. Nous avons vu précédemment que l'utilisation de composés adsorbés avait permis de mettre en évidence l'électroréduction du cytochrome *c* aux électrodes d'or : en présence de bis (4 - pyridyl) disulfure, la surface de l'électrode d'or était « modifiée ». C'était déjà un premier pas vers une nouvelle approche qui allait se révéler très fructueuse.

Ainsi, il semblait opportun de modifier beaucoup plus complètement la surface des électrodes de travail, notamment par dépôt de films. Plusieurs idées clefs étaient disponibles dans les travaux de Murray et de son groupe, qui développèrent, entre 1980 et 1990, un large éventail d'électrodes « modifiées » nouvelles [25].

Le choix d'agents « modificateurs » est assez large : films anioniques ou cationiques, insolubles en milieu aqueux, films lipidiques qui ont l'avantage de pouvoir servir de modèles de membranes, et qui peuvent éventuellement être dopés par des anions ou des cations. Ainsi, Bianco et Haladjian observèrent que, non seulement il pouvait y avoir promotion de la réponse de certaines protéines en présence de telles électrodes « à film », mais encore qu'on assistait souvent à une pénétration de ces protéines avec accumulation de celles-ci à l'intérieur des films :

- cationiques (type polylysine) pour étudier les ferrédoxines, les hydrogénases [26],
- anioniques [acides poly (estersulfoniques)] pour étudier les cytochromes de type *c*[27],
- lipidiques pour l'étude de diverses métalloprotéines [28].

Ces phénomènes sont mis en évidence sur la *figure 2* qui montre les voltammogrammes cycliques obtenus pour une solution de cytochrome *c3* (de *Desulfovibrio vulgaris Hildenborough*) à l'aide d'une électrode de graphite pyrolytique non modifiée ou modifiée par un film d'échangeur de cations. De telles incorporations, outre l'avantage analytique évident qu'elles offrent, permettent de maintenir les protéines dans un environnement contraignant pouvant ainsi fournir des modèles pour une étude de leur réactivité in vivo.

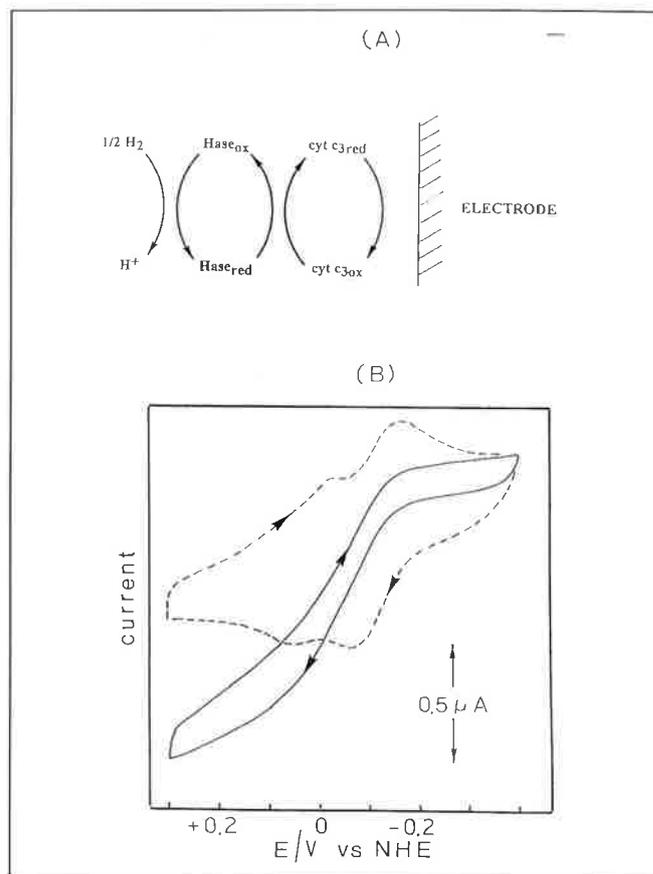


Figure 2 - Schéma de principe montrant le transfert des électrons de l'hydrogène vers l'électrode de travail par l'intermédiaire de l'hydrogénase et de son partenaire physiologique, le cytochrome *c3*. Les voltammogrammes cycliques obtenus en absence d'hydrogénase (courbe en trait interrompu), puis en présence d'hydrogénase (courbe en trait plein) mettent en évidence l'existence d'un courant catalytique dans ce dernier cas.

4. Échanges d'électrons entre protéines d'oxydoréduction

Pour bien comprendre le fonctionnement d'une chaîne de transporteur, il est indispensable de savoir comment les électrons transitent d'une protéine à l'autre et de connaître la cinétique de ces transferts. Les techniques électrochimiques permettent de répondre en partie à ces questions. En faisant appel au modèle électrochimique, il est possible d'isoler un fragment de la chaîne de transporteurs, élément d'une chaîne rencontrée chez les bactéries sulfato-réductrices (échange d'électrons entre hydrogénase et cytochrome *c3*). On sait que les cytochromes *c3* sont des systèmes électrochimiques rapides. En présence d'hydrogène (qui constitue le substrat), le cytochrome *c3* enzymatiquement réduit par l'hydrogénase, est électrochimiquement réoxydé, d'où l'apparition d'un courant catalytique. Des résultats quantitatifs peuvent alors être atteints à partir de cette approche expérimentale [29].

Les réactions de transfert d'électrons en biologie impliquent habituellement l'existence de complexes précurseurs [protéine - protéine] : par exemple, entre le cytochrome *c* et le cytochrome *b5*, entre le cytochrome *c* et la plastocyanine. De tels complexes ont été assez bien étudiés, mais l'approche électrochimique offre une vision nouvelle des processus

de transferts d'électrons impliqués dans de tels systèmes. Les recherches dans ce domaine sont assez délicates, car elles impliquent que les deux protéines en cause soient présentes simultanément dans la solution. Hill et coll. [30] ont pu montrer que le cytochrome *c* promouvait la réponse du cytochrome *b5*. Le concept basé sur la nature dynamique des complexes [protéine - protéine] a été également utilisé pour interpréter les résultats obtenus dans le cas du complexe [cytochrome *c* - plastocyanine], dans lequel les deux molécules de protéine sont liées de façon covalente. La décroissance observée pour la réponse à l'électrode du complexe covalent résulterait des contraintes imposées par les liaisons aux mouvements des deux protéines formant le complexe covalent.

Références

- [1] R.C. Prince, S.J.G. Linkletter, P.L. Dutton, *Biochim. Biophys. Acta*, **1981**, 635, 132.
- [2] L. Griggio, S. Pinamonti, *Atti Ist. Veneto Sci. Lett. Arti*, **1965-1966**, 124, 15 ; S.R. Betso, M.H. Klapper, L.B. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 8197 ; F. Scheller, M. Jänchen, J. Lampe, H.J. Prümke, J. Blanck, E. Palecek, *Biochim. Biophys. Acta*, **1975**, 412, 157 ; B.A. Kuznetsov, G.P. Shumakovich, N.M. Messtechkina, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **1977**, 4, 512 ; J. Haladjian, P. Bianco, P.A. Serre, *J. Electroanal. Chem.*, **1980**, 106, 397 ; F. Scheller, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **1977**, 4, 490.
- [3] E.F. Bowden, F.M. Hawkrigde, P.M. Blount, *Treatise Electrochem.*, **1982**, 10, 398.
- [4] M.J. Eddowes, H.A.O. Hill, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1977**, 3154.
- [5] L.H. Guo, H.A.O. Hill, *Advanc. Inorg. Chem.*, **1991**, 36, 341, et références incluses.
- [6] I. Taniguchi, M. Iseki, H. Yamaguchi, K. Yasukouchi, *J. Electroanal. Chem.*, **1984**, 175, 341, et références incluses.
- [7] M.J. Eddowes, H.A.O. Hill, K. Uosaki, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 7113.
- [8] P. Yeh, T. Kuwana, *Chem. Lett.*, **1977**, 1145.
- [9] E.F. Bowden, F.M. Hawkrigde, H.N. Blount, *J. Electroanal. Chem.*, **1984**, 161, 355.
- [10] M.A. Harmer, H.A.O. Hill, *J. Electroanal. Chem.*, **1985**, 189, 229.
- [11] K. Niki, T. Yagi, H. Inokuchi, K. Kimura, *J. Electrochem. Soc.*, **1977**, 124, 1889 ; K. Niki, T. Yagi, H. Inokuchi, K. Kimura, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, 101, 3335.
- [12] P. Bianco, J. Haladjian, *Biochim. Biophys. Acta*, **1979**, 545, 86.
- [13] K. Fan, H. Akutsu, Y. Kyogoku, K.Niki, *Biochemistry*, **1990**, 29, 2257, et références incluses.
- [14] P. Bianco, J. Haladjian, *Biochimie*, **1994**, 76, 605, et références incluses.
- [15] C. Moreno, A. Capos, M. Teixeira, J. Le Gall, M.I. Montenegro, I. Moura, C. van Dijk, J.G.J. Moura, *Eur. J. Biochem.*, **1991**, 202, 385.
- [16] M.J.F.M. Verhagen, A.J. Pierik, R.B.G. Wolbert, L.F. Mallee, W.G.B. Voorhorst, W. R. Hagen, *Eur. J. Biochem.*, **1994**, 225, 311, et références incluses.
- [17] I. Mus-Veteau, A. Dolla, F. Guerlesqui, F. Payan, M. Czjek, R. Haser, P. Bianco, J. Haladjian, B.J. Rapp-Glies, J.D. Hall, G. Voordouw, M. Bruschi, *J. Biol. Chem.*, **1992**, 16851.
- [18] M. Bruschi, M. Loutfi, P. Bianco, J. Haladjian, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **1984**, 120, 384 ; M. Loutfi, F. Guerlesqui, P. Bianco, J. Haladjian, M. Bruschi, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **1989**, 159, 670.
- [19] E. Stellwagen, *Nature*, **1978**, 275, 73.
- [20] P. Bianco, J. Haladjian, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **1981**, 8, 239.
- [21] H.L. Landrum, R.T. Salmon, F.M. Hawkrigde, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 3154.
- [22] F.A. Armstrong, H.A.O. Hill, N.J. Walton, *FEBS Letter*, **1982**, 145, 241.
- [23] F.A. Armstrong, *Structure and Bonding*, **1990**, 72, 137 ; F.A. Armstrong, *Perspectives on Bioinorg. Chem.*, **1991**, 141, et références incluses.
- [24] A. Manjaoui, J. Haladjian, P. Bianco, *Electrochim. Acta*, **1990**, 35, 177.
- [25] R.W. Murray, in « *Electroanalytical Chemistry* », **1984**, Marcel Dekker, New York, p.191 ; R.W. Murray, A.G. Ewing, R.A. Durst, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 379A.
- [26] P. Bianco, J. Haladjian, S. Giannandrea-Derocles, *Electroanalysis*, **1994**, 6, 67.
- [27] P. Bianco, A. Taye, J. Haladjian, *J. Electroanal. Chem.*, **1994**, 377, 299.
- [28] Z. Salamon, G. Tollin, *Arch. Biochem. Biophys.*, **1992**, 294, 382. ; P. Bianco, J. Haladjian, *Electrochim. Acta*, **1994**, 39, 911.
- [29] P. Bianco, J. Haladjian, M. Bruschi, F. Guerlesquin, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **1992**, 189, 633.
- [30] S. Bagby, P.D. Barker, L.H. Guo, H.A.O. Hill, *Biochemistry*, **1990**, 29, 3213.

Analyse des possibilités de transferts électroniques directs entre des électrodes et des enzymes

Hélène Durliat

Pendant longtemps, il a été admis que le transfert électronique direct entre une électrode et une enzyme était impossible. Les raisons invoquées tenaient d'une part dans les possibilités de dénaturation de la biomolécule dans la double couche électrochimique, et d'autre part dans la distance importante entre le centre redox de l'enzyme, isolé par une couche protéique épaisse, et la surface du conducteur électronique.

Depuis une vingtaine d'années, grâce à l'affinement des méthodes électrochimiques, au développement des tech-

niques de modification de surface et à de nombreux résultats obtenus sur des molécules biologiques comme le cytochrome *c*, des ferrédoxines, des plastocyanines, l'attitude des scientifiques s'est modifiée et, à l'heure actuelle, une trentaine d'enzymes a fait l'objet d'études électrochimiques approfondies. Le but de l'article est de recenser les travaux effectués dans ce domaine en insistant sur quelques méthodologies qui permettent d'envisager plusieurs types d'applications.