

Cécile Michaut
est journaliste
scientifique.

Comme les mouvements synchronisés de ces nageuses, les changements de forme et la réactivité des protéines dans l'eau dépendent étroitement des interactions de ces molécules géantes avec les petites molécules qui constituent le liquide. © Vandystadt

L'environnement aqueux des protéines étudié par des lasers ultrarapides

Le double jeu de l'eau et des protéines

Cécile Michaut

Les molécules d'eau qui entourent les protéines interviennent en première ligne dans les réactions biologiques. Pour la première fois, leurs mouvements ont été observés en temps réel : elles sont globalement plus mobiles que ne le pensaient jusqu'ici les biochimistes. Un nouveau pan de la biochimie s'ouvre à l'exploration.

«L'eau, c'est la vie.» Au-delà de ce slogan rebattu, force est d'admettre que bon nombre des mécanismes qui permettent à la vie d'exister, dans les cellules vivantes et autour de celles-ci, se déroulent dans l'eau. En particulier les protéines, ces longues molécules organiques qui interviennent dans les réactions biologiques, baignent le plus souvent dans l'eau. Laquelle n'est pas que spectatrice : «L'eau liée aux protéines est essentielle dans presque tous les processus biologiques. Soit elle intervient explicitement dans la réaction, soit, au contraire, elle doit être exclue», rappelle Jacques Gallay, du Laboratoire pour l'utilisation du rayonnement électromagnétique

(Lure), à Orsay. Les protéines sont généralement repliées sur elles-mêmes comme des pelotes. Les molécules d'eau s'approchent plus ou moins de leur surface et établissent des liaisons plus ou moins fortes.

Une seule impulsion laser suffit à perturber la protéine et à la transformer en émetteur de lumière

C'est ce que l'on a déduit des «photographies» des protéines qui ont été prises par les techniques de rayons X. D'autres méthodes d'observation, telle la résonance magnétique nucléaire,

s'apparentent à de la photographie avec une faible vitesse de pose : le flou de l'image trahit les mouvements des molécules d'eau. Mais pour saisir vraiment leurs déplacements entre la surface des protéines et la masse du liquide, il faudrait les «filmer». C'est ce qu'ont entrepris de faire Ahmed Zewail, du California Institute of Technology, et deux de ses collaborateurs⁽¹⁾. Ils ont pour cela développé une technique d'observation dérivée de celle qui a valu le prix Nobel de chimie à A. Zewail en 1999 : la femtochimie, une spectroscopie avec des lasers à impulsions ultrabèves, de quelques millièmes

de milliardième de seconde⁽²⁾. Leurs expériences fournissent les premières mesures quantitatives des mouvements des molécules d'eau près de la surface des protéines. «C'est un article fondateur qui va susciter de nombreuses expériences semblables», estime Michel Vincent, du Lure. Comment A. Zewail et ses collègues ont-ils procédé ? Tout bon cinéaste le sait, l'éclairage est déterminant pour la qualité de la prise de vue. Les chimistes ont donc utilisé une protéine, nommée subtilisine *Carlsberg* (on la trouve dans une levure de bière), dont un segment, un groupement nommé tryptophane, est fluorescent : quand on

* Une **picoseconde** vaut un millionième de millionième de seconde.

(1) S.K. Pal, J. Peon et A.H. Zewail, *PNAS*, 99, 1763, 2002.

La Recherche a publié :

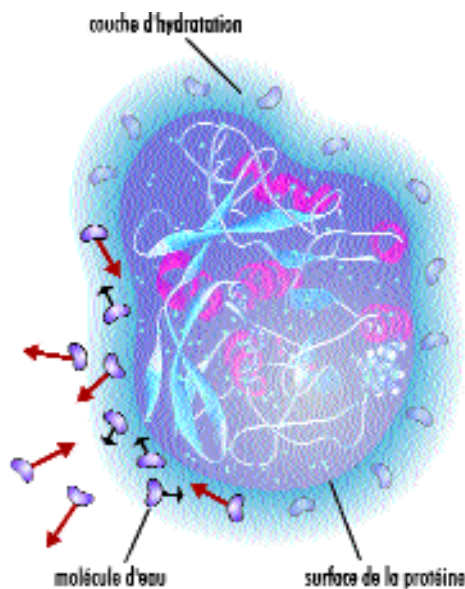
(1) Y. Gauduel, «La chimie au millionième de milliardième de seconde», juin 1996; E. Cancès, «Laser et chimie: du rêve à la réalité», mars 2001.



Ahmed Zewail a reçu le prix Nobel de chimie en 1999 pour l'observation ultrarapide de réactions chimiques à l'aide de lasers à impulsions brèves. Il transpose aujourd'hui ses méthodes dans le domaine de la biochimie.

© DR

Dans l'eau, la protéine subtilisine Carlsberg est entourée d'une couche de solvatation de moins de 1 nanomètre d'épaisseur. Dans cette couche coexistent deux types de molécules d'eau : les unes se déplacent assez lentement (flèches noires) car elles interagissent fortement avec la surface de la protéine; les autres sont aussi mobiles que si elles étaient en dehors de la couche (flèches rouges), ce qui est plus étonnant.



l'éclaire avec un rayonnement ultraviolet d'une longueur d'onde d'environ 300 nanomètres, il réémet de la lumière à une longueur d'onde un peu plus grande, caractéristique de sa structure, mais qui dépend aussi de son environnement. Comme le tryptophane de subtilisine Carlsberg est situé à la surface de la protéine, la disposition des molécules d'eau près de cette surface influe sur la longueur d'onde à laquelle il réémet un photon.

Astuce supplémentaire, l'impulsion laser à l'origine de la fluorescence renforce aussi les mouvements des molécules d'eau que l'on souhaite observer. En effet, lorsqu'un tryptophane absorbe un photon de l'impulsion ultraviolette, cela bouleverse l'organisation de ses électrons. Et ce bouleversement entraîne à son tour une réorganisation des molécules d'eau dans son voisinage immédiat : celles-ci sont globalement neutres, mais elles s'orientent en fonction du champ électrique ambiant. Cette réorganisation, et la dissipation d'énergie qui en résulte, modifient la longueur d'onde de la lumière émise par le tryptophane. Or, dans une solution aqueuse de subtilisine Carlsberg, les milliards de trypto-

phanes qui sont excités par l'impulsion laser ne «fluorescent» pas tous simultanément. «Pendant toute la durée de la fluorescence, l'interaction des tryptophanes avec leur environnement change, et la longueur d'onde de leur fluorescence varie aussi. En observant l'évolution de la fluorescence à différentes longueurs d'onde, en fonction du temps, on en déduit la vitesse de réorganisation des molécules d'eau autour des tryptophanes», explique Thomas Gustavsson, du laboratoire Francis Perrin du Commissariat à l'énergie atomique (CEA), à Saclay.

Les molécules d'eau les plus proches de la protéine ne lui sont pas toutes attachées de façon très rigide

De cette façon, A. Zewail et ses collègues observent deux types de déplacements des molécules d'eau en surface de la protéine. Le plus rapide, qui intervient en 0,8 picoseconde*, est le fait de molécules qui se comportent comme si la protéine n'était pas là. On l'observe en effet aussi autour des molécules de tryptophane isolées en solution dans l'eau.

Le second mouvement, plus lent, qui intervient en 38 pico-

secondes, est en revanche propre à des molécules d'eau assez fortement liées à la protéine. Ainsi, tout près de la surface de la protéine, deux types d'interactions coexistent. Contrairement au tableau dressé jusqu'à présent, les molécules les plus proches de la protéine ne lui sont pas obligatoirement liées de façon très rigide.

Jusqu'à quelle distance cette structuration est-elle établie ? Pour le savoir, A. Zewail et ses collaborateurs ont greffé sur la surface de la protéine un autre groupement fluorescent dont la partie émettrice de lumière est placée à 0,7 nanomètre de la surface. Dans cette position, l'évolution temporelle de sa fluorescence (à une autre longueur d'onde que le tryptophane) est presque identique à celle que l'on observe quand la même molécule est dissoute seule dans l'eau. La zone d'influence de la protéine vis-à-vis de l'eau ne dépasse donc pas 0,7 nanomètre, soit l'épaisseur de quelques molécules d'eau.

Sites actifs. «Il faut maintenant faire des expériences similaires sur de nombreuses protéines, afin d'observer si ces signaux sont semblables pour toutes. En particulier, il semble important d'étudier des tryptophanes plus ou

moins enfouis dans les protéines, afin de mieux connaître les interactions internes», précise Michel Vincent. Par ailleurs, si l'on veut comprendre le rôle de cette couche d'eau superficielle dans les processus biologiques, il faudra trouver le moyen d'étudier ses mouvements et ses interactions près des sites actifs des protéines, où ont lieu les réactions. Il faudra aussi affiner les interprétations, en quantifiant la part des mouvements propres de la protéine dans les variations de la fluorescence.

D'autres équipes ont en effet déjà observé l'existence de tels mouvements, auxquels l'émission lumineuse du tryptophane n'est certainement pas insensible. Toutes ces questions, largement suscitées par l'article de A. Zewail et de ses deux collègues, ne font qu'en renforcer l'intérêt. Après la femtochimie, on est sans aucun doute en train d'assister à l'émergence de la «femtobiochimie».

C. M. ■

Pour en savoir plus

• Jim Baggott, *The New Chemistry*, dirigé par Nina Hall, Cambridge University Press, p. 43, 2000.