

CHAIRE INTERNATIONALE

Stuart Edelstein

Les mécanismes
de la transduction
du signal en biologie

Collège de France / Fayard

*Leçon inaugurale
faite le jeudi 27 février 2003
par Stuart Edelstein,
professeur*

Monsieur l'administrateur,
chers collègues,
chers amis,

Mes recherches ont souvent touché à la génétique humaine et comme tous les chercheurs dans ce domaine, je suis très impressionné par le séquençage récent de notre patrimoine génétique. Aujourd'hui marque exactement cinquante ans depuis la découverte de la double hélice par Watson et Crick. Les 2,9 milliards de paires de bases sont maintenant largement déchiffrés et ont révélé quelque 31 000 gènes. On peut concevoir cette information comme la vaste partition d'un orchestre de 31 000 instruments qui jouent sans chef, ni musiciens. Chaque instrument se met à jouer lorsqu'il reçoit un signal, au moment approprié, venu d'un autre instrument. Quand les instruments jouent ainsi en harmonie, une biologie joyeuse est perçue. Les dissonances, en revanche, sont à l'origine de troubles pathologiques.

Comme pour cet orchestre virtuel, la vie à tous les niveaux dépend de la réception de signaux et de leur transduction en actions physiologiques. Les biologistes n'ont pas encore compris dans tous les détails les mécanismes de la transduction du signal, mais plusieurs principes clés ont été dégagés. Ce champ de savoir sera le sujet de la Chaire internationale que j'ai l'honneur d'occuper cette année.

Les signaux biologiques m'ont fasciné depuis que j'ai commencé ma thèse sur l'hémoglobine à Berkeley en Californie, dans le laboratoire de Howard Schachman. Pendant mes recherches de thèse, Jean-Pierre Changeux est arrivé à notre laboratoire pour un stage post-doctoral, après avoir terminé sa thèse sous la direction de Jacques Monod. Dans ses bagages il transportait le manuscrit d'une théorie sur la transduction du signal, développée par Jacques Monod, Jeffries Wyman et lui-même, appelée par la suite « modèle Monod-Wyman-Changeux » ou simplement « modèle MWC ». Ce modèle m'a tout de suite captivé et les discussions avec Jean-Pierre Changeux m'ont initié à une nouvelle

manière d'aborder les problèmes scientifiques en s'appuyant explicitement sur des modèles théoriques *a priori*, dans une tradition cartésienne bien française.

Cette approche des problèmes scientifiques, développée à la perfection par l'école de François Jacob et Jacques Monod, m'attirait fortement, surtout par rapport à la formation scrupuleusement empiriste dispensée à Berkeley. Lors d'un passage en Californie, Jacques Monod rendit visite à notre laboratoire. Il renforça mon désir de poursuivre mes recherches en France, et grâce à son invitation à faire un stage post-doctoral dans son laboratoire, j'ai pu transformer ce souhait en réalité en entreprenant mon premier voyage en Europe.

Le hasard – ou peut-être la nécessité – a voulu que quelques jours seulement après mon arrivée à Paris, en automne 1967, Jacques Monod m'invitât à sa leçon inaugurale au Collège de France. Je suivais difficilement son discours tant mon français était rudimentaire, mais mes souvenirs de la salle comble et enthousiaste restent fixés dans ma

mémoire. Bien sûr, jamais je n'aurais imaginé à ce moment qu'un jour j'aurais l'honneur de présenter une leçon inaugurale dans cette illustre institution. Cette boucle qui se referme aujourd'hui est pour moi la source d'une très grande émotion.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance aux professeurs du Collège de France pour leur confiance et à mes confrères de l'Académie des sciences pour leur approbation. Je voudrais également témoigner toute ma gratitude à Jean-Pierre Changeux qui m'a sollicité pour cette chaire internationale et a défendu ma candidature. Les contacts noués avec lui depuis notre rencontre à Berkeley m'ont beaucoup enrichi sur le plan scientifique, mais aussi sur bien d'autres, et d'abord sur celui de l'amitié.

* *
*

En guise d'introduction à la transduction du signal en biologie, je souhaite expliquer pourquoi l'hémoglobine a pris une place si prédominante dans l'histoire de ce sujet.

Ensuite, je retracerai les origines du modèle Monod-Wyman-Changeux et proposerai mes réflexions sur la portée de ce modèle à d'autres systèmes biologiques. Dans un deuxième temps, je présenterai une application du modèle aux récepteurs nicotiques qui a sérieusement bouleversé les idées reçues et je finirai avec quelques conclusions générales.

Pour présenter l'hémoglobine, il serait bien de commencer à Copenhague, il y a cent ans, où Christian Bohr, le père du célèbre physicien Niels, étudiait la liaison de l'oxygène par l'hémoglobine, qui était supposée porter un site spécifique pour l'oxygène. La fixation de l'oxygène sur ce site devait suivre une loi mathématique très simple et produire une courbe hyperbolique.

Fidèles disciples de cette loi, Bohr et ses collaborateurs hésitaient à accepter d'autres propriétés, mais ils ont dû finalement se rendre à l'évidence : l'hémoglobine se comportait d'une manière hétérodoxe. La courbe n'était pas hyperbolique, mais sigmoïde.

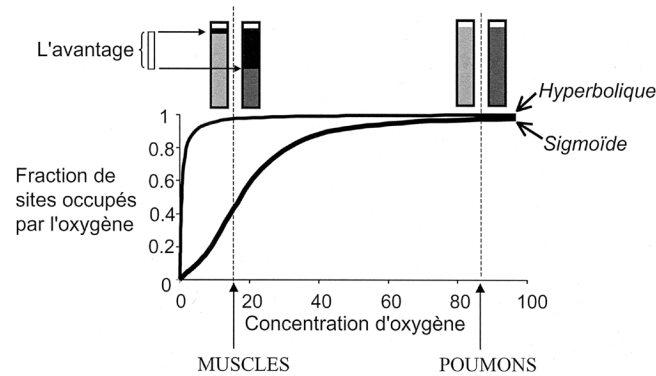


Figure 1 : Les courbes d'oxygénation.

Une telle courbe sigmoïde indiquait que l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène augmentait en fonction de la concentration d'oxygène. En conséquence, il devait exister plusieurs sites de fixation d'oxygène sur chaque molécule d'hémoglobine et une communication – ou plus exactement une coopération – entre les sites devait avoir lieu. En d'autres termes, un premier site occupé par l'oxygène rendait les sites avoisinants plus avides d'oxygène. Ainsi, l'oxygène jouait un double rôle, à la fois l'objet de transport et le signal de régulation.

Sur le plan physiologique, l'avantage d'une courbe sigmoïde est claire : après fixation d'oxygène dans les poumons, la quantité relâchée dans les muscles, quand les globules rouges y arrivent, est beaucoup plus importante pour la courbe sigmoïde, ce qui constitue un avantage considérable.

À la suite des observations de Christian Bohr, les détails restaient flous, parce que le nombre de sites pour l'oxygène sur l'hémoglobine n'était pas encore connu. C'est Gilbert Adair, à Cambridge, dans les années 1920, qui a donné au problème sa formulation moderne. Il a découvert que l'hémoglobine est composée de quatre sous-unités, toutes capables de lier une molécule d'oxygène.

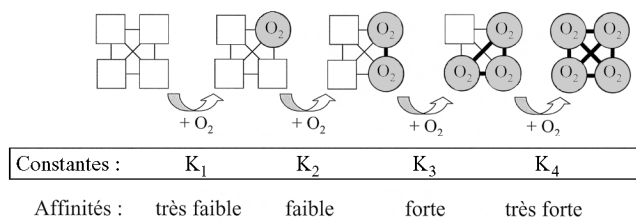


Figure 2 : Les quatre étapes d'Adair.

Sur la base de cette découverte, il proposait que la fixation de chacune des quatre molécules d'oxygène change progressivement la structure de l'hémoglobine, de telle façon que l'affinité des autres sites pour l'oxygène augmente. Lorsque la position des atomes d'une protéine se déplace dans l'espace, un changement de conformation se produit, et un nouvel état conformationnel apparaît.

La fixation d'une molécule d'oxygène entraîne ainsi un accroissement d'affinité pour la fixation de la molécule suivante. Par la suite, un nombre impressionnant de chercheurs férus d'hémoglobine ont mesuré ces quatre constantes pour la fixation d'oxygène avec de plus en plus de précision. Ils ont imaginé des changements successifs au niveau de la conformation de l'hémoglobine capables d'expliquer la coopération entre les sites de fixation.

Vers 1950, les biochimistes ont découvert que l'hémoglobine n'était pas composée de quatre sous-unités identiques, mais de deux paires légèrement différentes, nommées α et β . Cependant, les notions de changement de conformation restaient très hypothétiques

sans informations sur la structure tridimensionnelle de l'hémoglobine, et pour cela il a fallu attendre les travaux exceptionnels de Max Perutz.

En 1936, Max Perutz quitta Vienne, sa ville natale, pour préparer une thèse de doctorat en Angleterre à l'université de Cambridge, alors le centre d'une nouvelle discipline, la cristallographie par rayons X. Après une première année de formation méthodologique, il chercha un sujet de thèse. La recherche scientifique est toujours un mélange de grands desseins et de petits accidents, et, comme pour confirmer cet adage, il a pu profiter d'un heureux hasard. Durant ses vacances d'été, il rendit visite à une cousine vivant à Prague, mariée à Felix Haurowitz, un jeune professeur qui lui fit valoir l'intérêt de l'hémoglobine, sur laquelle il travaillait. Max Perutz résolut de travailler sur l'hémoglobine dès son retour en Angleterre.

Ce voyage marqua le point de départ pour Max Perutz d'une aventure qui devint sous peu une errance dans le désert. Elle ne dura pas les quarante ans bibliques, mais vingt-

— | —

cinq ans tout de même. Une interruption due à la Seconde Guerre mondiale n'a pas facilité sa tâche, compliquée notamment par son internement au Canada avec d'autres immigrés germanophones, ensuite par sa participation à un projet militaire, jamais réalisé, de construire des icebergs aplatis destinés à servir de porte-avions.

Felix Haurowitz, pour sa part, dut fuir Prague. Il enseigna en Turquie pendant la guerre, et trouva ensuite un poste de professeur aux États-Unis. Mais, avant de quitter Prague, il fit une découverte capitale. En observant au microscope de petits cristaux de désoxyhémoglobine dans une goutte aplatie sous une lamelle, il remarqua des objets géométriques en forme de plaques.

Il découvrit également qu'une bulle d'air avait pénétré sous la lamelle. Il constata alors une transformation très surprenante : dans le voisinage de la bulle, il n'y avait plus de cristaux en forme de plaques, mais uniquement des cristaux en forme d'aiguilles. De toute évidence, l'hémoglobine existait sous deux états différents : l'un qui, en l'absence d'oxy-

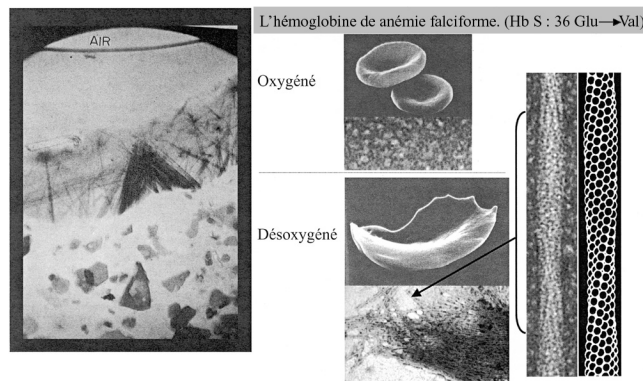


Figure 3 : Les deux formes cristallines de l'hémoglobine.

gène, cristallisait en plaques ; l'autre qui, en présence d'oxygène, cristallisait en aiguilles.

Une autre ligne de recherche dans laquelle je me suis beaucoup investi moi-même a aussi démontré une différence encore plus frappante entre des deux formes d'hémoglobine. Il s'agit de l'hémoglobine qui porte la mutation de l'anémie falciforme. En présence d'oxygène les globules rouges qui contiennent cette hémoglobine semblent normaux, mais en l'absence d'oxygène ils subissent une transformation radicale, prenant une forme de faucille. Ce changement se produit parce que les molécules de désoxyhémoglobine

mutée s'associent en fibres qui déforment les cellules. Nous avons pu démontrer que les fibres ont une structure hélicoïdale composée de quatorze brins.

On peut comprendre à la fois les bases structurales des deux formes cristallines observées par Félix Haurowitz et l'origine des deux morphologies des cellules de l'anémie falciforme grâce aux travaux de Max Perutz et de ses collaborateurs réalisés dans les années 1960. Ils ont déterminé au niveau atomique les deux structures, celles de l'oxyhémoglobine et de la désoxyhémoglobine. Sous l'état désoxygéné, les deux chaînes β de la molécule d'hémoglobine sont plus écartées que sous l'état oxygéné, ce qui explique, sans entrer dans les détails, les deux formes cristallines et l'absence de fibres pour l'hémoglobine oxygénée dans les globules rouges de l'anémie falciforme.

Au cœur de chaque sous-unité se trouve un groupement hème qui est le site où l'oxygène se fixe. Les quatre hèmes sont placés à distance, éliminant ainsi tout contact direct capable d'expliquer les fameuses courbes

sigmoïdes. Il fallait trouver une autre explication. Une théorie totalement inattendue et très originale fut proposée par le modèle Monod-Wyman-Changeux.

Une série d'événements poussa Jean-Pierre Changeux et Jacques Monod à s'intéresser à l'hémoglobine, notamment le travail de thèse de Jean-Pierre Changeux sur la régulation enzymatique. Il étudiait un enzyme qui catalysait la transformation d'une molécule, son substrat, mais qui était inhibé par une autre molécule qui ne ressemblait pas au substrat. Cet inhibiteur diminue l'activité de l'enzyme quand la réaction n'est plus nécessaire pour le métabolisme de la cellule, ce qui permet une régulation fine de l'activité cellulaire.

Jean-Pierre Changeux avait trouvé des conditions permettant d'inactiver les sites de l'inhibiteur, tout en laissant intacts les sites du substrat. Un symposium en 1961 dans une station biologique près de New York, le laboratoire de Cold Spring Harbor, fut l'occasion de faire le point. Jean-Pierre Changeux présentait ses résultats démontrant que le substrat et l'inhibiteur avaient des sites distincts

sur l'enzyme. En conséquence, il avançait l'hypothèse que ces deux classes de sites n'étaient pas directement en contact, impliquant une interaction indirecte par l'intermédiaire du corps de l'enzyme. Au même symposium, Jacques Monod et François Jacob créaient le terme « allostérique » pour définir ces interactions entre sites de spécificité différente.

Jean-Pierre Changeux et d'autres chercheurs avaient aussi observé que les enzymes sujets à cette forme de régulation manifestent toujours une courbe sigmoïde d'activité en fonction de la concentration du substrat. Un rapprochement pouvait donc se faire entre l'hémoglobine et les enzymes de régulation. À ce stade, toutefois, le mécanisme envisagé pour les protéines allostériques restait dans le cadre d'un changement de conformation induit par les molécules liées, tels que l'oxygène ou le substrat. Il a fallu attendre 1965 et un changement d'optique des auteurs pour parvenir à une théorie novatrice. Jeffries Wyman, expert en hémoglobine, s'est joint aux réflexions, et par un audacieux saut intellectuel le modèle Monod-Wyman-Changeux

proposait un nouveau mécanisme d'action des protéines allostériques.

Partant des deux états de l'hémoglobine visualisé par Max Perutz, le modèle MWC propose que ces deux structures parfaitement symétriques suffisent à elles seules à rendre compte de la fixation coopérative d'oxygène, sans invoquer les formes intermédiaires et asymétriques imaginées par Gilbert Adair. Mais pour accomplir leurs rôles, il faut que chacun des deux états soit présent quelle que soit la concentration d'oxygène.

Plus précisément, selon le modèle MWC, les molécules d'une protéine comme l'hémoglobine existent toujours sous deux états conformationnels préexistants.

C'est seulement le rapport des deux états qui varie avec la concentration d'oxygène. En l'absence d'oxygène, un des deux états est plus stable, mais possède une faible affinité pour l'oxygène. Cet état est désigné dans le modèle MWC par la lettre « T » pour « Tendu ». L'autre état possède moins de stabilité intrinsèque, mais une affinité plus forte pour l'oxy-

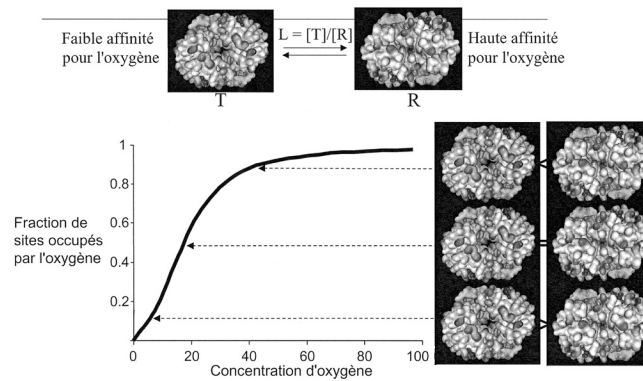


Figure 4 : Le modèle Monod-Wyman-Changeux (MWC).

gène. Cet état est désigné par la lettre « R » pour « Relâché. » Le rapport des deux états est défini par la constante d'isomérisation, L .

Les données expérimentales s'accordaient avec la description théorique pour montrer qu'au fur et à mesure que l'hémoglobine lie l'oxygène, la haute affinité de l'état R renverse en sa faveur la distribution entre les deux états. On peut représenter le modèle avec une population de molécules distribuée parmi les deux états, mais aussi avec une molécule qui change d'état en fonction du temps. À faible concentration d'oxygène, chaque molécule passe la plupart de son

temps sous l'état T mais, par moment, il y a un passage sous l'état R. À forte concentration d'oxygène, chaque molécule reste principalement sous l'état R, mais avec des passages rapides sous l'état T. Lorsque 50 % des sites sont occupés par l'oxygène, chaque molécule passe à peu près 50 % de son temps sous chaque état.

D'un point de vue plus général, le modèle MWC représentait un bouleversement majeur de paradigme. Auparavant, le modèle d'Adair proposait une série d'états induits par la fixation d'oxygène. Cette approche était à l'origine une interprétation dite « instructive », où le changement de conformation d'hémoglobine est « induit » par la fixation d'oxygène et n'est jamais présent en l'absence d'oxygène. Comparé à cette notion empiriste, le modèle MWC a recadré le problème en apportant une explication « sélectionniste », fondée sur la stabilisation par l'oxygène d'un état préexistant. Le modèle MWC a donc coupé net avec le lamarckisme moléculaire représenté par le modèle instructif. Depuis Darwin, on a bien compris le pouvoir des mécanismes fondés sur la sélection.

* *
*

Je voudrais maintenant me tourner vers une analyse de la portée des principes d'allostérie en biologie. À travers ces démarches fondatrices, on s'est aperçu que les mécanismes allostériques avaient d'énormes implications pour la coordination des processus biologiques. Jacques Monod a même osé qualifier les principes d'allostérie de « deuxième secret de la vie », après la double hélice de l'ADN.

On peut lui donner raison dans la mesure où le système génétique seul ne pourrait jamais produire d'organismes vivants, même aussi simple qu'une bactérie, sans un mécanisme d'ajustement à chaque étape pour compenser les fluctuations inhérentes aux réactions biochimiques. En d'autres termes, si l'ADN est la clé du génotype, l'allostérie est la clé du phénotype. Le génotype englobe le patrimoine génétique, et le phénotype est l'ensemble des caractères observables.

L'évocation du génotype et du phénotype nous fait entrer dans un domaine d'abstraction formelle qui ouvre un champ de réflexion très riche sur la question des signaux en biologie, et débouche même sur la linguistique. Depuis la découverte du code génétique, le modèle linguistique s'impose en tout cas au moins comme une métaphore. L'information génétique et les mots sont des signes dont le sens (ou le signifié saussurien) nécessite une interprétation, comme dans la sémiotique de Charles Peirce. Mais jusqu'à quel point les systèmes génétiques et linguistiques sont-ils liés ? Cela reste vague.

Dans les années 1970, François Jacob débattait cette question avec Roman Jakobson. Le linguiste renommé soutenait l'idée qu'une relation étroite s'imposait par une sorte de filiation. François Jacob tenait, en revanche, à l'idée que des fonctions analogues imposent des contraintes analogues. Quoi qu'il en soit, les analogies avec la linguistique peuvent encore beaucoup nous apprendre, bien qu'elles ne soient pas les seules. L'analogie musicale avec laquelle j'ai commencé est également pertinente puis-

qu'elle permet de rappeler qu'en biologie de nombreux signaux peuvent être captés simultanément.

Gènes et langues sont aux extrêmes des phénomènes biologiques, les gènes étant la propriété universelle des êtres vivants et les langues une propriété essentiellement humaine, du moins dans ses formes très développées, avec une grammaire codifiée et un vocabulaire étendu. Mais les deux se ressemblent fortement dans leur capacité d'être considérés sous l'angle atemporel de la mémoire et du codage, aussi bien que sous l'angle temporel d'une activité sémiotique plus spontanée. En suivant ce raisonnement, on retrouve à peu près en biologie l'opposition saussurienne entre langue et parole.

Le codage génétique correspondrait à ce que Saussure a appelé « langue ». L'ordre des bases dans les gènes constitue donc la mémoire de l'espèce et la grammaire du code – c'est-à-dire le versant codifié du langage cellulaire. Pourtant, il existe aussi un versant dynamique et imprévisible, que Saussure appelait « parole » : ce sont les enzymes allos-

tériques qui compensent les fluctuations intracellulaires et les récepteurs qui captent les signaux arrivants de l'extérieur.

Le langage rejoint forcément les molécules dans le cerveau, où des phénomènes allostériques jouent aussi un rôle. Les mécanismes cérébraux sont très certainement fondés sur des récepteurs à réponse rapide. Ces récepteurs fonctionnent selon les mêmes principes d'allostérie suivis par les enzymes de régulation à l'intérieur d'une cellule, principes établis avec l'hémoglobine. Toute cette gamme d'activité biologique, depuis la croissance d'une bactérie jusqu'à l'appréciation d'un poème, est donc unie par des changements de conformation des protéines allostériques.

* *
*

Un exemple qui résume clairement l'aspect allostérique des protéines du cerveau est celui du récepteur de l'acétylcholine. Ce récepteur capte aussi la nicotine, et je compléterai cette leçon avec ce sujet que j'étudie depuis une dizaine d'années.

Pour tout transfert d'information physiologique, un signal arrive de l'extérieur d'une cellule ou d'un organe. Ce signal est capté par un récepteur et ensuite est interprété par une action à l'intérieur de la cellule. On a très tôt établi la distinction entre l'agent qui apporte le signal, qu'on appelle « l'agoniste », et un autre agent capable de bloquer ce signal, qu'on appelle « l'antagoniste ».

Les études pionnières de Claude Bernard entreprises dans cette maison ont permis d'établir les bases d'un premier exemple d'antagoniste, le curare, un poison à action paralysante. Son nom, d'une langue amérindienne, indique clairement la puissance nocive de ce composé, *curare* voulant dire « là où il vient, on tombe ». Claude Bernard a démontré que le curare exerçait son effet d'antagoniste sur la synapse entre le nerf et le muscle, c'est-à-dire la jonction neuromusculaire.

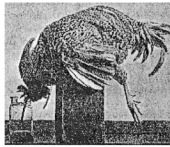
Le véritable essor de la notion de récepteur est dû à John Langley en Angleterre et à ses recherches du début du xx^e siècle. Approfondissant les observations de Claude Bernard,

John Langley a travaillé sur un autre produit venu d'Amérique, la tristement célèbre nicotine. Nous avons des traces photographiques des travaux de John Langley qui nous montrent sa créativité pour conduire la recherche dans cette période de faibles moyens technologiques. Il travaillait sur un poulet anesthésié.

Il a démontré que la nicotine agit dans un premier temps comme un agoniste classique, mais que son application prolongée désensibilise le muscle. Cet effet de désensibilisation

REPOS :

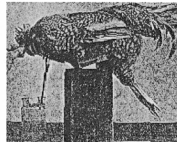
Poulet anesthésié



*Corps flasque,
yeux fermés*

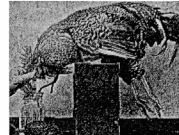
ACTIVATION :

2 minutes après l'injection de
5 milligrammes de nicotine



*Extension des pattes.
Tête soutenue pour
visualiser les yeux
(ouverts)*

DESENSIBILISATION :
30 minutes après l'injection de
5 milligrammes de nicotine



*Pattes flasques.
Tête soutenue pour
visualiser les yeux
(fermés)*

Figure 5 : Les expériences de John Langley.

est un phénomène très répandu des récepteurs. John Langley a pu démontrer que la désensibilisation était distincte des effets antagonistes du curare.

À cette époque précoce, John Langley avait déjà bien cerné les trois piliers de la pharmacologie moderne : activation par l'agoniste, inhibition par l'antagoniste et désensibilisation par l'agoniste. Plus impressionnant encore, John Langley eut le premier l'idée d'un récepteur à la surface du muscle, sous la terminaison nerveuse. En refaisant ses expériences sur des muscles après avoir enlevé leurs nerfs, John Langley a découvert que la cible de la nicotine et du curare se situait à la surface du muscle à l'endroit où le nerf était précédemment attaché. Dès 1906, il interpréta l'ensemble de ses résultats en postulant la présence, à cet endroit, d'une « substance réceptrice » distincte de la « substance contractile » du muscle.

John Langley était membre de l'école de physiologie qui fleurissait alors à l'université de Cambridge, la même école qui a tant contribué aux recherches sur l'hémoglobine

grâce à Gilbert Adair et à bien d'autres chercheurs renommés. Cependant, la ressemblance fonctionnelle entre l'hémoglobine et le récepteur nicotinique n'a été comprise que récemment, car il a fallu attendre l'étude au niveau moléculaire des récepteurs nicotiques. Mais de nombreux d'obstacles expérimentaux se présentaient quant à la purification de ces récepteurs hypothétiques.

Dans ces conditions, le progrès dépendait, comme c'est souvent le cas en biologie, du choix d'un système d'expérimentation capable de surmonter les difficultés techniques. Pour les récepteurs nicotiques, la percée est venue lorsque deux espèces bien distinctes se sont rencontrées un beau jour, en 1970, dans le laboratoire de Jean-Pierre Changeux à l'Institut Pasteur. La rencontre, sur un plan symbolique du moins, fut assez violente puisqu'elle opposa un serpent venimeux à un poisson électrique.

Le poisson appelé gymnote possède de chaque côté de la queue des cellules aplaties pouvant produire de formidables décharges électriques, ce qui permet à cette anguille

électrique de paralyser sa proie. L'organe électrique est formé d'un très grand nombre de structures qui ressemblent aux synapses de la jonction neuromusculaire. Pour les biochimistes, c'était donc une source très riche en protéines jonctionnelles. Les organes électriques étaient exploités d'une manière particulièrement astucieuse par David Nachmansohn, avec qui Jean-Pierre Changeux a travaillé à New York, après son séjour à Berkeley, pour apprendre ce système.

L'isolement des cellules individuelles de l'organe électrique, nommées électroplaques, a permis l'enregistrement de réponses électriques aux agonistes, tels que la nicotine ou le neurotransmetteur naturel, l'acétylcholine. Cependant la purification du récepteur restait difficile, faute de marquage spécifique sur un système *in vitro* accessible à la biochimie.

La recherche en restait à ce stade lorsque le pharmacologue taiwanais, Chen Yuan Lee, vint à l'Institut Pasteur pour rencontrer Jean-Pierre Changeux. Chen Yuan Lee travaillait depuis des années sur la purification de toxines dans le poison des serpents veni-

meux, notamment le Bungare. Il avait réussi à identifier une petite toxine α qui bloquait la transmission neuromusculaire chez les vertébrés, à la manière du curare. Cette toxine se fixait sur les récepteurs avec une affinité très élevée, produisant un blocage quasi irréversible.

La suite de l'histoire est bien connue. Jean-Pierre Changeux demande à Chen Yuan Lee de lui confier de la bungarotoxine α pour l'essayer sur les systèmes qu'il avait développés *in vitro* à partir de l'organe électrique. Dès son retour à Tawain, Chen Yuan Lee renvoya à Paris un échantillon de la toxine. En exploitant cette capacité de la bungarotoxine α de rester fixée sur le récepteur, Jean-Pierre Changeux et ses collaborateurs ont rapidement réussi à isoler le récepteur nicotinique. La recherche sur les récepteurs venait de décoller.

Dans les années suivantes, on a découvert que le récepteur nicotinique traverse la membrane cellulaire et qu'il est composé de cinq sous-unités organisées autour d'un axe perpendiculaire à la membrane.

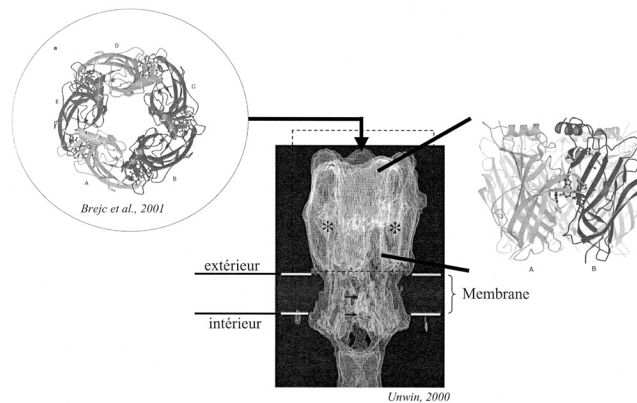


Figure 6 : Le récepteur nicotinique.

La structure complète à résolution atomique n'est pas encore connue, et la vue d'ensemble présentée ici est de Nigel Unwin, obtenue par microscopie électronique.

Récemment, l'équipe de Titia Sixma à Amsterdam a déterminé la structure tridimensionnelle d'une forme soluble de la partie extracellulaire. Ces résultats ont confirmé la notion que les sites de liaison d'acétylcholine sont situés à l'interface entre les sous-unités. Visualisé de l'extérieur ou de côté, on voit un analogue du neurotransmetteur occuper un site placé entre les sous-unités.

Un canal ionique traversant la membrane permet à la cellule de recevoir des signaux électriques en forme d'ions de sodium lorsque le canal est ouvert. L'action du canal est régulée par la nicotine ou par l'agoniste naturel, l'acétylcholine, sur des sites qui se trouvent à une distance de 20 angströms du canal. Bien sûr, Jean-Pierre Changeux et ses collaborateurs ont compris que l'action à distance entre les sites de fixation et le canal impliquait naturellement un modèle allostérique. Ils avaient même postulé ce genre d'interactions avant l'isolement du récepteur. Quand des molécules d'acétylcholine sont libérées à la membrane de la terminaison nerveuse, elles traversent la fente synaptique par diffusion et stabilisent l'état ouvert, ce qui laisse passer des ions de sodium.

En parallèle aux recherches biochimiques, les avancées dans les méthodes de clonage de gènes et de séquençage de l'ADN dans plusieurs laboratoires à travers le monde, dont celui du regretté Shosaku Numa à l'université de Kyoto, ont permis l'identification d'une famille de gènes de récepteurs nicotiques. Un de ces récepteurs neuronaux de

l'acétylcholine, nommé $\alpha 7$, fut découvert à Genève dans le laboratoire de mon collègue, Marc Ballivet. Les méthodes de la biologie moléculaire lui ont permis de le caractériser, sans passer par les difficiles procédures de la biochimie et de la purification, mais simplement en demandant à un autre collègue de Genève, le physiologiste Daniel Bertrand, d'injecter le gène pour le récepteur dans un oocyte batracien, c'est-à-dire un œuf de grenouille.

Quand le récepteur est bien exprimé, on peut le détecter à la surface de l'oocyte et mesurer ses réponses aux neurotransmetteurs, par des électrodes introduites dans l'oocyte. Le gène d' $\alpha 7$ a en effet produit des récepteurs clairement nicotiniques, avec une ouverture du canal permettant le passage des ions de sodium suite à l'application de nicotine ou d'acétylcholine. De plus, l'ouverture a été bloquée par la *d*-tubocurarine, une molécule analogue au curare, ainsi que la fameuse bungarotoxine α .

Le laboratoire de Jean-Pierre Changeux s'est alors associé à cette recherche et a pro-

posé d'examiner des récepteurs produits par des gènes dans lesquels des mutations dirigées changeaient certains acides aminés dans le canal. Les nouveaux récepteurs étaient produits dans les oocytes et ont très bien répondu aux applications d'acétylcholine, même beaucoup mieux que les récepteurs normaux. Ces expériences étonnantes ont amené Jean-Pierre Changeux à penser à certains de ses résultats antérieurs et il a anticipé des effets paradoxaux en suggérant à Daniel Bertrand d'appliquer un antagoniste classique aux récepteurs mutés. Une observation époustouflante l'attendait : l'antagoniste, dans la famille des curares, a déclenché l'ouverture du canal, produisant une excellente réponse, presque aussi forte que celle de l'agoniste, acétylcholine. Comment expliquer cette transformation inédite d'un antagoniste en agoniste ?

C'est au moment de l'analyse de ces mutations paradoxales que j'ai rejoint Jean-Pierre Changeux lors d'un congé sabbatique de l'université de Genève. Nous nous sommes longuement penchés, avec Jean-Luc Galzi, sur ces mutations très difficiles à comprendre.

Finalement, nous avons envisagé une explication simple, fondée sur le modèle MWC, impliquant le type de changements déjà connus pour l'hémoglobine.

Ce terrain nous était familier, mais pour arriver à l'explication il a fallu rompre avec une idée reçue : la distinction entre agoniste et antagoniste. L'essentiel était de concevoir que ce que nous avons pris pour un antagoniste était simplement un mauvais agoniste, si mauvais qu'il provoquait normalement une réponse minuscule, trop petite à détecter. De plus, en se fixant au même site que le bon agoniste, il bloquait l'action de l'agoniste et se présentait de cette manière comme un antagoniste.

Dans le contexte du modèle MWC, on peut comprendre la conversion de mauvais agoniste en bon agoniste grâce aux deux états, T et R. Au repos, les récepteurs sont principalement sous l'état T, qui est caractérisé par le canal ionique fermé. Une petite fraction de récepteurs existe sous l'état R, qui est caractérisé par le canal ionique ouvert. L'agoniste tire presque toutes les molécules de récep-

teur vers l'état R au fur et à mesure que la concentration d'agoniste augmente, ce qui génère une réponse coopérative. Justement, dans une population de récepteurs, on observe une courbe sigmoïde pour le nombre de canaux ouverts en fonction de la concentration d'agoniste, impliquant un phénomène similaire à la fixation d'oxygène par l'hémoglobine.

Les mutations paradoxales diminuent la stabilité de l'état T de canal fermé, ce qui facilitera grandement la transition vers l'état R de canal ouvert. Parce que la transition est plus facile, un agoniste faible, considéré auparavant comme un antagoniste, produira néanmoins une très bonne réponse et la mutation transformera ainsi un mauvais agoniste en bon agoniste. De cette manière, ce modèle assez simple fondé sur deux états a pu expliquer quantitativement des phénomènes complexes et subtils. Les implications pour la transduction du signal sont énormes. Pour le couple signal-récepteur, une modification au niveau du récepteur peut changer complètement la nature du signal.

Des exemples similaires servent aussi à montrer que les modèles ne sont pas simplement des exercices d'école. Effectivement, on connaît des maladies génétiques des récepteurs nicotiniques dont l'origine est allostérique, tels les syndromes myasthéniques congénitaux. Dans un cas que j'ai examiné en détail avec Jean-Pierre Changeux et mon collaborateur à Genève, Olivier Schaad, une mutation provoque une diminution de la stabilité de l'état qui possède le canal fermé, encore plus importante que celle observée pour les mutations paradoxales d' $\alpha 7$. Pour les récepteurs mutés, la transition vers l'état de canal ouvert est tellement facilitée qu'il y a très souvent des d'ouvertures spontanées du canal, c'est-à-dire des ouvertures en l'absence d'agoniste ajouté. La fréquence d'ouvertures spontanées est suffisante pour dérégler les synapses et provoquer une dégénérescence de la membrane post-synaptique, ce qui cause cette pathologie si désastreuse pour les enfants qui en sont atteints. Chaque ouverture laisse passer des milliers d'ions de sodium, mais aussi un nombre important d'ions de calcium, qui, en quantité trop élevée, sont toxiques pour les cellules.

Ces résultats apportent une autre confirmation de l'hypothèse du modèle MWC : l'équilibre entre les deux états est présent même en l'absence d'agoniste. Sur le plan clinique, il suffirait d'identifier un composé qui se lie aux récepteurs mutés avec une affinité plus forte pour l'état fermé. Ce composé stabiliserait cet état, et en conséquence supprimerait la pathologie.

Pour la nicotine, en termes de problème de santé publique, nous n'avons toujours pas de parade efficace pour aider les fumeurs à s'arrêter. Une des difficultés est le lien privilégié entre les effets de la nicotine et d'un autre neurotransmetteur qui joue un rôle central dans les sensations de plaisir, la dopamine, comme ont pu le démontrer Jacques Glowinski et ses collaborateurs, dans leur laboratoire au Collège de France.

* *
*

Au-delà des récepteurs nicotiques, presque toutes les classes de récepteurs présentent des propriétés allostériques. La trans-

duction de beaucoup de signaux passe par une autre grande classe de récepteurs, qui sont de petite taille, avec sept hélices transmembranaires. Les récepteurs de cette classe sont également allostériques, comme notre modélisation récente du récepteur de la neurokinine A, accomplie avec Jean-Luc Galzi et son équipe, l'a démontré. De nombreuses maladies génétiques sont provoquées par des mutations dans les gènes de cette classe de récepteurs. Pour certaines de ces maladies, une activation spontanée des récepteurs a lieu que l'on appelle « gain de fonction », comme nous l'avons observé pour les récepteurs nicotiques. Avec son équipe au Collège de France, Pierre Corvol a caractérisé d'autres mutations du type « gain de fonction » pour le récepteur de l'angiotensine II, qui joue un rôle clé dans la régulation des muscles lisses.

Les maladies liées aux récepteurs font l'objet de recherches pharmacologiques intensives. On estime que les seuls récepteurs à sept hélices transmembranaires représentent presque la moitié de toutes les cibles de l'industrie pharmaceutiques. Dans bien des cas

les pharmacologues cherchent un antagoniste mais, comme nous l'avons vu, la notion d'antagoniste simple est dépassée. Il faudrait plus précisément obtenir un composé capable de pousser l'équilibre allostérique de l'état actif, l'état R, vers l'état inactif, l'état T. Ces produits existent, et ils sont désignés par l'appellation « agoniste inverse », soulignant qu'un agoniste est un composé capable de faire basculer l'équilibre allostérique vers un état ou vers l'autre.

Il existe d'autres systèmes de transduction du signal pour lesquels des modifications génétiques sont liées à des maladies, mais plutôt que les énumérer, je voudrais m'arrêter là afin d'établir une conclusion générale.

Par le choix des sujets présentés, j'ai voulu montrer que le progrès scientifique dépend souvent de la formulation de modèles appropriés. Entre les extrêmes caricaturaux du physicien qui proclame ne pas avoir besoin de données, parce qu'il détient une théorie suffisante, et celui du biologiste qui prétend se passer complètement de théorie, parce que ses données suffisent, un juste milieu doit

être atteint. Au fond, comme Goethe l'avait remarqué, il n'y a pas vraiment d'observation pure sans théorie sous-jacente, et je pense que travailler avec des modèles explicites est toujours salutaire. Parfois c'est même une source de grande satisfaction quand les prédictions sont en accord avec des expériences proposées sur la base des modélisations théoriques.

Pour clore, j'aimerais revenir sur la leçon inaugurale de Jacques Monod. Après avoir organisé ma présentation, j'ai relu sa leçon de novembre 1967. Sa façon philosophique d'aborder des questions de biologie est toujours d'un grand secours, mais une autre chose m'a impressionné par sa pertinence en l'an 2003. Nous sommes tous préoccupés actuellement par le rôle de la science dans la cité et la compréhension qu'en ont nos concitoyens. Je n'ai pas le souvenir que ces sujets provoquaient un grand intérêt dans les années 1960, surtout pas avant mai 68, mais Jacques Monod leur accordait déjà une place importante. Je terminerai en lisant quelques phrases qu'il a prononcées sur ce sujet.

« La Science a donné à l'homme d'immenses pouvoirs. Mais [...] sa source, [...] dans la connaissance objective et dans l'éthique qui la fonde, demeure obscure pour la majorité des hommes ; d'où cette anxiété, cette profonde méfiance que tant de nos contemporains éprouvent à l'égard du monde moderne et de la science elle-même. [...] Il est peu de devoirs plus clairs, ou plus urgents aujourd'hui, pour la communauté des hommes de science, que de combattre cette moderne schizophrénie. Et comment la combattre, sinon par l'approfondissement de la connaissance elle-même, par l'extension constante de la méthode objective à de nouveaux domaines, par un enseignement enfin, dispensé sans contrainte et sans sanction à des hommes libres. Tel était bien dès l'origine, tel est encore le programme du Collège de France, autant que jamais exemplaire. »

Je vous remercie de votre attention.

*Photocomposition Nord Compo
Villeneuve-d'Ascq, Nord*

Achévé d'imprimer en Espagne par Liberduplex

35-13-2217-4/01
isbn 2 213 62017 2
dépot légal : mai 2004
n° d'édition : 45993