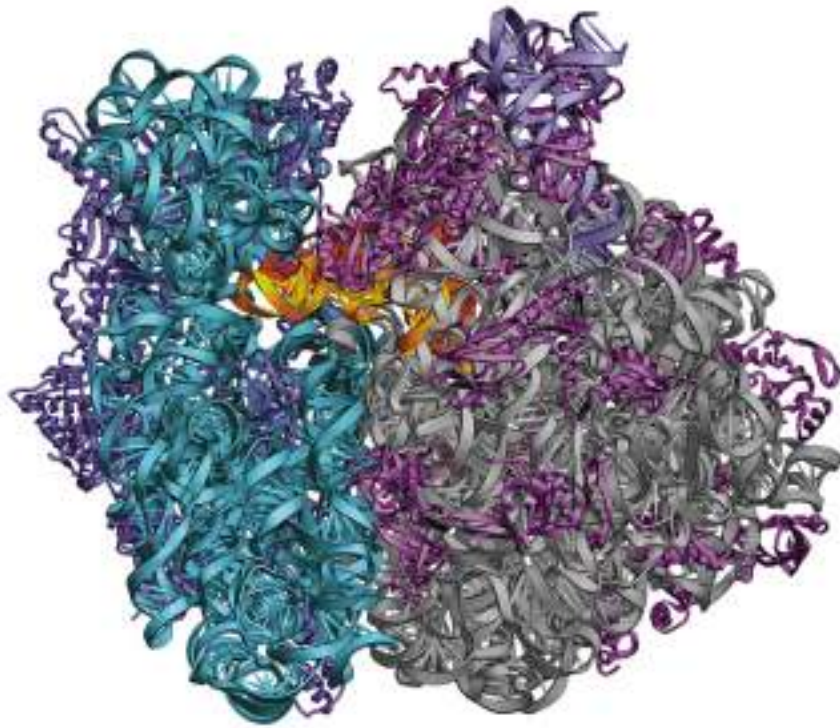


Controverse autour de la liaison peptidique

Ea Mathieu, Adrien Laporte, Lucas Julliard, Roussel Jean-Marie

16 janvier 2015



70S Ribosome (right side view) ¹

Un glossaire est à la disposition du lecteur en page 17, les termes qui y sont définis sont signalés par un astérisque lorsqu'ils sont employés pour la première fois dans ce rapport.

1. rna.ucsc.edu/rnacenter/ribosome_images.html

Table des matières

Introduction	1
I. Formation de la liaison peptidique	3
1. Une liaison à la base du vivant	3
2. Les cristallographes et leur point de vue	4
a. Présentation des acteurs cristallographes	4
b. La méthode de cristallographie	5
c. Présentation de la thèse des acteurs cristallographes	5
3. Les biochimistes et leur point de vue	5
a. Présentation des acteurs biochimistes	5
b. Les méthodes utilisées par les acteurs biochimistes	6
c. Présentation de la thèse des acteurs biochimistes	6
4. Enjeux industriels autour de la liaison peptidique	7
a. Principes d'action des antibiotiques	7
b. Les antibiotiques, un marché à saisir	7
II. Relations entre scientifiques	8
1. Critiques des travaux de cristallographie	8
2. Critiques des travaux de biochimie	8
3. Des acteurs aux positions différentes	9
III.Objectivité relative et conflits d'intérêts	10
1. Intervention de l'AERES	10
a. Le comité de l'AERES	10
b. Le rapport d'évaluation de l'AERES sur l'unité de biochimie de C. Hountondji	10
2. Des financements intéressés	11
a. Le laboratoire Melinta therapeutics	11
b. Financement des recherches de T. Steitz	11
3. Un changement de parti discret : exemple de S. Strobel	12
Conclusion	12
Bibliographie	13
Ouvrages scientifiques divers	13
Articles soutenant la thèse des cristallographes	13
Articles soutenant la thèse des biochimistes	13
Annexes	15
Premier mail de C. Hountondji	15
Second mail de C. Hountondji	16
Glossaire	17

Introduction

Les méthodes de recherche en génétique connaissent un incroyable essor depuis la découverte de la structure de l'acide désoxyribonucléique* (ADN) en 1953 par la cristallographe Rosalind Franklin ¹. Une protéine* est un ensemble d'acides aminés* liés de façon covalente entre eux. L'ordre des acides aminés est primordial et détermine autant la forme de la protéine que sa fonction dans le métabolisme cellulaire*. Le processus de liaison entre deux acides aminés est donc garant de la fonctionnalité et de la structure des protéines. L'ordre d'enchaînement des acides aminés est répertorié dans le code génétique de l'individu matérialisé par une molécule codante (i.e. qui peut porter une information) : l'Acide désoxyribonucléique (ADN).

L'ADN est conservé dans le noyau cellulaire*, étant une molécule de taille trop importante pour sortir par les pores nucléaires*, il doit être transcrit en ARN (acide ribonucléique), autre molécule codante. Vient ensuite le processus de traduction durant lequel l'ARN est lu et les acides aminés sont assemblés pour former des protéines. La liaison entre deux acides aminés est appelée « liaison peptidique* » et est catalysée* au sein d'une ribonucléoprotéine (assemblage d'ARN ribosomiques et de protéines) : le ribosome*.²

Depuis les années 2000, deux modèles de catalyse de la liaison enzymatique s'affrontent. Ils s'accordent tous les deux sur le fait que le ribosome est le siège (géographique) de cette catalyse mais divergent sur les acteurs qui y sont impliqués. Le premier est présenté par des biochimistes selon lesquels le siège de la formation de la liaison peptidique serait bien le ribosome mais qu'une protéine externe interviendrait pour cette catalyse. Le second est soutenu par des cristallographes qui affirment qu'aucune protéine ne se situe à proximité du site de formation de la liaison et que le ribosome serait doué d'une activité catalytique. Le ribosome posséderait, selon les cristallographes, une activité enzymatique, il serait alors un « ribozyme* ». La biochimie et la cristallographie sont deux domaines distincts. Le premier a permis de poser les bases de la biologie alors que le second est plus récent et permet d'accéder à un niveau de précision supérieur.

On peut dès lors se demander quels sont les arguments respectifs de ces chercheurs, sur quelles expériences ils sont fondés et de quelle nature sont les relations entre ces scientifiques.

Il faut d'abord se pencher sur le thème de cette controverse, voir quels en sont les acteurs et en mesurer les applications éventuelles en médecine. Viennent ensuite les relations que ces chercheurs entretiennent, notamment la façon dont ils critiquent les travaux de leurs confrères. Enfin il faut essayer de voir comment les enjeux médicaux peuvent se transformer en enjeux financiers et orienter les motivations des différentes équipes.

Les résultats suivants sont tirés de recherches documentaires et d'un échange de mails (Annexes 1 et 2) avec le biochimiste C. Hountondji de l'université Pierre et Marie Curie - Paris 6.

1. acces.ens-lyon.fr/biotic/genetic/adn/html/histoire

2. Biologie générale, Raven, Johnson, Mason, Losos et Singer (2014)

I. Formation de la liaison peptidique

La compréhension des enjeux liés à la liaison peptidique nécessite d'avoir conscience de la place de cette dernière au sein des organismes vivants. Les scientifiques travaillant sur ce sujet seront ensuite présentés, ainsi que les thèses qu'ils défendent.

1. Une liaison à la base du vivant

Un corps vivant, eucaryote, est constitué de cellules*. La cellule est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant une partie d'un être vivant. Les cellules de même type sont réunies en tissus, eux-mêmes réunis en organes. A l'intérieur de chacune de ces cellules, se trouve un noyau dans lequel est conservé l'ADN qui est le matériel génétique de l'individu, ce qui le définit. L'ADN contient les informations nécessaires pour former des protéines au cours d'un processus appelé la synthèse protéique. Cette synthèse intervient en deux étapes : la transcription (c'est un processus biologique consistant à copier les régions codantes de l'ADN et de les transcrire en ARN [Acide ribonucléique] : une copie de l'ADN) et la traduction qui va être le passage de l'ARN aux protéines (voir FIGURE 1).

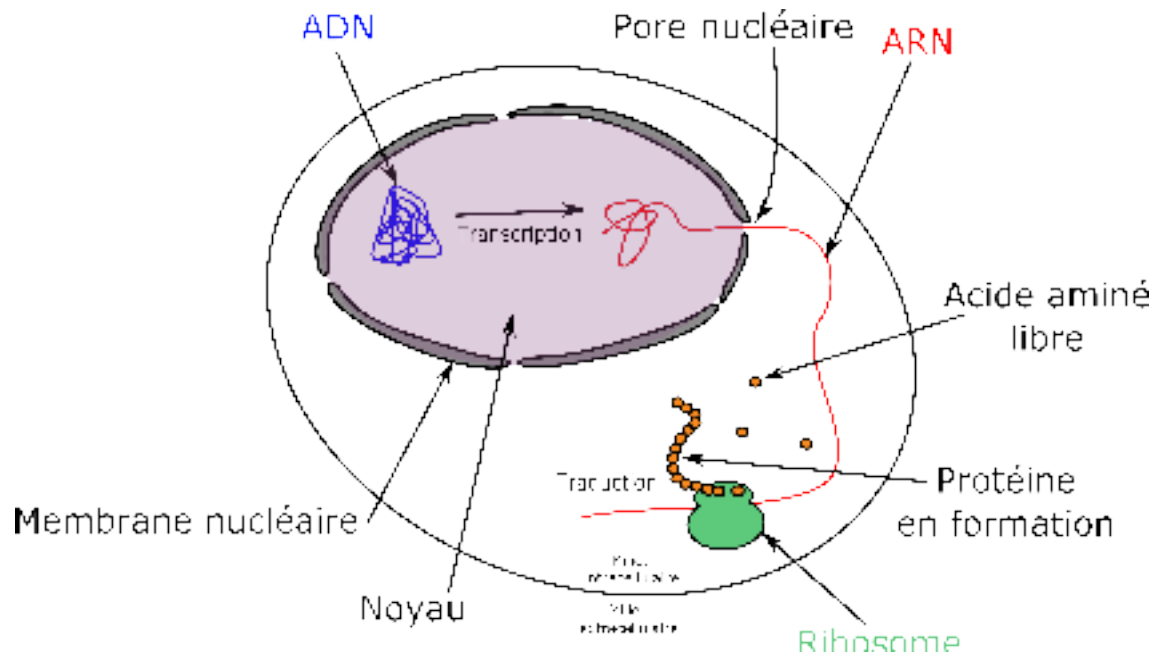


Figure 1 : Schéma simplifié de l'expression de l'information génétique

Une protéine est une chaîne de différents acides aminés, reliés entre eux par des liaisons peptidiques. Une liaison peptidique est une liaison covalente qui s'établit entre la fonction carboxyle portée par le carbone α d'un acide aminé et la fonction amine portée par le carbone α de l'acide aminé suivant (voir FIGURE 2).³

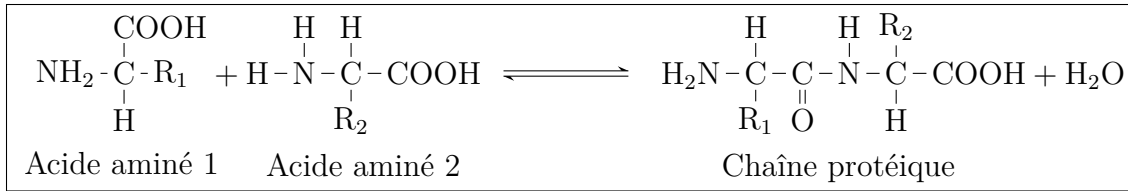


Figure 2 : Formation de la liaison peptidique³

R_1 et R_2 sont les radicaux des acides aminés, ils participent au site actif de la protéine

L'outil de synthèse des protéines est le ribosome (complexe d'acides nucléiques et de protéines). Il est composé de deux sous-unités (une grande et une petite) qui viennent s'associer à l'ARN pour le lire et assembler les acides aminés correspondants.³

Sur cette partie, cristallographes et biochimistes sont en accord. Leurs travaux divergent quant au rôle exact du ribosome lors de la formation de la liaison peptidique.

2. Les cristallographes et leur point de vue

a. Présentation des acteurs cristallographes

Le laboratoire de biologie structurale de l'université de Yale est un des deux lieux importants de cette controverse. En effet, une part majoritaire des acteurs du camp des cristallographes est venue étudier ou a travaillé dans ce laboratoire. C'est là qu'est écrit le premier article développant la thèse du ribozyme par T. Steitz, P. Nissen, J. Hansen, P. B. Moore et N. Ban. en 2000. Tous ces chercheurs travaillent alors pour l'université de Yale. L'équipe de ce laboratoire est supervisée par T. Steitz, un éminent cristallographe diplômé d'Harvard et prix Nobel 2009 de chimie.

L'institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire de l'université de Strasbourg est également un vivier de cristallographes travaillant sur la liaison peptidique. On y retrouve le couple russe M. Yusupov et G. Yusupova et l'israélien A. Ben Shem avec qui ils ont écrit le principal article⁴ européen défendant la thèse du ribozyme.

Ces deux foyers semblent entretenir des liens étroits. Il sont d'abord rapprochés par leurs idées et il est difficile de dire si la thèse du ribozyme est d'abord née dans un de ces deux laboratoire puis a été exportée à l'autre ou bien si leurs travaux ont convergé naturellement. Plus encore, on note des coopérations entre chercheurs de ces laboratoires. À titre d'exemple, les chercheurs Danois P. Nissen et L. B. Brenner de l'université d'Aarhus (Danemark) ont tous deux publié avec des chercheurs de Yale et de Strasbourg.

3. L'essentiel de la biologie, Pierce (2012)

4. Crystal Structure of the Eukaryotic Ribosome, 2010

b. La méthode de cristallographie

La cristallographie est une méthode moderne d'analyse dont la découverte en 1914 par Max von Laue a été récompensée par le prix Nobel de physique. Cette technique permet d'accéder à la structure atomique des molécules. L'échantillon à analyser doit être cristallisé à basse température avant d'être bombardé de rayons X. Les figures de diffraction des rayons sont alors caractéristiques des distances et des angles interatomiques⁵. Les cristallographes peuvent alors déterminer avec précision des structures moléculaires complexes comme le ribosome.

c. Présentation de la thèse des acteurs cristallographes

Pour former une liaison peptidique, il est nécessaire d'acidifier l'une des extrémités de l'acide aminé. Selon un groupe de cristallographes conduit par T. Steitz, cette acidification est prise en charge uniquement par le ribosome. Cette thèse est notamment développée dans leur article de 2000⁶ : «*Using the atomic structures of the large ribosomal subunit from *Halobacterium marismortui* [une bactérie] and its complexes with two substrate analogs, we establish that the ribosome is a ribozyme and address the catalytic properties of its all-RNA active site.*»

En 2003, l'équipe de Thomas Steitz publie un article majeur⁷ dans lequel elle modélise pour la première fois le ribosome. Cet article rejette l'hypothèse selon laquelle des enzymes* interviendraient lors de la formation de la liaison peptidique, et affirme que le ribosome est un ribozyme (c'est à dire qu'il est capable de catalyser par lui-même la formation des liaisons peptidiques). Comme la cristallographie révèle la structure du ribosome et ne montre pas l'implication de protéines autres dans la synthèse de la liaison peptidique, ces chercheurs en concluent que le ribosome est un ribozyme.

3. Les biochimistes et leur point de vue

a. Présentation des acteurs biochimistes

Le laboratoire d'enzymologie moléculaire de l'université Pierre et Marie Curie (UPMC) Paris 6 est un autre foyer de biochimistes. Cette unité est dirigée par C. Hountondji avec qui nous avons pu échanger quelques mails autour de cette controverse.

Le Max Planck-Institut für Molekulare Genetik de Berlin est un institut de recherche en génétique moléculaire basée à Berlin en Allemagne. Il fait partie du réseau Institut Max Planck, une association à but non lucratif allemande financée par l'État fédéral et par les 16 Länder allemands, remplissant une mission de recherche fondamentale. Les quatre chercheurs les plus actifs travaillant sur la liaison peptidique sont : K. Nierhaus, W. Wintermeyer et M. Rodnina. K. Nierhaus a notamment participé à la rédaction de l'article⁸ avec l'équipe de C. Hountondji.

5. Introduction à la cristallographie, la physique cristalline et la cristallographie, J. Muller (2014)

6. The Structural Basis of Ribosome Activity in Peptide Bond Synthesis, Poul Nissen, Jeffrey Hansen, Nenad Ban, Peter B. Moore, Thomas A. Steitz, *Science*, 289, 920 (2000)

7. RNA, the first macromolecular catalyst : the ribosome is a ribozyme, Thomas A. Steitz, and Peter B. Moore, *TRENDS in Biochemical Sciences*, Vol.28 No.8 (August 2003)

On trouve aussi dans les articles des chercheurs qui semblent évoluer de façon marginale. On peut citer J.B. Créchet de l'école polytechnique de Palaiseau ou S. Baouz qui coopèrent régulièrement avec l'équipe de C. Hountondji.⁸

b. Les méthodes utilisées par les acteurs biochimistes

Les biochimistes utilisent principalement la succession de trois techniques classiques dans l'investigation des relations protéine-protéine.

Le couplage permet de fixer de façon covalente des anticorps* fluorescents à des protéines. Les biochimistes attribuent ici des anticorps fluorescents à la protéine L27 (susceptible d'interagir avec l'ARN) et à l'ARN. Ensuite pour révéler la préparation, on peut utiliser un microscope à épifluorescence, qui permettra de voir si la fluorescence est visible et donc confirmer la présence de la protéine L27.⁹

La co-immunoprécipitation est la technique qui permet la précipitation d'un antigène* en solution par un anticorps qui agglutine spécifiquement une protéine particulière. On l'utilise pour isoler et concentrer une protéine précise parmi des milliers d'autres. Elle permet de figer une interaction entre deux protéines. Le couple protéine-ARN est figé à l'aide d'un anticorps spécifique et précipite. Cette technique est également appelée pontage protéique.⁹

Le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (FRET) permet d'étudier les interactions directes entre deux molécules fluorescentes (d'où l'utilité du couplage). Si deux molécules fluorescentes interagissent entre elles, la fluorescence se transmettra d'une molécule à l'autre. Les interactions peuvent donc être observées et quantifiées grâce à un spectrofluoromètre.⁹

D'une manière générale, les biochimistes commencent par coupler la protéine étudiée (la L27) à des molécules fluorescentes puis les interactions avec l'ARN sont observées soit par co-immunoprécipitation (l'interaction précipite), soit par FRET (l'interaction devient fluorescente).

c. Présentation de la thèse des acteurs biochimistes

Les expériences de biochimie ont montré que la protéine L27, qui est une protéine externe au ribosome, interagit avec l'ARN en cours de traduction. Ils en déduisent que cette protéine participe à la synthèse protéique et donc que le ribosome n'est pas le seul acteur. Ce dernier n'est donc, selon eux, pas un ribozyme.¹⁰

8. The CCA-end of P-rRNA Contacts both the Human RPL36AL and the A-site Bound Translation Termination Factor eRF1 at the Transferase Center of the Human 80S Ribosome, C. Hountondji, K. Bulygin, J-B. Créchet, A. Woisard, P. Truffery, J. Nakayama, L. Frovola, K. Nierhaus, G. Karpova, S. Baouz (2014)

9. Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire, B. Hainque, B. Baudin, P. Lefebvre

10. Peptide bond formation does not involve acid-base catalysis by ribosomal residues, Peter Bieling, Malte Beringer, Sarah Adio and Marina V Rodnina, Nature Structural and Molecular Biology, Vol.13 No.13, 423

4. Enjeux industriels autour de la liaison peptidique

a. Principes d'action des antibiotiques

Un antibiotique est une substance d'origine naturelle ou synthétique, ayant la capacité d'arrêter la multiplication des bactéries^{*11}. Il existe trois niveaux d'action possibles : sur l'ADN, sur l'ARN ou sur le processus de synthèse protéique. La découverte du mécanisme précis de la formation de la liaison peptidique permettrait alors d'être plus à même de concevoir des antibiotiques capables de l'inhiber. Les travaux des chercheurs, aussi bien les biochimistes que les cristallographes sont donc la clé de l'élaboration de nouvelles substances antibiotiques.

b. Les antibiotiques, un marché à saisir

La société moderne tend à privilégier l'hygiène et la sécurité sanitaire en utilisant des antibiotiques à titre préventif en élevage (notamment bovin, porcin et pisciculture). L'utilisation d'une grande quantité d'antibiotiques dans l'alimentation animale provoquerait, outre ses vertus prophylactiques*, un gain de masse chez les animaux ; ce phénomène encouragerait encore leur utilisation par les éleveurs.¹²

Ces médicaments administrés aux animaux se retrouvent dans les viandes que les humains consomment. Nous sommes donc en permanence sous antibiotiques. Cependant les bactéries sont dotées d'une capacité d'adaptation très efficace au milieu et développent rapidement des gènes de résistance qu'elles peuvent échanger entre elles. Les antibiotiques prescrits par le médecin à ses patients, qui sont les mêmes que dans l'alimentation animale, ne sont donc plus efficace contre certaines maladies dont les bactéries responsables ont muté et acquis une pharmacorésistance.¹³

Lorsqu'un antibiotique devient inefficace il faut le changer contre un autre antibiotique doté d'un mode d'action différent pour stopper la prolifération bactérienne. Il existe aujourd'hui une dizaines d'antibiotiques différents qui ne suffisent plus à faire face à l'apparition de bactéries multirésistantes¹². Le développement rapide et la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques est donc nécessaire.

La liaison peptidique occupe donc une place fondamentale dans un organisme puisqu'elle conditionne la formation des protéines. Les biochimistes s'opposent aux cristallographes pour l'élaboration d'un modèle de catalyse. Les premiers affirment qu'une protéine intervient en appui du ribosome alors que les seconds soutiennent que le ribosome agit seul. Comprendre le mécanisme de catalyse de cette liaison est essentiel pour le développement d'antibiotiques nécessaire face à la multiplication des formes de résistances chez les bactéries pathogènes.

11. www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/antibiotique-generalites

12. agriculture.gouv.fr/

13. www.biomerieux.com/fr/resistance-aux-antibiotiques

II. Relations entre scientifiques

Les scientifiques de ces deux disciplines, bien qu'étant en désaccord sur cette controverse, interagissent entre eux depuis les années 2000. Certains échanges se font par critiques directes dans les articles. Il existe d'autres relations, moins formelles, qui relèvent de l'influence et de l'éminence de chacun des acteurs et sous-tendent leurs réseaux personnels.

1. Critiques des travaux de cristallographie

La cristallographie est une science relativement jeune. Elle a permis de nombreuses avancées sur la compréhension des structures des protéines. Et il est prouvé, que la forme interne de la protéine - maintenue par des liaisons chimiques- est primordiale à la réalisation de sa fonction². Pour notre cas présent, si le ribosome possède effectivement la possibilité d'effectuer cette catalyse, on peut retrouver dans sa structure, cette fonction ou non. Les travaux de cette discipline sont donc utilisés par pratiquement tous les scientifiques, même si certaines interprétations sont contestées par d'autres.

L'équipe d'enzymologie moléculaire de C. Hountondji remet régulièrement en cause les résultats obtenus par cristallographie. Dans leur article⁸ ils citent des articles de cristallographie pour les opposer directement à leur modèle. Ils affirment ainsi voir une protéine externe au ribosome (la L27) dans le centre catalytique de celui-ci, précisément là où les cristallographes n'en voient pas.

Leur principal argument pour expliquer cette différence d'observation est que les conditions expérimentales de la cristallographie sont trop éloignées des conditions dynamiques cellulaires. La formation d'un crystal de ribosome nécessite en effet de placer ce dernier à basses températures⁵. En 2010 l'équipe de N. Fischer du Max Planck Institute for Biophysical Chemistry a montré, selon leurs expériences, qu'à 4°C (température nécessaire à la cristallographie) un blocage se met en place entre les deux sous-unités du ribosome, empêchant l'intervention de toute protéine externe¹⁴. Ce blocage n'existant pas à 37°C (température des expériences de biochimie et du milieu intracellulaire), les études de cristallographie ne seraient pas valables *in vivo* pour le cas particulier du ribosome. De plus, la cristallographie a la particularité d'intervenir sur le rôle de l'eau, dont on sait que c'est l'un des éléments les plus présents dans une cellule. Les résultats peuvent donc être biaisés en gênant ces interactions.

2. Critiques des travaux de biochimie

Les cristallographes travaillant sur la liaison peptidique tentent eux aussi de montrer que le modèle de leurs confrères biochimistes est faux. Ils mettent en avant le manque de précision des méthodes biochimiques et affirment qu'il ne s'agit pas des bonnes techniques pour

2. Biologie générale, Raven, Johnson, Mason, Losos et Singer (2014)

8. The CCA-end of P-rRNA Contacts both the Human RPL36AL and the A-site Bound Translation Termination Factor eRF1 at the Transferase Center of the Human 80S Ribosome, C. Hountondji, K. Bulygin, J-B. Créchet, A. Woisard, P. Truffery, J. Nakayama, L. Frovolia, K. Nierhaus, G. Karpova, S. Baouz (2014)

5. Introduction à la cristallographie, la physique cristalline et la cristallographie, J. Muller (2014)

14. Ribosome dynamics and tRNA movement by time-resolved electron cryomicroscopy, N. Fischer, A. Konevega, W. Wintermeyer, M. Rodnina, H. Stark (Nature, 2010)

appréhender un objet aussi petit que le ribosome ⁸ (25 nm).

Il existe un important rapport de force entre le monde de la biochimie et celui de la cristallographie quant à l'élaboration d'un modèle de formation de la liaison peptidique.

3. Des acteurs aux positions différentes

Pour que des recherches soient approuvées dans le milieu scientifique, il faut que les équipes de chercheurs publient dans des revues scientifiques renommées. Normalement, les comités de rédaction choisissent les articles à publier à l'aveugle, permettant même aux équipes les moins connues, de publier leurs recherches si elles peuvent être constructives dans leurs domaines. Mais il existe aussi une certaine « renommée », permettant d'avoir plus ou moins d'importance sur la scène scientifique.

C. Hountondji nous fait part dans son premier mail (Annexe 1) de difficultés à publier dans certaines revues en raison de l'influence des acteurs cristallographes. Il poursuit dans son second mail en expliquant que *"dans toute activité humaine il y a des réseaux, les cristallographes ont un réseau qui est même élargi aux non-cristallographes qui croient dur en leur théorie. Et tout ce beau monde est éditeur-en-chef ou éditeur associé ou simple juge-arbitre (referee ou reviewer) dans toutes les revues de Biochimie et de Biologie de la planète"*. Cela expliquerait la présence plus importante des publications des cristallographes face à celles des biochimistes, mais remet aussi en cause la lecture « à l'aveugle » des articles avant leur publication.

Cette influence est d'autant plus forte que la plupart des cristallographes sont des scientifiques reconnus par des titres. M. Yusupov est co-lauréat avec G. Yusupova et H. Noller du Prix Gregori Aminoff (prix spécifique aux cristallographes) et T. Steitz a décroché en 2009 le prix Nobel de chimie pour ses travaux sur le ribosome. T. Steitz est par ailleurs co-fondateur du laboratoire pharmaceutique Melinta therapeutics et S. Strobel possède un laboratoire de recherche privé.

Les propos que tiennent les cristallographes n'ont donc pas la même résonance que ceux des biochimistes car ce sont des chercheurs titrés qui possèdent un large réseau.

8. The CCA-end of P-rRNA Contacts both the Human RPL36AL and the A-site Bound Translation Termination Factor eRF1 at the Transferase Center of the Human 80S Ribosome, C. Hountondji, K. Bulygin, J-B. Créchet, A. Woisard, P. Truffery, J. Nakayama, L. Frovolà, K. Nierhaus, G. Karpova, S. Baouz (2014)

III. Objectivité relative et conflits d'intérêts

1. Intervention de l'AERES

En Mars 2013 le comité de l'Agence d'évaluation de la recherche et de l'enseignement supérieur publie un rapport sur l'unité d'enzymologie de C. Hountondji (biochimiste)¹⁵. Ce rapport tente de trancher la controverse portant sur la formation de la liaison peptidique en donnant raison aux cristallographes. Mais le comité de l'AERES qui a évalué l'unité de C. Hountondji était-il objectif?

a. Le comité de l'AERES

L'Agence d'Evaluation de la Recherche et de l'enseignement supérieur est une autorité administrative indépendante chargée de l'évaluation des établissements d'enseignement supérieur et de recherche, des organismes de recherche, des unités de recherche, des formations et diplômes d'enseignement supérieur, ainsi que de la validation des procédures d'évaluation de leurs personnels.¹⁶

Le comité qui a évalué l'unité de recherche de C. Hountondji était notamment composé de :

- P. Dumas : CNRS, Responsable de l'équipe "Biophysique et Biologie Structurale"
- G. Capitani : Institut Paul Scherrer, Chef de projet « cristallographie des protéines et bioinformatique structurale ».
- S. Marzi : CNRS, co-encadrant, équipe "Biophysique et Biologie Structurale"

On remarque alors que les membres du comité appartiennent au milieu de la cristallographie. Ce rapport témoigne donc de l'évaluation d'une équipe de biochimistes par des cristallographes sur un thème de recherche qui fait controverse entre ces deux disciplines. On peut dès lors faire l'hypothèse que les membres du comité de l'AERES aient pu manquer d'objectivité.

b. Le rapport d'évaluation de l'AERES sur l'unité de biochimie de C. Hountondji

Les termes employés dans ce rapport sont assez forts et évocateurs :

Le rapport d'évaluation de l'AERES sur l'unité d'enzymologie de C. Hountondji commence par faire état des travaux et des méthodes de l'équipe. Les sujets de recherche, notamment celui concernant la liaison peptidique sont jugés "*non pertinents*" et leur interprétation est qualifiée de "*problématique*".

Le comité de l'AERES semble prendre pour aqoise la théorie des cristallographes qui serait un modèle de référence alors même que la controverse n'est pas résolue.

"En effet, elle [la théorie des biochimistes] repose sur une mise en cause radicale du mécanisme catalytique du ribosome qui ne serait pas un ribozyme puisque, selon C. Hountondji et ses collaborateurs, L36A [la protéine qui interviendrait pour catalyser la liaison] serait seule responsable du mécanisme catalytique."

15. Rapport de l'AERES sur l'unité enzymologie de l'ARN

16. www.aeres-evaluation.fr

"Le comité est unanime pour recommander à l'équipe d'abandonner la mise en cause radicale de la thèse selon laquelle le ribosome est un ribozyme."

Malgré ces vives recommandations, C. Hountondji continue ses recherches sur la formation de la liaison peptidique à l'UPMC comme le montre sa publication de 2014.⁸

Le comité aborde enfin la question des antibiotiques :

"Par ailleurs, le comité suggère d'abandonner la piste de recherche d'antibiotiques jugée sans fondement."

Les cristallographes ne souhaitent clairement pas que le modèle des biochimistes puisse servir à l'élaboration d'antibiotiques, peut être car ces derniers pourraient concurrencer les antibiotiques basés sur leur modèle.

2. Des financements intéressés

a. Le laboratoire Melinta therapeutics

Melinta therapeutics est un laboratoire de recherche pharmaceutique américain qui développe et commercialise des antibiotiques. Il a été fondé par W. Jorgensen, P. Moore et T. Steitz (chercheur à Yale).

Ce laboratoire tente de commercialiser depuis 2000 (avant la parution des premiers articles traitant de la liaison peptidique) un antibiotique particulier : la delafloxacin. Ce médicament a pour but de stopper la prolifération des bactéries en agissant directement sur leur machinerie de synthèse des protéines, c'est-à-dire sur le ribosome. Il est donc a priori plus efficace qu'un antibiotique classique qui agit sur l'ADN ou l'ARN car il détruit l'outil principal que les cellules utilisent pour se multiplier.¹⁷

b. Financement des recherches de T. Steitz

Les principales ressources financières de l'équipe de T. Steitz à l'université de Yale proviennent du laboratoire Melinta therapeutics¹⁸.

Comme nous l'avons remarqué au paragraphe précédent, la delafloxacin, dont les essais ne semblent pas avoir été rendus publics, agit sur le ribosome pour empêcher la fabrication des protéines en inhibant la catalyse de la liaison peptidique. Seulement, si le ribosome n'était pas acteur de cette liaison, la delafloxacin serait inefficace.

Melinta therapeutics a lancé la phase 1 des essais sur la delafloxacin en 1998¹⁹, date à laquelle aucune étude traitant de la façon dont se forme la liaison peptidique n'avait été publiée. Le premier article concernant cette liaison a été publiée par l'équipe de T. Steitz en 2000²⁰.

T. Steitz est à la fois co-fondateur de Melinta therapeutics et directeur d'une équipe de recherche. Ses travaux de cristallographie ont alors pu être influencés par l'industriel pharmaceutique.

8. The CCA-end of P-rRNA Contacts both the Human RPL36AL and the A-site Bound Translation Termination Factor eRF1 at the Transferase Center of the Human 80S Ribosome, C. Hountondji, K. Bulygin, J-B. Créchet, A. Woisard, P. Truffery, J. Nakayama, L. Frovolà, K. Nierhaus, G. Karpova, S. Baouz (2014)

17. www.melinta.com

18. www.yale.edu/steitz/

19. www.melinta.com/delafloxacin.php

20. The Structural Basis of Ribosome Activity in Peptide Bond Synthesis, Poul Nissen, Jeffrey Hansen, Nenad Ban, Peter B. Moore, Thomas A. Steitz, Science, 289, 920 (2000)

Les recherches du principal acteur biochimiste C. Hountondji semblent en revanche bénéficier de financements moins industriels :

- ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le SIDA)
- Inserm (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale)
- INC (Institut National du Cancer)
- Université Paris-Diderot

3. Un changement de parti discret : exemple de S. Strobel

L'avis des acteurs dans une controverse n'est pas fixe. Chacun des deux camps tente d'exposer ses arguments afin de rallier des opposants à leurs thèses respectives. Il arrive alors qu'un scientifique change d'avis, c'est le cas de S. Strobel.

Ce dernier a d'abord co-écrit en 2002 l'article « Important contribution to catalysis of peptide bond formation by a single ionizing group within the ribosome » soutenant la thèse biochimiste selon laquelle le ribosome n'est pas un ribozyme et que la formation de la liaison peptidique nécessite l'intervention d'une protéine externe. Il affirme pourtant aujourd'hui sur son site web²¹ que « *the ribosome is a ribozyme* ». Lorsqu'il soutenait la thèse des biochimistes, S. Strobel travaillait déjà dans un des laboratoires de l'université de Yale, il était donc proche de T. Steitz qui soutient la thèse des cristallographes dans la même université. Ce changement radical d'avis sur la question de la formation de la liaison peptidique pourrait donc être dû à leurs contacts. Il n'existe apparemment aucune trace de ce changement d'avis, S. Strobel se contente d'ignorer son avis passé et fait comme s'il avait toujours soutenu la thèse de T. Steitz.

Conclusion

L'observation de cette controverse montre que des scientifiques, qui pourtant se basent sur des faits expérimentaux a priori irréfutables, peuvent être en désaccord. La source du désaccord scientifique pur est la différence dans les méthodes employées. Si les critiques entre chercheurs se font par la publication d'articles, la voie que prend la controverse dépend également du poids des acteurs sur la scène scientifique internationale. Ainsi les cristallographes, qui sont pour la plupart des chercheurs reconnus du monde scientifique, semblent non seulement avoir plus de facilités à faire passer leurs idées mais aussi, si l'on en croit C. Hountondji, pouvoir empêcher les biochimistes de publier dans certaines revues. Enfin, les recherches sont rarement dénuées d'intérêts financiers qui semblent lourdement peser sur l'attitude des acteurs. Cette controverse a débuté en 2000 et quelques éléments sous-entendent qu'elle est sur le point de s'achever. En effet, C. Hountondji affirme dans son second mail que cristallographes et biochimistes se mettront en accord "dans quelques mois".

21. strobel.yale.edu

Bibliographie

Articles soutenant la thèse des cristallographes

[4] **Crystal Structure of the Eukaryotic Ribosome**

Adam Ben-Shem, et al. Science 330, 1203 (2010)

[6] **The Structural Basis of Ribosome Activity in Peptide Bond Synthesis**

Poul Nissen, Jeffrey Hansen, Nenad Ban, Peter B. Moore, Thomas A. Steitz, Science, 289, 920 (2000)

[7] **RNA, the first macromolecular catalyst : the ribosome is a ribozyme**

Thomas A. Steitz, and Peter B. Moore, TRENDS in Biochemical Sciences, Vol.28 No.8 (August 2003)

[20] **The Structural Basis of Ribosome Activity in Peptide Bond Synthesis**

Poul Nissen, Jeffrey Hansen, Nenad Ban, Peter B. Moore, Thomas A. Steitz, Science, 289, 920 (2000)

Articles soutenant la thèse des biochimistes

[8] **The CCA-end of P-rRNA Contacts both the Human RPL36AL and the A-site Bound Translation Termination Factor eRF1 at the Transferase Center of the Human 80S Ribosome**

C. Hountondji, K. Bulygin, J-B. Créchet, A. Woisard, P. Truffery, J. Nakayama, L. Frolva, K. Nierhaus, G. Karpova, S. Baouz (2014)

[10] **Peptide bond formation does not involve acid-base catalysis by ribosomal residues**

Peter Bieling, Malte Beringer, Sarah Adio Marina V Rodnina, Nature Structural Molecular Biology, Vol.13 No.13, 423, (May 2006)

[14] **Ribosome dynamics and tRNA movement by time-resolved electron cryo-microscopy**

N. Fischer, A. Konevega, W. Wintermeyer, M. Rodnina, H. Stark (Nature, 2010)

Références scientifiques diverses

[1] accés.ens-lyon.fr/biotic/genetic/adn/html/histoire

[2] **Biologie générale**

Raven, Johnson, Mason, Losos et Singer (2014)

[3] **L'essentiel de la biologie**

Pierce (2012)

[5] **Introduction à la cristallographie, la physique cristalline et la cristalochimie**

J. Muller (2014)

[9] **Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire**

B. Hainque, B. Baudin, P. Lefebvre

[11] www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/antibiotique-generalites

[12] agriculture.gouv.fr/

[13] www.biomerieux.com/fr/resistance-aux-antibiotiques

[15] **Rapport de l'AERES sur l'unité enzymologie de l'ARN**

[16] www.aeres-evaluation.fr

[17] www.melinta.com

[18] www.yale.edu/steitz/

[19] www.melinta.com/delafloxacin.php

[21] strobel.yale.edu

Annexes

Premier mail de C. Hountondji

Bonjour chers étudiants de l'ENTPE,

Je vais répondre avec un grand plaisir à vos questions.

Tout d'abord, nous soutenons effectivement la thèse selon laquelle le ribosome ne serait pas un ribozyme. Nos travaux le démontrent très clairement. L'approche que nous utilisons est une approche très adaptée à l'étude des phénomènes biochimiques (ou biologiques au sens large) en solution, dans des conditions proches des conditions dynamiques en milieu aqueux des cellules vivantes. C'est tout le contraire des conditions expérimentales figées des travaux de cristallographie aux Rayons X où par définition, l'étude n'est possible que sur un objet biologique figé car cristallisé ne contenant plus que de rares molécules d'eau, alors que les systèmes biologiques peuvent contenir jusqu'à 80% d'eau!!! En conséquence, nos rapports avec les Cristallographes sont très conflictuels et ils nous empêchent par tous les moyens de publier nos travaux!!! Mais nous arrivons à publier petit à petit, et, preuves à l'appui, nous arrivons à rallier de plus en plus de monde à notre thèse.

Et pourtant, l'effort que doivent faire les Cristallographes pour concilier nos données biochimiques dynamiques en solution, avec leurs données cristallographiques figées (antinomiques avec les conditions cellulaires fluides et dynamiques), cet effort n'est pas exorbitant. En effet, dans leurs structures cristallographiques, ils ne voient aucune protéine au site catalytique du ribosome, et concluent que le ribosome ne peut pas utiliser une protéine pour faire la catalyse, d'où l'idée actuelle que le ribosome serait un ribozyme, capable de catalyser la synthèse protéine sans l'aide d'aucune protéine enzymatique ou non-enzymatique. Mais là où les Cristallographes ne voient aucune protéine, nous en voyons une, mais une seule, et ce, dans tous les ribosomes de tous les trois règnes majeurs du vivant à savoir, les eucaryotes (y compris l'humain, les levures, les champignons), les archaebactéries et les eubactéries (comprenant toutes les bactéries pathogènes ou non-pathogènes). La seule explication possible, quand les uns ne voient aucune protéine et que les autres n'en voient qu'une seule, c'est que la seule protéine visible dans nos conditions est une structure très flexible qui bascule entre l'intérieur et l'extérieur d'un cercle restreint appelé le site catalytique. Pendant ce mouvement permanent de bascule, une méthode dynamique comme notre méthode d'ENZYMOLOGIE MOLÉCULAIRE est capable d'attraper cette protéine, alors que dans les études cristallographiques, la protéine se retrouve toujours dans une configuration où elle est gelée à l'extérieur de ce cercle et donc invisible.

Enfin, nous en sommes déjà à proposer un modèle réactionnel où la protéine ribosomale que nous avons découverte au site catalytique du ribosome se trouve directement impliquée dans la catalyse.

Voilà le point de la situation. Je me tiens à votre disposition pour d'autres renseignements.

Bien cordialement,

////////////////////////////////////
Codjo Hountondji, Professor of Biochemistry
and Molecular Biology

University Pierre et Marie Curie (UPMC, Paris 6)
Director of the Research Group UPMC-UR 6
"Enzymology of RNA" - Tour 32, 4ème Etage
Case Courrier N° 60
2, Place Jussieu - 75251 PARIS CEDEX 05
France

Second mail de C. Hountondji

Bonjour,

Connaitriez-vous un article récent de cristallographie qui montrerait clairement leur opposition à votre thèse ?

Réponse : je n'ai pas d'exemple précis en tête, mais si vous tapez le mot-clé ribosome ou structure fonction of ribosome dans PubMed ou dans google, et que vous allez regarder les articles de 2010 à 2014, vous trouverez quelques articles.

Nous aimerions également savoir par quels moyens les cristallographes pourraient vous empêcher de publier et pourquoi.

Réponse : puisque dans toute activité humaine il y a des réseaux, les cristallographes ont un réseau qui est même élargi aux non-cristallographes qui croient dur en leur théorie. Et tout ce beau monde est éditeur-en-chef ou éditeur associé ou simple juge-arbitre (referee ou reviewer) dans toutes les revues de Biochimie et de Biologie de la planète.

Enfin beaucoup de scientifiques semblent soutenir le travail des cristallographes. Est-ce selon vous parce que c'est une méthode plus « à la pointe » ?

Réponse : beaucoup de scientifiques soutiennent le travail des cristallographes parce que c'est une méthode physique sophistiquée à laquelle les gens ne comprennent rien. Alors, ils croient tout ce qu'on leur dit. Mais nous allons mettre tout le monde d'accord dans quelques mois.

Bien cordialement,

Codjo Hountondji, Professeur de Biochimie
Université Pierre et Marie Curie (UPMC, Paris 6)
Directeur de l'Unité de Recherche UPMC-UR 6
"Enzymologie de l'ARN" - Tour 32, 4ème Etage
Case Courrier N° 60
2, Place Jussieu - 75251 PARIS CEDEX 05

Glossaire

Ces définitions sont tirées de l'ouvrage Biologie générale par Raven, Johnson, Mason, Losos et Singer.

Acide aminé : Structure de base des protéines, composée d'un atome central de carbone avec un groupement carboxyle (-COOH), un groupement amine (-NH₂), un hydrogène et un groupe latéral ; les acides aminés ne diffèrent que par le groupement latéral.

ADN : Acide désoxyribonucléique, molécule présente dans toutes les cellules vivantes, qui renferme l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement d'un organisme. C'est aussi le support de l'hérédité car il est transmis lors de la reproduction, de manière intégrale ou non. Il porte donc l'information génétique (génotype) et constitue le génome des êtres vivants.

ARN : molécule biologique présente chez pratiquement tous les êtres vivants, et aussi chez certains virus. L'ARN est une molécule très proche chimiquement de l'ADN et il est d'ailleurs en général synthétisé dans les cellules à partir d'une matrice d'ADN dont il est une copie.

Anticorps : Protéine produite par les lymphocytes en réponse à une substance étrangère et libérée dans le flux sanguin. Les anticorps se fixent de façon spécifique à des molécules.

Antigène : Substance étrangère, généralement une protéine ou un polysaccharide (sucre), qui induit une réponse immunitaire.

Bactérie : organisme vivant microscopique et procaryote (qui ne possède pas de noyau) présent dans tous les milieux. Le plus souvent unicellulaires, elles sont parfois pluricellulaires (généralement filamenteuses) et peuvent également former des colonies dont les cellules restent agglutinées au sein d'un gel muqueux.

Catalyse : modification notable de la vitesse d'une réaction chimique par l'action d'une substance appelée catalyseur. Les enzymes sont des biocatalyseurs.

Cellule : élément fonctionnel et structural qui compose les tissus et organes des êtres vivants.

Enzyme : Protéine capable d'accélérer des réactions spécifiques en abaissant l'énergie d'activation requise.

Liaison peptidique : Liaison reliant les acides aminés d'une protéine à la suite d'une réaction de déshydratation.

Métabolisme cellulaire : Ensemble de tous les processus chimiques qui se déroulent au sein d'une cellule.

Noyau cellulaire : Organite entouré de membrane abritant l'ADN chromosomique.

Pore nucléaire : Ouverture minuscule, mais complexe, de l'enveloppe nucléaire permettant le passage sélectif des protéines et des acides nucléiques dans les deux sens.

Prophylactique : Qualifie un traitement préventif.

Protéine : Chaîne d'acides aminés réunis par des liaisons peptidiques.

Ribosome : Machine moléculaire qui synthétise les protéines ; c'est l'association de protéines la plus complexe de la cellule, contenant aussi trois molécules différentes d'ARN.

Ribozyme : Molécule d'ARN capable de se comporter comme une enzyme. Selon des cristallographes, l'ARN ribosomique fonctionne comme un ribozyme lors de la polymérisation des acides aminés en protéine.