

Un rôle « non traditionnel » de l'eau dans les systèmes et les régulations de l'expression génétique ?

Devant les difficultés d'interpréter la régulation de l'expression génétique en termes purement électrostatiques, je me suis intéressé au rôle possible et alors « non traditionnel » de l'eau dans les systèmes et les réactions de l'expression génétique. Ces systèmes hydratés subissent des variations de leur contenu en eau auxquelles on n'a accordé qu'une importance secondaire (essentiellement volumétrique) devant le rôle manifeste que jouent les cations sur leurs structures et leurs fonctions.

Il est vrai qu'on peut interpréter approximativement l'effet de ces cations par des interactions électrostatiques relevant de la théorie des polyélectrolytes, puisque l'ADN et l'ARN sont avant tout des polyanions [1]. Mais l'approche en question n'explique pas tout, et d'autres contributions doivent être invoquées pour rendre compte de phénomènes ne relevant manifestement pas d'interactions électrostatiques [2]. On postule alors l'intervention de processus de type « hydrophobe » que l'on attribue aux protéines associées aux polyanions, mais aucun support expérimental précis ne peut étayer cette hypothèse. De ce fait, nombre d'observations demeurent inexplicables, et on citera parmi les plus importantes : l'effet différentiel de cations de même valence sur la structure et l'activité des organites ; l'effet de solvants et de solutés électriquement neutres sur certaines réactions d'équilibre et de vitesse des processus de transcription et de traduction, sans parler d'effets plus subtils encore.

L'interprétation des mécanismes de l'expression génétique est ainsi

incomplète, ce qui explique en partie notre incompréhension des processus de régulation fondés sur des contributions physico-chimiques incertaines. Intéressé par ce problème depuis de nombreuses années, j'ai cherché une caractéristique des systèmes d'expression génétique qui aurait pu être négligée, et me suis concentré sur le fait patent que ces systèmes sont des gels de polymères, et à ce titre des objets physiques pouvant manifester les propriétés singulières de cet état physique particulier. J'ai été aidé dans ce travail par les acquis de la physique des gels de polymères synthétiques et macroscopiques, acquis qui ont révélé toute une classe de processus insoupçonnés des pionniers des gels, ou encore largement ignorés des biologistes [3].

Les variations de volume des gels correspondant à leur hydratation ou à leur déshydratation et qui sont induites par différents paramètres physiques (température, pression) et physico-chimiques (pH, force ionique, solvants et solutés divers), dissimulent des processus complexes et subtils que l'on interprète alors en termes « osmotiques » [3]. A cet égard, tout gel (état intermédiaire entre le liquide et le solide, où le liquide empêche le réseau de chaînes polymères de précipiter en masse compacte, et où ce réseau empêche l'eau de s'écouler spontanément) constitue une « phase » non miscible au solvant dans lequel il est en suspension. Cette phase doit toujours être en équilibre osmotique avec celui-ci, aidée en cela par des forces (ou pressions) internes compétitives à présent identifiées et

de ce fait contrôlées par l'expérimentateur.

Ces forces ont tendance à s'annihiler mutuellement. Quand il n'en va pas ainsi, et si la pression résultante est positive, le gel augmente de volume jusqu'à ce que la pression en question soit nulle. De même, toute pression négative entraîne une diminution de volume du gel. Ces variations peuvent déterminer une séparation des phases solide et liquide suivant le principe des phénomènes « critiques » de la physique. En dehors de ce cas limite, le gel gonfle ou se contracte en entraînant des variations de configuration du réseau polymère et de son contenu en eau. Ces modifications affectent un milieu caractérisé par des propriétés singulières de l'eau interstitielle (dont la densité peut être localement supérieure ou inférieure à 1,0), avec des conséquences fonctionnelles envisagées ci-dessous. Par ailleurs, la pression d'un gel perturbé est qualifiée « d'osmotique » parce qu'elle détermine des échanges d'eau avec la solution externe.

Il était tentant d'appliquer ces concepts et propriétés aux organites, ce que j'ai fait en prenant pour modèle le ribosome et certaines de ses propriétés structurales et fonctionnelles qui m'étaient familières. En assimilant le ribosome à un gel, j'ai pu fournir une explication logique de processus ininterprétables en termes électrostatiques (et notamment les effets différentiels des cations, et les synergies manifestées par ces derniers et des solvants électriquement neutres) [1, 2].

A côté de cela, il était utile de pousser

ser l'avantage en considérant d'autres propriétés des gels, et en particulier le fait que tout cycle d'hydratation-déshydratation (très rapide à l'échelle sub-microscopique) concerne à la fois la totalité du gel et induit localement des variations de la densité de l'eau interstitielle. Ces variations sont équivalentes à celles que produiraient sur des solutions des « sauts » de pression positifs et négatifs de plusieurs centaines, voire de milliers d'atmosphères [4, 5]. Il devrait en résulter des échanges sélectifs de cations et autres solutés ioniques à l'intérieur du gel [6], et aussi des effets osmotiques susceptibles d'affecter des molécules d'eau se situant à l'interface polymère-polymère, polymère-protéine, protéine-protéine.

Notre laboratoire est devenu expert dans ce domaine de recherche, assez récent [7], qui concerne l'étude des mouvements d'eau « interfaciale » induits par des pressions osmotique et hydrostatique ; il est maintenant possible d'analyser et d'interpréter les conséquences de ces phénomènes sur les réactions de transconformation et d'équilibre. Jusqu'à présent, ces travaux ont concerné des systèmes protéiques soumis à l'action de solvants, de solutés, de pressions hydrostatiques, et ont fait apparaître le rôle « non traditionnel », et semble-t-il quasi universel, des molécules d'eau à l'interface de biomolécules.

La stratégie en question, dite des « chocs osmotiques », a pour effet de diminuer « l'activité » de l'eau interfaciale, qui est inaccessible aux agents provoquant ces chocs. En conséquence, le système qui y est soumis se déshydrate, et cette déshydratation entraîne des variations de l'équilibre de ses conformations (allostériques notamment). On peut alors calculer le nombre de molécules d'eau associées aux transconformations et évaluer la contribution énergétique qu'apporte un échange d'eau à ces transconformations. Tel est bien l'un des rôles « non traditionnels » de l'eau, qui apparaît alors comme un véritable « ligand » impliqué dans les équilibres confor-

mationnels des biomolécules, et par conséquent dans les activités spécifiques qui en découlent. A titre d'exemple, on mentionnera que la stratégie des « chocs osmotiques » a permis de calculer que 60 molécules d'eau sont absorbées par l'hémoglobine lors de la fixation d'oxygène (transition T → R) [8], et que 100 molécules d'eau sont libérées par l'hexokinase lors de la fixation de glucose [9]. Ces chiffres sont indicatifs de l'importance quantitative des mouvements d'eau associés aux transconformations protéiques accompagnant la fixation et la libération de substrats ou ligands.

L'assimilation des systèmes d'expression génétique à des gels soumis à des « sauts » (ou chocs) de pression positifs et négatifs permet d'envisager une contribution « osmotique » dans les processus de reconnaissance, d'équilibre et de vitesse. Le nombre de molécules d'eau interfaciale pourrait ainsi varier et modifier les interactions moléculaires spécifiques de ces systèmes.

Sur notre suggestion, nos collègues Robinson et Sligar ont soumis les endonucléases de Eco RI, Pru II et Bam H3 à des effets de pression osmotique qui ont montré une perte réversible de spécificité liée à des mouvements d'eau interfaciale [10]. On peut donc penser que la médiation de contacts moléculaires par cette eau constitue un mécanisme général de reconnaissance (ADN- et ARN-protéines), et d'équilibres de transconformation dans les oligomères et agrégats protéiques (tels que les facteurs de transcription). L'avenir proche devrait dire si une telle généralisation est fondée ou non. Au vu des considérations et résultats qui viennent d'être exposés, on peut considérer que les systèmes et les régulations de l'expression génétique relèvent en partie de rapports entre trois types d'eau : l'eau de la solution externe, l'eau interstitielle de réseaux gélifiés, et l'eau à l'interface des acides nucléiques et des protéines.

Toute modification physico-chimique de la solution externe entraîne des modifications des propriétés de l'eau interstitielle (tri des solutés ioniques,

sauts de pression interne...), et ces modifications affectent celles de l'eau interfaciale. Ces processus en cascade pourraient jouer un rôle déterminant dans les régulations de la transcription et de la traduction, et l'eau aurait bien ainsi un rôle « non traditionnel » jusqu'alors négligé ■

RÉFÉRENCES

1. Grunberg-Manago M, Hui Bon Hoa G, Douzou P, Wishnia A. In : Eichhorn GL, Marzili LG, eds. *Metal ions in genetic information transfer*, New York, Amsterdam, Oxford Elsevier : 1981 : 193-232.
2. Hui Bon Hoa G, Begard E, Beaudry P, Maurel P, Grunberg-Manago M, Douzou P. Analysis of cosolvent and divalent cation effects on association equilibrium and activity of ribosomes. *Biochemistry* 1980 ; 19 : 3080-7.
3. Tanaka T. Gels. *Scientific American* 1980 ; 244 : 110-23.
4. Wiggins PhM, Van Ryn R. Changes in ionic selectivity with changes in density of water in gels and cells. *Biophys J* 1990 ; 58 : 585-96.
5. Wiggins PhM, Van Ryn R, Ormeod GG. Donnan membrane equilibrium is not directly applicable to distributions of ions and water in gels or cells. *Biophys J* 1991 ; 60 : 8-14.
6. Wiggins PhM. Role of water in some biological processes. *Microbiol Rev* 1990 ; 54 : 432-49.
7. Rand RP, Fuller NL, Butko P, Francis G, Nicholls P. Measured change in protein solvation with substrate binding and turnover. *Biochemistry* 1993 ; 32 : 5925-9.
8. Colombo MF, Rau DC, Parsegian VA. Protein solvation in allosteric regulation : a water effect on hemoglobin. *Science* 1992 ; 256 : 655-9.
9. Rand RP, Fuller NL. Raising water to new heights. *Biophys J* 1992 ; 69 : 345-9.
10. Robinson CR, Sligar SG. Molecular recognition mediated by bound water. *J Mol Biol* 1993 ; 234 : 302-6.

Pierre Douzou

Professeur au Muséum national d'Histoire naturelle. Inserm U. 310, Station 806 Inra, Institut de biologie physico-chimique, 13, rue Pierre-et-Marie-Curie, 75005 Paris, France.

TIRÉS A PART

P. DOUZOU.