

Préface

Les ribozymes sont des enzymes composées d'ARN au lieu de protéines. Les protéines ont 20 chaînes latérales différentes d'acides aminés, couvrant une large gamme de chimie aqueuse. En revanche, l'ARN a moins de ressources, seulement 4 bases nucléiques présentant un groupement hydroxyle en 2'. Mais sa nature polyanionique lui permet de recruter des polycations, et donc de lier des ions métalliques hydratés qui peuvent également participer à la catalyse chimique. Malgré leurs ressources catalytiques limitées, les ribozymes sont capables d'accélérer une réaction chimique d'un million de fois ou plus.

Jusqu'aux années 1980, les seuls biocatalyseurs connus étaient les protéines. Tout a changé lorsque Tom Cech a découvert que l'épissage de l'intron du groupe I de *Tetrahymena* était autocatalysé. Au même moment, Norm Pace et Sidney Altman étudiaient la RNase P qui traite les extrémités 5' de l'ARN transfert, et ils découvrirent que le composant actif était en fait une molécule d'ARN, et non pas une sous-unité protéique. Ces découvertes ouvrirent un tout nouveau domaine de la chimie biologique, mettant le chimiste au défi de comprendre comment l'ARN pouvait agir comme une enzyme avec si peu de ressources chimiques.

Pourquoi s'intéresser aux ribozymes ? Et pourquoi sont-ils importants en biologie ? Premièrement, il est fort probable qu'ils aient été les seuls catalyseurs biologiques à un stade précoce du développement de la vie sur terre. Il y a un gros problème « de la poule et de l'œuf » dans le démarrage de la vie avec à la fois des protéines et des acides nucléiques nécessaires. L'évolution

ne peut pas commencer tant qu'il n'y a pas de codage génétique, de réplication et de formation de catalyseurs biologiques. Cependant, l'hypothèse du monde de l'ARN suppose que la vie précoce aurait commencé avec l'ARN à la fois comme réserve génétique et catalytique. Cela nécessiterait donc des ribozymes pour catalyser le métabolisme primitif à ce stade.

Les protéines ont un certain nombre d'avantages par rapport à l'ARN en tant que catalyseurs. Il est donc probable que le monde de l'ARN aurait été dépassé relativement rapidement par un monde de protéines. Néanmoins, les ribozymes existent toujours en biologie contemporaine. C'est la deuxième raison pour laquelle les ribozymes sont importants. L'ARN catalyse ce qui est peut-être la réaction la plus importante dans la cellule, la condensation d'acides aminés pour former des polypeptides dans la grande sous-unité ribosomique. C'est-à-dire que le ribosome est donc un ribozyme ! L'épissage de l'ARNm par le splicéosome est également catalysé par l'ARN du splicéosome, et en outre, la RNase P participe à la maturation des ARNt dans tous les domaines de la vie.

Un groupe de ribozymes nucléolytiques est formé des nucléases à site spécifique. Ceux-ci font généralement partie du groupe des plus petits ARN catalytiques. Ils ont été découverts en Australie, car ils sont présents dans des virus importants dans l'industrie agricole. À Adélaïde j'ai rencontré Bob Symons qui a découvert le ribozyme en tête de marteau relativement tard dans sa vie, et j'ai pensé qu'il s'intéressait plus à la culture de la vigne qu'à la biologie moléculaire ! Il y a neuf ribozymes dans cette classe, dont les plus récents ont été trouvés par l'application de la bio-informatique dirigée dans le laboratoire de Ron Breaker. Certains des ribozymes nucléolytiques se sont avérés être répandus, y compris dans le génome humain. Dans la plupart des cas, nous ne connaissons pas encore leur fonction, mais ils sont probablement importants.

Cet ouvrage présente une synthèse de l'état actuel des connaissances dans le domaine des ribozymes. Alors, quelles sont les grandes questions ? De toute évidence, une question majeure est de savoir comment réaliser de tels exploits majeurs de la catalyse chimique. Cette question peut être posée à presque tous les niveaux, et je ne suis pas sûr que nous comprenions parfaitement une enzyme protéique. Mais en termes généraux, nous avons une compréhension

générale, et pour certains ribozymes, notre description de leur mécanisme catalytique est très bonne. Bien sûr, tout catalyseur doit finalement stabiliser l'état de transition de la réaction, mais comment y parvenir ? Il existe deux grands processus utilisés par les ribozymes, qui les divisent en deux classes. Les introns auto-épissés et la RNase P utilisent des ions métalliques hydratés pour activer le nucléophile et organiser l'état de transition. En revanche, les ribozymes nucléolytiques emploient une catalyse acido-basique générale, avec un rôle majeur pour les nucléobases catalytiques.

Une deuxième question majeure est de savoir dans quelle mesure la catalyse par ARN est utilisée dans la biologie actuelle, et s'il existe des classes majeures de ribozymes qui ont échappé à notre découverte jusqu'à présent. Il est clair qu'un monde d'ARN aurait nécessité des enzymes qui catalysent un éventail beaucoup plus large de réactions chimiques, y compris des réactions « difficiles » comme la formation de liaisons C-C. C'est très stimulant de spéculer sur les solutions qui pourraient exister, mais comment les trouverions-nous, et où devrions-nous chercher ? Une façon de découvrir de quoi l'ARN pourrait être capable est d'utiliser des méthodes de sélection *in vitro*. Il y a eu récemment une vague d'intérêt pour les espèces d'ARN qui peuvent accélérer les réactions de transfert de méthyle par exemple.

Une façon dont la biologie aurait pu surmonter le manque de la fonctionnalité chimique de l'ARN pourrait être d'utiliser des petites molécules comme cofacteurs, tout comme les protéines utilisent les coenzymes. Un exemple existe déjà avec le ribozyme nucléolytique GlnS, qui utilise le groupement phosphate captif de la glucosamine comme acide général. L'ARN est excellent pour capturer les petites molécules, et ici les ribo-interrupteurs peuvent montrer la voie. De nombreuses classes de ribo-interrupteurs interagissent avec de puissants coenzymes (ce qui suggère une origine ancienne remontant au monde de l'ARN), et on pourrait imaginer que de telles molécules d'ARN pourraient relativement facilement être converties en ribozymes en utilisant leurs coenzymes en catalyse.

Donc les ribozymes sont importants, et présentent un défi au chimiste pour comprendre leurs mécanismes, et en même temps éclairent peut-être la biocatalyse en général. Dans de nombreux cas, ils présentent également des questions intéressantes concernant leur biologie et la mesure dans laquelle ils

ont évolué dans des directions que nous n'avons pas encore explorées en profondeur. J'espère que les nouvelles générations relèveront ce défi, et cet ouvrage très utile fournira un excellent point de départ pour ce voyage.

David M.J. LILLEY
Université de Dundee

Avant-propos

Les ribozymes sont des enzymes constituées d'acides nucléiques et dans la nature plus spécifiquement d'ARN. Ils sont à l'origine de la vie comme Thomas Cech et Sidney Altman l'ont proposé dans un livre emblématique titré *The RNA world: The Nature of Modern RNA Suggests a Prebiotic RNA World* (Gesteland Atkins 1993). L'expansion de la vie suppose en effet la copie enzymatique d'un support pré-génétique. Ainsi les acides nucléiques conjuguent deux propriétés que n'ont pas les protéines. Ils s'apparient par l'intermédiaire des nucléobases en formant des hélices doubles dans lesquelles un brin est une copie en négatif de l'autre, en référence à la photographie argentique. À ceci s'ajoutent les propriétés catalytiques de leurs groupements chimiques qui, même limitées, accélèrent des millions de fois des réactions de transestérification mises à profit pour la synthèse de cette copie. Il est ainsi possible de concevoir un ribozyme capable de s'autorépliquer qui représenterait l'archétype d'un système prébiotique autonome. L'évolution de ce système primordial a abouti à la transmission et à la traduction du matériel génétique tel que nous le connaissons aujourd'hui avec la transcription de l'ADN en ARN suivi par sa traduction en protéines.

Les réminiscences de ce système sont nombreuses en biologie. La traduction des ARN messagers en protéines par l'action du ribosome est sans doute l'exemple qui vient le plus immédiatement à l'esprit puisque le ribosome est un ribozyme. Ainsi la synthèse de la liaison peptidique des protéines, la transpeptidylatation, dépend directement de la catalyse par l'ARN. Il en va de même pour l'épissage tant par les introns autocatalytiques découverts par Thomas Cech, que pour les introns épissés par le spliceosome. Les vitamines

et cofacteurs enzymatiques des protéines sont fréquemment des dérivés de nucléotides (FMN, FAD, NAD, vitamine B12, coenzyme A, ATP, SAM, pour constituer une liste non exhaustive)¹. Ces nucléotides dérivés se seraient spécialisés il y a des centaines de millions d'années au contact des ARN pour effectuer des réactions chimiques particulières hors de leur portée, diversifiant ainsi le répertoire catalytique des ribozymes mais permettant également aux protéines d'émerger dans la chimie de la vie. Cette dépendance des enzymes protéiques vis-à-vis de ces cofacteurs dont nombres sont dérivés d'acides nucléiques, ainsi que la possibilité relativement aisée de « sélectionner » *in vitro* des séquences d'ARN capables de reconnaître ces mêmes cofacteurs suggèrent que dans le « monde ARN » la diversité catalytique était plus importante que celle qui est visible aujourd'hui. Cela signifie aussi que les protéines offrent une diversité réactionnelle, certes supérieure à celle des ARN, mais toutefois insuffisante pour se passer de ces cofacteurs. Pourquoi les protéines auraient à un moment pris le pas sur les ARN ? Sans doute pour des raisons de stabilité des génomes et de vitesse de catalyse, mais ces réponses ne sont que partielles. Des ribozymes identifiés plus récemment suggèrent également qu'ils agissent dans les programmes de développement des organismes, dans la différenciation cellulaire, dans la mémoire ou le stress. Nous pouvons presque affirmer sans risque que notre vision des ribozymes en biologie est suffisamment fragmentaire pour ne pas encore saisir la diversité de leurs fonctions.

C'est pourquoi il devenait nécessaire d'éditer un ouvrage présentant ce domaine de la biologie, afin de dresser un état des lieux permettant au plus grand nombre de saisir l'importance que revêt ce groupe de molécules. Notre ambition est de donner au lecteur, du début des études supérieures en sciences de la vie au chercheur confirmé souhaitant acquérir des connaissances structurantes, la possibilité de se familiariser rapidement avec ce domaine florissant qui semble à tort être un peu passé de mode. Il n'en est rien ! Les méthodes de biologie moderne, et notamment de séquençage à haut débit, donnent un second souffle à la recherche sur les ribozymes. En effet depuis leur découverte, les ribozymes emblématiques ont été principalement étudiés sur un plan mécanistique car leur fonction était bien établie. Mais la présence de ribozymes dans les génomes pointe vers de nombreuses fonctions insoupçonnées qui doivent être plus étudiées afin d'appréhender avec plus de profondeur la

1. FMN : flavine mononucléotide ; FAD : adénine dinucléotide ; NAD : nictinamide ; ATP : adénosine triphosphate ; SAM : S-adénosyl-méthionine.

diversité et la complexité du vivant. La prépondérance des séquences transcrites mais non traduites dans les génomes indique un rôle essentiel des ARN parmi lesquels des ribozymes encore inconnus restent certainement à identifier et à étudier.

Cet ouvrage aborde 4 thèmes. Le chapitre 1 délivre des connaissances structurales sur les acides nucléiques afin de bien appréhender les parties suivantes. Les chapitres 2 et 3 brossent l'histoire de la découverte des ribozymes et font un état des lieux des connaissances sur les ribozymes qui ont été étudiés dès les années 1980. La catalyse par les ribozymes est abordée dans les chapitres 4 à 6 et permet de visualiser les stratégies employées par ces molécules pour effectuer des réactions de transestérification. Enfin, dans le chapitre 7, les fonctions des ribozymes sont abordées en fonction du contexte dans lequel ils ont été identifiés aiguillonnant ainsi notre curiosité lorsqu'il est réalisé que plus de questions que de réponses sont apportées.

Nous vous souhaitons bonne lecture !

Remerciements

Nous remercions le professeur David M.J. Lilley (University of Dundee, United Kingdom) et les Docteurs François Michel (Institut de systématique, évolution et biodiversité, Museum d'histoire naturelle, Paris) et Maria Costa (I2BC, Paris Saclay) pour la relecture critique de ce manuscrit. Nous tenons également à remercier Marie-Christine Maurel de nous avoir donné l'opportunité d'écrire cet ouvrage ainsi que pour ses indéfectibles encouragements tout au long du projet.

Plus indirectement, nous remercions également nos mentors et nos collègues chercheurs et enseignants-chercheurs, techniciens qui contribuent à l'avancée des connaissances. La recherche est un travail d'équipe où la notion de communauté est prépondérante. Communauté s'entend ici comme une structure dans laquelle tous les membres travaillent en synergie dans un intérêt commun, au-delà des intérêts particuliers ou individuels. La recherche scientifique est une prise de risque dont même les instigateurs ne peuvent initialement entrevoir les étapes qui aboutiront à la découverte. Ce contexte particulier ne peut favoriser la découverte que si les chercheurs sont libres de focaliser

leurs pensées sur leur objet sans que celles-ci soient polluées par des considérations matérialistes. « La recherche ne se programme pas, elle prend du temps et ne peut se faire avec un statut précaire », pour citer Rose Katz, chercheuse à l'INSERM décédée en 2022.

Les figures de molécules en trois dimensions présentes dans la plupart des images de cet ouvrage ont été réalisées avec le logiciel PyMol (Schrodinger 2010).