

## **Chimie des processus biologiques**

M. Marc FONTECAVE, professeur

### ENSEIGNEMENT

#### **Cours : Clusters métalliques et enzymes : le vivant inorganique<sup>a</sup>**

Il est communément considéré que la matière vivante est organique. En réalité, on sait aujourd'hui qu'une très grande quantité de processus naturels dépendent de l'intervention d'un ou de plusieurs ions métalliques. Par exemple, près de 40 % des protéines ne fonctionnent que parce qu'elles fixent un ou plusieurs ions métalliques (sodium, magnésium, calcium, fer, zinc, cuivre, etc.) On les appelle des métalloprotéines. Le vivant paraît encore plus inorganique lorsque certains de ces sites métalliques, associant plusieurs ions métalliques du même type (homo-nucléaire) ou de type différent (hétéro-nucléaire) au sein de clusters inorganiques, ressemblent à de petits morceaux de matériaux solides. Cette réalité est très mal connue et fait donc l'objet de ce cours. L'approche est d'autant plus pertinente quand on observe que ces clusters métalliques naturels interviennent dans des réactions biosynthétiques et métaboliques d'une très grande importance pour la vie cellulaire. L'étude de la structure, de la réactivité et de l'assemblage de ces clusters constituent des sujets de recherche fascinants pour la chimie bio-inorganique, à l'interface avec la biologie.

#### *Cours 1. Du fer et du soufre : un minéral dans nos cellules*

En introduction de cette série de cours sur les clusters métalliques en biologie sont présentées les différentes familles de centres métalliques naturels. Ces derniers peuvent être constitués d'un ou de plusieurs ions métalliques, complétés parfois par des ligands exogènes (porphyrines, molybdoptérine, cyanure, etc.) et fixés par un ou plusieurs liens de coordination avec des acides aminés de la chaîne polypeptidique. Les centres polynucléaires peuvent contenir un seul ou plusieurs types de métaux.

---

a. Les enregistrements des cours sont disponibles en audio et en vidéo sur le site Internet du Collège de France : <http://www.college-de-france.fr/site/marc-fontecave/course-2012-2013.htm> [Ndlr].

Les métaux les plus utilisés sont le fer et le zinc mais la nature exploite aussi des métaux moins abondants comme le molybdène et le cobalt.

Le premier cours s'intéresse plus particulièrement à la grande famille des clusters fer-soufre, qui résultent d'un assemblage organisé d'atomes de fer et d'atomes de soufre, le plus souvent attachés à la protéine par des liaisons avec des cystéines de la chaîne polypeptidique. Ces clusters jouent des rôles majeurs dans le métabolisme cellulaire chez tous les organismes vivants : (i) transfert d'électrons (respiration, photosynthèse, etc.) ; (ii) catalyse acide (aconitase) ; (iii) catalyse rédox (réductolyse de la S-adenosylméthionine) ; (iv) régulation de l'expression des gènes (facteurs de transcription et de traduction). Ces différents aspects fonctionnels sont brièvement discutés.

La seconde partie du cours pose la question de la biosynthèse de ces clusters. En effet, les atomes de fer et de soufre ne s'assemblent pas spontanément dans la protéine hôte et la mise en place du site métallique dépend de l'action de machineries protéiques biosynthétiques d'une très grande complexité, identifiées et étudiées depuis peu de temps. Les deux grandes familles de machineries de biosynthèse des clusters fer-soufre, ISC et SUF, sont présentées, du point de vue de leur structure, de leur fonction et de leur régulation.

### *Cours 2. Biosynthèse des isoprénoides : des enzymes fer-soufre, cibles thérapeutiques*

L'importance fonctionnelle des protéines fer-soufre en font, dans certaines conditions, des cibles thérapeutiques potentielles de grand intérêt. Ce concept est illustré ici avec le cas de la biosynthèse des précurseurs des isoprénoides, l'isopenténylpyrophosphate (IPP) et le diméthallylpyrophosphate (DMAPP). Les isoprénoides sont un ensemble de molécules naturelles qui jouent des rôles essentiels en biologie (ubiquinone, vitamine E, cholestérol, carotène, ...). Il a été découvert récemment que la biosynthèse de l'IPP et du DMAPP utilisait des voies différentes chez l'homme (voie du mévalonate) et chez certaines bactéries pathogènes (voie du méthyl-érythritolphosphate), ce qui permet d'envisager des approches antibactériennes très sélectives, en ciblant spécifiquement la seconde voie. Dans ce cours, on montre comment deux enzymes fer-soufre, IspG et IspH, participant à cette voie de biosynthèse sont étudiées de façon très approfondie du point de vue de leur structure et de leur réactivité pour mettre au point des molécules inhibitrices sélectives et efficaces. Des résultats récents laissent espérer des applications prochaines dans le domaine de la thérapie antibactérienne, basées sur des molécules élaborées grâce à cette approche.

### *Cours 3. Activation de l'oxygène moléculaire : une soupe de fer, de manganèse et de cuivre*

L'activation de l'oxygène moléculaire présent dans l'air est un processus d'une très grande importance pour les organismes vivants. Elle permet de réaliser une très large gamme de réactions d'oxydation utilisant l'oxygène comme agent oxydant, malgré sa très grande stabilité. La nature utilise souvent, mais pas exclusivement, des ions métalliques comme le fer ou le cuivre pour réaliser cette activation. Dans ce cours sont présentés différents systèmes polynucléaires métallo-enzymatiques qui catalysent des réactions d'oxydation étonnantes. Il s'agit d'abord de la transformation d'une tyrosine en radical tyrosinyle au sein des ribonucléotide

réductases (RNRs). Cette réaction est d'une importance majeure puisque c'est ce radical tyrosinyle qui permet aux RNRs de synthétiser les désoxyribonucléotides, les précurseurs de l'ADN. En réalité, on trouve dans la nature des RNRs utilisant soit deux atomes de fer soit deux atomes de manganèse et fonctionnant, sur le plan mécanistique, différemment. Les mécanismes d'activation de l'oxygène par ces deux systèmes sont présentés. Très récemment, une RNR utilisant un atome de fer et un atome de manganèse a été découverte.

Une seconde réaction fascinante est présentée pour illustrer l'intervention de clusters complexes dans les réactions d'oxydation. Il s'agit de l'oxydation du méthane par l'oxygène en méthanol, catalysée par la méthane-monooxygénase (MMO). La MMO possède de multiples atomes de cuivre absolument essentiels à l'activité au sein d'un assemblage polynucléaire dont il reste encore à déterminer la structure.

#### *Cours 4. Biotransformations radicalaires : de multiples clusters fer-soufre*

Les systèmes métallo-enzymatiques peuvent être rendus encore plus complexes lorsqu'ils utilisent plusieurs clusters métalliques au sein de la même protéine. C'est le cas notamment d'un sous-ensemble de la grande famille des enzymes Radical-SAM qui contiennent deux clusters [4Fe-4S]. Plusieurs systèmes enzymatiques impliqués dans des réactions complexes de modification d'ARNs de transfert, de modification de protéines, de biosynthèse de cofacteurs, de biosynthèse d'antibiotiques, toutes sortes de réactions métaboliques, sont présentés. Il est maintenant bien établi que cette complexité est liée à la nécessité d'activer deux substrats stables, notamment en espèces radicalaires intermédiaires très réactives, et de les faire réagir ensemble de façon concertée. De fait, le premier cluster est très généralement utilisé pour fixer la SAM (S-adénosylméthionine) et l'activer en radical 5'-désoxyadénosyle. Celui-ci peut alors réagir avec le second substrat qui est fixé et activé sur le second cluster. La situation est encore plus complexe quand de tels systèmes travaillent sur trois substrats, ce qui est le cas lors de certaines réactions de modification d'ARNs de transfert ou de protéines. Dans ce cas, le site actif permet de positionner la macromolécule à modifier à proximité des deux clusters, comme cela a été démontré par cristallographie dans le cas de la protéine RimO.

#### *Cours 5. La nitrogénase : un cluster à fer et molybdène unique pour l'activation de l'azote*

Sans doute, les clusters biologiques les plus complexes sont rencontrés dans la nitrogénase, l'enzyme qui fixe l'azote de l'air et le transforme en ammoniac, une réaction d'une importance capitale pour les plantes (cycle de l'azote) et qui fascine les chimistes depuis très longtemps. Pour catalyser cette réaction de réduction, la nature a choisi deux clusters à base de fer et de soufre : le cluster P, fait de huit atomes de fer et de sept atomes de soufre et qui participe essentiellement au transfert des électrons vers le second cluster, et le cluster Fe-Moco, constitué de sept atomes de fer, un atome de molybdène, un atome de carbone et de neuf atomes de soufre, qui est le site de la fixation de N<sub>2</sub> et de sa réduction multiélectronique. La structure de la nitrogénase, de ses clusters et les hypothèses mécanistiques actuellement acceptées sont présentées dans ce cours. Ces travaux sont depuis longtemps complétés par des approches de chimie bio-inspirée qui consistent à synthétiser de petits complexes de fer et/ou de molybdène, mono- ou polynucléaires, et d'évaluer

leur capacité de réduction de l'azote. Des résultats récents sont également discutés. Enfin, sont présentés les systèmes complexes multi-protéiques de biosynthèse des clusters de la nitrogénase et leur mode d'action.

### *Cours 6. Des organométalliques dans les enzymes : maturation des hydrogénases*

Il est maintenant admis que la présence d'un centre métallique complexe au sein d'une métallo-enzyme implique l'existence d'un mécanisme spécifique et étroitement contrôlé pour sa biosynthèse. Celui-ci est assuré par des machineries le plus souvent multi-protéiques qui constituent des sujets d'étude d'une très grande actualité. On en a vu, dans cette série de cours, avec l'étude des centres fer-soufre ou bien dans le cas de la nitrogénase. Cette question est complétée, dans ce dernier cours, avec la présentation des systèmes de maturation des hydrogénases, des enzymes d'un grand intérêt technologique puisqu'elles catalysent de façon très efficace l'interconversion eau-hydrogène et sont donc explorées comme catalyseurs dans des applications de type électrolyseurs et piles à combustible. Les sites actifs sont constitués de complexes binucléaires, soit de fer (FeFe), soit de nickel et de fer (NiFe). Ces derniers possèdent cette propriété remarquable de comporter des ligands diatomiques comme le monoxyde de carbone (CO) et le cyanure (CN) qui font l'objet de nombreuses études. Dans ce cours sont présentées les différentes machineries naturelles d'assemblage de ces sites actifs, notamment les enzymes qui contribuent à la biosynthèse du CO et du CN, qui restent encore incomplètement connues. Ce cours se termine avec un résultat obtenu au laboratoire et qui a été publié dans la revue *Nature*, dans son numéro du 4 juillet 2013. En combinant l'une des protéines d'assemblage des sites FeFe, appelée HydF, avec un complexe synthétique biomimétique de ces sites, il est possible de produire une protéine hybride qui est capable de maturer l'hydrogénase, sans intervention de la machinerie naturelle de biosynthèse. Cet outil technologique ouvre de nouvelles perspectives en matière de production des hydrogénases et de leurs applications dans le domaine des nouvelles technologies de l'énergie.

### **Séminaires<sup>b</sup>**

#### *Éléments pour une vision intégrée de l'assemblage des centres Fe-S dans les protéines chez Escherichia coli*

Séminaire du 22 janvier 2013 : Frédéric Barras, professeur à l'université d'Aix-Marseille, directeur du laboratoire de chimie bactérienne, UMR CNRS-AMU, membre de l'Institut Universitaire de France

Le recrutement de centres Fe-S – entités constituées d'atomes de fer et de soufre dans une géométrie définie – par les protéines est vraisemblablement très ancien et fût facilité par l'abondance de ces deux éléments à la surface de la Terre lorsque la vie est apparue. Les protéines possédant des centres Fe-S jouent donc un rôle crucial dans la biologie de tous les organismes vivants actuels et participent à tous les grands

---

b. Les enregistrements des séminaires sont disponibles en audio et en vidéo sur le site Internet du Collège de France : <http://www.college-de-france.fr/site/marc-fontecave/seminar-2012-2013.htm> [Ndlr].

processus cellulaires, de l'expression génétique à la réplication de l'ADN *via* la modification des ARN ribosomiaux, le métabolisme central ou la photosynthèse. Ce succès évolutif n'est toutefois pas sans poser de nombreuses difficultés et contraintes. Une de ces difficultés pour les organismes réside dans les relations paradoxales que les centres Fe-S entretiennent avec l'oxygène (O<sub>2</sub>) et ses formes actives dérivées (FAO). En effet, les centres Fe-S sont de remarquables senseurs de la présence de l'O<sub>2</sub> ou des FAO, permettant aux cellules de s'adapter à la présence du premier et de se protéger des secondes. Toutefois, les centres Fe-S peuvent être dégradés par l'O<sub>2</sub> et les FAO, voire contribué à la formation des FAO (*via* la chimie de Fenton), mettant ainsi les cellules qui les abritent en danger. Quelles stratégies moléculaires les organismes vivants développent-ils pour continuer à exploiter les remarquables propriétés chimiques et électroniques des centres Fe-S tout en contrôlant leur fragilité et leur potentielle toxicité ? Une autre difficulté est liée à la rareté du fer bio-disponible. Comment construire des centres Fe-S lorsque le fer est le plus souvent trouvé en concentration limitante ? Enfin, un autre enjeu est l'abondance de protéines à centres Fe-S dans un organisme. À titre d'exemple, plus de 5 % du protéome de *Escherichia coli*, soit environ 200 espèces protéiques, possèdent un (ou plusieurs) centres Fe-S. Comment les organismes vivants gèrent-ils la construction et assurent-ils la distribution des centres Fe-S pour répondre à la demande de cette population importante à la fois quantitativement et qualitativement ? Nous avons tenté de répondre à ces questions en présentant nos études chez *Escherichia coli*. Les résultats des approches de chimie, biochimie, génétique et physiologie moléculaire que nous avons présentés nous ont permis de jeter les bases d'une vision intégrée de la biogénèse des protéines à centres Fe-S chez un organisme modèle.

#### Références

- B. Py, et F. Barras, « Building Fe/S proteins : Bacterial strategies », *Nature Rev. Microbiol.*, **8**, 436-446 (2010).
- B. Py, P.L. Moreau et F. Barras, « Fe-S clusters, fragile sentinels of the cell », *Curr. Opin. Microbiol.*, **14**, 218-223 (2011).
- F. Barras, et M. Fontecave, « Cobalt stress in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* : molecular bases for toxicity and resistance », *Metallomics*, **3**, 1130-1134 (2011).

#### *La voie de biosynthèse du NAD : un cluster métallique comme catalyseur et cible thérapeutique*

Séminaire du 29 janvier 2013 : Sandrine Ollagnier de Choudens, directrice de recherches, CNRS

La découverte des antibiotiques et leur utilisation dans le traitement d'infections a constitué une des avancées les plus spectaculaires du XX<sup>e</sup> siècle dans le domaine de la médecine. Cependant, l'utilisation massive, parfois excessive, des antibiotiques rend progressivement les bactéries résistantes. Cette résistance des bactéries aux antibiotiques incite les chercheurs à trouver de nouvelles substances antibactériennes ainsi que de nouvelles cibles. La voie de biosynthèse du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD), un cofacteur essentiel en biologie, constitue une voie métabolique intéressante pour le développement de nouveaux agents antibactériens. En effet, un des intermédiaires réactionnels de cette voie de biosynthèse, l'acide

quinolinique, est synthétisé de façon différente chez les procaryotes et chez les eucaryotes. Chez la plupart des eucaryotes, il est produit via la dégradation du L-tryptophane alors que chez les bactéries opportunistes et pathogènes ainsi que chez la plante, il est synthétisé à partir du L-aspartate sous l'action successive de deux enzymes : la L-aspartate oxydase (NadB) et la quinolinate synthase (NadA). Ceci fait de la quinolinate synthase et de la L-aspartate oxydase des cibles particulièrement attractives pour le développement de nouveaux antibactériens. Jusqu'à ce jour aucun inhibiteur de la quinolinate synthase n'a été mis en évidence aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. NadA est une métalloprotéine universelle à centre  $Fe_4S_4$  essentiel pour son activité. Le mécanisme catalytique de la réaction catalysée par la quinolinate-synthase est encore mal compris ainsi que le rôle du centre FeS dans la catalyse. Comprendre le mécanisme de la réaction catalysée par la quinolinate synthase constitue ainsi un véritable défi en chimie biologique. Au cours du séminaire, nous précisons d'abord les différentes étapes de la voie de biosynthèse du NAD chez les eucaryotes et procaryotes avec un intérêt plus particulier pour l'étape dans laquelle intervient la quinolinate synthase NadA. Ensuite, nos travaux récents sur la quinolinate synthase sont abordés avec notamment l'utilisation d'une molécule comme sonde mécanistique de la réaction catalysée par NadA et comme potentiel nouvel agent antibactérien agissant selon un nouveau mode d'action.

*Métalloprotéines : quel métal pour quelle fonction ? Illustration avec des modèles synthétiques dans le cas des enzymes à fer ou manganèse*

Séminaire du 5 février 2013 : J.-M. Latour, laboratoire de Chimie et biologie des métaux, équipe de physicochimie des métaux en biologie, IRTSV/LCBM/PMB, CEA-Grenoble

Plus d'un tiers des protéines utilisent un ion métallique pour assurer leur fonction et cet ion métallique peut avoir un rôle structural ou catalytique. Un des progrès les plus importants de la dernière décennie dans le domaine des métaux en biologie a concerné la découverte de machineries complexes et spécifiques du métal qui régulent l'homéostasie de chaque ion métallique au sein des cellules. Dans la même période et de façon paradoxale, plusieurs enzymes ont été découvertes qui peuvent fonctionner avec des métaux différents fer et/ou manganèse dans le même site actif : c'est le cas des phosphatases acides pourpres et des ribonucléotides réductases pour les enzymes à site actif binucléaire.

La première partie de l'exposé a présenté la problématique liée à la dualité fer-manganèse à partir des propriétés spécifiques des deux métaux. Cette dualité a été développée dans le cas de plusieurs enzymes utilisant indifféremment les deux métaux au même site actif et une rationalisation de l'impact fonctionnel de la substitution fer-manganèse a été dégagée.

Cette rationalisation a été illustrée dans les deux parties suivantes qui ont présenté les activités de complexes binucléaires synthétiques possédant des sites  $Fe_2$ ,  $FeMn$  ou  $Mn_2$ . Dans un premier temps, l'activité des composés dans l'hydrolyse de fonctions d'esters de phosphates a été décrite et discutée en fonction des propriétés intrinsèques des métaux impliqués. Dans un deuxième temps, une présentation similaire de leurs réactivités avec le peroxyde d'hydrogène a montré les différences de comportement de chaque système. Pour conclure, les divers aspects de la

substitution fer-manganèse qui ont été mis en évidence ont été replacés dans le contexte de situations de stress cellulaires à la lumière d'études récentes *in vivo*.

### *Mono-oxygénases à cuivre : l'union des cuivres fait-elle la force ?*

Séminaire du 12 février 2013 : Marius Réglie, directeur de recherche au CNRS, université Aix-Marseille

Bien que moins nombreuses, les enzymes à cuivre sont une alternative aux enzymes à fer dans de nombreuses voies biosynthétiques. Toutes les fonctions associées aux enzymes à fer se retrouvent dans les enzymes à cuivre : transfert d'électrons, transport et stockage du dioxygène, oxygénation et oxydation. Parmi celles-ci, les mono-oxygénases sont particulièrement intéressantes car elles interviennent dans des processus biologiques importants des mammifères. La tyrosinase (Ty) intervient dans la biosynthèse de la mélanine. Son dysfonctionnement est impliqué dans le mélanome métastatique. La dopamine beta-hydroxylase (DBH) et le peptidylglycine alpha-amidating hydroxylase (PHM) catalysent les étapes clés de la biosynthèse de neurotransmetteurs noradrénaline pour la DBH et neuropeptides amidés (ocytocine, neuropeptide Y, ...) pour la PHM. Pour compléter le tableau, on trouve également des mono-oxygénases chez bactéries méthanotrophes où elles oxydent le méthane en méthanol (méthane mono-oxygénase membranaire, pMMO) et chez les champignons (GH61) où elles catalysent l'oxydation de la cellulose.

Pour activer le dioxygène et le rendre réactif, plusieurs « stratégies » sont déployées par la nature, stratégie : (i) à deux cuivres étroitement liés ( $d\text{CuCu} \approx 3,6 \text{ \AA}$ ) impliquant des entités peroxydiques de type  $\mu - \eta^2:\eta^2$  pour la tyrosinase ; (ii) à deux cuivres éloignés l'un de l'autre ( $d\text{CuCu} > 11 \text{ \AA}$ ) impliquant des entités hydroperoxydiques et/ou superoxydiques pour la DBH, la PHM et la pMMO, et (iii) à un seul cuivre pour la GH61. Ces différents points ont été abordés au cours du séminaire et replacés dans un contexte plus général de l'activation du dioxygène. Nous nous sommes tout particulièrement intéressés à la réactivité des différentes espèces réduites de l'oxygène associées au cuivre dans les enzymes et leurs modèles.

### *Dissociation de la molécule de diazote sur un atome de tantale de surface isolé : synthèse et mécanisme*

Séminaire du 19 février 2013 : Elsje Alessandra Quadrelli, université de Lyon, Institut de catalyse de Lyon,  $\text{C}_2\text{P}_2$ , laboratoire de Chimie organométallique de surface (UMR5265 CNRS-CPE Lyon - UCBL1)

La synthèse biochimique et industrielle de l'ammoniac repose sur la participation de plusieurs centres métalliques pour couper la liaison triple  $\text{N} \equiv \text{N}$  [1]. Cette coopération multimétallique est aussi la règle générale pour la coupure réductive du diazote par des systèmes moléculaires ou par des surfaces [1].

Nous avons observé la coupure de  $\text{N}_2$  à 250 °C et pression atmosphérique par le dihydrogène sur des centres hydrures isolés de  $\text{Ta}^{\text{III}}$  et  $\text{Ta}^{\text{V}}$  supportés sur silice,  $[(\equiv\text{SiO})_2\text{Ta}^{\text{III}}\text{-H}]$  et  $[(\equiv\text{SiO})_2\text{Ta}^{\text{V}}\text{-H}_3]$ . Le produit de la réaction est l'imido amido de  $\text{Ta}^{\text{V}}$   $[(\equiv\text{SiO})_2\text{Ta}(\text{=NH})(\text{NH}_2)]$  [2]. La structure du produit de surface a été déterminée avec une précision à l'échelle atomique par spectroscopies infrarouge et RMN solide, marquage isotopique, EXAFS et calculs théoriques, et par comparaison avec le produit de réaction directe des hydrures de départ avec de l'ammoniac [3].

Les intermédiaires de réaction mis en évidence par le suivi infrarouge *in situ* et une étude théorique par la fonctionnelle de la densité (DFT) ont révélé un mécanisme très différent de ceux établis précédemment pour les systèmes enzymatiques, moléculaires ou hétérogènes capables d'activer N<sub>2</sub>. L'adduit métallique dihydrogène y joue un rôle central en tant que source de proton et réservoir d'électrons. Un rôle moléculaire unique pour une molécule de dihydrogène supra-stœchiométrique est aussi proposé [4].

#### Références

[1] (a) Nielsen A., *Ammonia : Catalysis and Manufacture*, Springer Verlag, Berlin (1995) ; (b) « Nitrogen Fixation Special Issue », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, États-Unis, **103** (2006). (c) Gambarotta S., Scott J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 5298 (2004).

[2] Avenier P., Taoufik M., Lesage A., Solans-Monfort X., Veyre L., Baudouin A., de Mallmann A., Eisenstein O., Basset J.-M., Emsley L., Quadrelli E.A., *Science*, **317**, 1056 (2007).

[3] Avenier P., Taoufik M., Lesage A., Fiddy S., Veyre L., Baudouin A., de Mallmann A., Basset J.-M., Emsley L., Quadrelli E.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 176 (2007).

[4] Solans-Monfort X., C. Chow, E. Gouré, Y. Kaya, M. Taoufik, J.-M. Basset, E.A. Quadrelli et O. Eisenstein, *Inorg. Chem.*, **51**, 7237-7249 (2012).

#### *Biosynthèse de la nitrogénase : avancées et perspectives*

Séminaire du 26 février 2013 : Luis M. Rubio, Professeur, Technical University of Madrid

La nitrogénase, une enzyme bactérienne responsable de la fixation biologique de l'azote, a dans son site catalytique un ensemble complexe d'atomes de fer, de molybdène, de carbone et de soufre, appelé FeMo-co. La biosynthèse de ce cofacteur a lieu en dehors de l'enzyme et implique les activités d'un certain nombre de produits de gènes de fixation de l'azote (NIF). Les protéines Nif sont nécessaires pour fournir les constituants atomiques de FeMo-co et les échafaudages moléculaires d'assemblage du cofacteur pour faciliter le transfert des produits intermédiaires de biosynthèse de FeMo-co à la nitrogénase. Malgré cette apparente complexité, trois protéines, NifB, NifEN et NifH, participent à cette chimie. Ce constat a conduit à une simplification substantielle de la voie de biosynthèse de la nitrogénase, et à son intégration dans les plantes. Cet exposé a montré comment les progrès récents dans notre compréhension de la biosynthèse de la nitrogénase offrent de nouvelles perspectives sur cet objectif agronomique ambitieux.

#### Références

[1] Rubio L.M. et Ludden P.W., « Biosynthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase », *Annu. Rev. Microbiol.*, **62**, 93-111(2008).

[2] Curatti L *et al.*, « In vitro synthesis of the iron-molybdenum cofactor of nitrogenase from iron, sulfur, molybdenum, and homocitrate using purified proteins », *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 17626-17631(2007).

[3] Beatty P.H. and Good A.G., « Future prospects for cereals that fix nitrogen », *Science*, **333**, 416-417 (2011).