

COLLÈGE  
DE FRANCE  
— 1510 —

## **CHAIRE DE CHIMIE DES PROCESSUS BIOLOGIQUES**

Professeur : Marc FONTECAVE

Année académique 2010-2011

### **CHIMIE BIOLOGIQUE RADICALE : DE L'ORIGINE DE L'ADN AU MÉTABOLISME D'AUJOURD'HUI**

Cours : les mercredis à 10h00

Séminaires : les mercredis à 11h00

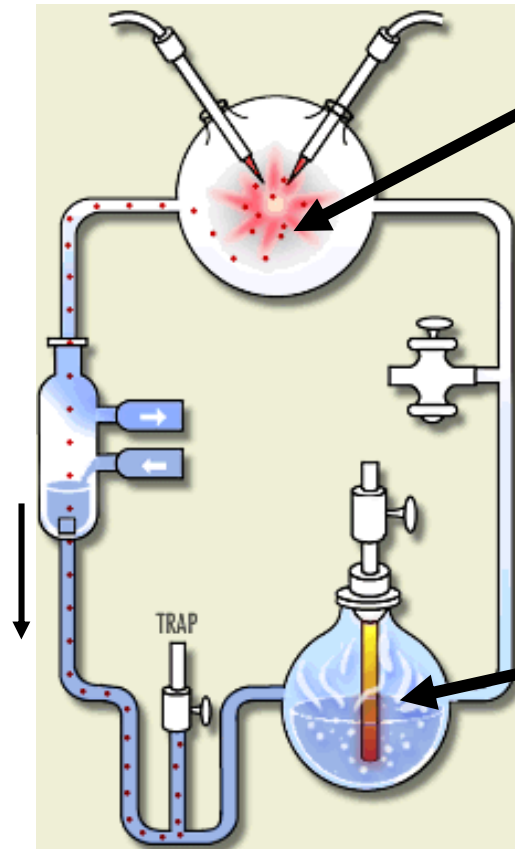
Amphithéâtre Guillaume Budé

# Fondement de la chimie prébiotique

## L'expérience de Miller (1953)



**Stanley Miller**  
(1930-2007)



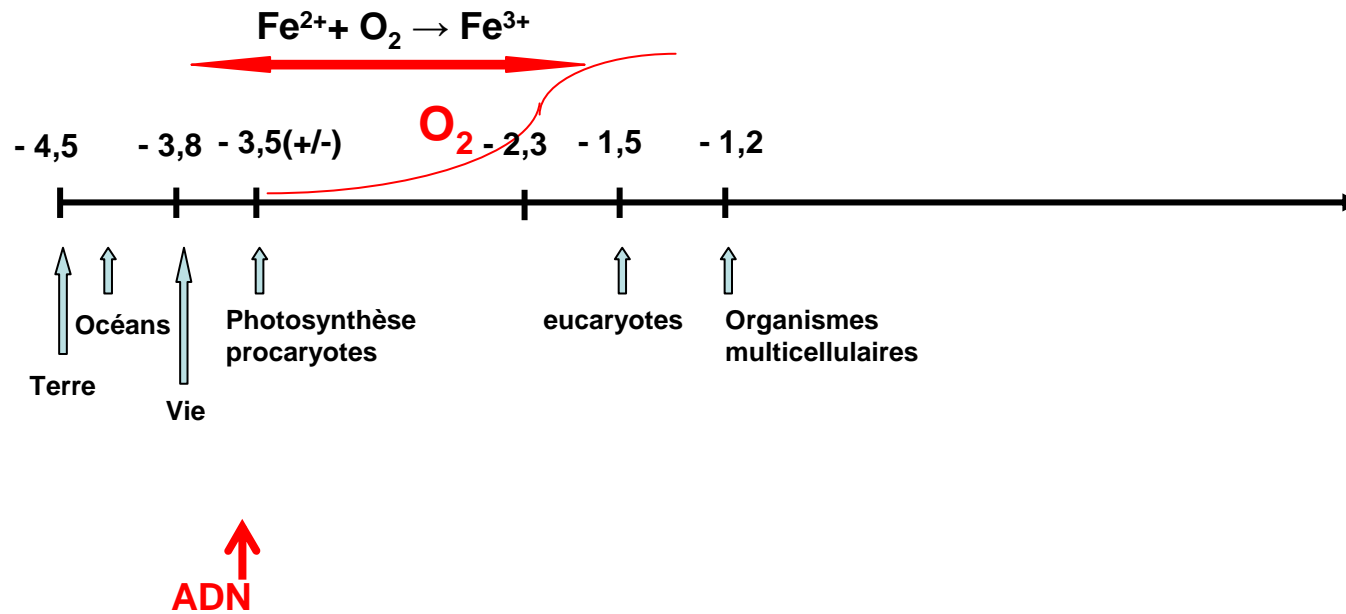
« Atmosphère  
irradiée »  
H<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>  
NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>  
...

« Océan chaud »  
**Acides,  
Acides aminés,  
Sucres,...**

→ Origine hétérotrophe de la vie

# Théories de l'évolution

- L'ADN est un produit « tardif » de l'évolution
- L'ADN existe avant O<sub>2</sub>



27 avril

- cours Du monde à ARN au monde à ADN : les ribonucléotide réductases  
séminaire Patrick FORTERRE, *Professeur à l'Université Paris XI, Orsay*  
**Le deuxième âge du monde à ARN et l'origine virale des génomes à ADN**

4 mai

- cours Biosynthèse des précurseurs de l'ADN chez les organismes aérobies : du fer, de l'oxygène et des radicaux libres  
séminaire Marie-Christine MAUREL, *Professeur à l'Université P. et M. Curie (Paris)*  
**De l'ancien au nouveau monde à ARN et inversement**

11 mai

- cours Biosynthèse des précurseurs de l'ADN chez les organismes anaérobies : du fer, de la S-adénosylméthionine et des radicaux libres  
séminaire Henri GROSJEAN, *Directeur de Recherches émérite à l'Université Paris Sud*  
**Modification et édition post-transcriptionnelles de l'ARN et ADN : visite guidée**

18 mai

- cours Une découverte récente en enzymologie : la famille des métalloenzymes « Radical-SAM (S-AdénosylMéthionine) »  
séminaire Mohammed ATTA, *Directeur de recherches, CEA Grenoble*  
**Lésion et réparation de l'ADN : la solution « radical »**

25 mai

- cours Une chimie radicalaire et des centres fer-soufre pour la biosynthèse de produits naturels soufrés  
séminaire Olivier BERTEAU, *Chargé de recherches à l'INRA, UMR 1319, Jouy en Josas*  
**Nouvelle chimie pour la modification des protéines et des ARNs : des enzymes radicalaires impliquées dans les interactions bactéries/hôte et la résistance aux antibiotiques**

1<sup>er</sup> juin

- Cours et séminaire  
**Du monde à ARN au monde à ADN, quelle ribonucléotide réductase ?**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
—1530—

## Du monde à ARN au monde à ADN : les ribonucléotide réductases

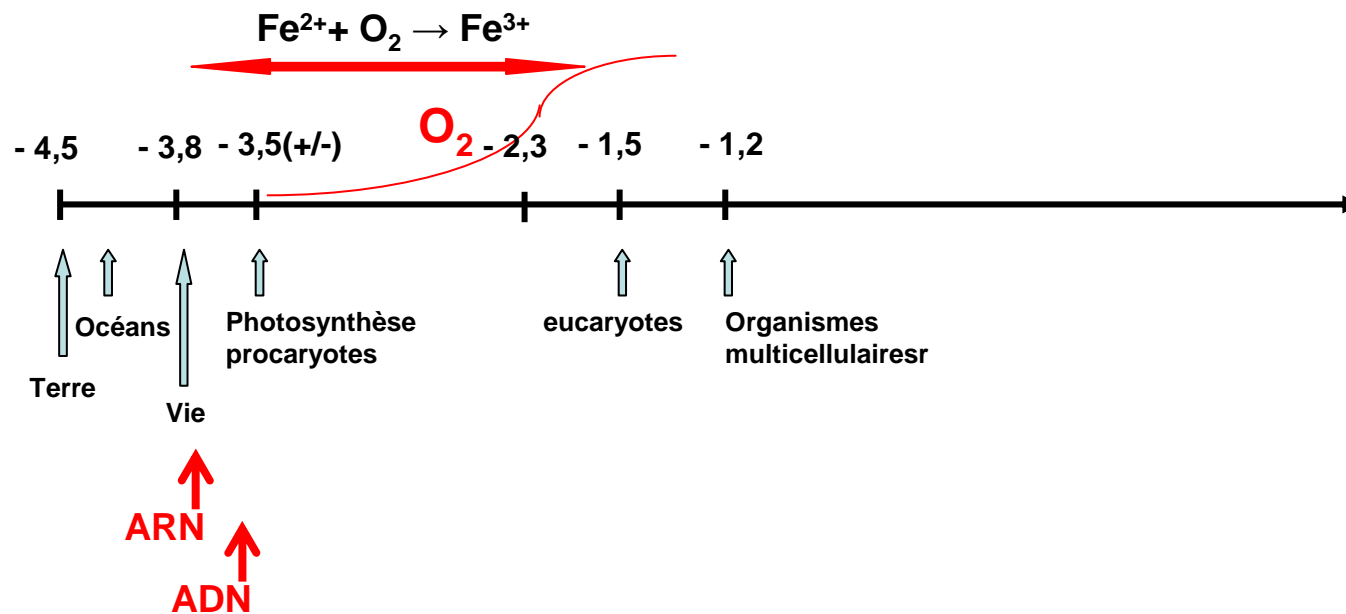
**Marc Fontecave**

*Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux, Université Joseph Fourier, CNRS, CEA/DSV/iRTSV  
CEA-Grenoble 17 rue des martyrs 38054 Grenoble cedex 9, France  
mfontecave@cea.fr; Phone: (0033)438789103 ; Fax: (0033)438789124*

*Collège de France, 11 Place Marcelin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05*

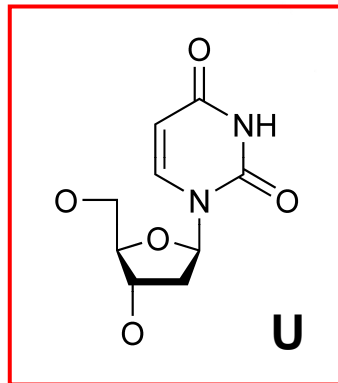
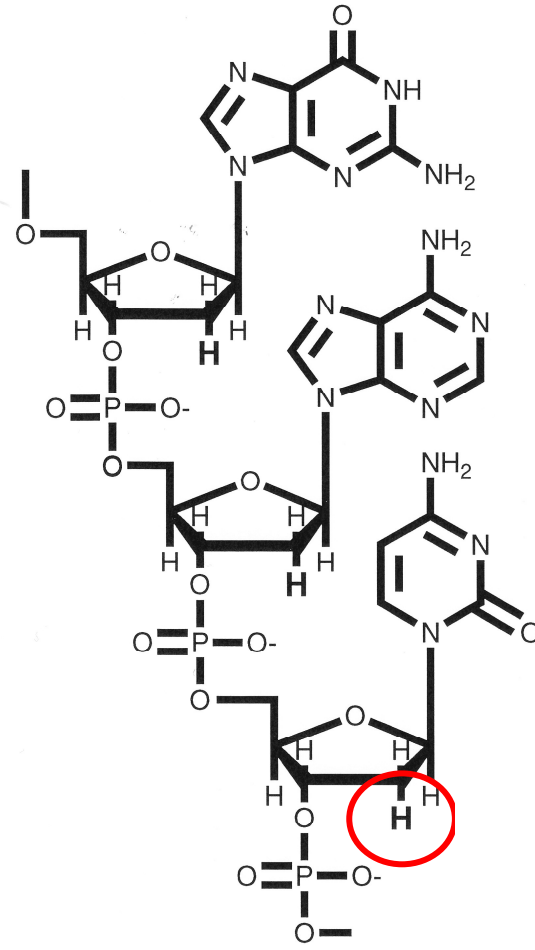
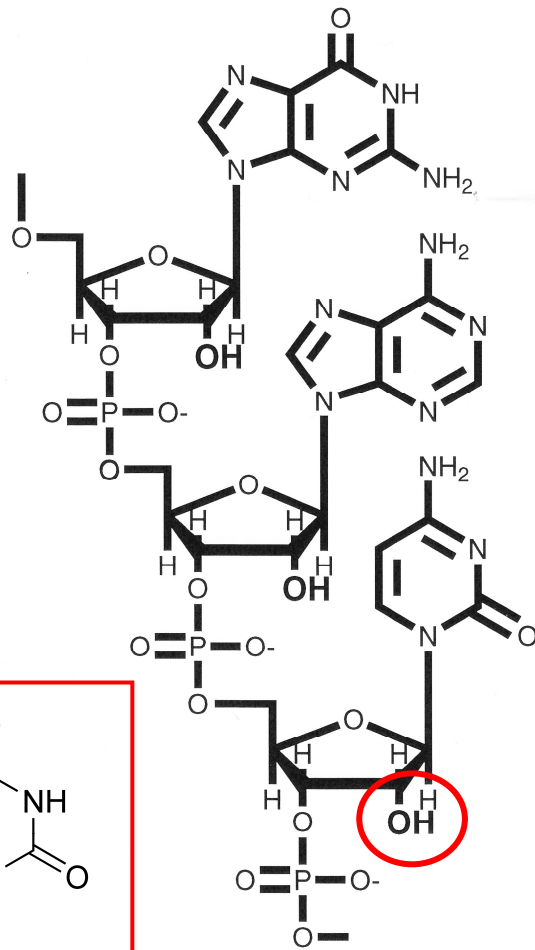
## Théories de l'évolution

- L'ADN est un produit « tardif » de l'évolution
- L'ADN existe avant O<sub>2</sub>
- Le « monde à ADN » est précédé du « monde à ARN »

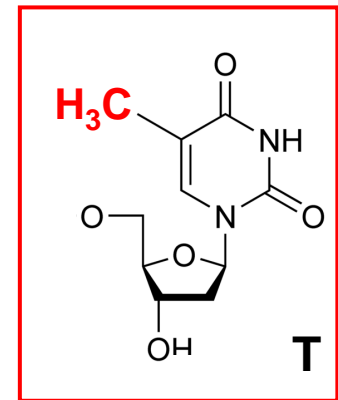


**ARN**

**ADN**

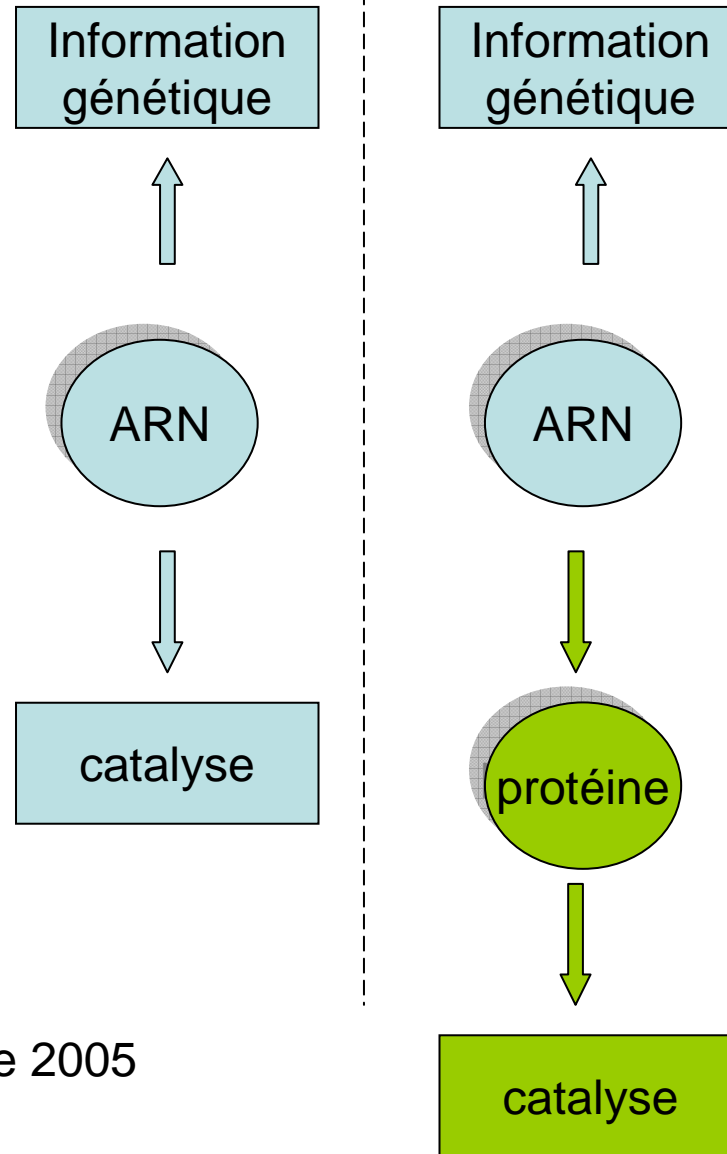


uridine

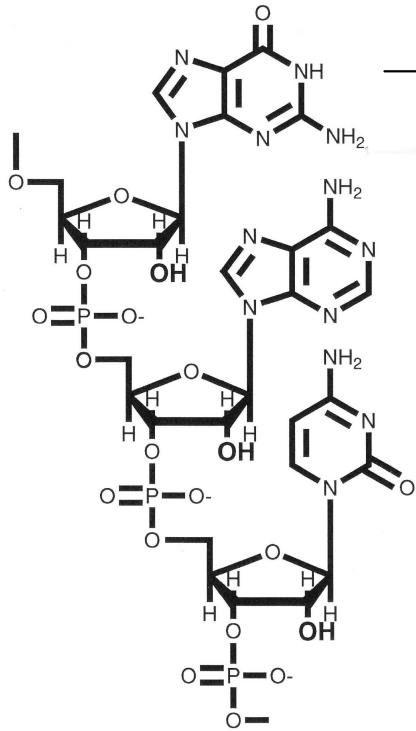


thymidine

Monde ARN → Monde ARN-protéine





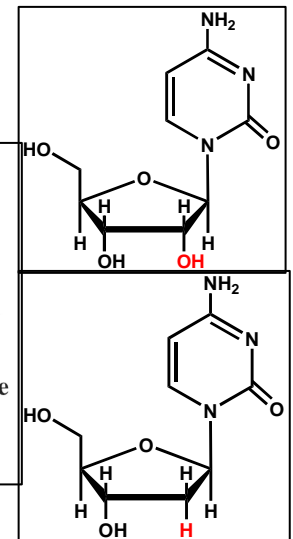
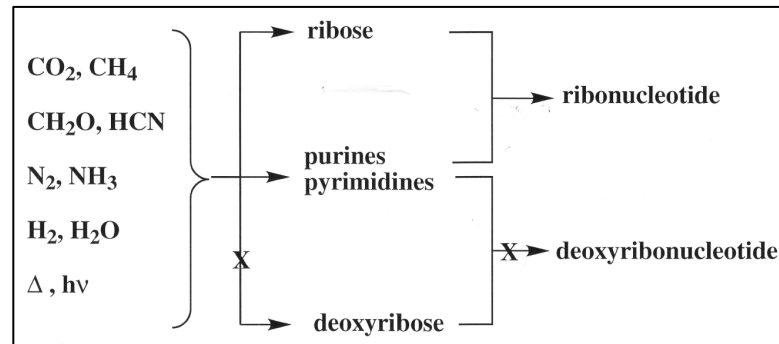
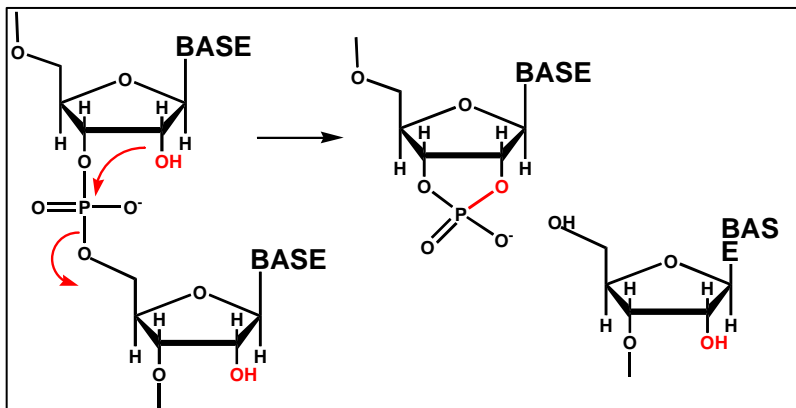


→ Le « monde à ARN » précède « monde à ADN »

- Stockage moléculaire de l'information génétique (virus à ARN)
- Auto-réplication par appariement de bases
- Pouvoir catalytique (ribozymes)

**Questions:**

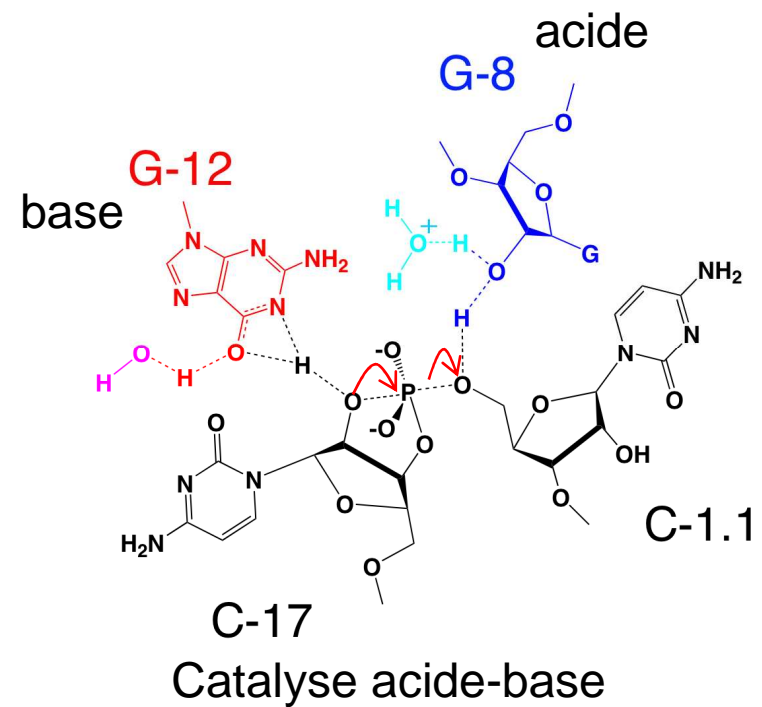
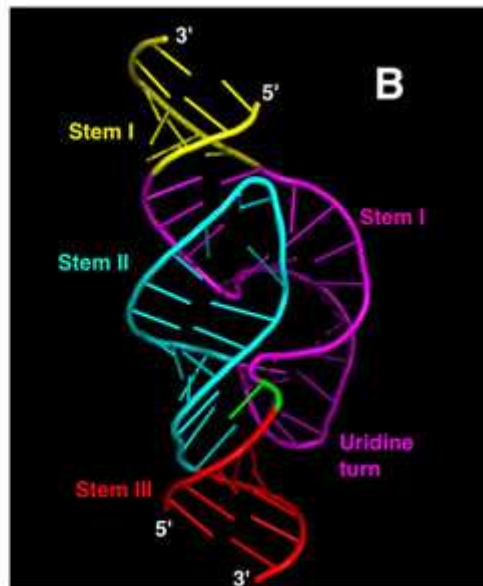
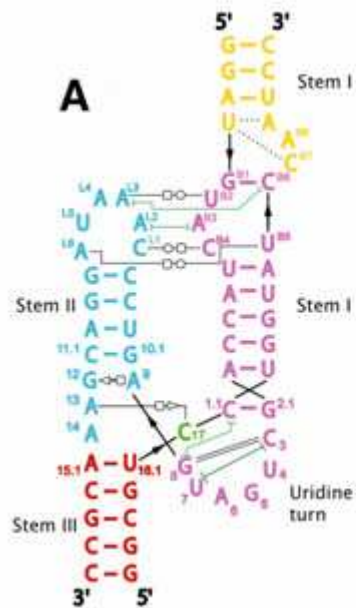
- Ribose disponible ? (et pas désoxyribose?)
- Stabilité de l'ARN?
- Puissance catalytique ?



# Ribozymes

- ribonucléase P
- ribosome
- introns auto-épissables
- riboswitchs
- spliceosome
- « hammerhead ribozyme »

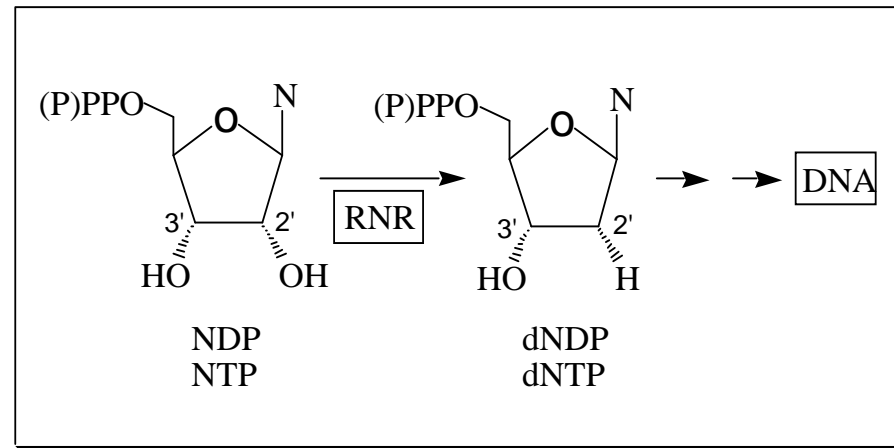
S Altman, T Cech, Prix Nobel 1989



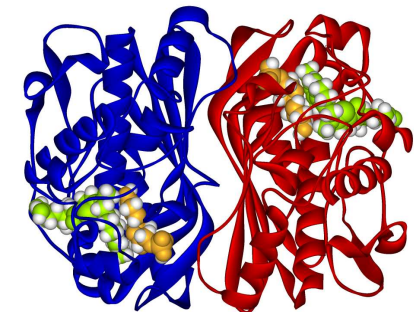
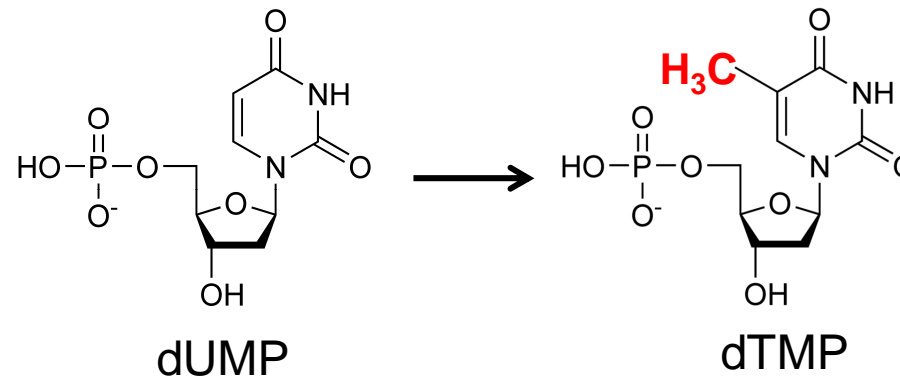
→ Le « monde à ARN » précède le « monde à ADN »

→ Les précurseurs de l'ADN sont biosynthétisés à partir des ribonucléotides correspondants

Ribonucléotide Réductase



Thymidylate synthase



## Théories de l'évolution

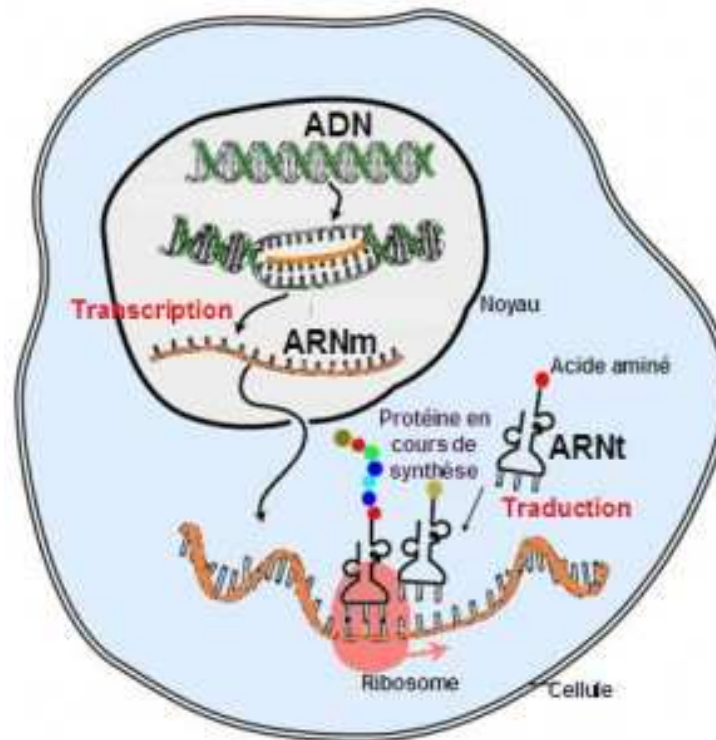
→ Le « monde ARN » précède le « monde ARN-protéine »

→ ARN nécessaire à la synthèse des protéines

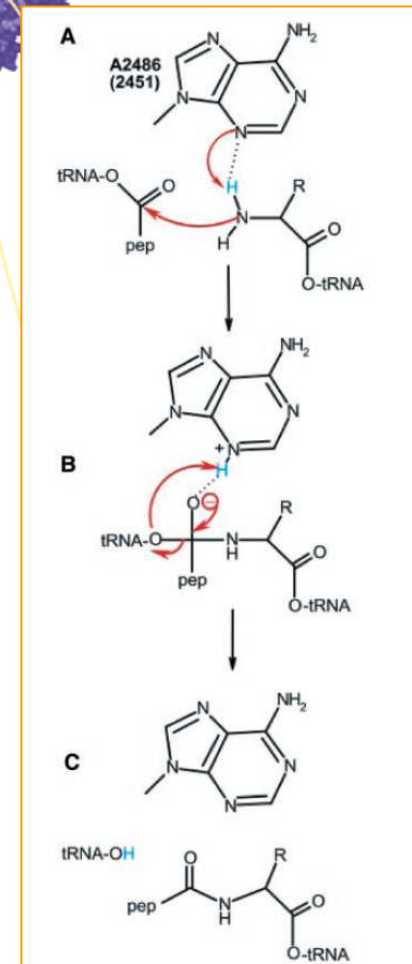
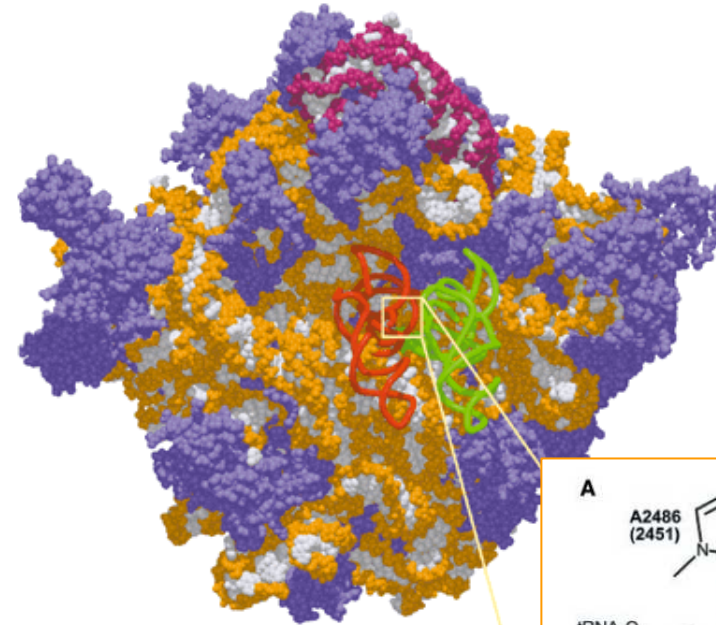
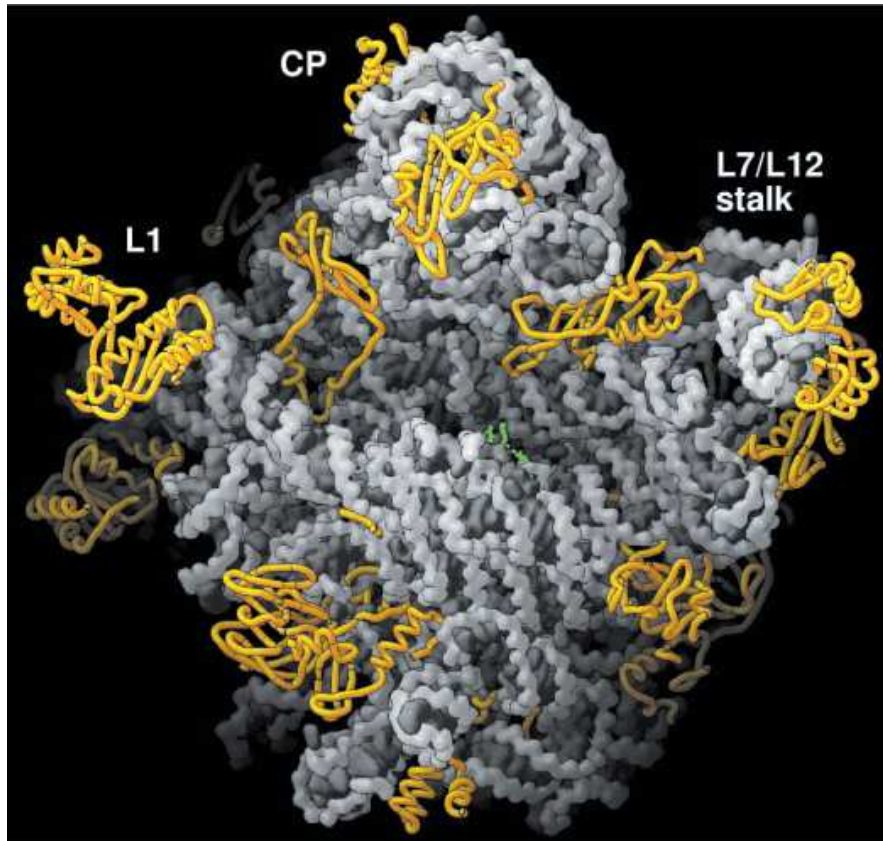
-ARNm (traduction)

-ARN de transfert (lecture du message)

- le ribosome est un ribozyme!



Le ribosome est un ribozyme



TA Steitz, Science 2000

# Théories de l'évolution

→ Le « monde ARN » précède le « monde ARN-protéine »

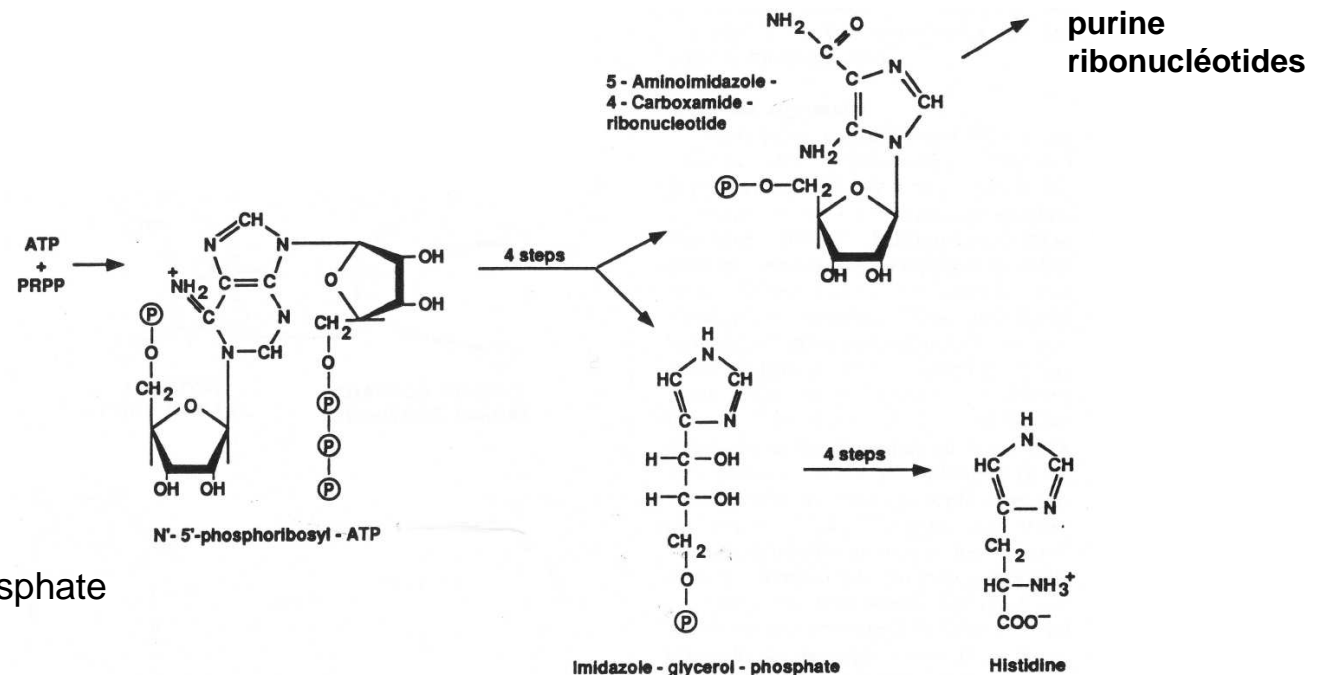
→ ARN nécessaire à la synthèse des protéines

-ARNm

-ARN de transfert

- le ribosome est un ribozyme!

→ Certains AA sont synthétisés à partir de ribonucléotides

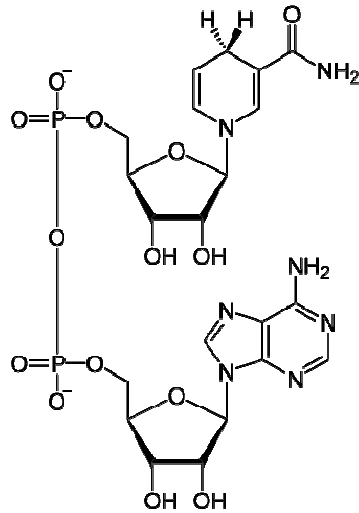


PRPP=phosphoribosylpyrophosphate

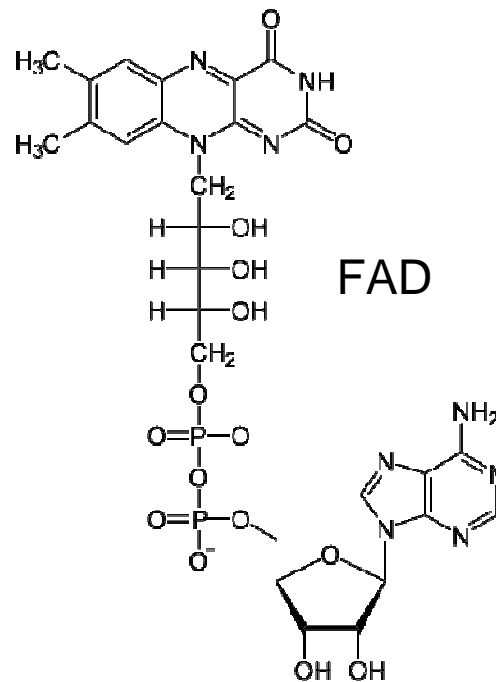
# Théories de l'évolution

→ Le « monde ARN » précède le « monde ARN-protéine »

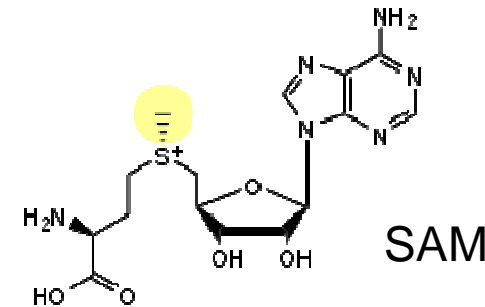
→ La plupart des cofacteurs/coenzymes protéiques sont des « ribonucléotides » (reliques du monde « ARN-protéine »)



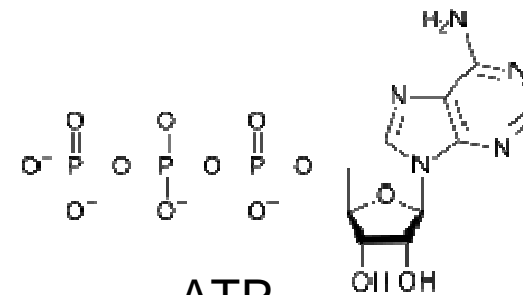
NADH



FAD



SAM

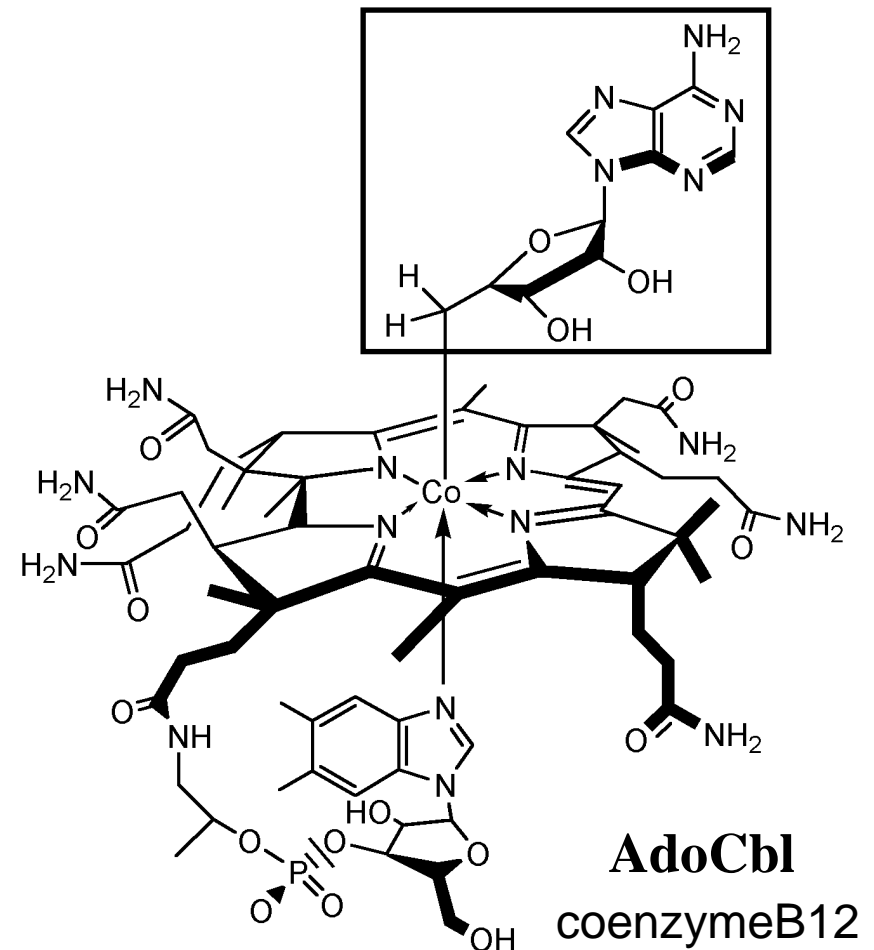
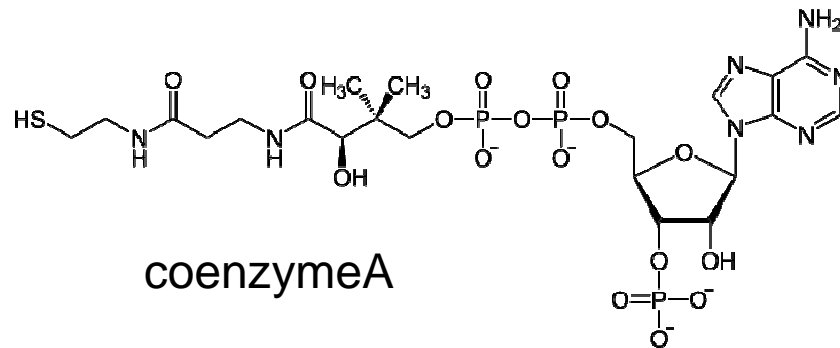


ATP

# Théories de l'évolution

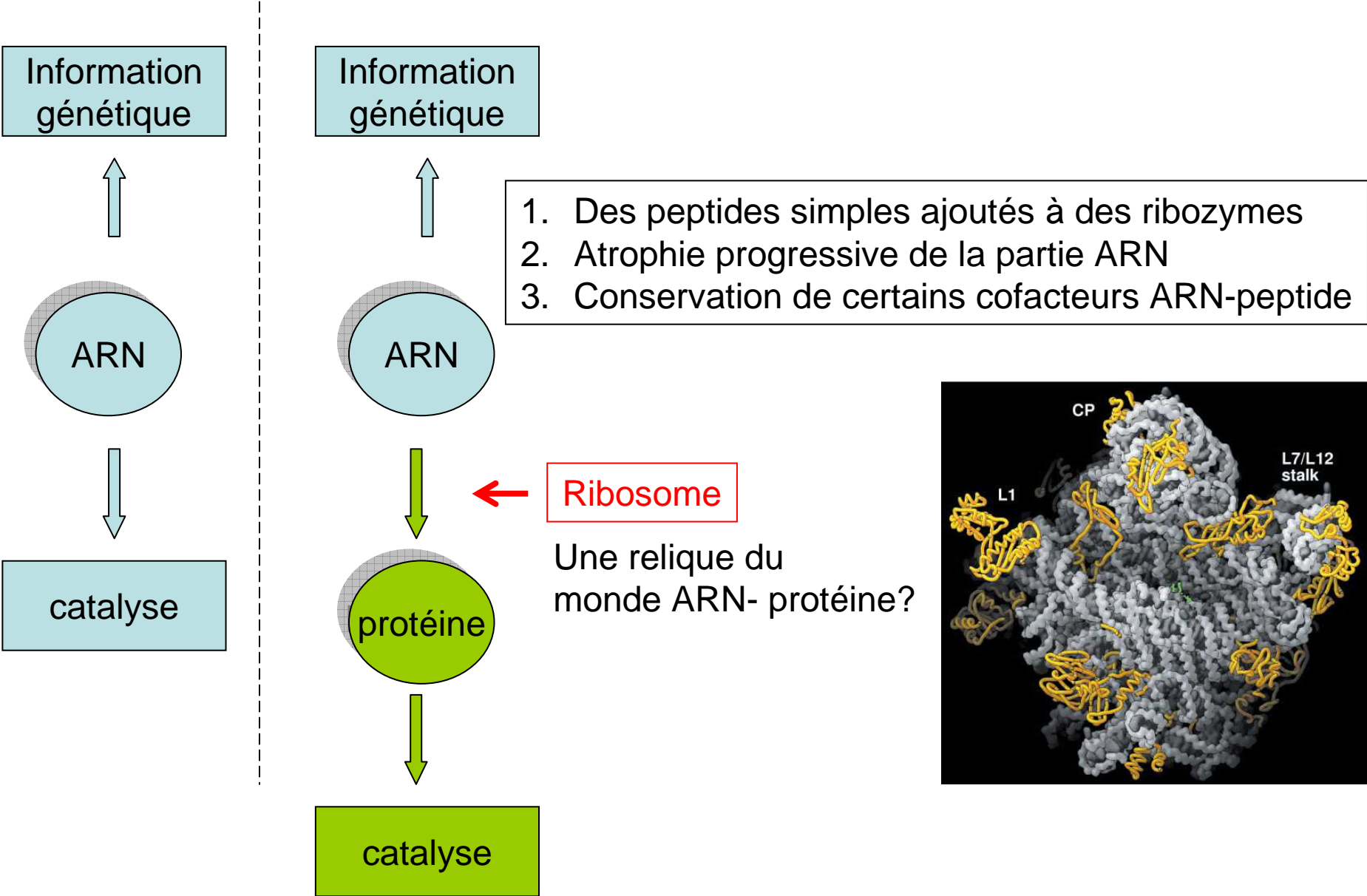
→ Le « monde ARN » précède le « monde ARN-protéine »

→ La plupart des cofacteurs/coenzymes protéiques sont des « ribonucléotides » (reliques du monde « ARN-protéine »)





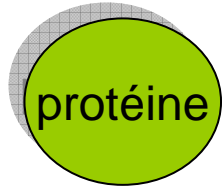
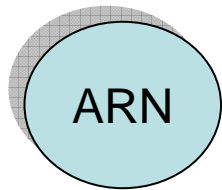
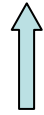
Monde ARN → Monde ARN-protéine



Monde ARN-protéine  $\longrightarrow$  Monde ADN

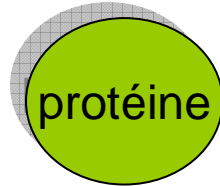
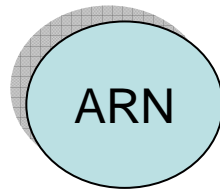
- ADN plus stable
- Réplication plus fidèle
- Réparation possible (cytidine déamination)

Information génétique

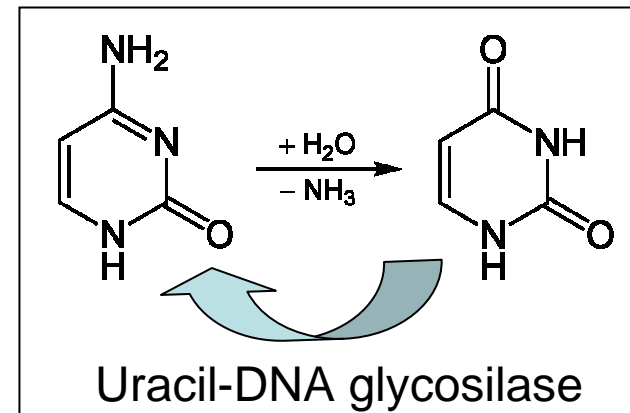
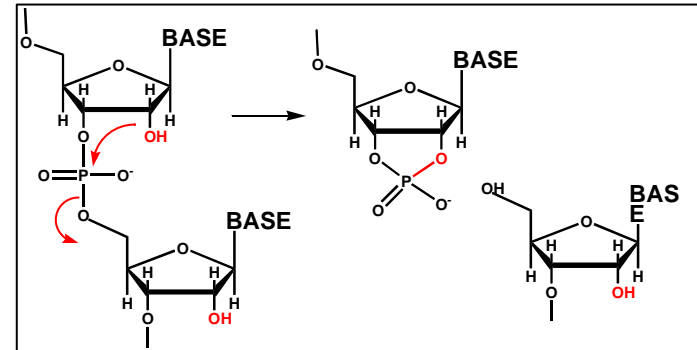
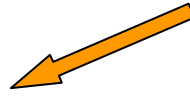
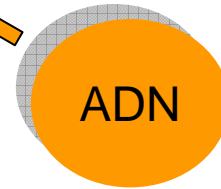


catalyse

Information génétique

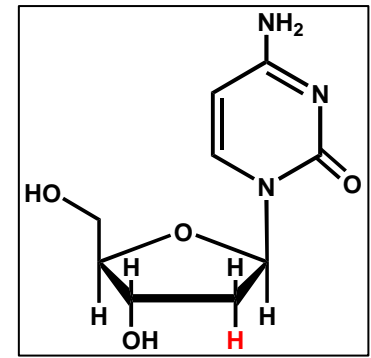
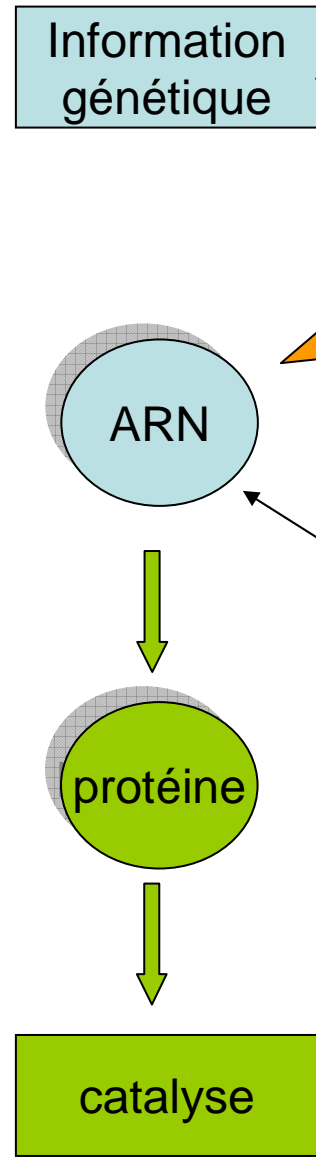
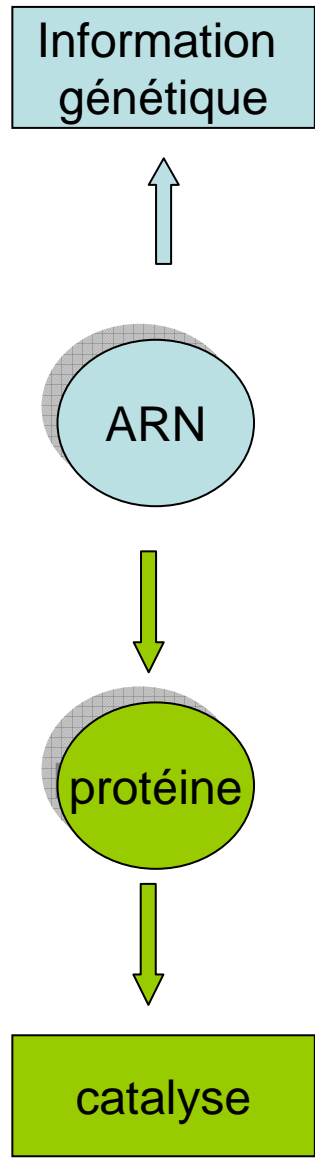


catalyse

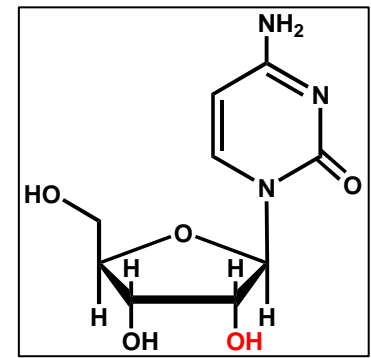


Monde ARN-protéine → Monde ADN

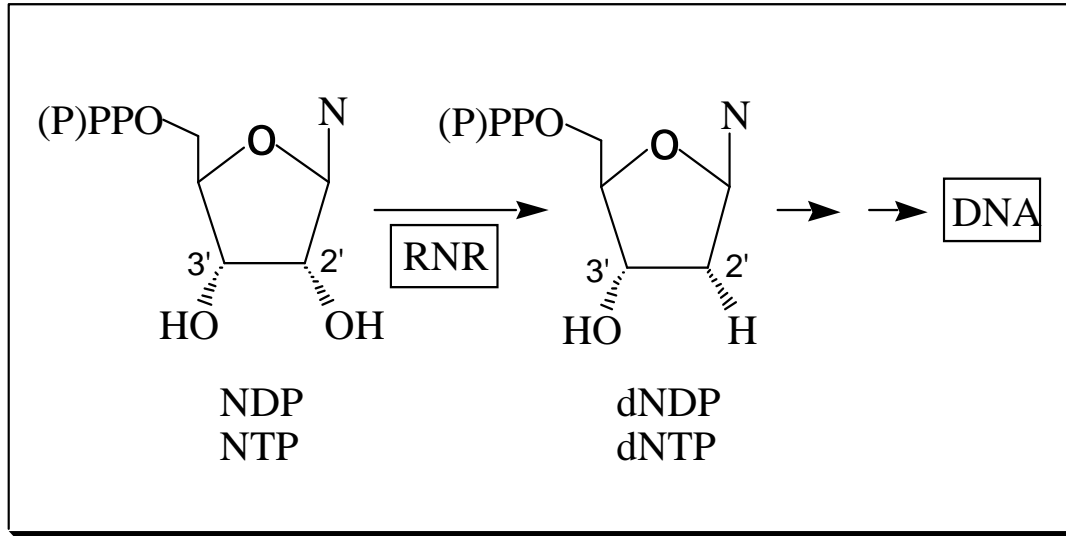
- ADN plus stable
- Réplication plus fidèle
- Réparation possible (cytidine déamination)



**Ribonucléotide Réductase**



# La découverte de la ribonucléotide réductase Peter Reichard



Peter Reichard  
(1925-)

## 1. Evidence d'une activité ribonucléotide réductase

Reichard P, Rutberg L. **1960**. Biochim. Biophys. Acta 37:5.54-55

## 2. Régulation allostérique (ATP, dTTP,...)

Brown NC, Reichard P. **1969**. 3. Mol. Biol. 46:39-55

## 3. Purification de la RNR de *E. coli*

Brown NC, Canellakis ZN, Lundin B, Reichard P, Thelander L. **1969**. Eur. J. Biochem

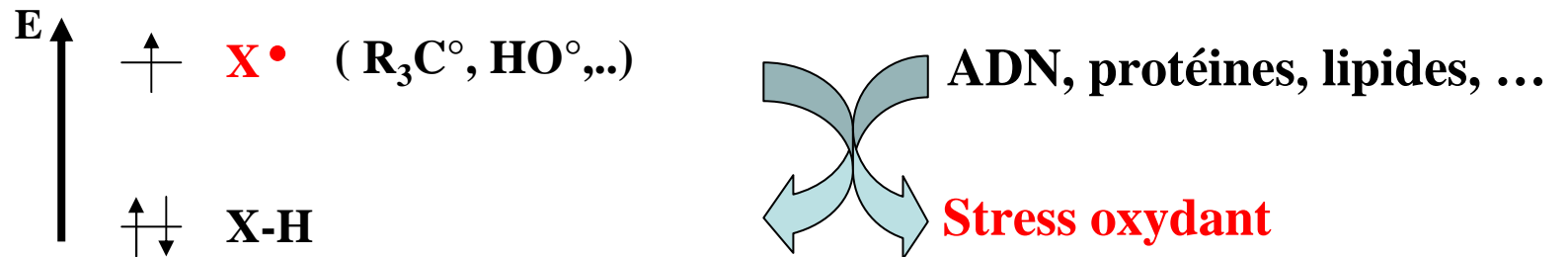
## 4. La RNR est une enzyme radicalaire. Radical tyrosinyle

Ehrenberg A, Reichard P. **1972**. J. Biol. Chem. 247:..M.85-88

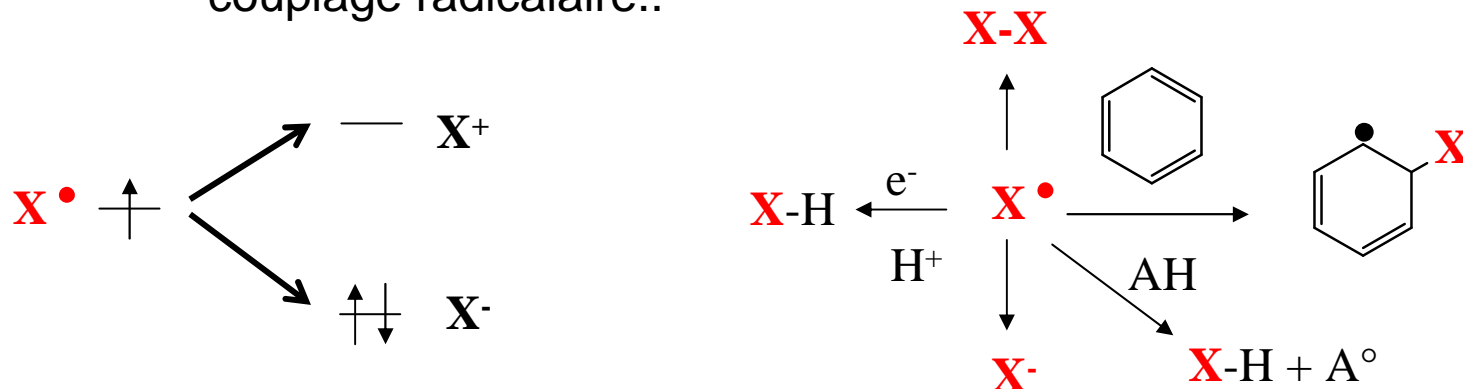
Larsson A, Sjöberg B-M. **1986**. EMBO J. 5:2031-36

# Radicaux libres

➔ **Le « dogme »**: des espèces chimiques très réactives  
 incontrôlables et toxiques  
 incompatibles avec le vivant  
 stress oxydant: vieillissement, pathologies

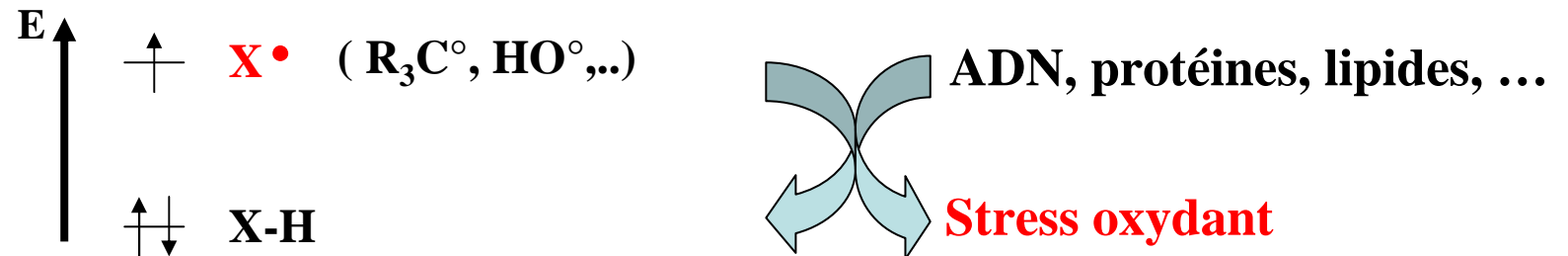


Réactions de  $X^\bullet$ : arrachement d'atomes H, coupure de liaisons, addition sur C insaturé, couplage radicalaire..



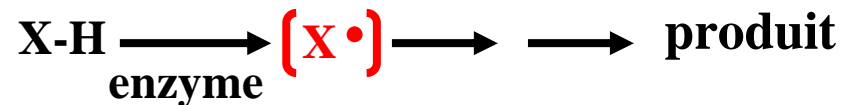
# Radicaux libres

➔ **Le « dogme »:** des espèces chimiques très réactives  
incontrôlables et toxiques  
incompatibles avec le vivant  
stress oxydant: vieillissement, pathologies



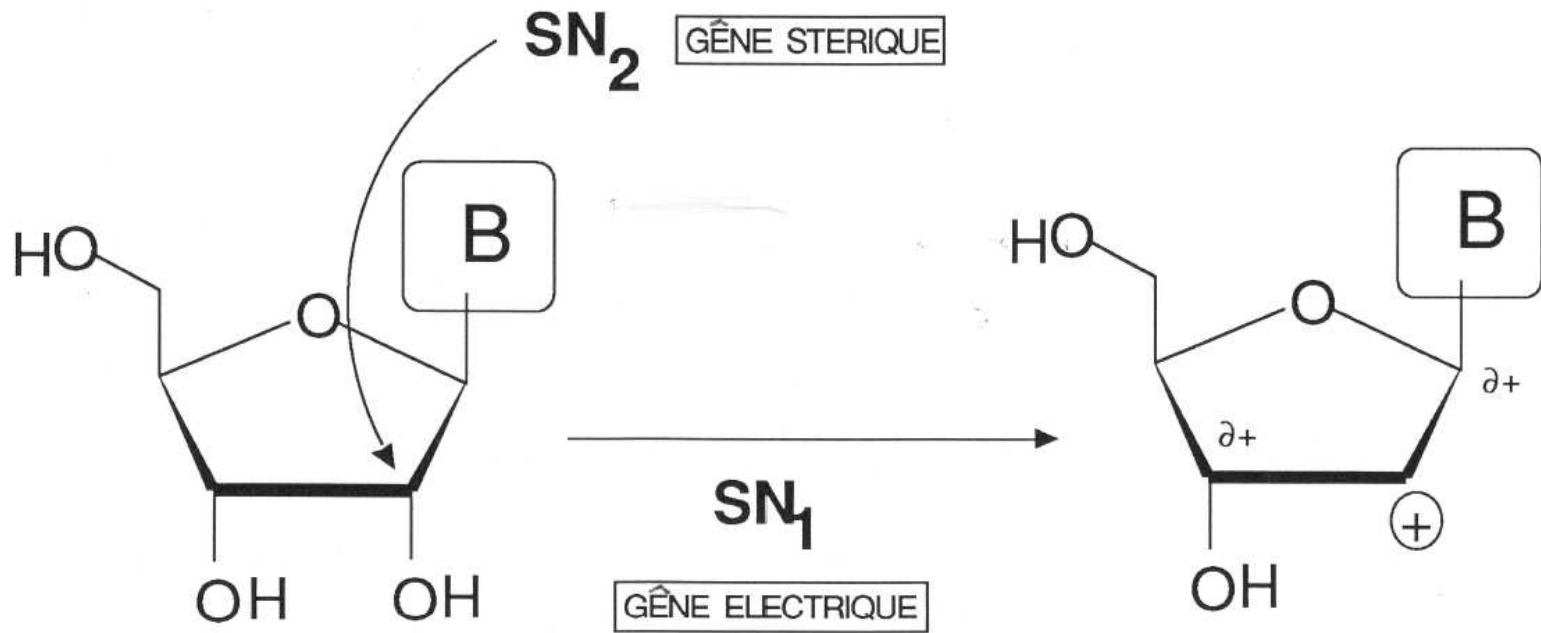
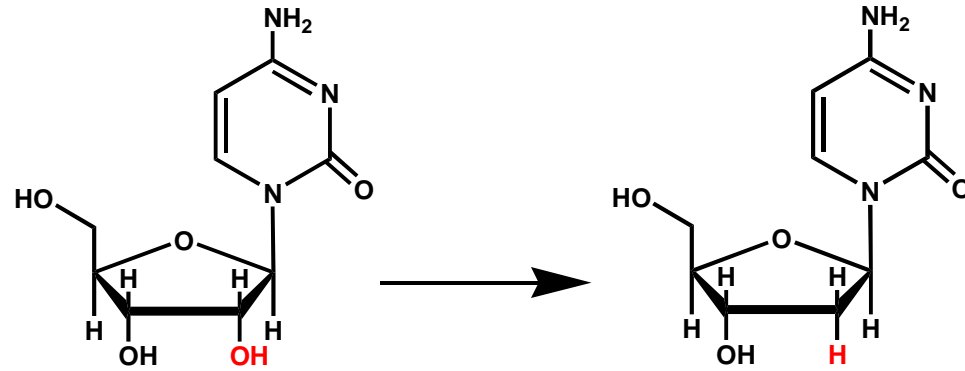
Réactions de  $X^\bullet$ : arrachement d'atomes H, coupure de liaisons, addition sur C insaturé, couplage radicalaire..

➔ **La réalité:** des centaines de réactions biologiques « radicalaires » !!

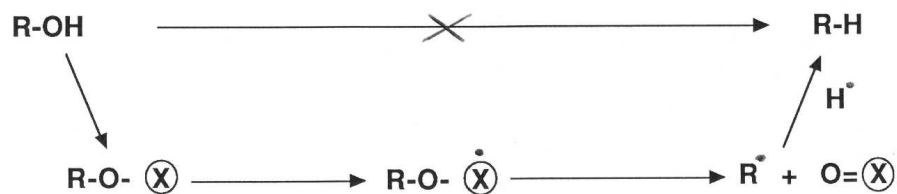


Le cas des ribonucléotide réductases et des enzymes de la famille « Radical-SAM »

# Une chimie difficile

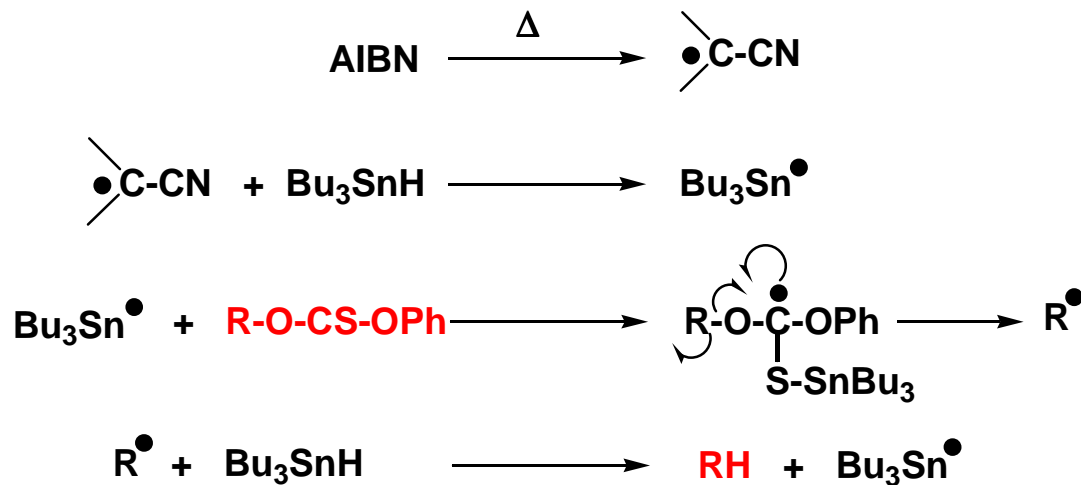
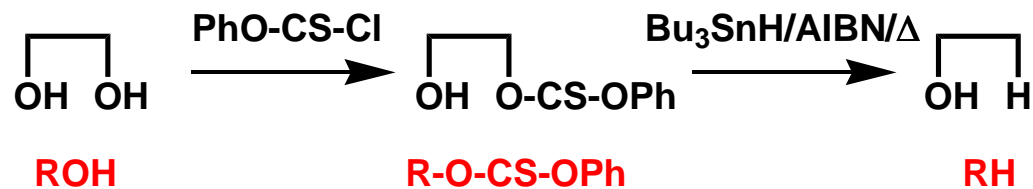


# Désoxygénation radicalaire des alcools

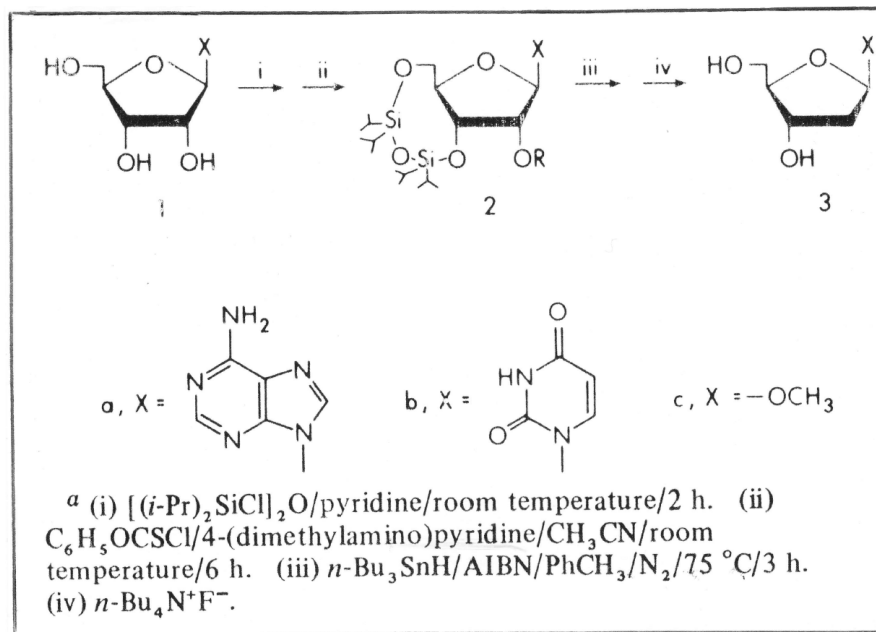


W. HARTWIG, Tetrahedron (1983) 39, 2609

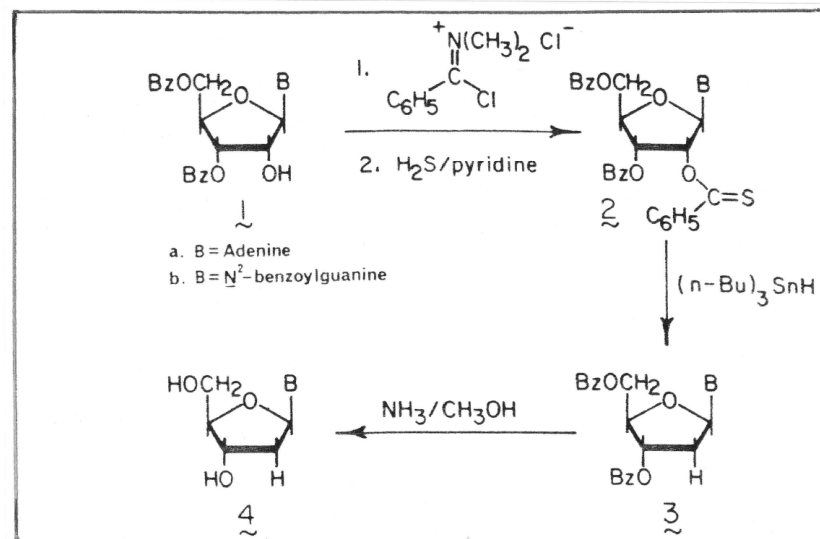
Barton-McCombie (1975)  
Robins (1981)



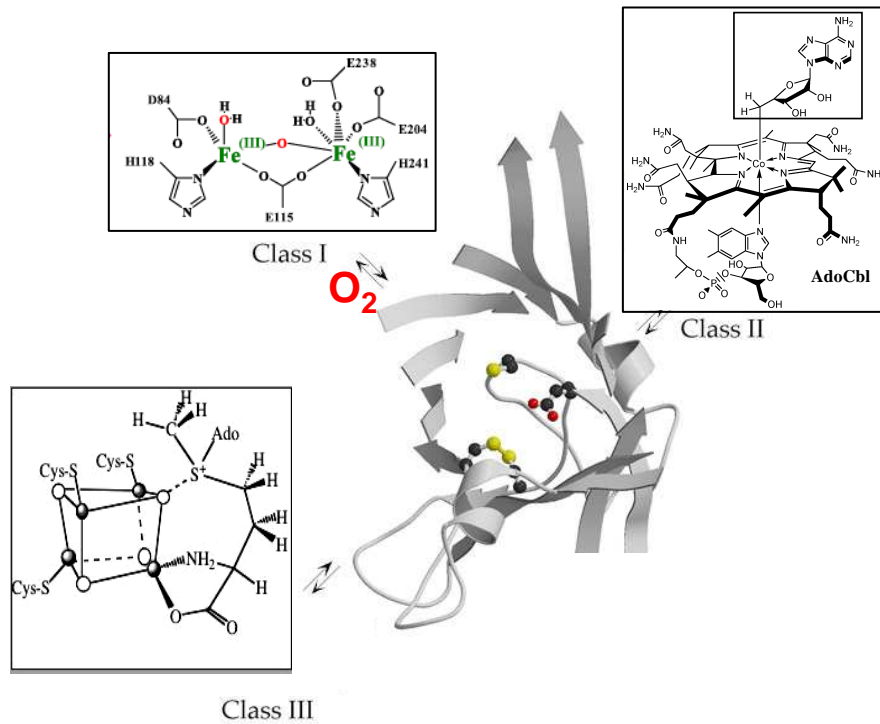
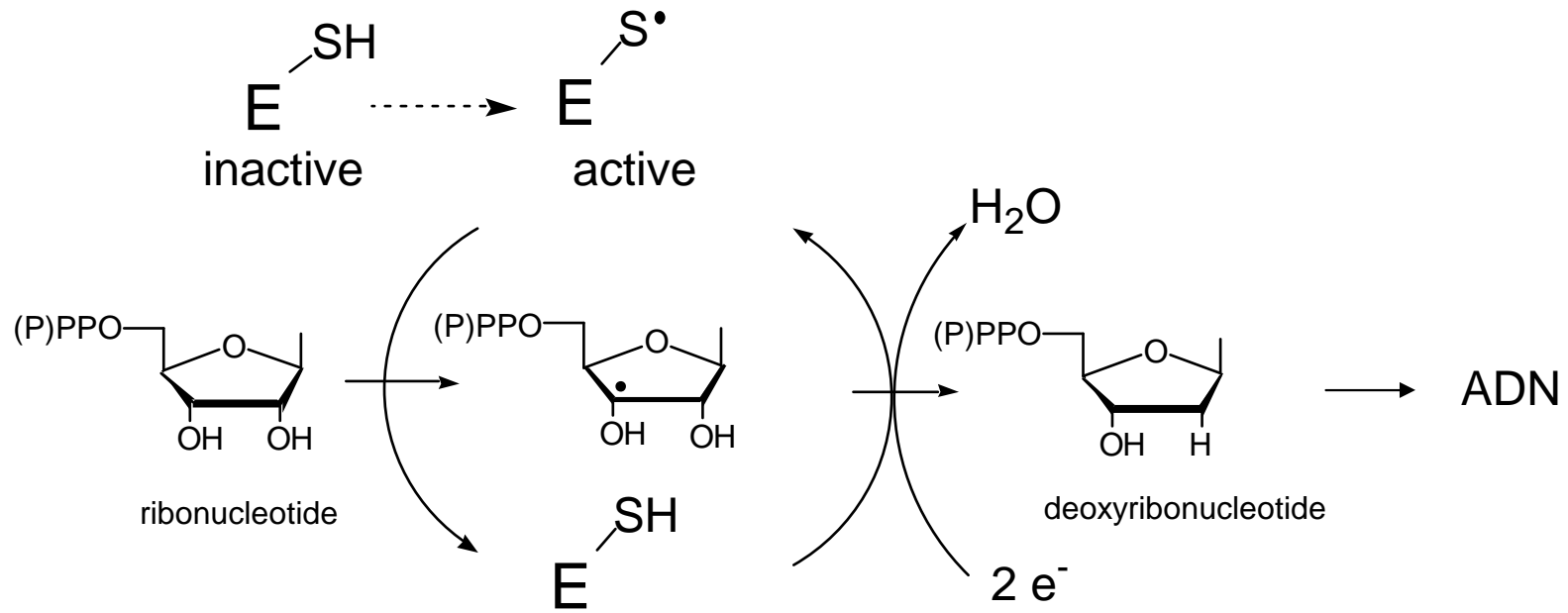




Robins et Wilson, J. Am. Chem. Soc. (1981) 103, 932.



Lessor et Leonard, J. Org. Chem. (1981) 46, 4300.



La chimie  
 des  
 ribonucléotide réductases

27 avril

- cours Du monde à ARN au monde à ADN : les ribonucléotide réductases  
séminaire Patrick FORTERRE, *Professeur à l'Université Paris XI, Orsay*  
**Le deuxième âge du monde à ARN et l'origine virale des génomes à ADN**

4 mai

- cours Biosynthèse des précurseurs de l'ADN chez les organismes aérobies : du fer, de l'oxygène et des radicaux libres  
séminaire Marie-Christine MAUREL, *Professeur à l'Université P. et M. Curie (Paris)*  
**De l'ancien au nouveau monde à ARN et inversement**

11 mai

- cours Biosynthèse des précurseurs de l'ADN chez les organismes anaérobies : du fer, de la S-adénosylméthionine et des radicaux libres  
séminaire Henri GROSJEAN, *Directeur de Recherches émérite à l'Université Paris Sud*  
**Modification et édition post-transcriptionnelles de l'ARN et ADN : visite guidée**

18 mai

- cours Une découverte récente en enzymologie : la famille des métalloenzymes « Radical-SAM (S-AdénosylMéthionine) »  
séminaire Mohammed ATTA, *Directeur de recherches, CEA Grenoble*  
**Lésion et réparation de l'ADN : la solution « radical »**

25 mai

- cours Une chimie radicalaire et des centres fer-soufre pour la biosynthèse de produits naturels soufrés  
séminaire Olivier BERTEAU, *Chargé de recherches à l'INRA, UMR 1319, Jouy en Josas*  
**Nouvelle chimie pour la modification des protéines et des ARNs : des enzymes radicalaires impliquées dans les interactions bactéries/hôte et la résistance aux antibiotiques**

1<sup>er</sup> juin

- Cours et séminaire  
**Du monde à ARN au monde à ADN, quelle ribonucléotide réductase ?**



COLLÈGE  
DE FRANCE  
—1530—

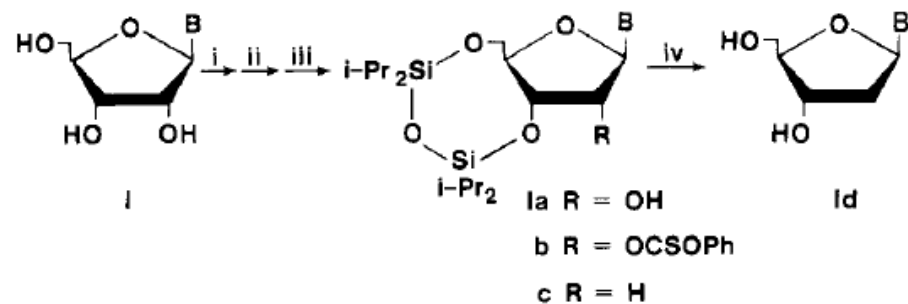
# Du monde à ARN au monde à ADN : les ribonucléotide réductases

**Marc Fontecave**

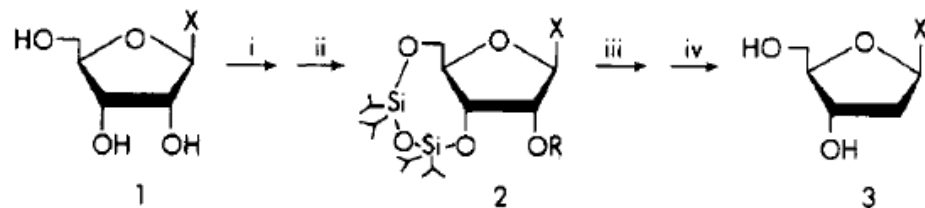
*Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux, Université Joseph Fourier, CNRS, CEA/DSV/iRTSV  
CEA-Grenoble 17 rue des martyrs 38054 Grenoble cedex 9, France  
mfontecave@cea.fr; Phone: (0033)438789103 ; Fax: (0033)438789124*

*Collège de France, 11 Place Marcelin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05*





<sup>a</sup>(i)  $(i\text{-Pr}_2\text{SiCl})_2\text{O}$  / pyridine. (ii)  $\text{PhOCSCl}$  / DMAP /  $\text{CH}_3\text{CN}$ .  
 (iii)  $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$  / AIBN /  $\text{PhCH}_3$  /  $75^\circ\text{C}$ . (iv)  $n\text{-Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$ .



<sup>a</sup> (i)  $[(i\text{-Pr})_2\text{SiCl}]_2\text{O}$ /pyridine/room temperature/2 h. (ii)  $\text{C}_6\text{H}_5\text{OCSCl}$ /4-(dimethylamino)pyridine/ $\text{CH}_3\text{CN}$ /room temperature/6 h. (iii)  $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$ /AIBN/ $\text{PhCH}_3$ / $\text{N}_2$ / $75^\circ\text{C}$ /3 h. (iv)  $n\text{-Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$ .