

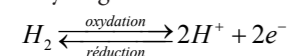
13. Structure et mécanisme des hydrogénases

Christophe Léger et Sébastien Dementin

La production d'énergie dans les êtres vivants fait intervenir des enzymes qui utilisent soit l'énergie lumineuse, soit l'énergie de certaines réactions chimiques d'oxydoréduction* (réactions d'échange d'électrons*) pour synthétiser de l'ATP* (cf. II.8). Le dihydrogène est l'un des combustibles biologiques oxydés dans ces réactions. Il joue par ailleurs un rôle important dans le métabolisme de la plupart des bactéries et de certaines algues unicellulaires. Certains micro-organismes le produisent en utilisant les électrons issus soit de l'oxydation* de l'eau lors de la photosynthèse* soit de la fermentation* des sucres. Ce dihydrogène peut être utilisé pour produire de l'énergie grâce à des enzymes* « respiratoires » qui couplent son oxydation à la réduction* du dioxygène ou d'un autre accepteur terminal d'électron. Ces réactions sont aussi celles qui se produisent artificiellement lors de l'électrolyse de l'eau ou dans les piles à combustible (cf. VI.4), mais les mécanismes mis en jeu sont différents.

Structure

Les hydrogénases sont les catalyseurs* biologiques de la production et de l'oxydation du dihydrogène selon la réaction :

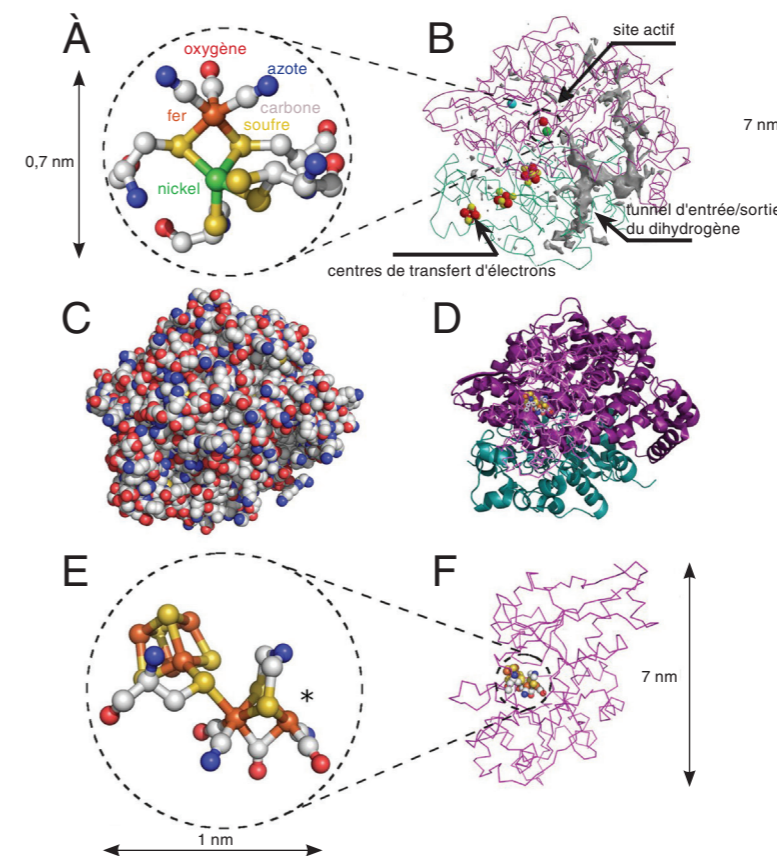


Ce sont des métalloenzymes complexes, formées d'une seule protéine* ou de l'assemblage de plusieurs protéines, et incorporant des éléments non protéiques (des cofacteurs* inorganiques comportant des ions métalliques). On distingue deux familles principales d'hydrogénases, selon que le site actif* (le cofacteur où se produit l'oxydation du dihydrogène) contient comme éléments métalliques du nickel et du fer (NiFe), ou bien seulement du fer (FeFe).

Une connaissance précise des structures de ces deux sites actifs est essentielle à la compréhension de leur fonctionnement. Ces structures ont été déterminées vers la fin des années 1990 grâce aux efforts conjugués de nombreux biochimistes, cristallographes et spectroscopistes. Dans les hydrogénases de type NiFe, les deux ions métalliques sont pontés par les atomes de soufre de deux acides aminés cystéine*; au total, quatre cystéines lient l'ion Ni et l'attachent à la structure protéique (figure A). Dans le cas des hydrogénases dites FeFe, la paire métallique est pontée par les deux atomes de soufre d'une petite molécule non protéique (dithiométhylamine), et l'un des ions fer est lié à un autre cofacteur* constitué de 4 ions fer et 4 atomes de soufre inorganique. Dans les deux cas, les ions fer des paires FeFe et NiFe sont liés à des

ions cyanure CN⁻ et des molécules de CO (figure E). Ces ligands, qui sont facilement détectables grâce à la spectroscopie* infrarouge, sont rares dans les systèmes biologiques : ils n'existent que dans les enzymes qui activent la molécule de dihydrogène, où ils stabilisent les états du fer qui permettent de lier et de scinder cette molécule.

Il est remarquable que les sites actifs de ces catalyseurs naturels ne contiennent comme éléments métalliques que du fer et du nickel, alors que les catalyseurs synthétiques d'oxydation ou de production du dihydrogène sont le plus souvent à base de métaux nobles, rares et chers. Mais une hydrogénase n'est pas constituée que d'un site actif ! La plus petite hydrogénase caractérisée (figure F) est une protéine de forme globulaire, d'environ 5 à 7 nm de diamètre, assemblée à partir d'environ 450 acides aminés, soit environ 5 000 atomes – bien plus que la petite trentaine d'atomes qui constituent le site actif. Le rôle de la partie protéique qui entoure le site actif est multiple et encore mal connu, mais on pense qu'il donne ses propriétés catalytiques spécifiques aux différentes hydrogénases dont les sites actifs (FeFe ou NiFe) sont invariables. La protéine protège le site actif de certaines molécules qui pourraient l'endommager (comme dans certains cas le dioxygène ou



Structures de deux hydrogénases parmi les plus simples que nous connaissons. Les figures B, C et D montrent trois représentations de la structure d'une même enzyme dont le site actif (panel A) contient du Ni et du Fe (enzyme périplasmique de la bactérie *Desulfovibrio fructosovorans*). Cette enzyme est assemblée à partir de deux protéines, dont les « squelettes » sont indiqués sur le panel B par des rubans mauve et vert. Sur le panel C, on a représenté tous les atomes de la même enzyme par des sphères dont la couleur indique la nature (azote : bleu, oxygène : rouge, carbone : gris). Le panel D indique par des hélices et des feuillettes la présence de structures locales ; c'est une façon très classique de représenter la structure des protéines. Les panels E et F montrent le site actif de type fer-fer et le squelette protéique d'une petite hydrogénase présente dans l'algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*. Sur la figure E, l'étoile montre l'endroit où le dihydrogène se fixe sur le site actif ■

les molécules d'eau) et elle guide les réactifs à l'intérieur de la protéine : des acides aminés permettent le transport des protons de proche en proche entre le solvant et le site actif ; un chapelet de cofacteurs (le plus souvent des agrégats constitués de fer et de soufre) permet le transfert d'électrons depuis et vers le partenaire rédox de l'enzyme ; le transport du dihydrogène est aussi

guidé à l'intérieur de l'enzyme par un ensemble très ramifié de tunnels convergeant vers le site actif (figure B).

Références bibliographiques

- Y. et J.-C. FONTECILLA-CAMPS – *Les aspects catalytiques de la production biotechnologique de l'hydrogène*, L'actualité chimique, <http://goo.gl/1DANh>, 2001.
- <http://bip.cnrs-mrs.fr/bip06/enzymes/hydrogenases.fr.html>.

Mécanisme

Lorsque le dihydrogène est oxydé sur le platine dans une pile à combustible, la liaison H-H est coupée de façon symétrique pour former deux atomes d'hydrogène adsorbés. Dans les hydrogénases, le mécanisme est entièrement différent, l'oxydation du dihydrogène commence par sa fixation sur le site actif et la rupture asymétrique de la liaison H-H, pour former un hydrure* (H⁻) et un proton* (H⁺). Le proton est capté par une base voisine, il s'agit sans doute de l'azote du ligand* dithiométhylamine dans le cas des hydrogénases FeFe, ou d'un soufre de cystéine dans le cas des hydrogénases NiFe. Le site actif est ensuite réoxydé en deux étapes, chaque électron étant transporté le long du chapelet d'agrégats FeS, et un deuxième proton est libéré du site actif. Une nouvelle molécule de dihydrogène peut alors s'en approcher, en diffusant le long du tunnel, et s'y lier, pour compléter le cycle catalytique. L'efficacité de certaines hydrogénases est telle que cette série complète d'événements se produit plusieurs milliers de fois par seconde, ce qui permet d'envisager l'utilisation de ces hydrogénases comme catalyseurs supportés de l'oxydation du dihydrogène dans des biopiles (cf. V.12).

La nature est donc une formidable source d'inspiration pour les chimistes. Une nouvelle approche permet d'ailleurs de synthétiser des composés chimiques mimant les sites actifs des hydrogénases (cf. V.14).