

>

NAISSANCE DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE



[SCIENCE](#) [PHILOSOPHIE](#) [INDUSTRIE](#) [ENSEIGNEMENT](#) [VULGARISATION](#) [CONTACT](#) [PLAN DU SITE](#)



Un colloïde porte la trace de toutes les modifications que nous lui avons fait subir, et il les enregistre toutes dans leur ordre. Chauffé, puis refroidi, il a changé. Desséché et redissous, il n'est plus le même. Ses propriétés dépendent, non seulement de la date et des conditions de sa naissance, mais de toutes les circonstances de sa vie.

Jacques DUCLAUX

Table des Matières

Avant-Propos

1927-1945

1945-1965

1965-1977

Première partie | Naissance de la biologie moléculaire 1927 - 1945

Edmond de Rothschild décide en avril 1927 de donner les moyens de créer un institut de recherche pluridisciplinaire destiné à l'étude des mécanismes de la vie. Cet institut serait dirigé par Jean Perrin, responsable du Service de Physique ; André Job dirigerait le Service de Chimie et André Mayer le Service de Biologie ; le physico-chimiste Pierre Girard en assurerait l'administration. André Job mourut trop tôt (1928) pour voir autre chose que les plans du futur institut et c'est le minéraliste Georges Urbain qui lui succéda. On retrouve naturellement dans la composition des services un certain nombre de noms qui viennent d'être évoqués à propos du contexte idéologique dans lequel a été créé l'Institut de Biologie Physico-Chimique. La répartition géographique initiale suivait la classification des disciplines représentées. On trouvait ainsi la physique au rez-de-chaussée, la chimie au premier étage, la cytologie et la biophysique au second, au dernier, la physiologie végétale et le Service de Pierre Girard. Un pavillon abritait le Service de Physiologie animale avec ses annexes. Enfin, les services généraux (ateliers de mécanique, d'électricité et de verrerie) étaient groupés au sous-sol avec certains équipements lourds nécessaires à la physique (Rayons X). En 1931, première année de fonctionnement de l'Institut, on trouvait ainsi les Services suivants :

Service de Physique, Directeur : [Jean Perrin](#), divisé en :

Trois sous-services confiés à : [Francis Perrin](#) - [Pierre Auger](#) - Nine Choucroun

Service de Chimie, Directeur : Georges Urbain, subdivisé en :

Service de Chimie organique, Robert Vaillant
Service de Biochimie, Eugène Aubel
Service des Colloïdes, Jacques Duclaux
Laboratoire de Bactériologie, Harry Plotz
Laboratoire de Chimie analytique et d'hydrolyse, Pierre Urbain (1895-1968)

Service de Physiologie, Directeur : André Mayer, subdivisé en :

Service de Physiologie animale, Théophile Cahn
Service de Physiologie végétale, Lucien Plantefol
Service de Cytologie expérimentale, Emmanuel Fauré-Frémiet
Service de Biophysique, René Wurmser

Service de Chimie physique physiologique, Directeur : Pierre Girard, subdivisé en :

Laboratoire de Chimie organique, Jacques Parrod
Laboratoire d'Hématologie, Marguerite Lourau
Laboratoire de Chimie physique, Paul Abadie

Deux aspects de la recherche vont dominer cette première période du fonctionnement de l'IBPC. D'abord la recherche des objets et des *thèmes* qui vont constituer les outils privilégiés de l'expérience, et ensuite la

mise au point d'une technologie nouvelle appropriée à l'étude de ces objets. Ainsi seront distingués : les petites molécules de l'anabolisme, les macromolécules responsables de la catalyse, les problèmes proprement biophysiques comme la photosynthèse ou l'électrophysiologie, et la relation entre les êtres vivants dans toute leur intégration et les composants qui déterminent leur hérédité. Du point de vue de la technologie, c'est surtout dans le domaine des méthodes optiques (au sens large) que se manifeste le potentiel d'invention des chercheurs de l'Institut.

I. Fondements scientifiques de la Biologie Moléculaire

I. 1) De la physiologie à la chimie biologique : le métabolisme et sa régulation

Une partie importante des premiers travaux qui ont été effectués à l'Institut de Biologie a concerné le métabolisme cellulaire le plus général ou même celui de l'organisme tout entier et l'ensemble de la biochimie non encore macromoléculaire des petites molécules qui y participent. Eugène Aubel, qui fut Chef

...comme non encore macromoléculaire des petites molécules qui y participent. Eugène AUBEL, qui fut chef de Service à l'Institut de 1928 à 1959 et qui participa activement à la vie toujours renouvelée des différents Services jusqu'à sa mort en 1975, résume l'ensemble de sa problématique de la façon suivante : « *Les recherches que j'ai poursuivies se rapportent surtout aux échanges de matière et d'énergie qui président à l'évolution de la matière vivante, à sa dégradation et à sa synthèse. Ces échanges se font à tous les stades de la vie : dans la cellule en voie de croissance où les procès de synthèse l'emportent sur les procès de dégradation ; dans la cellule à l'état stationnaire où le renouvellement des constituants cellulaires se fait en régime d'équilibre où les procès chimiques sont ordonnés vers le renouvellement et la conservation du système entier ; dans la cellule en voie d'inanition où les procès de dégradation l'emportent sur les procès de synthèse ; dans la cellule en voie de sénescence où l'ordre des procès chimiques n'aboutit plus à la conservation du système entier mais, peu à peu, à un état irréversible qui entraîne la mort.* »

Sont ainsi posées non seulement les questions de l'identification des petites molécules de la vie mais aussi celles de l'organisation structurale et dynamique des voies métaboliques. Il n'est pas de métabolisme sans ordre et sans régulation. Les rapports entre l'anabolisme et le catabolisme sont contrôlés par un couplage complexe dont il convient de connaître tous les rouages.

La dégradation des sucres, suivant le schéma décrit par Embden et Meyerhof (qui, chassé d'Allemagne par les Nazis, fera un séjour à l'Institut de 1938 à 1940) conduit à la production d'énergie utilisable et à l'acide pyruvique. Ce composé est le lieu du couplage entre le cycle respiratoire et l'entrée d'azote dans la cellule par la synthèse de l'acide aminé alanine. Certaines propriétés essentielles de ce couplage liées à des processus d'oxydo-réduction sont découvertes par R. Wurmser, E. Aubel et leurs collaborateurs successifs. La contribution essentielle des travaux d'Eugène Aubel est précisément de montrer le rôle de pivot de l'acide pyruvique, lié à l'acide lactique par oxydo-réduction, produit final de la dégradation des glucides, des protéines, des lipides et des acides aminés.

Parallèlement aux études faites à l'étranger par Meyerhof, Kluyver, etc., Aubel et Wurmser montrent que l'ensemble des fermentations peut se réduire à des processus d'oxydo-réduction et, en particulier, grâce à l'étude d'organismes croissant en anaérobiose stricte, que l'entrée d'azote ou de soufre dans la cellule peut se faire par réduction des nitrates et des sulfates. Enfin, Fujio Egami (1910-1982, aujourd'hui – 1977 – directeur du Mitsubishi-Kasei Institute of Life Sciences de Tokyo) contribue aux recherches, qui mettent en évidence des relations entre la synthèse des acides aminés et l'incorporation d'azote dans la cellule (1935-1936).

Les travaux effectués dans le Service de Physiologie se présentent comme une continuation des recherches d'André Mayer et de Georges Schaeffer. Dans ces recherches, la constance du milieu intérieur et de la composition chimique des tissus est au départ considérée comme l'expression d'un équilibre dans un système hétérogène du point de vue de sa composition chimique et de sa structure moléculaire microscopique et macroscopique, et qui est le siège d'une activité quasi-automatique de réactions de dégradation et de synthèse dont les caractéristiques peuvent nous informer sur la nature des processus et, en particulier, sur les réactions spécifiques et définies pour chacun des composés, et ceci dans chacun des tissus. Les marges de variation trouvées nous renseignent sur les limites des concentrations compatibles avec un fonctionnement normal et nous permettent d'entrevoir l'ampleur de la vitesse des dégradations et des synthèses. La composition chimique des différents tissus d'animaux d'une même espèce nous renseigne sur les activités spécifiques de chacun des tissus ainsi que sur leurs importances et leurs rôles éventuels dans les cycles définis. Il nous est donc possible de nous faire une image d'ensemble de leurs corrélations fonctionnelles dans l'activité métabolique et de vérifier en même temps la validité des résultats obtenus dans les expériences *in vitro* sur des tissus isolés.

I. 2) Génétique formelle

Les études du métabolisme ne peuvent avoir d'intérêt que dans la mesure où elles sont reliées aux mécanismes de la transmission héréditaire des règles qui le spécifient. L'Institut de Biologie Physico-Chimique devait permettre une recherche élaborée dans le domaine de la génétique non seulement par la mise au point de milieux de culture adéquats qui allaient permettre la génétique des micro-organismes ou des cellules eucaryotes, mais surtout par le développement des analyses de Morgan sur la mouche drosophile en relation avec les mécanismes physico-chimiques du développement embryonnaire et de la différenciation cellulaire. A partir de la mise au point de milieux permettant la culture des tissus, Boris Ephrussi acquiert la conviction que le développement des spécificités cellulaires au cours de l'ontogenèse repose avant tout sur l'action de facteurs intrinsèques et donc, très probablement, de *gènes chromosomiques*. « *C'est ainsi, écrit-il, que j'ai été amené à entreprendre l'étude du mécanisme d'action d'un facteur léthal de la souris (brachyurie), étude qui a montré que le facteur léthal en question ne s'exprime pas dans toutes les cellules de l'embryon ; léthal, car certains tissus de celui-ci, prélevés avant sa mort et cultivés in vitro, sont capables d'une différenciation normale qu'ils ne subissent jamais in situ. C'est ce travail qui m'a orienté vers l'étude du mécanisme de l'action des gènes qui, à cette époque ne faisait l'objet que de spéculations et pour l'étude duquel la drosophile m'a paru être le seul matériel convenable...* ».

Boris Ephrussi alla alors passer quelque temps (1934, 1936) au laboratoire de T.H. Morgan, sous la

direction de Sturtevant, l'un des pionniers de l'embryogenèse de la drosophile et l'inventeur des premiers mutants de la couleur des yeux de la drosophile. « *C'est alors qu'il (lui) est apparu que les gènes dont les manifestations ne sont pas autonomes ... devraient offrir une prise pour accéder aux phénomènes antérieurs à la différenciation des caractères sous leur forme définitive et, éventuellement avec un peu de chance, pour les décrire en termes biochimiques.* »

De retour à Paris où il est suivi par G.W. Beadle (1935), il met au point une technique de transplantation des disques imaginaux de la drosophile. Cela leur permet de faire des expériences de complémentation à partir de différents mutants de la couleur des yeux transplantés dans d'autres mutants et les conduit à suggérer l'existence de deux substances diffusibles spécifiques intervenant dans la formation du pigment normal de l'œil :

1 2

Précurseur → substance V+ → substance Cn+ → pigment

où les conversions 1 et 2 requièrent l'existence d'un gène particulier.

Ces hypothèses se sont confirmées plus tard à la suite des efforts de plusieurs équipes dans le monde - nous les retrouverons dans la deuxième partie - et elles ont permis à Beadle et Tatum d'énoncer en 1941 leur fameuse correspondance : un gène → une protéine qui devait fonder la biologie moléculaire du gène.

On peut rappeler ici l'importance cruciale que devait avoir pour Jacques Monod, qui fréquenta beaucoup le laboratoire d'Ephrussi à l'Institut, son voyage en sa compagnie au Californian Institute of Technology (1936).

I.3) La Biophysique à l'Institut : photosynthèse, oxydo-réduction, macromolécules, électro-physiologie

Ici apparaît sans doute la plus grande originalité de l'Institut de Biologie Physico-Chimique parmi toutes les institutions créées à cette époque – en 1927 fut créé le fameux Laboratoire de Cold Spring Harbor, aujourd'hui dirigé par J.D. Watson – et depuis. Jean Perrin était un physicien ; André Job et Georges Urbain étaient des chimistes ; les travaux de Pierre Girard sur les membranes (1908-1925) étaient surtout physico-chimiques. Seul, André Mayer, par ses études de physiologie, était un biologiste. L'accent était donc

délibérément mis sur le niveau analytique des recherches envisagées et c'est ce qui explique à la fois les résultats positifs obtenus et certaines impasses qui conduisirent à de nombreux travaux non poursuivis et à finalité non biologique, surtout en physique (travaux sur les rayons cosmiques, etc.).

La chimie minérale en biologie avait alors un grand intérêt, intérêt perdu après la guerre et qui connaît aujourd'hui un regain de faveur : Pierre Girard, par exemple, était l'auteur de travaux sur le rôle du plomb dans la stérilisation des tumeurs cancéreuses (1923) et André Job était un spécialiste des métaux de transition et les recherches de l'époque à l'Institut montrent l'intérêt porté à l'époque aux cations, à leur action catalytique et à leurs propriétés physiologiques.

Le contact entre les chercheurs des différents services – découpés géographiquement suivant la structure de l'Institut : Physique au sous-sol et au rez-de-chaussée ; Chimie au premier étage ; Cytologie et Biophysique au deuxième et Physiologie végétale au dernier - était assuré par une réunion hebdomadaire de Jean Perrin, Georges Urbain, André Mayer, et Pierre Girard (les Tétrarques comme on les appelait alors), mais surtout par des réunions de tous les travailleurs autour d'un « café » au cours desquelles, chaque semaine, des problèmes d'intérêt général ou des sujets particuliers de recherche étaient soulevés. Et le fait d'avoir construit sa propre maison donnait à l'Institut l'énorme avantage de faire vivre ensemble les chercheurs de toutes les disciplines. Les rencontres étaient multiples dans les couloirs, dans les laboratoires, dans les ateliers, dans la bibliothèque. Il suffisait de descendre un étage, de traverser un couloir pour rencontrer le collègue susceptible de fournir un renseignement sur une technique ou de discuter une hypothèse ou d'apporter une information, toutes choses qui, sans cette facilité géographique auraient demandé des pertes de temps et des démarches plus ou moins rebutantes.

Jacques Houget résume ainsi l'atmosphère de cette époque : « *Le grand lieu de rencontres et d'échanges se situait dans la bibliothèque au cours des réunions hebdomadaires dont les anciens gardent un souvenir nostalgique. Elles avaient lieu d'abord le mardi, puis le jeudi et enfin le samedi. Elles commençaient à 2 heures de l'après-midi par un verre de café - qui n'était pas toujours parfait, malgré les efforts de Madame Félix - et par des conversations par petits groupes. Tout le monde était là, tous les « Tétrarques » et tous les chercheurs et l'attrait de ces réunions était si vif que personne n'aurait songé à n'y pas assister. Vers 2 heures et demie, commençait l'exposé par l'un d'entre nous, soit sur son travail, soit sur un sujet général ou une découverte récente. L'intérêt de ces réunions était toujours très vif, non seulement par la valeur de l'exposé mais encore et surtout par le niveau des discussions et des commentaires faits aussi bien par l'un ou l'autre des Tétrarque ou des chercheurs. Le ton n'avait rien d'académique et on y parlait en toute liberté. C'était un enseignement exceptionnel que de pouvoir entendre sur des sujets très divers les réflexions si souvent divinatoires de Jean Perrin, les raccourcis si clairs dégagant toujours l'essentiel d'André Mayer, les commentaires pertinents et malicieux de Georges Urbain et de Jacques Duclaux, les remarques rares mais profondes de Pierre Girard et les opinions toujours précises de Pierre Auger, de Francis Perrin et de tant d'autres. Aucune institution de recherche de l'époque ne pouvait se vanter d'avoir des réunions régulières d'un tel intérêt*

un tel milieu.

En général les exposés traitaient des travaux personnels en cours, mais il y en eut de nombreux sur des découvertes récentes (entre autres : isotopes artificiels, diverses particules atomiques, désintégration en chaîne, valence et coordinance du carbone) et c'était un immense avantage pour les biologistes, les physiciens, les chimistes, d'être informés des progrès scientifiques, submergés devant l'avalanche grandissante des publications. Il est facile de reconnaître que ces réunions hebdomadaires réalisaient pleinement ce que le fondateur avait voulu. »

Ainsi l'aspect pluridisciplinaire et collectif de la recherche était-il systématiquement encouragé.

Photosynthèse

Le point de rencontre le plus évident entre la physique et la biologie est l'étude de la photosynthèse dans laquelle les photons lumineux servent à fournir l'énergie nécessaire à l'anabolisme dans des cellules spécialisées. Elle a été dès le début un sujet de recherche dans le Service de Biophysique, conjointement avec la thermodynamique des réactions du métabolisme et de leur régulation. René Wurmser considère en effet que toutes les biosynthèses ont en commun le rôle des réactions d'oxydo-réduction réversibles servant à transférer l'énergie chimique d'un compartiment cellulaire à l'autre. Il écrit par exemple en 1931 : « La répartition en différents points de la cellule des stades successifs d'une transformation chimique n'est pas spéciale aux cellules vertes. Elle est très générale et c'est elle qui rend compte des singularités essentielles de la chimie biologique. On retrouve cette même condition d'hétérogénéité du milieu et aussi l'intervention de réactions couplées quand on étudie les synthèses effectuées par les organismes sans chlorophylle. »

Des considérations fondées en partie sur ce mode de transfert de l'énergie chimique, en partie sur des mesures approximatives de rendement énergétique avaient conduit René Wurmser à conclure que l'acte primaire de la photosynthèse est une photolyse de l'eau. Il était donc important de connaître avec plus de précision le rendement maximum qui peut être atteint. Une méthode purement calorimétrique fut mise à l'étude et permit à Jacques Tonnelat d'évaluer à 8 le nombre de quanta absorbés pour dégager une molécule d'oxygène, valeur généralement admise aujourd'hui. Par ailleurs, en partant de l'équation thermodynamique de Schuster-Langevin (qui n'implique aucune considération sur les détails du comportement de la lumière frappant les particules), René Wurmser résolut le problème de la détermination du spectre d'absorption des pigments photosensibles dans les tissus ou les suspensions cellulaires.

Oxydo-réductions

Dans *Oxydations et Réductions* paru l'année même (1930) où fut inauguré l'Institut de Biologie Physico-Chimique, René Wurmser a donné une vue d'ensemble sur les problèmes qui seront l'objet de recherches dans le Service de Biophysique tout le long des années trente. Un de ces problèmes venait des travaux antérieurs (cf. [Le contexte](#)) qui avaient montrés que l'oxygène ne réagit directement que dans des compartiments spécialisés de la cellule. Le reste du milieu cellulaire est réducteur et le maintien de son potentiel d'oxydo-réduction entre d'étroites limites correspond aux conditions thermodynamiques de certaines synthèses et certaines activités « diastasiques » fondamentales. Il fallait d'abord étudier les systèmes oxydo-réducteurs solubles, agents d'échange entre les divers compartiments cellulaires et dont dépend la valeur du potentiel intracellulaire. Le pouvoir tampon de ces systèmes et des métabolites quasi-instantanément en équilibre avec eux est considérable. C'est ce que montrèrent les expériences de microinjection quantitative réalisées avec Louis Rapkine (1904-1948). En cherchant quelles pouvaient être les substances présentes dans le milieu cellulaire et directement responsables de son potentiel d'oxydo-réduction René Wurmser et Jean Geloso découvrirent les composés diénoliques qui se forment spontanément dans les solutions de glucides. Ils montrèrent que ces solutions présentent par la pluralité et les hauteurs des niveaux d'oxydo-réduction des similitudes avec les systèmes qui imposent les potentiels cellulaires mesurés *in vivo*. Leur emploi comme tampon d'oxydo-réduction pour la préparation de milieux de culture est d'ailleurs entré dans la pratique courante.

D'autres études *in vitro* ont porté sur divers transporteurs d'hydrogène (ou d'électrons) : la réductone avec Nélícia Mayer, l'acide ascorbique avec J.A. de Loureiro, le cytochrome c avec Sabine Filitti-Wurmser. En suivant l'évolution des potentiels en fonction du temps dans des suspensions et des extraits cellulaires, les niveaux des systèmes tampons se manifestent par des paliers. Le rôle de la protéoflavine dans l'équilibre électrochimique des cellules mis en évidence de cette manière par Sabine Filitti-Wurmser et René Wurmser fut extensivement étudié par Hidéo Kubo.

Cependant, seules des déterminations de potentiel d'équilibre entre métabolites pouvaient renseigner sur la signification physiologique des potentiels d'oxydo-réduction intracellulaire. On ne connaissait alors comme potentiel d'oxydo-réduction d'un système métabolique que celui correspondant à l'équilibre entre acides succinique et fumarique en présence de bleu de méthylène et de succino-deshydrogénase. René Wurmser pensa qu'en utilisant un accepteur d'électron de niveau approprié tous les systèmes catalysés par des deshydrogénases pourraient être étudiés colorimétriquement et électrométriquement. Dès 1932 avec Z. de Boe, puis Nélícia Mayer, il obtint la première détermination du potentiel de demi-réduction du système lactate-pyruvate. Ce fut ensuite, avec Sabine Filitti-Wurmser, l'étude des équilibres alcool isopropylique \rightleftharpoons acétone ; alcool éthylique \rightleftharpoons acétaldéhyde ; valine \rightleftharpoons α - céto-isovalérate d'ammonium. Sabine Filitti-Wurmser utilisa le phénomène de transamination pour calculer à partir de ce dernier équilibre le potentiel du

système alanine - pyruvate d'ammonium que l'impureté de l'enzyme dont on disposait alors empêchait de mesurer directement.

Cet ensemble de données expérimentales sur les énergies libres des réactions du métabolisme a permis d'appuyer par des exemples précis l'idée initiale qu'il existe une correspondance entre le maintien du potentiel intracellulaire à un niveau normal et la tendance permanente des milieux cellulaires à réaliser certaines synthèses fondamentales. Ce qui se passe en dehors des conditions normales est particulièrement démonstratif. Warburg a montré que les tissus maintenus en anaérobiose produisent de l'acide lactique et que cette production cesse, suivant la loi de Pasteur, en présence d'oxygène. La connaissance du potentiel d'oxydo-réduction du système lactate - pyruvate permet donc de prévoir le potentiel intracellulaire s'il est imposé par cet équilibre. La comparaison avec les valeurs du potentiel dans des tissus en anaérobiose trouvées indépendamment par Auel et divers collaborateurs est tout à fait satisfaisante. Une même coïncidence est constatée entre le potentiel intracellulaire des tissus aux privés d'air et le potentiel prévu à partir des données sur l'équilibre entre l'alcool et l'acétaldéhyde.

La relation directe entre le potentiel intracellulaire et l'équilibre de certains métabolites n'est pas seule à considérer. René Wurmser, dans *Oxydations et Réductions*, comprend parmi les oxydo-réductions dépendant du potentiel intracellulaire celles qui portent sur des « diastases » intervenant dans le métabolisme. Selon lui, l'effet Pasteur en est un exemple. Le travail ultérieur de Lipmann apportera un brillant appui expérimental à cette conception du rôle régulateur de l'état d'oxydo-réduction du milieu cellulaire.

A leur arrivée à l'Institut, Boris Ephrussi (assistant d'Emmanuel Fauré-Frémiet) et de Louis Rapkine (assistant de René Wurmser) poursuivirent leur étude de l'embryologie commencée par l'analyse du développement de l'œuf d'oursin en fonction de la température et de divers facteurs physiques déclenchant la division (induction par piqûre). Louis Rapkine introduisit dans ce domaine la considération du potentiel d'oxydo-réduction intracellulaire. Ce potentiel correspond à un état stationnaire, les deshydrogénations spontanées des métabolites tendant à l'abaisser, les combinaisons avec l'oxygène libre du dernier maillon de la chaîne respiratoire tendant à l'élever. Suivant la théorie de René Wurmser, l'oxygène doit pouvoir être remplacé dans ce rôle par d'autres accepteurs d'électrons, ce qui se produit d'ailleurs dans les fermentations.

Louis Rapkine montra qu'il en est bien ainsi par une expérience tout à fait remarquable. Déjà il avait trouvé que, contrairement aux idées de Warburg et de Shearer, la période initiale du développement de l'œuf d'oursin est caractérisé par une prédominance des oxydo-réductions liées aux synthèses et indépendant des processus respiratoires. Le rôle de l'oxygène libre devait donc être minime. Effectivement Louis Rapkine obtint un développement normal jusqu'au stade de blastula nageante en remplaçant l'oxygène par du bleu de méthylène (1929).

Ce travail de Louis Rapkine s'insère dans l'œuvre très personnelle que ce jeune biologiste - il avait alors 25 ans - a consacré au problème de la division cellulaire. L'étude analytique qu'il fit avec son ami Ephrussi sur l'œuf d'oursin au cours du développement est un des meilleurs inventaires de ce genre que l'on ait. Par une recherche analogue, il montra que les groupes sulfhydrylés, après une diminution passagère qui suit la fécondation, subissent une brusque augmentation. Il y a à ce moment réduction du glutathion oxydé. En même temps on observe une surproduction d'acide lactique : c'est la phase de « pré-division ». Louis Rapkine pensait que l'on devait pouvoir arrêter la division de l'œuf en agissant sur les groupements thiol par adjonction de métaux lourds et la rétablir à l'aide de cystéine ou d'acide thioglycolique. L'expérience confirma complètement ces vues et des résultats analogues furent obtenus sur le bourgeonnement des cellules de levure en utilisant l'acide mono-iodacétique comme inhibiteur.

Arrivé à ce stade, Louis Rapkine devait pénétrer dans la chimie des enzymes.

Enzymologie

Si les groupes sulfhydryles sont responsables de l'orientation du métabolisme caractéristique de la prédivision ce ne peut être qu'en agissant sur des systèmes enzymatiques. Au cours de l'année 1937-1938, Louis Rapkine établit que l'activité de la triose phosphate deshydrogénase dépend de l'état de réduction de ses groupes -SH. Poursuivant son expérimentation avec Sarah Rapkine et Terpinac, il démontra rigoureusement que seuls ces groupements sont en jeu. Il fit enfin la découverte de l'effet protecteur de la cozymase de Harden-Young à l'égard de l'oxydation de l'enzyme par le glutathion et l'alloxane. Rapkine en conclut que le coenzyme se fixe sur l'enzyme au voisinage des groupements -SH, gênant ainsi l'accès des molécules oxydantes.

Macromolécules

L'une des clés cruciales d'accès à la biologie moléculaire est la notion de macromolécule. On a rappelé plus haut qu'au moment de la naissance de l'Institut de Biologie Physico-Chimique, Svedberg avait déjà fait tourner un prototype de centrifugeuse à haute vitesse et suggéré que la masse des enzymes pouvait être considérable ; d'autre part on avait cristallisé l'uréase, enzyme responsable de la dégradation catalytique de

l'urée. Pourtant on était encore loin d'admettre que les molécules de diastases - d'enzymes – étaient composées de milliers d'atomes, et les tenants de l'existence des macromolécules se heurtaient à la théorie micellaire alors en vogue. Georges Urbain proposa à Georges Champetier (1931) un sujet apparemment éloigné : l'étude de la dissociation de la cellulose par les complexes du cuivre. Pour des raisons techniques, Georges Champetier s'employa d'abord à étudier le comportement de la cellulose vis-à-vis des bases fortes, puis de toutes sortes de réactifs et obtint des résultats bien reproductibles mais dont l'interprétation était difficile, à moins d'admettre que la cellulose fût une macromolécule, concept que Staudinger venait de proposer en Allemagne.

La démonstration de l'état macromoléculaire de la cellulose ne pouvait se faire qu'à l'aide de techniques physiques complexes et ce fut la raison de l'installation d'un système de diffraction des Rayons X à grande puissance à l'Institut (1936). L'universalité de la structure des celluloses de végétaux, de végétaux fossiles ou même d'une bactérie (avec Yvonne Khouvine et Jacques Parrod) fut alors démontrée, de même que leurs propriétés physico-chimiques compatibles seulement avec la notion de macromolécule (1938).

Ainsi, avant la deuxième guerre mondiale, le concept de macromolécule était-il bien établi : « *Victor Grignard avait entrepris la rédaction de son Traité de Chimie Organique qui devait connaître un large succès. Il demanda à Jacques Duclaux de rédiger l'article « cellulose » et celui-ci me demanda de collaborer avec lui et me laissa toute liberté de rédaction. Naturellement, j'écrivis cet article, en 1936, avec son accord, en adoptant la notion de macromolécule et en en développant les perspectives. C'est le premier exposé d'ensemble de chimie macromoléculaire en langue française et l'un des tout premiers en d'autres langues* », écrit Georges Champetier.

L'installation de diffraction des Rayons X permit d'effectuer des travaux sur des composés macromoléculaires autres que la cellulose, notamment des protéines fibreuses. En particulier, Georges Champetier, Emmanuel Fauré-Frémiot et Pierre Girard mirent en évidence des structures périodiques dans les collagènes, l'élastoïdine et les kératines. Ce n'est pourtant qu'en Angleterre et en Amérique que les structures de ces protéines furent résolues par l'Américain Linus Pauling en particulier. La guerre devait malheureusement interrompre le cours de recherches prometteuses et porter ailleurs le centre des grandes découvertes de la diffraction des Rayons X. Enfin, une mention particulière doit être faite au domaine de l'étude du système nerveux, un peu délaissé à l'Institut de Biologie Physico-Chimique, malgré les recherches de Pierre Girard sur les diélectriques et les membranes. Il existait en effet un Laboratoire d'électrophysiologie créé avec Daniel Auger et Denise Albe où s'effectuèrent un grand nombre d'expériences préliminaires à l'électrophysiologie d'aujourd'hui, en particulier sur le potentiel d'action dans les neurones isolés de crustacés.

II Les nouvelles techniques

Les dernières générations humaines ont été les témoins d'un développement explosif de la science et des techniques et, contrairement à l'opinion généralement admise qui attribue la majeure partie de ce développement à une technologie croissante, la science doit son triomphe à la mise en place d'une [méthode](#) qui permet d'explorer et d'exploiter systématiquement les principales idées de ce que nous appelons aujourd'hui la recherche fondamentale. Le développement de la technologie est une conséquence de cette mise en valeur des concepts les plus élaborés et, en retour, permet par l'affinement des moyens expérimentaux d'explorer de nouveaux domaines de la connaissance.

Outre l'intérêt conceptuel du rapprochement de sciences aussi diverses - en 1927 - que la Biologie, la Physique et la Chimie, il y avait un avantage considérable à leur développement simultané dans un même institut qui permettait l'élaboration de nouvelles techniques pour le développement de la Biologie.

On peut en distinguer deux grands groupes : les techniques préparatives et les techniques analytiques.

Aux premières se rattachent l'invention de milieux de culture de tissus par Fauré Frémiet et Ephrussi (1936) ou la préparation des dérivés phosphorylés des acides aminés et d'autres substrats par Aubel (1932).

Aux secondes sont liées des techniques surtout physiques, parfaitement adaptées à la structure de l'Institut de Biologie Physico-Chimique : d'abord la production et l'analyse des diagrammes de diffraction de Rayons X produits par des macromolécules fibreuses, puis l'étude de la diffusion de la lumière par les macromolécules et celle de la fluorescence, phénomène moléculaire dont la compréhension était due à Jean Perrin.

Dans le cadre de ses études mathématiques du mouvement brownien de rotation et de translation (1929-1936), Francis Perrin a établi entre diverses propriétés dépendant de ce mouvement d'importantes relations encore universellement utilisées. C'est ainsi que le rapport entre la constante de diffusion d'une molécule ellipsoïdale et celle d'une molécule sphérique de même volume intervient dans l'interprétation des mesures de viscosité et de sédimentation destinées à connaître le volume et la forme des macromolécules. De même la relation entre la polarisation partielle de la lumière réémise par des molécules fluorescentes en solution dans des liquides de viscosité variée et leur vie moyenne dans l'état activé a servi de base à de très puissantes méthodes d'investigation des dimensions et structures moléculaires. De plus, en relation avec les études expérimentales de Pierre Girard et Paul Abadie sur la dispersion diélectrique dans le domaine

hertzien des solutions de molécules polaires, Francis Perrin a étendu la théorie de P. Debye relative à des molécules sphériques au cas de molécules ellipsoïdales montrant qu'il apparaît alors non pas un seul mais deux ou trois temps de relaxation devant correspondre à des zones différentes de dispersion, les deux temps de relaxation relatifs à des molécules de révolution étant aisément calculables en fonction de leur allongement ou de leur aplatissement.

Ainsi furent mis en évidence les facteurs permettant de repérer la forme des molécules et le transfert d'énergie entre un résidu photoexcité et un résidu receveur. Ces caractéristiques permettent, grâce à la très grande sensibilité de la fluorescence, de mesurer les paramètres locaux de sites moléculaires intéressants et d'en étudier la dynamique.

Des travaux fondés sur l'étude de la lumière diffusée et destinés à suivre la formation des complexes enzyme-substrat sont entrepris dans le Service de Biophysique. Ils furent malheureusement interrompus par la guerre (avec la mort en déportation d'un jeune chercheur, Raymond Croland, associé à ces expériences).

L'Institut de Biologie Physico-Chimique disposait pour la mise au point des expériences d'un atout considérable, un atelier de mécanique bien équipé qui permettait la fabrication, sur place, d'un grand nombre d'appareils directement conçus pour un plan expérimental. On retrouve aujourd'hui ce type de services dans de nombreux laboratoires de physique.

A l'interface entre ces deux extrêmes se trouvent les techniques qui peuvent permettre la préparation et (ou) l'analyse. L'atelier de mécanique permet à Pierre Girard d'imaginer la fabrication d'ultracentrifugeuses entraînées par une turbine fonctionnant à l'air, puis à l'hydrogène comprimé et atteignant des vitesses de l'ordre de 100 000 tours par minute grâce à un modèle de stabilisateur approprié (accélération centrifuge de quelque 105 000 g à une distance d'un centimètre de l'axe). L'intention était de séparer les composés macromoléculaires en fonction de leur vitesse de sédimentation et aussi d'obtenir des renseignements analytiques sur leur structure. Ces toupies tournant à de si grandes vitesses servaient à préparer par centrifugation ultrasonore des enzymes purifiées : à ces vitesses les petites irrégularités dans la rotation produisent des ultrasons permettant la destruction ménagée de l'architecture cellulaire et la purification d'enzymes. Ainsi, Sabine Filitti-Wurmser et René Wurmser préparèrent pour la première fois une L-aminoacide oxydase (L-alanine deshydrase, 1939).

D'autre part, la séparation analytique ou préparative des constituants cellulaires se révéla un problème extrêmement ardu et l'on doit à Edgar Lederer (1908-1990), au cours de ses séjours à l'Institut de Biologie, d'avoir introduit en France la chromatographie, développée en particulier pour l'isolement des petites molécules caroténoïdes ainsi que de nombreux pigments.

L'électrophorèse introduite sous l'impulsion de Jean Perrin qui avait établi les règles d'électrisation des parois suivant la nature des ions présents dans un milieu aqueux les baignant, permet à Nine Choucroun de mettre au point une technique correcte et précise pour la séparation des particules inégalement chargées. Nine Choucroun réussit notamment par ce moyen à séparer des souches bactériennes pathogènes ayant des virulences différentes.

L'usage des isotopes radioactifs ou stables ne fut pas introduit avant la guerre à l'IBPC comme moyen général d'étude, cependant leur grand intérêt fut alors mis en évidence et les problèmes de l'infrastructure technologique correspondante furent abordés. Ainsi Meyerhof y fit-il, en 1938, une conférence sur l'usage du phosphore radioactif dans les recherches sur la glycolyse. Champetier, préoccupé dès 1933 par l'intérêt du deutérium comme analogue de l'hydrogène dans les études biologiques, s'ingénia à mettre en place une installation d'électrolyse productrice d'eau lourde et réussit à produire de l'eau lourde enrichie à 98 %. Malheureusement cette préparation d'eau lourde fut une déception car elle parvint à fonctionner correctement juste au moment où l'eau lourde produite industriellement devenait un produit commercial. Elle permit cependant un certain nombre d'expériences intéressantes sur les possibilités de vie en présence d'eau lourde, sur les mécanismes d'échange des ligands du chrome (sujet repris après la guerre par Manfred Eigen avec le succès que l'on sait) et surtout elle permit de confirmer le comportement macromoléculaire de la cellulose par l'étude de l'échange des atomes d'hydrogène avec le deutérium de l'eau lourde.

A la veille de la deuxième guerre mondiale, l'Institut de Biologie Physico-Chimique se trouvait donc à la pointe de la recherche internationale et avait fait la preuve de la puissance des théories explicatives de la biologie fondées sur la physico-chimie. La guerre devait transporter ailleurs les centres d'intérêt du monde scientifique et devait malheureusement retarder l'usage de ce potentiel de ressources techniques et intellectuelles.

