

L'ÂGE D'OR DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE



SCIENCE PHILOSOPHIE INDUSTRIE ENSEIGNEMENT VULGARISATION CONTACT PLAN DU SITE



Je voudrais maintenant donner une série de raisons qui, ajoutées aux résultats des croisements, nous ont fait admettre à titre d'hypothèse de travail que la mutation «petite colonie» est de nature cytoplasmique et non génique, et que, de façon plus concrète, elle consiste dans la perte de particules cytoplasmiques autonomes.

Boris EPHRUSSI

Table des Matières

Avant-Propos

1927-1945

1945-1965

1965-1977

Deuxième partie | L'âge d'or de la biologie moléculaire

A la veille de la deuxième guerre mondiale, l'Institut de Biologie se trouvait donc engagé dans les grandes voies d'accès aux succès de la Biologie Moléculaire. Malheureusement, l'activité scientifique de l'Institut fut réduite à très peu de choses pendant toute la durée du conflit puisque de nombreux chercheurs durent fuir l'occupation allemande et les persécutions relayées par le gouvernement de Vichy. L'Institut, lui-même fut l'objet des visées du fanatique Alexis Carrel et dut sa survie à la remarquable détermination de son administrateur, Pierre Girard.

Or, ces années de guerre sont cruciales pour la biologie moléculaire puisqu'elles consacrent l'avènement de l'intérêt pour deux grandes classes macromoléculaires les protéines et les acides nucléiques comme objets fondamentaux de l'étude de la vie.

Parmi les quatre classes de macromolécules biologiques, glucides, lipides, acides nucléiques et protéines, seules les deux dernières sont porteuses de l'information du patrimoine génétique comme matrice et comme vecteur de l'hérédité. A la veille de la guerre, on considère encore souvent les acides nucléiques comme d'assez petites molécules, polymères des quatre bases (adénine, thymine, cytosine, guanine) et ce n'est qu'entre 1941 et 1945 que les expériences d'Avery, aux Etats-Unis, vont montrer par la transformation héréditaire de micro-organismes que l'ADN est directement impliqué dans l'hérédité. D'autre part, Pauling et Corey résolvent la structure de petits peptides et celle des protéines fibreuses (hélice α et feuillet plissé β). Tout cela implique une réorientation nécessaire de tout un aspect de la biologie qui se reflétera dans une réorganisation des différents services de l'Institut qui se fera peu à peu, en une dizaine d'années.

Nous verrons donc au cours des années 1945-1965 comment la recherche s'est tournée vers la biologie moléculaire et quels en ont été les principaux résultats. De 51 travailleurs scientifiques au début de son fonctionnement (1931), l'effectif de l'Institut de Biologie était monté à 65 en 1938. La guerre ne lui laissa qu'une partie de son potentiel humain et le retour des chercheurs après le conflit ne fut que partiel. Certains des plus éminents étaient morts, Jean Perrin en 1942, d'autres comme Louis Rapkine furent appelés à s'installer ailleurs. Mais, dès 1946, l'Institut retrouvait son potentiel d'avant-guerre et le chiffre des travailleurs scientifiques approchait bientôt de 100. A la mort de Pierre Girard (1958) René Wurmser fut choisi comme nouvel administrateur. Il commença alors à réorganiser l'Institut en introduisant le Service de Biochimie Théorique dirigé par Bernard Pullman (1919-1996), puis en invitant François Gros à installer un Service de Physiologie Microbienne afin d'augmenter l'importance de la biologie moléculaire à l'Institut. Cette réorganisation se poursuivit jusqu'en 1963, date à laquelle René Wurmser quitta le poste d'administrateur auquel lui succéda Bernard Pullman. Celui-ci continua l'œuvre de son prédécesseur en invitant Pierre Douzou (1926-2000) à venir former un nouveau Service de Biospectroscopie. Ainsi, à la fin de l'année 1965, l'Institut avait-il une structure voisine de celle d'aujourd'hui. La distribution des Services de l'Institut donne une bonne image de l'évolution considérable qui se produit durant ces vingt années, le tournant principal étant pris après la mort de Pierre Girard.

En 1945, l'Institut comprenait les Services et Laboratoires suivants :

Chimie Physique	Pierre Girard
Biophysique	René Wurmser
Biochimie	Eugène Aubel
Synthèse organique	Jacques Parrod
Chimie colloïdale	Jacques Duclaux
Physiologie	Théophile Cahn
Génétique	Boris Ephrussi

et, en 1965 :

Biophysique	Sabine Filitti-Wurmser
Biochimie Théorique	Bernard Pullman
Biochimie A	Yvonne Khouvine
Biochimie B	Marianne Grunberg-Manago
Physiologie Microbienne	François Gros
Physiologie	Théophile Cahn
Chimie Macromoléculaire	Alma Dobry-Duclaux
Biospectroscopie	Pierre Douzou

I - Les macromolécules porteuses de l'information héréditaire

C'est certainement aux travaux du groupe de Boris Ephrussi qu'il faut d'abord faire référence, à la fois parce qu'ils expriment une continuité entre l'avant et l'après-guerre et parce qu'ils sont parmi ceux qui ont fondé la biologie moléculaire. Beadle, nous l'avons vu, est retourné aux Etats-Unis après de fructueux travaux chez Ephrussi, puis, durant la guerre, associé à Tatum, il formule la fameuse hypothèse un gène \rightarrow une protéine fondée sur les observations faites par Ephrussi sur la mouche drosophile.

Après la guerre, de retour à l'Institut, Boris Ephrussi décide de lancer plusieurs nouveaux axes de recherche ; il est en effet convaincu qu'il est temps, après la génétique mendélienne et morganienne, d'arriver au niveau moléculaire. Pour cela il convient de préparer des quantités importantes de composés macromoléculaires purifiés. Et seuls les microorganismes, par leur croissance rapide, semblent s'y prêter : mais il faut entièrement créer leur étude génétique et c'est la raison de son choix de la levure de bière et de microchampignons.

Avec son élève **Piotr Slonimski** (1922-2009), Ephrussi va poser les jalons de toute la génétique de la levure en sélectionnant des souches haploïdes convenables et de nombreuses mutations « biochimiques » qui correspondent bien à l'idée de la correspondance : un gène \rightarrow une protéine.

Pour la production de mutants, il étudie soigneusement la mutagenèse par les composés aromatiques que sont les acridines et, en

1946, il formule ses résultats de la façon suivante : « *tout semble indiquer que les acides nucléiques jouent un rôle important dans les processus de reproduction des gènes et on pouvait penser que l'action des acridines était de « fausser » ce processus et de conduire à la formation de gènes défectueux donc de mutations* ». On sait, vingt-cinq années après, que c'est effectivement ce qui se produit, et la clairvoyance d'Ephrussi est remarquable si l'on se souvient que la structure en double hélice n'a été connue que sept ans après. Elle l'est aussi si l'on remarque que de nombreux chercheurs persistèrent longtemps encore à rechercher l'influence des mutagènes sur les protéines et non pas sur les acides nucléiques.

Au cours de l'analyse des nombreux mutants obtenus par l'acridine, il apparaît qu'une grande partie sont des mutants respiratoires produisant de petites colonies en croissance aérobie (le nom des mutants « petites » est resté international) et ces mutants semblent posséder une hérédité cytoplasmique non classique. Or, Philippe L'héritier associé alors au groupe d'Ephrussi, étudie dans le même temps le facteur de sensibilité des mouches drosophiles au gaz carbonique (facteur) et il apparaît clairement qu'il s'agit là encore d'une hérédité cytoplasmique sous l'influence d'un facteur particulière pour lequel « *tout se passe comme s'il était lié à la présence dans les gamètes des individus d'un facteur de nature particulière et autoreproductible* ». Ce « gène » transmissible par injection est thermosensible et ses propriétés le font ressembler à un virus ou, mieux, à un plasmide. Il s'agit d'un cas particulier de ces unités répliquatives appelées plus tard réplicon par Jacob, Brenner et Cuzin (1963).

C'est la correspondance entre ces deux découvertes d'une hérédité cytoplasmique qui permettra de mettre en évidence l'autonomie partielle des mitochondries comme unités répliquatives et comme porteuses d'une partie de l'information nécessaire au codage de la phosphorylation oxydative au cours du cycle respiratoire. L'étude approfondie du phénomène aura permis, au moment où le groupe d'Ephrussi quittera l'Institut (entre 1958 et 1961) de poser clairement le problème des relations entre mutations nucléaires et cytoplasmiques produisant le même phénotype.

Au niveau moléculaire le groupe s'intéressa aux produits accumulés lorsque certaines mutations sont présentes (précurseurs des purines par exemple, en collaboration avec le groupe de Lederer) qui permettent d'établir la correspondance explicite entre un gène et une activité catalytique précise. Mais surtout cette recherche est centrée autour des expériences utilisant l'ADN purifié. L'expérience montre, avant 1950, que seul l'ADN de haut poids moléculaire est transformant. A la même époque par ailleurs, le degré de polymérisation de l'ADN peut être mesuré par diffusion de la lumière (expériences du Service de Biophysique) et non plus seulement par ses propriétés de viscosité ou de sédimentation en ultracentrifugation. Et Boris Ephrussi conclut que ces expériences « *suggèrent l'existence d'une recombinaison entre deux macromolécules totalement polymérisées* ». « *Ainsi l'existence de la recombinaison se trouve démontrée pour toutes les unités douées de continuité génétique : chromosomes visibles au microscope, virus constitués de molécules nombreuses, agents transformants qui ne sont probablement que de simples molécules géantes* ». On conçoit donc l'intérêt considérable de ces recherches qui allaient participer au contexte propice à la découverte de la structure de l'ADN par Watson et Crick en 1953, structure organisée qui doit concilier l'aspect répliquatif et les possibilités de recombinaisons.

Mais l'intérêt de ces travaux ne s'arrête pas là. En effet, outre la possibilité de transformation du pneumocoque dues aux propriétés de sa paroi (conduisant à des colonies d'aspect régulier ou irrégulier) une autre possibilité de transformation, qui restaure une activité métabolique présente chez un mutant, est découverte. Une première analyse montre qu'elle n'est pas liée à la précédente. Boris Ephrussi en conclut que « *son intérêt principal réside dans l'indication qu'il se pourrait que les acides désoxyribonucléiques soient responsables de la spécificité des enzymes catalytiques aussi bien que la spécificité des synthèses cellulaires* » (1951). La correspondance un gène / une protéine est ainsi démontrée et cela ouvre la voie aux expériences futures qui révéleront les grandes phases du cycle vivant : réplication → transcription → traduction ainsi que leurs régulations.

Enfin, peu après la découverte de la double hélice, Harriett Ephrussi-Taylor (1918-1968), en collaboration avec Raymond Latarjet (1911-1998) à l'Institut du Radium, évalue la taille minimum de l'unité transformante et trouve un poids moléculaire de $7 \cdot 10^5$ dalton, ce qui correspond à 1000 paires de bases : la valeur aujourd'hui communément admise correspond à une protéine de 300 acides aminés environ (1955). Ce seront les expériences de Crick et Brenner qui établiront la correspondance exacte : un triplet de nucléotide - un acide aminé (1960).

Parallèlement à ces remarquables travaux résumés par Ephrussi au moment de son départ de l'Institut (1959) : « *L'activité du Laboratoire de Génétique est, depuis sa création centrée sur l'étude de la nature et du mécanisme d'action et de reproduction des unités subcellulaires douées de continuité génétique avec accent sur l'analyse en termes biochimiques et biophysiques et, le moment venu, en termes moléculaires* » toute une série de recherches se poursuivent sur les macromolécules informatrices, acides nucléiques et protéines. Yvonne Khouvine anime une recherche axée sur les nucléoprotéines en cherchant à relier leurs propriétés moléculaires aux mécanismes de la carcinogénèse. Une grande partie de ces travaux est centrée sur l'aspect biochimique qui consiste à purifier et caractériser les divers produits isolés. En 1946, Jean Grégoire évalue par diverses techniques physico-chimiques le degré de polymérisation des acides nucléiques et conclut à un poids moléculaire élevé. Ces résultats contrastent avec l'idée qui avait cours avant la guerre de tétramère adénine-thymine-guanosine-cytosine de faible poids moléculaire et contribuent à redéfinir le rôle des acides nucléiques. On remarque toutefois que la correspondance entre A - T et G - C, notée par Chargaff, est toujours respectée même dans ces molécules à haut poids moléculaire. Cette observation sera l'un des piliers de la découverte de la double hélice.

Marianne Grunberg-Manago, à son retour des États-Unis (1955) où elle était allée travailler dans le laboratoire de Severo Ochoa sur des mécanismes de phosphorylation oxydative, revient avec une enzyme bactérienne capable de polymériser les ribonucléoside diphosphates (NDP → Poly N). C'est la recherche de conditions qui permettraient à cette enzyme de produire des polymères qui occupent d'abord le Service de Biochimie B. Les polymères ont été utilisés pour des études physiques, en particulier pour vérifier l'appariement des bases suivant la théorie alors récente de Watson et Crick. L'enzyme elle-même a été utilisée comme modèle pour les études sur la polymérisation des nucléoside-diphosphates et la phosphorylation des acides ribonucléiques. En particulier cette étude a montré l'influence de la structure secondaire (double hélice) sur la vitesse de dégradation : alors que les polymères à un seul brin sont rapidement dégradés les polymères en double brin le sont beaucoup plus lentement et les polymères en triple brin sont totalement résistants à l'enzyme. Marianne Grunberg-Manago a utilisé alors cette enzyme comme outil pour étudier la structure des polynucléotides artificiels (Poly A + Poly U, Poly I + Poly C) et des acides nucléiques naturels ; en particulier, en collaboration avec Roger Monier, elle a montré que les ARN de transfert ont un comportement très particulier vis-à-vis de l'enzyme, ce qui suggère des propriétés structurales encore mal comprises aujourd'hui. L'exposé d'une partie de ces premiers travaux a été demandée pour faire l'objet d'un article dans le premier numéro du *Journal of Molecular Biology*, périodique qui consacre l'avènement de la Biologie Moléculaire. Mais c'est principalement pour son côté technique que la polynucléotide phosphorylase est une enzyme bien connue : en effet, cette enzyme permet la synthèse d'ARN artificiels dont la composition en nucléotides est fixée par l'expérimentateur. Or, entre 1958 et 1960, sont découverts en particulier à l'Institut Pasteur de Paris et au Laboratoire du Medical Research Council de Cambridge le rôle d'acides ribonucléiques à temps de vie bref et la relation entre cette synthèse d'ARN et la synthèse des protéines : les suites de nucléotides portés par des ARN sont donc probablement directement impliquées dans le codage de la séquence des acides aminés d'une protéine. L'intérêt de la polynucléotide phosphorylase est donc évident puisqu'il va permettre de découvrir les lois qui gouvernent le code génétique, règle de substitution entre des triplets de nucléotides et les acides aminés. Aux États-Unis Peter Lengyel, dans le laboratoire de S. Ochoa, tente (entre 1957 et 1959) d'effectuer une synthèse de protéines *in vitro* à partir d'ARN de composition connue synthétisés avec la polynucléotide phosphorylase, mais c'est au

synthèse de protéines *in vitro* à partir d'ARN de composition connue synthétisée avec la polynucléotide phosphorylase, mais c'est au groupe de Nirenberg que revient la définition d'un premier système actif qui d'abord établit la relation poly U – polyphénylalanine (1960-1961).

À l'Institut de Biologie, dès 1959, la polynucléotide phosphorylase permet la synthèse de toutes sortes d'ARN dont on commence l'étude structurale à l'aide de techniques spectroscopiques, mais le rôle de cette enzyme pour faire la synthèse de messagers n'est envisagé qu'en 1960 et fournira une contribution à l'étude de la synthèse des analogues avec les expériences de Nirenberg. En collaboration avec Mark Bretscher, du groupe de Crick à Cambridge, il est démontré que des codons ne contenant que des A et des C codent les acides aminés : thréonine et asparagine, ce qui prouve – contrairement à l'idée admise à l'époque - qu'il existe des codons sans uracile. Cela fut ensuite confirmé par les groupes de Nirenberg et d'Ochoa. Marianne Grunberg-Manago a montré ensuite que l'acide polyuridylique (poly U) ne stimule pas uniquement l'incorporation de la phénylalanine mais aussi des quantités variables de leucine et que ce n'était pas dû à la présence dans le poly U, de C, A ou G. C'est ainsi que fut mise en évidence pour la première fois une fausse reconnaissance. Elle a ensuite pu démontrer que l'incorporation de la thréonine par un copolymère UC constituait une ambiguïté et ne correspondait pas au codon CCU qui lui avait été attribué. Elle entreprend alors d'étudier plus à fond le problème des ambiguïtés et en découvre un grand nombre en utilisant des analogues halogénés de polymères. L'arrivée au laboratoire de Marianne Grunberg-Manago d'un chimiste anglais, Michel Michelson (1962) sera décisive à ce sujet.

Le rôle des acides nucléiques était depuis longtemps étudié au niveau biochimique par le groupe d'Yvonne Khouvine et permettait de préciser quelques conditions de préparation et de stabilité des systèmes complexes nécessaires à l'étude *in vitro* des transformations de l'information héréditaire mais c'est à partir de 1960 que la précision des expériences s'amplifie au point de permettre de réaliser *in vitro* la synthèse de protéines spécifiques. Il devint donc important d'étudier en détail la machinerie de la synthèse polypeptidique et d'abord la structure des ARN de transfert (appelé alors ARN solubles, et remarqués dès 1956 par Ephrussi dans leur rôle stimulateur de la transformation du pneumocoque), puis celles des ribosomes et du messager. En 1965, les techniques de purification (développées aux États-Unis) commencent à être assez précises pour que l'on puisse envisager l'étude de l'ARN de transfert au niveau physico-chimique. Mais il faut d'abord connaître dans le détail celle des composés modèles ARN et ADN, ce à quoi s'attellent Michel Michelson et de jeunes chercheurs comme Jean Massoulié et Wilhelm Guschlbauer.

II - Étude des protéines (enzymes, anticorps)

L'une des vocations de l'Institut de Biologie Physico-Chimique est l'étude structurale fine des composés biologiques. L'impulsion donnée par Pauling, puis les travaux de Kendrew et Perutz dans l'analyse des protéines par diffraction des Rayons X devait se compléter par l'analyse des propriétés de ces molécules dans leur dynamique en solution (et non plus dans l'état cristallisé) ainsi que dans le détail des propriétés catalytiques.

Déjà à la fin des années 30, plus encore en 1945, il était clair que les progrès, sur presque tous les fronts, de la biophysique dépendaient d'une meilleure connaissance des propriétés des protéines. Les premières tentatives de détermination d'une structure secondaire étaient en cours en Angleterre et aux États-Unis. Une autre ligne de recherches était l'étude des associations moléculaires ; c'est à elle que se rattachent les travaux poursuivis dans le Service de Biophysique sur les protéines qu'elles soient ou non douées de propriétés catalytiques.

René Wurmser et Sabine Filitti-Wurmser s'engagent dans une étude des fonctions de reconnaissance des protéines avec comme modèle l'agglutination des hématies humaines par les isohémagglutinines. Ils avaient au début de la guerre établi à la demande de l'Armée un procédé de conservation du sang qui fut d'ailleurs adopté et appliqué à grande échelle. Familiarisés à cette occasion avec la question des groupes sanguins, il leur était apparu que les isohémagglutinines étaient à plusieurs points de vue un matériel de choix pour l'étude thermodynamique d'une réaction entre antigène et anticorps.

Une des difficultés de ce travail, auquel collabora dès le début Yvette Jacquot-Armand, fut de déterminer le nombre de groupes agglutinogènes présents sur une hématie. La valeur trouvée, 500 000, surprit à l'époque.

Une longue étude qui porta sur une centaine de sérums d'individus normaux appartenant aux groupes A et O montra que, dans chacun de ces sérums l'isohémagglutinine anti-B se comporte dans son équilibre avec les hématies B comme un ligand unifonctionnel et homogène. Ce dernier caractère contrastait avec l'hétérogénéité des isoagglutinines provenant de sérums immuns. Un autre résultat n'était pas moins inattendu : en cherchant à classer les constantes d'association et les variations d'enthalpie on découvrit qu'elles étaient les mêmes pour toutes les isoagglutinines anti-B provenant d'individus normaux ayant un même génotype. On pouvait par ces données thermodynamiques distinguer les unes des autres, non seulement les agglutinines des individus A₁, A₂ et O, mais aussi les agglutinines des individus A₁O et A₁A₁.

L'anti-B des individus A₁O était la première protéine caractéristique des hétérozygotes trouvée dans l'espèce humaine. L'explication de tous ces faits tient, selon les auteurs, à ce qu'un mécanisme génique lié au locus ABO contrôle directement la formation des isoagglutinines naturelles. Des recherches analogues furent effectuées par S. Mavridès (1954) sur les isoagglutinines anti-A naturelles et servirent en outre à l'étude des antigènes A₁ et A₂. D'autre part, un important chapitre d'immunogénétique a été fondé sur l'emploi de la méthode des Wurmser par Charles Salmon.

Des informations sur les différences de structure responsables des inégalités d'affinité ont été obtenues par des expériences d'ultracentrifugation à travers une paroi poreuse et par la comparaison des entropies d'association (Filitti-Wurmser, Aibel-Lesure, Wurmser, 1953). Ainsi l'union des isoagglutinines aux groupes agglutinogènes se trouve être un des premiers exemples de liaison à une protéine où l'on ait reconnu « des remaniements intramoléculaires ressemblant à un début de dénaturation réversible » (Wurmser et Filitti-Wurmser, 1953).

Bien que l'idée en soit plus ancienne, c'est en effet à partir du début des années 50 que ces remaniements sont invoqués de plus en plus fréquemment pour rendre compte du comportement des protéines dans des processus très divers. Un exemple est le mécanisme de transduction d'énergie entre groupes éloignés d'une même molécule proposé pour expliquer le couplage de réaction dans la phosphorylation oxydative (Wurmser, 1958). De nombreuses recherches expérimentales sur la dénaturation ont été poursuivies dans le Service de Biophysique (H. Colson-Guastalla, H. Chalopin, F. Labeyrie, J. Yon, S.S. Sung) entre 1950 et 1960, le plus souvent à un point de vue énergétique. C'est en étudiant l'action de l'urée sur les composés azotiques hème-base que R. Banerjee fut amené à s'intéresser particulièrement à la liaison extrêmement forte hème-globine. Il réussit à démontrer sa réversibilité et à estimer ses paramètres énergétiques en recourant à des équilibres couplés (1961). De plus, avec S. Filitti-Wurmser, il montre au moyen de la technique d'ultracentrifugation, dans le cas de la ferri-hémoglobine humaine, l'apparition des dimères lorsque la forme initialement tétramérique est graduellement privée d'hème.

Parmi les travaux fondés principalement sur la diffusionométrie, ceux de Sylvania Guinand et de Claude Georges constituent une analyse très précise des conditions de dissociation de la β -lactoglobuline que l'on peut considérer comme un modèle d'enzyme polymérique. Tout au long de la période qui nous occupe s'est développé dans le Service de Biophysique un groupe de recherches enzymologiques auquel participa à l'origine David Shugar (actuellement professeur à l'Université de Varsovie) et qui réunit progressivement de nombreux chercheurs sous la direction de Françoise Labeyrie.

Beaucoup de données quantitatives ont été obtenues sur la cinétique et la thermodynamique de la protéolyse enzymatique (J. Yon). D'autre part les lactico-deshydrogénases ont été l'objet de travaux importants à plusieurs points de vue. F. Labeysie, A. Curdel et L. Naslin mettent en évidence avec Piotr Slonimski (Service de Génétique) la différence des groupes prosthétiques existant entre l'enzyme de la levure cultivée en anaérobiose et celle de la levure aérobie. Entre autres résultats, grâce à un montage spectrofluorométrique réalisé au laboratoire, des informations sont obtenues sur le fonctionnement intramoléculaire des deux groupes prosthétiques hème et flavine mononucléotide de la L-lactico-deshydrogénase (cytochrome b2) (A. Baudras, M. Iwatsubo, A. di Franco). Par protéolyse, celle-ci libère une petite hémoprotéine qui sera elle-même un nouveau centre d'intérêt.

L'étude physico-chimique des macromolécules peut laisser penser qu'une analyse à un niveau plus fin de réduction pourrait apporter des informations supplémentaires (c'est en effet ce qui a été observé récemment avec l'hémoglobine où les propriétés des orbitales *d* du fer doivent être prises en considération pour permettre une description cohérente de la dynamique de la molécule) et René Wurmser, appelé à être le nouvel administrateur de l'Institut à la mort de Pierre Girard (1958) demanda à Bernard Pullman, professeur de Chimie Quantique à l'université de Paris, d'introduire à l'IBPC son groupe sous la forme d'un Service de Biochimie Théorique. Bernard et Alberte Pullman avaient en effet appliqué les méthodes quantiques au calcul de la structure électronique d'un certain nombre de petites molécules d'intérêt biologique et avaient proposé une relation entre structure électronique obtenue par le calcul et activité cancérigène des hydrocarbures aromatiques. Installé à l'Institut de Biologie en 1958, ils entreprirent de créer une véritable biochimie électronique commençant par l'étude des plus simples édifices moléculaires pour aller aux plus complexes.

III - Le métabolisme intermédiaire et l'énergie

Plusieurs axes sont développés après la guerre concernant le métabolisme de l'énergie. Le rôle de l'ATP ayant été mis en évidence par Lipmann, il convenait de relier sa synthèse à la respiration cellulaire, aux oxydo-réductions et à la photosynthèse. Nous avons déjà vu l'aspect génétique développé par le groupe de B. Ephrussi et P. Slonimski. Le groupe dirigé par Eugène Aubel continuera quelque temps son étude du métabolisme respiratoire commencé avant la guerre (Thèse de M. Grunberg-Manago en 1947, Thèse de J. Szulmajster en 1949) et le Service de Physiologie étudiera, au niveau global, les transformations des lipides et des polysucres (glycogène en particulier) chez l'animal, à côté de divers chemins du métabolisme intermédiaire (relation entre l'acide folique et la vitamine B 12 dans l'hématopoïèse, contrôle de la multiplication cellulaire par des agents antifoliques) de même que quelques problèmes de la contraction musculaire.

Cet aspect de la transformation de l'énergie chimique en énergie mécanique sera malheureusement peu développé à l'Institut, mais la constitution des sources d'énergie qui permettent la mobilisation de quantités importantes d'ATP sera étudié en détail : analyse des particules de glycogène par François Meyer, rôle de la phosphocréatine par Jean Nekhorocheff (qui attribue à tort la contraction à une déamination plutôt qu'à l'hydrolyse du triphosphate) et aussi analyse du contrôle nerveux dû à l'acétylcholine par Hermann Scheiner qui effectue des préparations du muscle produit dans des conditions physiologiques.

Enfin un rôle original des recherches menées à l'Institut sera de développer la physico-chimie de la photosynthèse, première source d'énergie chez les végétaux. La difficulté du problème posé suppose la mise en place d'infrastructure d'appareils de mesure très élaborés et les premières années seront surtout consacrées à l'aspect technique de la recherche (1955-1958). Dès les premières mesures apparut le rôle fondamental des étapes qui suivent immédiatement la capture des photons. La détermination de la vitesse d'apparition de l'oxygène au début de l'illumination ou en état de régime a permis de mieux comprendre certains mécanismes impliqués dans la photolyse de l'eau (Pierre Joliot). De même le rôle de la chlorophylle dans les premières étapes est analysé dans tous ses détails en particulier par Jean Lavorel, puis dans le groupe dirigé par Pierre Joliot où les rôles relatifs de différents pigments dans les premières réactions photosynthétiques sont explicités.

IV - Biochimie quantique

La première étape des travaux de Bernard et Alberte Pullman a consisté en un balayage, à l'aide de techniques quantiques disponibles à l'époque adaptées à l'étude des systèmes électroniques relativement volumineux, d'un grand nombre de biomolécules fondamentales et une exploration parallèle (par le calcul) au niveau électronique des principaux processus biochimiques et biophysiques les impliquant. Ils ont ainsi calculé les caractéristiques électroniques essentielles des purines et pyrimidines, des acides nucléiques, des acides aminés, des protéines, des phosphates riches en énergie, des ptéridines, des flavines, des rétinals, des quinones et de tous les principaux coenzymes (d'oxydo-réduction et de transfert de groupes). La théorie a permis de proposer une valeur théorique pour un grand nombre des caractéristiques physico-chimiques fondamentales des biomolécules comme par exemple leurs potentiels d'ionisation, affinités électroniques, moments dipolaires, essentielles pour la compréhension des processus réactionnels dans lesquels ces molécules sont engagées et dont les valeurs étaient inconnues expérimentalement à l'époque (certaines le sont encore aujourd'hui). Ce calcul a permis d'établir une échelle de pouvoir donneur et accepteur d'électron des molécules, d'évaluer leur capacité à être impliquées dans les complexes de transfert de charge, de proposer une évaluation en termes électroniques de la basicité des purines et pyrimidines, de leur radio- et photo-résistance, de leur aptitude à une transformation tautomère et sa signification dans la théorie des mutations, etc.

Cette première étape de la contribution de théories quantiques à l'exploration des fondements électroniques de la biologie moléculaire a été résumée dans un ouvrage publié par Alberte et Bernard Pullman en 1963 sous le titre *Quantum Biochemistry*.

V - La biologie moléculaire du gène

Le développement exponentiel des connaissances et la croissance du nombre des chercheurs ont amené après la mort de Pierre Girard (1958) de grands bouleversements à l'Institut, à la fois dans les équipes de recherche et dans leurs sujets de préoccupation. Deux aspects de la biologie moléculaire vont en effet révolutionner nos connaissances, d'une part l'appréhension du contrôle de la transmission de l'information génétique par la transcription de l'ADN en ARN messager (découverte d'ARN à bref temps de vie et contrôle de sa synthèse : l'opéron de Jacob et Monod) et, d'autre part, l'élucidation du code génétique surtout aux États-Unis, à l'aide de messagers artificiels synthétisés avec la polynucléotide phosphorylase. Transcription et traduction deviennent accessibles à l'expérience *in vitro*.

Le groupe dirigé par Marianne Grunberg-Manago, tout en continuant l'étude structurale et dynamique de la polynucléotide phosphorylase, va se spécialiser dans deux directions, d'une part dans l'étude physico-chimique des acides nucléiques (plus particulièrement des ARN), sous l'impulsion dynamique de Michel Michelson et, d'autre part, dans l'étude *in vitro* de la synthèse des protéines ; analyse de l'interaction ARN messager - ARN de transfert, mise en place d'un système de synthèse polypeptidique, étude des ambiguïtés de la traduction, rôle des cations, du pH, de la température...

En 1963, se constitue, sous la direction de François Gros (aujourd'hui Directeur de l'Institut Pasteur de Paris) un Service de Physiologie Microbienne qui se propose d'analyser le rôle des acides ribonucléiques dans la synthèse des protéines. Les recherches en cours avaient été commencées à l'Institut Pasteur, dans le service dirigé par Jacques Monod : elles concernent le contrôle de la synthèse des ARN messagers chez le colibacille (effet de l'induction spécifique, contrôle de la synthèse par les acides aminés,

synthèse et fonction des ARN au cours de l'infection par les bactériophages). L'accent est mis sur la reproduction *in vitro* des phénomènes observés *in vivo* et l'étude expérimentale s'étend de la transcription à la traduction (interaction entre ribosomes et messenger); elle recouvre donc partiellement les préoccupations du groupe de Marianne Grunberg-Manago, ce qui donnera lieu à une collaboration qui a duré jusqu'à aujourd'hui.

Enfin François Gros réintroduit à l'Institut l'étude des problèmes de la différenciation cellulaire. On peut rappeler ici que pendant une dizaine d'années Paul AnceI avait envisagé la différenciation sous l'aspect de la tératogénèse chimique, l'étude des mécanismes de la différenciation cellulaire sous l'angle moléculaire en envisageant le rôle de contrôle de la synthèse des ARN. L'ensemble de ces contributions constituent, dans les années qui suivent, les bases d'une fraction importante des recherches poursuivies à l'Institut.

VI - Progrès techniques

VI-1) Rôle de la chimie : synthèses et analyses

Chimiste organicien, mais surtout intéressé par la biologie, Edgar Lederer avait commencé, en 1930, son travail de chercheur confirmé à Heidelberg dans l'institut qui abritait le Service de Physiologie dirigé par O. Meyerhof. Ayant dû quitter l'Allemagne nazie, il fait un bref séjour à l'Institut Pasteur de Paris et reste trois ans à l'Institut de Biologie (1933-1936) où il introduit en France la technique de chromatographie. Son deuxième séjour à l'Institut fut très bref puisqu'il fut aussitôt interrompu par la guerre et ce n'est qu'en 1947 qu'Edgar Lederer revient se consacrer à l'investigation des substances naturelles de petit poids moléculaire.

Nine Choucroun avait isolé avant la guerre une fraction lipidique complexe, appelé Pmko, à partir de bacilles tuberculeux et avait montré que ce produit a des propriétés biologiques très intéressantes : immunisation des cobayes contre la tuberculose, induction d'une hypersensibilité retardée etc. L'analyse des acides mycoliques contenus dans cette fraction ouvre un vaste champ de recherches sur les mycobactérie (Jean Asselineau). La structure des acides mycoliques est identifiée par dégradation ménagée et caractérisation chromatographique des produits obtenus. Enfin la *néo-synthèse* permet de confirmer les résultats obtenus. Il est notable que l'ensemble des travaux de cette époque ait pu être mené à bien *sans* l'usage des puissantes techniques spectroscopiques actuelles comme la résonance magnétique nucléaire.

La poursuite de cette analyse des acides mycoliques devait, entre 1952 et 1958, permettre (avec Jean Asselineau, H. Bloch et Hans Noll) d'isoler le « **cord factor** », lipide toxique du bacille tuberculeux et de déterminer sa structure. L'un des intérêts de cette détermination est que l'on a montré récemment que ce produit est un immunostimulant qui peut être d'un usage clinique utile comme adjuvant anticancéreux. Avec J. Pudlès et J. Polonsky, d'autres structures analogues sont établies (à partir du bacille diphtérique) et la synthèse chimique de modèles permet de confirmer les structures proposées. Enfin l'aspect biologique direct n'est pas oublié et la biosynthèse de l'acide coryno-mycolique à partir de deux molécules d'acide palmitique est mise en évidence (avec M. Gastambide).

A côté de ces travaux originaux dont l'importance médicale est évidente, l'équipe de Lederer se consacre à la caractérisation analytique et structurale d'un grand nombre de dérivés surtout lipidiques (terpènes, substances antilépreuses, etc.) et répand en France l'usage général des techniques chromatographiques, non seulement pour les petites molécules, mais aussi pour les macromolécules (Traité de chromatographie, édité par Masson : *La chromatographie en chimie organique et biologique*, volume I, paru en 1959).

A côté du laboratoire de Lederer existait aussi un laboratoire de Synthèse organique, sous la direction de Jacques Parrod qui réalise la synthèse de produits organiques divers, plus ou moins apparentés aux petites molécules biologiques avec l'intention de réaliser des polypeptides artificiels et des analogues de métabolites utilisables en pharmacologie.

VI-2) Techniques physiques

- Forme générale des macromolécules :

Le Service de Biophysique s'attache à mettre en évidence les caractéristiques microscopiques qui permettent d'identifier les macromolécules biologiques par leurs propriétés physiques.

Comme la technique de la diffraction des rayons X, présente à l'Institut avant guerre, a été abandonnée, ce sont d'autres méthodes qui sont employées. Outre la mesure de la viscosité des solutions de macromolécules (effectué en particulier par Pierre Girard), l'analyse de la diffusion de la lumière par les protéines permet d'avoir une idée de leur forme et cette technique, utilisée en particulier par Jacques Tonnelat, sera complétée à partir de 1949 par l'ultracentrifugation analytique réintroduite à l'Institut au moment où les premières ultracentrifugeuses américaine sont commercialement accessibles. Il se développera ainsi une station d'ultracentrifugation analytique qui deviendra, sous la direction de René Wurmser, puis de Sabine Filitti-Wurmser, un service du C.N.R.S. accessible à d'autres laboratoires que ceux de l'Institut.

En 1950, au moment où il devient clair que l'ADN est une molécule centrale du système vivant, Jacques Tonnelat et Sylviane Guinand commencent des études comparatives par diffusion de la lumière et ultracentrifugation de l'ADN extrait du thymus de veau et concluent à une forme très allongée. Ce type d'études comparatives sera poursuivi, sur les acides nucléiques et les protéines jusqu'en 1956 et permettra de mieux caractériser les changements de structure qui apparaissent dans les phénomènes de dénaturation par exemple.

- Spectroscopie :

Francis Perrin avait bien mis en évidence tout le parti qu'on pouvait tirer de l'étude fine de la fluorescence. A mesure que vont se développer les moyens physiques (électronique, photomultiplicateurs), il deviendra plus aisé d'obtenir des renseignements précis sur l'absorption des photons ou leur réémission par des composés biologiques.

Dès 1947, Jacques Tonnelat exploite les propriétés de la polarisation de la lumière pour obtenir des renseignements sur la forme des molécules. Un peu plus tard, R. Olster étudie de façon détaillée l'affaiblissement et le déplacement des maxima de fluorescence de complexes colorants au cours de leur interaction avec les protéines et les acides nucléiques. Ainsi sera mis en évidence le rôle des interactions de Van de Waals dans la stabilisation de la structure tertiaire des protéines.

Michel Michelson, à son entrée à l'Institut, insistera sur cette analyse des paramètres de la spectroscopie optique des acides nucléiques dont on peut, grâce à la polynucléotide phosphorylase, synthétiser des composés modèles.

Enfin les recherches sur la photosynthèse ont conduit, à partir de 1953, Jean Lavorel, puis surtout Pierre Joliot à développer des méthodes de mesure nouvelles, grâce à l'une des originalités de l'Institut de Biologie Physico-Chimique : la présence d'ateliers communs où peuvent être manufacturés les instruments inventés par les chercheurs.



Antoine Danchin ©

Vous êtes ici : [Accueil](#) > [E-séminaire](#) > [Histoire de l'IBPC](#) > [L'Âge d'Or de la Biologie Moléculaire](#)