



Il y a cependant de bonnes raisons pour que la dénomination de force vive se conserve dans le langage de la mécanique rationnelle : car le mot de travail, en raison de la foule de notions pratiques qu'il réveille, cadrerait mal avec la généralité des théorèmes dans l'énoncé desquels figure la force vive, et qui trouvent leur application, tant en astronomie que dans les branches élevées de la physique.

Augustin COURNOT

Table des Matières

Avant-Propos

1927-1945

1945-1965

1965-1977

Troisième partie | Vers l'avenir 1965 - 1977

S'il était possible, jusqu'aux environs des années 1965, d'avoir le recul suffisant pour isoler, parmi l'ensemble des recherches développées à l'Institut de Biologie Physico-chimique, celles qui contribuaient le plus clairement à l'établissement du paradigme scientifique d'une époque, cela est beaucoup plus difficile pour la période qui s'étend de 1965 à nos jours. Cependant, dans la mesure où les progrès prodigieux de notre connaissance de la biologie moléculaire du gène nous avaient amenés jusque dans l'intimité de la molécule à partir de l'organisme global par une suite de réductions convenablement structurées, nous pouvons penser que c'est l'opération inverse de reconstruction, d'intégration du plus simple au plus complexe qui fera l'objet du plus grand nombre des recherches à venir. Nous ferons donc l'histoire des recherches à l'Institut en suivant un plan d'intégrations successives, de la catalyse au contrôle de la multiplication du patrimoine génétique.

La séparation faite en 1965 est arbitraire ; elle correspond cependant à l'Institut de Biologie à la fin d'une restructuration générale commencée à la mort de Pierre Girard en 1958 par René Wurmser qui lui succède comme administrateur, puis par Bernard Pullman nommé administrateur en 1963 et terminé par la mise en place de deux services à dominante physico-chimique : celui dirigé par Pierre Douzou et celui dirigé par Michel Michelson. De plus, 1965-1966 marque l'apogée des grandes découvertes de la biologie moléculaire les plus récentes avec les premières confirmations de l'universalité du code génétique et la mise en évidence de l'importance des signaux de ponctuation dans les synthèses macromoléculaires en particulier au niveau de la synthèse des protéines (démarrage et terminaison) : le champ s'ouvre pour la reconstruction des systèmes multimoléculaires.

Comme au cours de la période précédente l'évolution des Services consacre les changements qui s'opèrent dans la recherche : on trouve ainsi en 1977 les Services suivants :

Biochimie Théorique	Bernard Pullman
Biochimie	Marianne Grunberg-Manago
Biochimie Physique	Michel Michelson
Biophysique	Ramaprasad Banerjee
Biospectroscopie	Pierre Douzou
Photosynthèse	Pierre Joliot
Chimie Cellulaire	Donal Hayes

I - Mécanisme de la catalyse et fonction des macromolécules

Le programme génétique spécifie les instructions convenables pour la synthèse des protéines, qui interviennent le plus souvent - du moins en première analyse - comme catalyseurs des réactions biochimiques du métabolisme général. Il est donc important de pouvoir décrire de façon adéquate les mécanismes de la catalyse. C'est ce qui explique qu'on trouve dans les différents services des contributions de diverses natures qui tendent toutes à préciser cette description.

I-1) Les cofacteurs de la réaction enzymatique

Les métaux de transition, de la série du fer en particulier (principalement manganèse, fer, cobalt, cuivre), sont des catalyseurs de réactions inorganiques très nombreuses, aussi ne doit-on pas s'étonner de les retrouver comme participants essentiels à une pléiade de réactions enzymatiques en tant que cofacteurs de la catalyse. L'intérêt pour ces ions n'était pas neuf à l'Institut puisque André Job et Georges Urbain étaient de grands minéralistes et qu'une partie des recherches d'avant-guerre les avaient fortement mis à contribution (recherches de Champetier sur le cuivre et la cellulose par exemple), mais il fallait attendre qu'ils fussent mieux connus dans leurs propriétés particulières (structure des orbitales d dans un champ de ligands) et dans leur dynamique : cela ne fut le cas qu'à partir de 1960 avec les travaux de L. Orgel et J.S. Griffith en Angleterre, Taube aux États-Unis et M. Eigen en Allemagne pour ne citer que quelques noms. Ces contraintes historiques expliquent le renouveau de l'intérêt pour les métaux de transition et, plus généralement, les cations au cours des récentes années.

On remarque ainsi l'usage du cobalt comme analogue du zinc, mais doué de propriétés spectroscopiques intéressantes pour l'étude de l'anhydrase carbonique et de la carboxypeptidase (Alma Dobry-Duclaux) ou celle de la lactico-deshydrogénase (Françoise Labeyrie). De même le manganèse se substitue au

magnésium et permet d'effectuer, grâce à la polynucléotide phosphorylase, la synthèse du poly G (M.N. Thang). Plus généralement il s'agit d'un analogue paramagnétique qui permet d'utiliser la résonance magnétique nucléaire ou la résonance paramagnétique électronique pour l'étude des sites actifs des enzymes ou la dynamique des acides nucléiques (Mildred Cohn (1913-2009), Antoine Danchin). De façon plus spécifique l'ion donne des propriétés caractéristiques aux molécules qui le contiennent comme, bien sûr le fer de l'hémoglobine, sujet central du Service de Biophysique ou les enzymes responsables de la bioluminescence ou de réaction productrices de radicaux libres étudié depuis 1968, par le groupe de Michelson (Service de Biochimie physique) : on retrouve, là encore, le fer, le manganèse, le cuivre et le cobalt ou le nickel permettant, avec des ligands convenables, de synthétiser des composés modèles qui ont tout ou partie de l'activité catalytique que l'on cherche à comprendre.

A l'étude de ces ions sont liées des techniques spectroscopiques (optique et résonance paramagnétique électronique en particulier - au Service de Biospectroscopie), des techniques de cinétique rapide (décrites initialement par M. Eigen) dans le Service de Biophysique (Robert Cassoly) et une technique de marquage d'affinité des sites catalytiques, développé à partir de 1971 par Antoine Danchin (en partie à l'Institut Pasteur de Paris et en collaboration avec Moshe Werber à l'Institut Weizmann).

D'autre part, récemment, Alberte Pullman et ses collaborateurs dans le Service de Biochimie Théorique ont utilisé la technologie de la méthode du champ self-consistant dite *ab initio* à l'étude des modalités d'interactions des cations alcalins et l'alcalino-terreux avec les constituants fondamentaux des protéines et des acides nucléiques, et ont examiné l'effet de cette interaction sur certaines propriétés de ces molécules en particulier sur leurs conformations.

Enfin, au moment de son arrivée à l'Institut (1965), le groupe de Biospectroscopie dirigé par Pierre Douzou étudiait au moyen de techniques physiques élaborées la formation et l'analyse des états et des espèces transitoires de métabolites ou de dérivés pharmacologiques d'intérêt biologique. A ces études se rattachent les caractérisations des états excités et de la conformation des flavines ou de l'acide folique par des méthodes spectroscopiques.

I-2) Développement des recherches quantiques

En parallèle, le Service de Biochimie Théorique propose, vers la même époque, une interprétation électronique du mécanisme de fonctionnement des principaux coenzymes (NAD, FAD, phosphate de pyridoxal, acide folique, thiamine, etc.). Ces interprétations mettent en évidence un rôle des énergies des orbitales moléculaires dans le fonctionnement des coenzymes d'oxydo-réduction et un rôle de l'énergie de résonance des produits intermédiaires dans le fonctionnement des coenzymes de transfert de groupes, à partir d'une conformation initiale supposée.

A ce propos, il convient de remarquer l'avènement des ordinateurs qui a eu lieu vers le début des années 1960. Le développement prodigieux des moyens de calcul que représente cet avènement a été concrétisé l'Institut par la mise en relation directe (terminal) du centre de calcul propre à l'Institut (IBM 1130) avec le centre du C.N.R.S. d'Orsay (CIRCE, IBM 370). Grâce à cette puissance de travail accrue, Bernard Pullman et son service ont pu approfondir leur exploration de la structure électronique fine des biomolécules et

élargir leur champ d'action vers des problèmes nouveaux, en particulier vers l'étude des interactions intermoléculaires et des états excités. Dans les années 1964-1970, des études abondantes ont été faites sur les modalités d'interaction des bases puriques et pyrimidiques. Ces études tiennent compte à la fois des interactions par liaisons hydrogène et de l'empilement des bases. Elles cherchent par conséquent à comprendre la stabilité des acides nucléiques. Pendant la même période, ces chercheurs ont élaboré une théorie de la photodimérisation de la thymine, une théorie sur l'origine de l'effet bathochrome des pigments visuels, présenté des études détaillées sur le problème de la semiconductivité des biopolymères, proposé une vue unifiée sur l'origine de la sélection des biomolécules dans l'évolution prébiologique, etc.

Une nouvelle étape des recherches en biochimie et biophysique quantiques, commencée vers 1970, est dominée par une exploration extensive des problèmes de la conformation des biomolécules et des biopolymères. Ces problèmes ont pu être traités grâce à l'élaboration dans le service de Bernard Pullman d'une méthode quantique nouvelle, la méthode PCILO (Perturbative Configuration Interaction Using Localized Orbitals), bien adaptée à l'étude de ce problème et combinant un très haut niveau de perfectionnement technique avec une remarquable rapidité d'exécution (dans les calculs à l'ordinateur). Cette méthodologie nouvelle a permis d'effectuer une étude poussée des problèmes conformationnels concernant en particulier les protéines, les acides nucléiques et leurs constituants. Elle met en évidence la signification dans ce domaine des interactions à distances courtes, moyennes et longues et ses résultats permettent le repérage éventuel des conformations de haute énergie susceptibles d'être présentes pour certains de ces résidus dans certaines protéines.

Dans ce domaine important des acides nucléiques et de leurs constituants, ces recherches ont conduit à formuler des règles nouvelles à propos du rôle fondamental de certaines caractéristiques géométriques du groupe phosphate dans la détermination des conformations des systèmes polynucléotidiques. Très récemment ces recherches conformationnelles ont été étendues aux phospholipides. On doit mentionner aussi les travaux de Claude Giessner-Prettre et Bernard Pullman sur l'utilisation des calculs d'orbitales

moléculaires pour dresser la carte des déplacements chimiques en résonance magnétique des protons de diverses biomolécules. Ces calculs ont été utilisés par plusieurs groupes de chercheurs américains, en particulier en vue de la détermination de la structure des molécules d'ARN de transfert en solution.

Finalement, l'orientation la plus récente des travaux du service de Bernard Pullman l'a amené vers le problème de l'hydratation des molécules et polymères biologiques (jusqu'à là les molécules sont supposées isolées dans le vide). En particulier, la question de l'existence de l'*eau structurée* autour de ces substances qui a si longtemps passionné les expérimentateurs pourrait recevoir une réponse par les travaux théoriques. Grâce à la méthode de la supermolécule qu'elle a mise au point, Alberte Pullman et ses collaborateurs ont pu déterminer des sites préférentiels de localisation d'eau autour d'un grand nombre de biomolécules et proposer une structure et un nombre pour les couches d'hydratation ainsi que l'influence de l'hydratation sur, par exemple, les propriétés conformationnelles.

I-3) Les réactions productrices et acceptrices d'électrons

a) La Photosynthèse

L'étude de la photosynthèse réalise bien l'une des ambitions de la recherche à l'Institut de Biologie puisqu'elle concilie l'analyse des phénomènes biologiques avec les phénomènes physiques très complexes qui apparaissent avec la capture énergétique des photons lumineux. En outre, ce travail de recherche, hautement spécialisé dans ses moyens d'investigation, se trouve dépendre largement de la mise au point d'un appareillage approprié dont les services généraux de l'Institut permettent précisément la création. Il était donc naturel que fût créé (en 1968) un Service de Photosynthèse dirigé par Pierre Joliot.

Deux niveaux de recherche sont envisagés par ce groupe : un niveau fondamental, restreint, où le système physique en cause est analysé par étapes, *in vitro*, dans des systèmes purifiés ou modèles, et un système global dans lequel la photosynthèse se trouve reliée au métabolisme cellulaire et à sa régulation *in vivo*. Cette dernière partie de la recherche s'accompagne donc naturellement d'une étude *génétique* (recherche et localisation de mutants appropriés) qui fait partie de la longue tradition de la génétique à l'Institut développée par Ephrussi puis poursuivie dans d'autres directions par les groupes de François Gros et, à partir de 1971, de Marianne Grunberg-Manago.

En 1968, la nature des réactions conduisant à la formation d'oxygène à partir des produits photochimiques primaires était pratiquement inconnue. On savait seulement que la formation d'une molécule d'oxygène nécessite l'accumulation des effets de quatre réactions photochimiques qui, chacune, correspondent à l'extraction d'un électron à partir d'une molécule d'eau. Petit à petit, il a été possible de montrer que ces réactions correspondent à une succession de réactions photochimiques séparées par des étapes non photochimiques au niveau d'un même centre actif, et les caractéristiques cinétiques et énergétiques de ces réactions ont été mises en évidence à l'aide de techniques de cinétique rapide. En particulier, l'usage des basses températures (développé par ailleurs dans le Service de Biospectroscopie) a permis d'affiner la description en ralentissant considérablement les réactions (entre - 20° et - 65°).

Parallèlement à cette analyse qui met en évidence les rôles relatifs de donneurs et d'accepteurs d'électrons et de photons dans une organisation bien structurée des études menées *in vivo* sur des algues unicellulaires et des chloroplastes vont amener le groupe dirigé par Pierre Joliot à étudier la photosynthèse *in situ* en fonction de son organisation, comme un système hautement intégré. Ainsi pourrions-nous comprendre, dans un proche avenir, comment l'environnement pigmentaire des systèmes photosynthétiques est en mesure d'assurer la collection de l'énergie lumineuse vers les centres réactionnels et de la coupler au métabolisme cellulaire.

- *Bioluminescence et radicaux libres*

Michel Michelson était entré à l'Institut de Biologie à cause de son autorité internationalement reconnue comme spécialiste des acides nucléiques. L'ensemble de ses recherches, principalement physico-chimiques, était donc axé jusqu'en 1968 sur les propriétés des polynucléotides naturels ou synthétiques et, en particulier, sur leurs caractéristiques spectroscopiques. A partir de la luminescence des acides nucléiques (phosphorescence, fluorescence et photochimie), Michelson remarque l'extrême sensibilité des techniques de mesure des photons lumineux et, soucieux d'originalité et fort d'une méthodologie puissante, il réoriente complètement sa recherche vers l'étude d'une sorte d'inverse de la photosynthèse : la luminescence produite par les êtres vivants. Toutes les échelles d'intégration de l'organisme sont susceptibles de produire de la luminescence puisqu'on trouve des bactéries, des champignons, des mollusques ou des insectes qui produisent de la lumière dans certaines conditions définies. D'autre part, on observe clairement que cette production est soumise à des régulations fines, ce qui permet d'espérer comprendre leur mécanisme grâce au moyen de détection privilégié qu'est la mesure des photons. Entre 1968 et 1975, de nombreux systèmes ont été analysés : bactéries (*Photobacterium leiognathi*, *P. fischeri*, *P. sepia*, *P. phosphoreum*), champignons (*Pleurotus olearius*, *Panustipticus*, *Omphalia flavida*, *Mycena polygramma*), mollusques (*Pholas dactylus*), et il est apparu que la photoémission pouvait être due, au moins dans de nombreux cas, à la production intermédiaire d'un radical à durée de vie assez longue, l'ion superoxyde O_2^- . Il a été démontré alors, à l'aide de systèmes modèles dans lesquels participent des ions de

transition (fer, cuivre, manganèse ...) que ce radical pouvait effectivement être producteur de luminescence.

Il devenait alors intéressant d'en étudier les régulations de la production et, en particulier, la dégradation. Ainsi le Service de Biochimie Physique s'est-il orienté vers l'étude des superoxyde dismutases, enzymes présentes dans tous les systèmes aérobies analysés et remarquables par leurs propriétés catalytiques (on retrouve ici le rôle des ions indiqué au premier paragraphe). Incidemment, cette recherche a abouti à la caractérisation génétique des superoxyde dismutases humaines (érythrocytine) et à mettre en évidence leur présence anormale dans la trisomie 21 (mongolisme) et leur responsabilité dans l'inactivation du radical à pouvoir transformant qu'est O_2^- . Actuellement la recherche de ce service tend à s'orienter vers l'ensemble des systèmes générateurs de radicaux (surtout O_2^-) puisqu'il est apparu qu'ils sont hautement toxiques et universels dans les réactions en présence d'oxygène.

Parallèlement, de nombreuses recherches se sont poursuivies à l'Institut sur d'autres radicaux, d'abord entre 1965 et 1970, dans le Service de Biospectroscopie (production et analyse spectroscopique) ou de Biochimie Théorique (évaluation des densités de spin, directement comparables avec les indications de la spectroscopie de résonance paramagnétique électronique, évaluation des stabilités et des réactivités) et à nouveau dans le Service de Biochimie Physique au cours des recherches sur la carcinogenèse chimique : il apparaît clairement que la production intermédiaire de radicaux libres explique le pouvoir d'attaque des réactifs alkylants qui font des pontages irréversibles entre les deux chaînes complémentaires de l'ADN.

1-4) Enzymologie et problèmes de conformations macromoléculaires

On retrouve dans tous les services de l'Institut la préoccupation constante de comprendre tel ou tel aspect de la structure, de la dynamique ou les caractéristiques propres de la catalyse de telle ou telle enzyme.

Dans le Service de Biophysique, Claude Gentou apporte des informations très complètes sur les rapports entre la fonction enzymatique et la structure quaternaire de l'alpha-2-microglobuline.

A partir de 1965 les travaux de R. Banerjee sur l'interaction entre le groupe prosthétique de l'hémoglobine et l'apoprotéine ont pris un nouveau développement. L'hémoglobine possède une propriété connue depuis le début du siècle : la coopérativité. J. Wyman l'avait attribuée à un changement de conformation moléculaire se produisant quand l'hémoglobine se combine avec l'oxygène. Un nouveau type d'étude des interactions entre les chaînes polypeptidiques constituant la molécule est rendu possible par la préparation de molécule d'hémoglobine partiellement équipée d'hème (semi-hémoglobine) et de différentes molécules hybrides permettant les mesures sur une seule sous-unité α ou β (hybrides de valence, hybrides à oxyde azotique, hybride de masse). L'emploi de ces molécules artificielles accroît considérablement les possibilités offertes par les techniques usuelles, effet Mossbauer (Fe II); susceptibilité magnétique (Fe II), résonance paramagnétique électronique (Fe III), résonance magnétique nucléaire, potentiel d'oxydo-réduction, cinétiques rapides).

L'ensemble des résultats (Yolande Alpert, Robert Cassoly, Alain Desbois, Yann Henry) constitue une base expérimentale pour les discussions concernant les théories de Koshland (théorie instructive : ajustement induit) et de Monod (théorie sélective : transition allostérique concertée). Enfin, Bernard Alpert étudie au moyen de techniques laser la diffusion de l'oxygène à l'intérieur de la molécule d'hémoglobine.

Dans le groupe de recherches dirigé par Françoise Labeyrie un nouvel atout, qui s'est révélé très fructueux, a été l'isolement et la purification d'une nouvelle espèce de flavocytochrome b_2 , à partir d'une levure *Hansenula anomala* (Alain Baudras). D'autre part, l'introduction des méthodes de cinétique rapides à l'étude de la glutamate deshydrogénase (Motohiro Iwatsubo, Anne di Franco, en collaboration avec Dominique Pantaloni) a apporté des résultats attendus concernant la façon dont s'opèrent les différentes étapes de la réaction.

La polynucléotide phosphorylase, si utile pour la synthèse des ARN messagers artificiels, est étudiée dans le Service de Biochimie (Minh Nguy Thang, Thérèse Godefroy-Colburn, Claude Portier) et ses caractéristiques cinétiques et structurales sont décrites en détail (microscopie électronique, immunochimie, ultracentrifugation, électrophorèse dénaturante) et conduisent à une structure du type exceptionnel $\alpha_3\beta_2$. Il a été ainsi montré qu'aussi bien dans la réaction de phosphorylation que dans les réactions de polymérisation, le mécanisme de l'enzyme est progressif : chaque molécule de polynucléotide est synthétisée ou dégradée complètement avant que la polymérisation ou la dégradation d'une autre molécule ne commence. Au contraire, la dégradation des oligonucléotides courts est synchrone, ce qui suggère l'existence de deux sites fonctionnels éloignés, un site d'attachement des longs polymères et un site catalytique (Thèse de Thérèse Godefroy-Colburn, 1970).

Après sa thèse sur la structure physique des polynucléotides, Jean Massoulié se consacre à l'étude d'une enzyme membranaire des vertébrés, l'acétylcholine estérase, et révèle une structure elle aussi peu ordinaire puisqu'il s'agit d'une molécule possédant des sous-unités à tête globulaire et pourvues d'une queue allongée responsable, sans doute, de l'ancrage dans la membrane (1968-1971). Une autre enzyme possédant le même type de dissymétrie est la myosine, responsable de la contraction musculaire. Antoine Danchin et

Moshe Werber démontrent en 1973 un couplage à longue distance (400 Å) dans cette molécule, couplage qui pourrait bien être à l'origine des propriétés contractiles de cette enzyme. Dans le même service, Minh Nguy Thang dirige une recherche sur les protéases du colibacille. Cependant les deux services qui sont le plus préoccupés aujourd'hui de la catalyse enzymatique sont le Service de Biochimie Physique, dont nous avons vu plus haut les centres d'intérêt principaux actuels (superoxyde dismutases, catalases, xanthine oxydase, flavine ribonucléotide oxydoréductases, mais aussi transport des métaux comme le calcium) et le Service de Biospectroscopie qui, grâce à la technique développée par Pierre Douzou, crée l'étude des enzymes à très basse température (cryospectroscopie). De nombreux systèmes modèles permettent d'isoler, grâce à l'effet ralentisseur du froid, les intermédiaires de la réaction ; ainsi sont étudiés des systèmes simples, comme la peroxydase de raifort, la chymotrypsine ou la β -lactoglobuline ou des systèmes multienzymatiques membranaires (cytochromes) en parallèle avec des systèmes le dont le substrat est normalement en interaction avec une membrane (lysozyme).

Pour ces expériences, toutes les techniques de la biochimie classique (chromatographie) ainsi que les techniques spectroscopiques (absorption optique, fluorescence) ou cinétique (saut de température, mélange rapide) sont adaptées au froid. La méthode en question utilise des milieux non aqueux et augmente considérablement le champ des investigations réalisées jusqu'à présent dans la gamme des températures normales et dans les milieux couplés ; elle préserve la diffusion des substrats et permet donc l'étude de *séquences* réactionnelles ; elle permet d'utiliser réversiblement certaines réactions enzymatiques, sans recours inutile à des techniques irréversibles ; elle ralentit certaines étapes des réactions au point de les interrompre au niveau d'intermédiaires qu'on accumule et qu'on peut ainsi caractériser physiquement et chimiquement et dont, enfin, la décomposition peut révéler des éléments du mécanisme réactionnel.

Grâce à la connaissance approfondie des milieux non aqueux qu'il a pu acquérir au cours de la mise en place de la technique de cryospectroscopie, Pierre Douzou a pu retrouver l'importance, souvent négligée à tort, des charges électriques des molécules biologiques et, plus particulièrement, des polyélectrolytes. Cet aspect avait déjà été envisagé à l'Institut dans les études d'Antoine Danchin sur l'interaction entre les ARN de transfert et les cations métalliques (1967-1971) et surtout celles d'Edward Brody (1971) sur l'interaction entre la RNA polymérase et son substrat DNA (rôle des solvants non aqueux), mais Pierre Douzou, utilisant le raisonnement général de Léon Goldstein (Institut Weizmann), met plus directement en évidence l'aspect non spécifique mais considérable de la charge en tant que telle et donc de la force ionique. Il met en place plusieurs modèles (lysozyme, RNase) où l'on démontre la modulation du pH du site catalytique en fonction de la force ionique du milieu et par conséquent son rôle régulateur. Ainsi se trouvent éclairés sous un jour nouveau les systèmes complexes contenant des polynucléotides : en collaboration avec le Service de Biochimie, il devient possible de comprendre la physico-chimie du ribosome (Marianne Grunberg-Manago) ou de la RNA polymérase (Edward Brody).

II. - Régulations, expression génétique et systèmes intégrés

Jusqu'ici nous avons parcouru les recherches correspondant à une décomposition de systèmes complexes en éléments plus simples, mais l'étude de l'organisation vivante et de ses régulations doit tenir une grande part à l'IBPC. Après le départ de Boris Ephrussi, un certain vide s'était créé dans la recherche à ce niveau ; heureusement, le Service de Physiologie Microbienne dirigé par François Gros va permettre de renouer avec l'étude des phénomènes intégrés (1965-1969) puisqu'après son départ et une certaine latence, la génétique réapparaît à l'Institut de Biologie.

II-1) La synthèse des protéines :

La découverte de la polynucléotide phosphorylase, qui permet la synthèse de messagers artificiels, prédestinait la recherche du Service de Biochimie dirigé par Marianne Grunberg-Manago. En collaboration avec François Gros d'abord, puis seule à l'Institut, Marianne Grunberg-Manago oriente donc sa recherche propre dans l'étude de la synthèse des protéines au niveau biochimique, puis génétique.

Il s'agit dans les premières années d'analyser les déterminants du code génétique : interaction codon - anticodon entre le tRNA et le messenger (collaboration avec le groupe de Biochimie Physique). Puis c'est l'étude de la structure tertiaire de l'ARN de transfert par des méthodes physiques (Mildred Cohn, Antoine Danchin, puis Richard Buckingham) ou biochimiques (Alain Favre, Moshe Yaniv, Minh Nguy Thang) qui requièrent des collaborations suivies entre les Services de Biochimie, de Physiologie Microbienne et de Biochimie Physique. De même le développement de certains aspects de l'étude de la structure du ribosome entreprise par Donal Hayes, d'abord chez François Gros, puis dans le laboratoire qu'il dirige à partir de 1970 (Laboratoire de Chimie Cellulaire) ouvre des possibilités intéressantes de collaboration avec les services de Marianne Grunberg-Manago (démarrage de la synthèse protéique), et Pierre Douzou (interactions entre protéines et RNA ribosomiques).

Les diverses étapes de la synthèse des protéines sont étudiées à la fois chez François Gros et chez Marianne Grunberg-Manago. De l'allongement de la chaîne polypeptidique on retient l'étape de reconnaissance entre l'ARN de transfert chargé et le facteur EFTu en présence de GTP (Minh Nguy Thang, 1971) ou les possibilités d'ambiguïté dans la lecture (1966-1969) en présence de substrats normaux ou d'antibiotiques comme la streptomycine. Le sens de la lecture est confirmé par la synthèse artificielle d'un

polypeptide en présence d'une matrice polyA terminée par un C, ou précédée par un C (1966). Mais c'est le *démarrage* de la synthèse des protéines chez *E. coli* qui aura les faveurs de la recherche dans ce domaine. François Gros et Michel Revel caractérisent l'un des facteurs de démarrage et le groupe de Marianne Grunberg-Manago s'attaque à la description du mécanisme détaillé du démarrage en présence des trois facteurs IF1, IF2, IF3 en mettant l'accent, depuis quelques années, sur le rôle spécifique de ce troisième facteur dans son interaction, d'une part avec la petite sous-unité ribosomique et, d'autre part, avec l'ARN messager. L'introduction de la génétique bactérienne permet même d'isoler un virus λ porteur du gène spécifiant la structure du facteur IF3 (Mathias Springer, 1976), ce qui ouvre des perspectives puissantes d'analyse des propriétés de cette protéine non plus seulement *in vitro*, mais aussi *in vivo*.

Cette étude est complétée par une analyse en parallèle du mécanisme de l'inhibition de la synthèse polypeptidique dans d'autres organismes, en particulier *B. stearothermophilus* (Alan Kay), ainsi que de la synthèse générale dans un système eucaryote, le germe de blé (Minh Nguy Thang).

Une partie de l'activité du Laboratoire de Chimie Cellulaire est consacrée à des recherches sur le ribosome bactérien, les deux aspects principaux de ce programme étant d'une part, l'analyse du processus de formation de cette particule *in vivo* (Françoise Hayes, Jean-Hervé Alix) et, d'autre part, l'analyse de la structure du ribosome mature (Donal Hayes, Denis Barritault, Alain Expert-Bezançon, Christopher Clegg). Les travaux effectués *in vivo* fournissent des renseignements sur le mécanisme d'assemblage et les analyses structurales faites *in vitro* donnent des informations sur l'architecture d'une particule dont la composition (le ribosome d'*E. coli* renferme 58 macromolécules dont 3 ARN et 55 protéines) annonce la grande complexité.

Pour toutes ces recherches, de nombreuses collaborations avec l'extérieur sont établies, en particulier pour des techniques lourdes (diffraction des neutrons par exemple, qui permet d'analyser la répartition des protéines et des ARN dans le ribosome, ou détermination des séquences d'ARN en interaction avec telle ou telle protéine).

II -2) Régulation de l'expression génétique

A son arrivée à l'IBPC (1963) François Gros réintroduit le désir d'approfondir sous l'angle biochimique les mécanismes de régulation de l'activité des gènes (tant chez les bactéries normales ou lysogènes que dans les cellules eucaryotes) qui avaient motivé toute la recherche du groupe de Boris Ephrussi. On étudie ainsi : le contrôle de la transcription du génome du prophage lambda chez les bactéries lysogènes, la traduction des ARN messagers (vue plus haut), le couplage entre traduction et transcription et enfin les messagers nucléaires chez les eucaryotes.

Les résultats obtenus éclairent certains aspects importants du problème de la régulation des gènes et de leur fonctionnement. En particulier, il devient possible de décrire en termes moléculaires précis le mécanisme de la répression du prophage lambda, ainsi que certaines étapes de l'inhibition de la traduction. De même l'importance de la polarité au niveau de la transcription se trouve bien démontrée et suggère un important rôle de régulation à ce niveau. Des expériences cinétiques permettent, enfin, de relier la transcription à l'apparition régulière ou irrégulière des produits des gènes.

A la fin de 1969, le Service de François Gros quitte l'Institut en ne laissant plus qu'une partie du groupe qui se constitue en Laboratoire de Chimie Cellulaire et se spécialise initialement dans l'étude des ribosomes. Les phénomènes régulateurs se trouvent donc à nouveau mis en veilleuse jusqu'à l'arrivée en 1970, d'Edward Brody qui réintroduit dans le Service de Biochimie les recherches sur la régulation de la transcription. Ce problème est alors étudié chez *E. coli* infecté par le bactériophage T4 où l'on sait que la régulation de la transcription est un phénomène essentiel qui décide complètement de la multiplication du virus. Le développement du virus se fait en effet par étapes et il est possible de montrer que les premières synthèses ont lieu sur un groupe de gènes qui codent principalement les enzymes nécessaires à la synthèse de l'ADN.

Depuis 1971, le groupe d'Edward Brody s'attache donc à comprendre le mécanisme moléculaire qui conduit au contrôle qui permet chez T4 le passage entre les transcriptions précoces et les transcriptions tardives qui contrôlent la multiplication du virus T4, avec l'espoir que les résultats pourront être généralisés à la bactérie tout entière. En 1972, des recherches sur la régulation de l'expression génétique dans la cellule eucaryote sont mises en route dans le Laboratoire de Chimie Cellulaire par Lise Marcaud et Marie-Madeleine Portier. Pour ce nouveau projet, qui marque le début d'une réorientation générale des travaux du laboratoire, le protozoaire *Tetrahymena pyroformis* est choisi comme matériel expérimental, la raison de ce choix étant la présence dans la cellule de ce microorganisme de deux noyaux qui contiennent tous les deux le même complément d'information génétique mais dont un seulement est le siège d'une activité de transcription.

Depuis 1973, Antoine Danchin s'est consacré à la recherche d'un couplage entre les synthèses macromoléculaires qui permettrait de comprendre le contrôle de la multiplication cellulaire. A partir de l'analyse de la **redondance des signaux au niveau du démarrage de la traduction** chez *E. coli*, il a mis en évidence une relation entre la réplication, la transcription et la traduction, relayée par le métabolisme de l'acide folique (dont on sait par ailleurs l'influence en chimiothérapie anticancéreuse). Enfin, dans un domaine plus particulier et peu développé aujourd'hui à l'Institut, celui des eucaryotes, Minh Nguy Thang a

domaine plus particulier et peu développé aujourd'hui à l'Institut, celui des eucaryotes, Minh Nguy Thang a pu mener à bien la synthèse *in vitro*, dans un système eucaryote, de l'interféron de souris, protéine à fonction antivirale efficace chez les mammifères.

L'étude thermodynamique de l'isohémoagglutination humaine poursuivie dans le Service de Biophysique (11e partie, 2) avait débouché sur le problème de la formation des anticorps naturels. Les plus récents travaux de Sabine Filitti-Wurmser ont apporté d'importantes informations à ce sujet. L'emploi des nouvelles méthodes chimiques et immunochimiques a permis une analyse très poussée de la différence qui avait été révélée par des mesures d'affinité entre l'homogénéité des anticorps anti-B naturels et l'hétérogénéité des anticorps anti-B immuns (résultant d'immunisation fœto-maternelle ou de transfusion incompatible). La comparaison entre ces deux types d'anticorps a été faite au point de vue de leur appartenance aux diverses classes d'immunoglobulines. Alors que les anticorps anti-B immuns sont distribués entre les classes IgG, IgM et éventuellement IgA, les anticorps anti-B naturels sont tous du type moléculaire IgM.

Malgré leur communauté d'ordre structural, ces IgM présentent deux types de dimensions moléculaires. Les anti-B naturels sont des IgM 7S chez les individus du génotype OO et des IgM 18S chez les individus de génotype A₁O. L'anticorps naturel anti-B (OO) diffère des sous-unités 7S de l'IgM anti-B (A₁O) puisqu'il ne forme pas d'oligomère de haut poids moléculaire. Les cystéines qui contribuent à l'agrégation des chaînes m dans l'IgM 18S sont masquées ou absentes dans les molécules de l'IgM 7S, c'est-à-dire dans les molécules produites par les individus homozygotes de génotype OO. Le locus des gènes ABO est donc impliqué directement dans la commande de la biosynthèse des isoagglutinines.

On est conduit à admettre que l'origine cellulaire des anticorps naturels diffère de celle des anticorps anti-B immuns. La formation de ceux-ci est liée à la réponse immunitaire qui consiste dans une différenciation cellulaire en présence d'un antigène exogène et au cours de laquelle se diversifient les classes d'immunoglobulines. Au contraire, la synthèse des anticorps anti-B naturels a son siège dans les lymphocytes dont la maturation s'effectue en absence d'antigène. Ils sont génétiquement programmés pour la formation d'anticorps IgM constitutifs dirigés contre des antigènes de l'espèce que l'individu ne possède pas.

11-5) Étude théorique d'un système intégré : modèle de l'apprentissage.

Nous mentionnons enfin, parce qu'il s'agit d'un système intégré particulièrement important, les travaux poursuivis presque tous les mercredi à la Salle de conférence de l'Institut depuis 1972, par Jean-Pierre Changeux (Institut Pasteur, professeur au Collège de France), P. Courrège (Institut Henri Poincaré) et Antoine Danchin dans l'établissement d'une théorie épigénétique de l'apprentissage et de la mémoire « profonde ».

CONCLUSION

Il est impossible de dire ce que deviendra la recherche à l'Institut de Biologie Physico-Chimique dans les années qui viennent. La science est particulièrement mouvante et les centres d'intérêt se déplacent mais il apparaît que les grandes lignes dessinées par les différents services depuis dix ans se trouvent aujourd'hui en bonne place dans une recherche internationale qui s'est multipliée de façon exponentielle depuis 50 ans. D'institut unique à l'origine, l'Institut de Biologie est devenu l'une des multiples institutions de la recherche européenne et, malgré cette apparente dilution par le nombre, il a su, grâce aux chercheurs qui s'y sont succédés, à conserver son renom.