



Patrick Midoux, Directeur scientifique adjoint, et **Eva Jakab Toth**, Directrice du CBM, nous ont fait l'amitié de rédiger pour l'A3 Magazine dédié à la chimie, cette présentation de «leur labo» à l'occasion de l'anniversaire de sa création sur le campus d'Orléans La Source. Nos lecteurs ont déjà découvert différents chercheurs du CBM par leurs articles scientifiques (André Brack, Claudine Kieda) ou la recension de leurs livres autobiographiques (Charles Zelwer, Paul Vigny). Nous ferons connaissance ici de ses 7 directeurs successifs et des 6 thématiques constituant «son ADN».

Cet événement d'histoire et mémoire est important pour les membres et les anciens de cet important laboratoire, mais aussi pour toute la communauté scientifique régionale. Nous avons pu y contribuer par les souvenirs personnels et différentes archives historiques et géographiques, présentées sur les panneaux et documents relatant ce demi-siècle de recherches... et de découvertes.

Le Centre de biophysique moléculaire (CBM) a fêté ses 50 ans. Il fut le premier laboratoire construit sur le campus du CNRS d'Orléans qui s'ouvrit en 1967. Le professeur Charles Sadron voulut y développer la biophysique, une discipline à l'interface de la physique, de la chimie et de la biologie. Unité propre de recherche (UPR) de l'Institut de Chimie du CNRS, c'est un laboratoire majeur du campus orléanais avec un effectif de 140 personnes. Au cours de ces 50 années, le CBM a obtenu une reconnaissance internationale pour la qualité des recherches menées et les résultats obtenus. Environ 350 jeunes docteurs furent formés et contribuèrent à sa renommée. Plusieurs ont fait ou font une brillante carrière dans le secteur académique ou privé. De nombreux chercheurs étrangers y ont séjourné et ont également renforcé sa visibilité. Le 15 septembre 2017, une journée scientifique a eu lieu avec différentes conférences sur les domaines de recherche qui ont marqué et continuent de marquer le laboratoire. De façon anecdotique, la conférence sur l'exobiologie coïncida avec le jour de la désintégration programmée de la sonde Cassini sur Saturne. Cette journée fut l'occasion de réunir tous ceux et celles qui ont passé un long moment au Centre de Biophysique Moléculaire.

Les 50 ans du Centre de biophysique moléculaire

Naissance : 1965-1967

En 1963, le CNRS décide de construire un Centre de recherche à Orléans la Source sur un terrain proche du campus universitaire en pleine renaissance. Alors professeur au Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris, Charles Sadron âgé de 61 ans occupant la chaire de Biophysique, lance un projet de laboratoire de biophysique, discipline scientifique orientée vers l'étude du fonctionnement et de la structure des organismes vivants à l'aide des concepts et des techniques relevant de la physique et de la physico-chimie, depuis le niveau moléculaire jusqu'à l'organisme entier. En 1967, des chercheurs et techniciens venus de Strasbourg (CRM) et du Muséum National d'Histoire Naturelle occupèrent le laboratoire. Son organisation multidisciplinaire permettait de mener des recherches en biophysique en s'appuyant sur la physique, la chimie et la biologie. Sept groupes de recherche y étudiaient les polynucléotides et les polypeptides, la conformation des protéines, des acides nucléiques, des polypeptides et des copolymères, les interactions polynucléotides-polypeptides, les interactions des cations paramagnétiques avec les polypeptides et polynucléotides, l'ADN.

La singularité résidait dans l'organisation de groupes travaillant dans un environnement puissamment outillé où se trouvaient différents instruments hautement performants : spectromètres de résonance paramagnétique électronique (RPE), de résonance magnétique nucléaire (RMN), d'absorption de la lumière, de fluorescence et dichroïsme circulaire, de rayon X (Fig.1). A cette époque les instruments étaient imposants et occupaient un grand espace. Les chercheurs les utilisaient pour leurs travaux mais également développaient des nouvelles méthodes d'analyse des macromolécules biologiques. La fluorescence impulsionnelle, développée par Philippe Wahl, connut une renommée internationale.



Figure 1 : Instrumentation: (a) spectromètre de dichroïsme circulaire; (b) spectrofluorimètre permettant des mesures de fluorescence impulsionnelle; (c) spectromètre de résonance paramagnétique électronique; (d) diffractomètre RX.

Les Directeurs du CBM

Charles Sadron, physicien, en fut le premier directeur de 1967 à 1973. Après avoir créé le Centre d'étude de physique macromoléculaire à Strasbourg, qui deviendra le Centre de recherches sur les macromolécules en 1954, puis l'Institut Charles Sadron, il fut professeur de biophysique au MNHN à Paris. Sa vision de la biophysique lui permit d'organiser la recherche au CBM autour de grands instruments dédiés aux études structures-fonctions des macromolécules biologiques. Vers la fin de son mandat, un groupe de recherche sur les sucres et leurs récepteurs se constitua autour de Michel Monsigny, lequel groupe fut à l'origine du développement de la biologie cellulaire.

Claude Hélène, chercheur au CBM, dirigea le laboratoire de 1974 à 1982. Il contribua de façon importante à la biophysique des acides nucléiques et aux mécanismes physico-chimiques fondamentaux qui règlent les interactions entre les acides nucléiques et leurs partenaires dans de nombreux phénomènes biologiques. Il fut le premier président de la Société Française de Biophysique (SFB) créée en 1982. Il créa ensuite et dirigea jusqu'en 2002, l'Unité 201 de l'Inserm, au MNHN à Paris, dédiée à la reconnaissance moléculaire et au contrôle des fonctions cellulaires. Sous son impulsion, le groupe de Nguyen T. Thuong spécialisé dans la synthèse des nucléotides et oligonucléotides permit l'accès à de nouvelles molécules nécessaires aux études physico-chimiques sur les acides nucléiques. Il jouera un rôle important dans le développement par Claude Hélène des oligonucléotides anti-sens et anti-gène, nouvelles molécules permettant de réguler l'expression des gènes et qui ouvraient de grands espoirs pour lutter contre certaines maladies ou infections virales.

Claude Nicolau succéda à Claude Hélène de 1983 à 1986. D'origine roumaine et professeur à l'Institut Max-Planck à Mülheim en Allemagne, il avait une notoriété dans le domaine de la biophysique, des biotechnologies et de la délivrance de médicament. Sa venue renforça l'axe biologie cellulaire et vectorisation, notamment dans l'utilisation de liposomes pour la délivrance d'ADN.

Michel Daune, 1987 à 1992, professeur de biophysique à l'Institut de biologie moléculaire et cellulaire du CNRS à Strasbourg, avait été un élève de Charles Sadron à Strasbourg et s'était illustré dans la physico-chimie des acides nucléiques. Il avait développé des collaborations avec des chercheurs du CBM (Marc Leng et Claude Hélène). Pour permettre aux scientifiques de mieux évoluer, Michel Daune remplaça l'organisation en 9 groupes de recherche par 23 opérations de recherche plus petites, rompant ainsi avec la structure pyramidale jusque-là en place.

Paul Vigny, professeur de biophysique à l'Université Pierre & Marie à Paris, fut directeur de 1993 à 2002. Il développa la biophotonique, notamment en installant un prototype de microspectrofluorimètre construit à Paris et qui permettait de faire des mesures d'intensité et des spectres de fluorescence de composés fluorescents à la surface et à l'intérieur des cellules. Paul Vigny créa 5 Axes de recherches. Il organisa le regroupement des chercheurs répartis alors sur trois bâtiments très proches, en lançant la construction d'une nouvelle aile perpendiculaire au bâtiment principal qui s'acheva fin 2009. En 1996, il créa localement une structure nommée Le Studium qui permet d'accueillir dans de très bonnes conditions des chercheurs étrangers de haut niveau pendant une période variant de quelques mois à un an avec pour objectif de dynamiser et d'ouvrir à l'international la communauté scientifique locale. Le Studium qu'il présida jusqu'en 2014, fait partie aujourd'hui du paysage scientifique de la région Centre-Val de Loire.

Jean-Claude Beloeil (2003 à 2011), chimiste et RMNiste était directeur du Laboratoire de RMN Biologique de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) à Gif sur Yvette. Avec lui s'ouvrit l'ère de l'imagerie et de la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (IRM). Il fut membre du comité de direction du Pôle imagerie de la Région Centre (Centre Image). Le CBM s'équipa alors d'un imageur à aimant horizontal de 9,4 Teslas, un des premiers en France. Jean-Claude Beloeil consolida la biophotonique en recrutant un directeur de recherche et une chargée de recherche pour développer des composés luminescents de lanthanides utilisables en spectroscopie et bioimagerie.

Eva Jakab Toth, directrice depuis 2012, est une chimiste d'origine hongroise qui fut Maître Assistante de 2001 à 2005, au Laboratoire de Chimie Inorganique et Bioinorganique à l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) en Suisse. Repérée par Jean-Claude Beloeil pour son expertise dans le domaine des agents de contraste pour Imagerie Médicale par Résonance Magnétique (IRM), elle intégra le CBM en 2005 pour développer la chimie des agents de contraste pour l'IRM et renforça le pôle imagerie au CBM et en région.

L'ADN du CBM

Les thématiques de recherche et les technologies développées entre 1967 et 1982 qui sont encore présentes dans les recherches actuelles et dont certaines sont développées ci-dessous constituent l'ADN du CBM.

Peptides et polypeptides. La synthèse de peptides et de polypeptides fut un axe fort au travers d'études structurales de polypeptides transportant des ions (gramicidine A) ou formant des structures en feuillet β . Des outils méthodologiques reposant sur des réactions de couplage chimique permirent de synthétiser des peptides complexes et des polypeptides de grande taille en couplant des fragments peptidiques déprotégés. Par exemple, la synthèse d'un glycopeptide de grande taille candidat vaccin pour induire une réponse immune contre des cellules tumorales a été obtenue en couplant ainsi 3 unités répétitives glycosylées de 20 acides aminés de l'antigène tumoral MUC1 avec le peptide universel épitope T-heper (PADRE). La synthèse de peptides prébiotiques qui fut initiée par André Brack pour étudier la formation des molécules organiques constituant les briques du vivant conduisit à l'émergence d'une thématique originale nommée exobiologie, un domaine pluridisciplinaire centré sur l'origine de la vie, son évolution, l'étude des plus anciennes traces de vie terrestre et la recherche de traces de vie sur d'autres planètes pour laquelle le CBM a acquis une renommée internationale.

RMN.

La spectroscopie de résonance paramagnétique électronique (RPE) et de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été utilisées et développées pour élucider la structure et la dynamique des molécules biologiques. Installé en 1969, le premier spectromètre de RMN (fréquence de 90 MHz) permit la détermination de la structure de di- ou tripeptides. En 1973, une RMN 90MHz FT à transformée de Fourier fut installée. L'obtention de spectres RMN 2D et 3D avec des appareils plus performants permit de résoudre, avec le concours de la cristallographie, les structures tridimensionnelles de plusieurs protéines, d'oligonucléotides et de leurs complexes. Exemples : des défensines d'insectes, des protéines transporteuses de lipides, la surfactine, des peptides antigéniques, des complexes polypeptides-phospholipides. Actuellement la plateforme RMN est composée de 3 spectromètres 400 MHz, 600 MHz et 700 MHz (Fig.2).

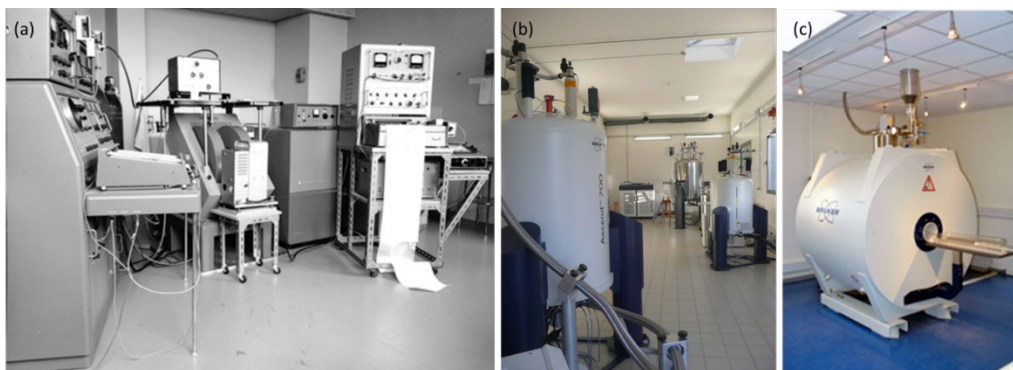


Figure 2: Résonance magnétique nucléaire: (a) 1969, spectromètre de RMN 90 MHz, (b) 2017, plateforme RMN avec Spectromètres 400 MHz (BRUKER 400 MHz), 600 MHz (VARIAN INOVA 600 MHz) et 700 MHz (BRUKER 700 MHz), (c) 2017, spectromètre d'imagerie magnétique IRM à aimant horizontal de 9,4 Teslas.

Acides nucléiques, interactions protéines-acides nucléiques.

De nombreuses études structurales originales sur des oligo-ribonucléotides, des désoxyribonucléotides, des polynucléotides, l'ADN méthylé furent réalisées par dichroïsme circulaire. La RMN 2D (proton-proton et proton-phosphore) et la spectroscopie optique permirent de résoudre plusieurs structures d'oligonucléotides isolés et complexés. Les réactions de photosensibilisation de l'ADN en présence de la benzophénone ou de l'acétophénone mirent en évidence la formation de produits d'addition de la benzophénone, de dimères de thymine et de produits de coupure de l'ADN. La forme Z de l'ADN avec une hélice gauche à un seul sillon, suscita d'intenses travaux pour la localiser dans les cellules qui nécessitèrent la préparation d'anticorps anti-ADN-Z. Les travaux sur le cis-platine, permirent d'élucider les déformations induites dans l'ADN suite à la fixation de cet agent anti-tumoral et mutagène qui peut former des adduits intra-brins ou inter-brins en pontant deux guanines et courbant la double hélice de l'ADN. La transposition de ces études chez la drosophile montra que le cis-platine pouvait aussi entraîner des délétions suite à la cassure de l'ADN au cours de la réparation des adduits platine-ADN. La grande maîtrise de la synthèse d'oligonucléotides modifiés ou non en 3' ou en 5' par des colorants, des photosensibilisateurs ou des transporteurs, permit de réaliser de nombreuses études sur la conformation des acides nucléiques et leurs interactions avec les

protéines. Elle contribua aussi au développement des oligonucléotides anti-sens et anti-gène. Les études sur les interactions protéine-acide nucléique intervenant dans la transcription du message génétique de l'ADN en ARN intéressèrent plusieurs systèmes biologiques: répresseur de l'opéron lactose, MC1 (methanogen chromosomal), l'ADN glycosidase Fpg, MutS, l'ARN polymérase, GreA et GreB, Rho....(Fig.3)

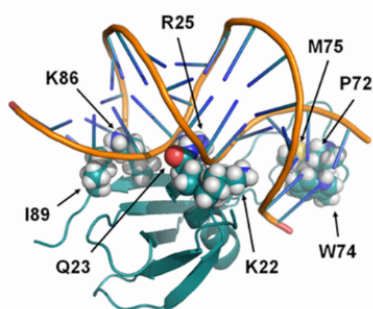


Figure 3: Modélisation de l'interaction MC1 avec un ADN courbé obtenu par RMN

Glycobiologie.

Cette discipline scientifique dédiée à la structure, la biosynthèse, et la fonction biologique des glycanes, oligosaccharides liés à des protéines ou à des lipides, fut initiée avec l'étude de la lectine du germe de blé (WGA) et ses interactions avec la N-acétyl-glucosamine, l'acide N-acétyl-neuraminique et leurs oligomères. La limuline fut aussi bien étudiée car mitogène pour les lymphocytes. Les lectines fluorescentes permirent de déterminer la nature de glycoconjugués à la surface de diverses cellules normales et pathologiques. Inversement, des protéines glycosylées (néoglycoprotéines) fluorescentes permirent la détection et la caractérisation de lectines membranaires chez des cellules normales ou cancéreuses et même dans les noyaux cellulaires. L'implication des glycanes et des glycoconjugués fut mis en évidence dans la domiciliation des lymphocytes, les interactions entre cellules endothéliales et cellules tumorales, l'attachement d'une bactérie pathogène (*Agrobacterium tumefaciens*) sur le tissu végétal du peuplier infecté. La vectorisation de médicaments se développa en utilisant des lectines, néoglycoprotéines, glycopolymères ou anticorps monoclonaux couplés à des agents cytotoxiques ou des activateurs de la tumoricidie des macrophages, puis plus récemment pour développer des thérapies innovantes comme la nanomédecine, la thérapie génique et les vaccins ARN.

Cytométrie en flux et microscopie confocale.

En 1983, le CBM en s'équipant d'un analyseur de cellules (cytomètre en flux) et d'un trieur de cellules (Fluorescence Activated Cell Sorter, FACS), se plaça au premier rang des laboratoires français disposant de ce type d'équipement lourd. Leur présence constitua un atout important pour le développement de la biologie cellulaire. Actuellement, le laboratoire dispose de 6 salles de culture cellulaire dont 4 de niveau P2, de chambres d'hypoxie et une plateforme de cytométrie en flux et imagerie cellulaire (Fig.4).



Figure 4: Instruments dédiés aux études en biologie cellulaire utilisant des méthodes de fluorescence: Plateforme de cytométrie en flux et imagerie cellulaire (P@CYFIC) avec (a) un trieur de cellules; (b) un cytomètre en flux; (c) un microscope confocal; (d) un vidéomicroscope

IRM.

Des spectromètres de résonance magnétique à aimant horizontal de 9.4 (Fig.2) et 7 Teslas vinrent compléter le parc instrumental afin de développer l'imagerie (IRM) et la spectroscopie (SRM) par résonance magnétique chez des souris et des rats. L'injection de glucose marqué au carbone 13 (^{13}C) permet d'explorer *in vivo* par SRM le métabolisme énergétique cérébral en situation normale et pathologique (Fig.5A). Le CBM a été un des rares laboratoires où l'IRM de la drosophile (mouche du vinaigre) fut réalisée (Fig.5B). Des sondes innovantes à base de complexes de gadolinium Gd^{3+} pour l'IRM et des sondes bimodales pour l'IRM et pour la spectroscopie optique se développèrent pour détecter des enzymes, des neurotransmetteurs et des cellules cancéreuses.

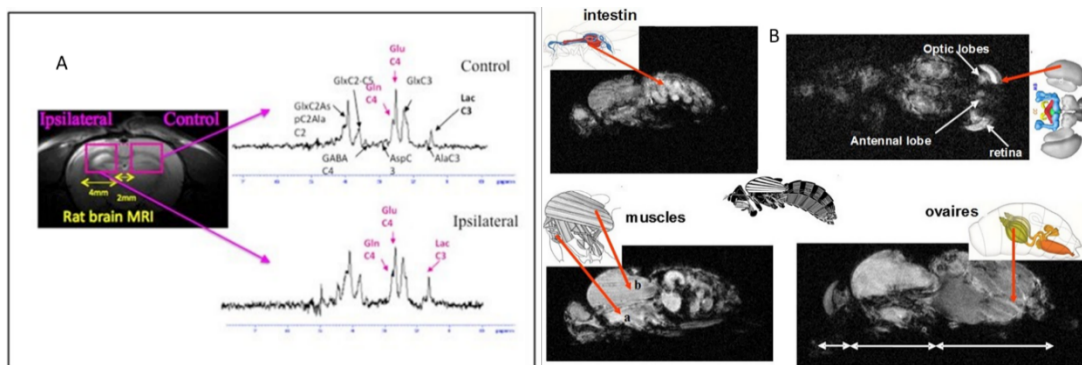


Figure 5: IRM: (A) localisation et suivi du métabolisme de produits marqués au ^{13}C chez le rat par spectroscopie par résonance magnétique. L'injection de glucose ^{13}C permet d'explorer *in vivo* le métabolisme énergétique cérébral en situation normale et pathologique. (B) première réalisation IRM de la drosophile (mouche du vinaigre) ouvrant la possibilité de détecter et de localiser l'expression de certains gènes et de métabolites.

Conclusion

Actuellement, certaines recherches qui s'appuient sur la biophysique, la chimie et la biologie moléculaire, ont pour but de comprendre les mécanismes moléculaires fondamentaux qui sous-tendent les processus biologiques et leur régulation. D'autres s'appuyant sur la biochimie, biologie moléculaire et cellulaire, développent des stratégies thérapeutiques innovantes en utilisant des modèles cellulaires et animaux. D'autres développent des techniques d'imagerie de spectroscopies magnétique et optique ainsi que des sondes d'imagerie optique et biologique et des agents de contraste IRM applicables en médecine. D'autres en recherchant les plus anciennes traces de vie terrestre et sur d'autres objets célestes, ouvrent de nouvelles perspectives sur l'environnement et la formation des briques de la vie conduisant aux premières cellules. La biophysique théorique et computationnelle contribue à la connaissance de la structure et la dynamique des protéines, à la configuration des récepteurs sur la surface cellulaire dans la liaison ligand-récepteur. Cette multidisciplinarité permet de mener des recherches originales de niveau international pour décrypter les phénomènes biologiques et pour développer des biotechnologies utiles pour la médecine.

Remerciements : Jean Philippe Grivet, auteur d'un historique des 27 premières années du CBM ("*Pour une histoire scientifique du Centre de Biophysique Moléculaire : les vingt-sept premières années*") ; Isabelle Frapart et tous les membres du CBM pour les différentes photos.

Patrick Midoux, Eva Jakab Toth