

LES INTERFACES PHYSIQUE-CHIMIE-BIOLOGIE

Jacques BARBET

Sylvain Blanquet

Vincent Breton

Didier Chatenay

Vincent Croquette

François Guyot

Éric Karsenti

Jean-Pierre Lefebvre

Alain Pocheau

Isabelle Rico-Lattes

Jean Pierre Samama

François Raulin

Ce rapport de prospective est en grande partie une compilation de divers documents. Nous nous sommes permis parfois de reprendre littéralement ces textes et d'autres fois de les raccourcir ou de les combiner. Nous ne pensons pas ainsi avoir trahi la pensée des auteurs même si le procédé peut sembler cavalier : paraphraser pour ne pas avoir l'air de copier n'aurait pas été plus honnête et une re-rédaction complète était impossible compte tenu de la charge de travail de chacun et des délais impartis.

Notre objectif a été de mettre en avant ce que le travail aux interfaces entre physique chimie et biologie apportera, dans la mesure où nous aurons été capable d'anticiper, aux Sciences de la Vie, considérées de façon générale du fondamental à l'appliqué, de la molécule du vivant au médical. Nous n'avons donc pas cherché à aborder toutes les questions posées par le vivant et nous n'avons pas non plus considéré l'interface physique-chimie quand elle ne concernait pas au moins les molécules du vivant. Enfin, nous n'avons pas prétention à l'exhaustivité ni à la prescience.

Parmi les documents que nous avons pillés, nous pouvons citer les Rapports de Conjoncture des sections suivantes :

– section 5 (Matière Condensée – Organisation et Dynamique) ;

- section 8 (Électronique, semiconducteurs – Photonique – Génie électrique) ;
- section 9 (Mécanique, Génie des Matériaux, Acoustique) ;
- section 10 (Énergie – Mécanique des milieux fluides et réactifs – Génie des procédés) ;
- section 16 (Molécules : Synthèse et Propriétés) ;
- section 17 (Molécules, Structures et Interactions) ;
- section 20 (Biomolécules : Structure et Mécanismes d’Action) ;
- section 21 (Biomolécules : relations structure-fonction) ;
- section 22 (Thérapeutique et Médicaments) ;
- section 24 (Biologie Cellulaire, Virus et Parasites) ;
- section 25 (Interactions cellulaires) ;
- section 30 (Diversité biologique, populations, écosystèmes et évolution).

La chimie de la vie pose de nombreux problèmes fondamentaux qui vont de l’origine des molécules de la vie à la nature de la cohérence des systèmes vivants. Pour répondre au premier point, les méthodes permettant la recherche, l’identification et la visualisation de molécules organiques dans les objets terrestres très anciens ou les échantillons extra-terrestres devraient faire l’objet de développements soutenus. D’autre part, cinquante ans après la découverte de la double hélice, on dispose d’un nombre de plus en plus important de génomes entièrement séquencés. Pourtant cette quête n’est pas terminée, et cet effort doit inclure la détermination des métagénomes à différentes échelles, le séquençage et l’étude de l’expression des gènes au niveau des individus ou de cellules isolées (tumeurs par exemple) : les techniques doivent encore progresser pour appréhender véritablement le polymorphisme. Un autre effort important

doit concerner la détermination des niveaux d’expression de gènes dans les environnements naturels ou anthropisés.

Au-delà des séquences codantes elles-mêmes, des informations sont écrites dans l’ADN qui régissent la réplication, la transcription et l’empaquetage. Mathématiques, informatique et analyses structurales sont à l’œuvre pour déchiffrer d’autres codes plus cachés.

La diversité de la chimie de la vie ne se réduit pas non plus à l’ensemble des gènes. Notre connaissance de l’identité des composants du vivant, de leur structure, de leurs interactions est loin d’être exhaustive. La recherche sera guidée par le plan général inscrit dans le génome et accélérée par les progrès des moyens d’analyse physiques et chimiques.

Le message contenu dans l’ADN n’a pas non plus de sens sans la cellule qui l’entoure et le mélange de tous les constituants ne fait pas la vie. Les sciences du vivant entrent dans le domaine de la physique des systèmes complexes et des processus hors équilibre. L’organisation, la réplication, la régulation, la signalisation, le comportement des molécules dans leur contexte, la cellule, de même que la morphogenèse, résultat d’événements et d’interactions cellulaires complexes qui génèrent des formes macroscopiques reproductibles et dynamiques, reposent sur une combinatoire quantitative, qualitative et dynamique de ces composants. Ce comportement et ces formes réalisent un état stationnaire mais rarement un équilibre thermodynamique. Plus largement, ce flux d’information s’inscrit dans un environnement, lui-même système complexe hors équilibre. Pour aborder ces questions, de nouveaux concepts et de nouvelles méthodes d’analyse des propriétés physiques collectives des composants sont nécessaires. Ces concepts et ces méthodes demandent des outils d’analyse : microscopie (optique, électronique, champ proche, etc.), imagerie (rayons X, neutrons, résonance magnétique (IRM), tomographie d’émission monophotonique (TEMP) ou d’émission de positons (TEP)), traceurs (fluorescence, radioactivité, etc.), modélisation.

Enfin, cette nouvelle connaissance ouvrira de formidables perspectives d'applications, elles aussi largement interdisciplinaires, ne serait-ce que dans la prévention et le traitement des maladies, ou la détection des organismes ou molécules pathogènes dans des environnements variés.

1 – DOMAINES ÉMERGENTS

1.1 LA MANIPULATION DE MOLÉCULES UNIQUES

Il est dorénavant possible d'imager, identifier, déplacer, « allumer », suivre ou piéger des molécules individuelles, grâce au développement de la microscopie confocale, des techniques d'optique en champ proche couplées à des impulsions femtosecondes, de la microscopie tunnel ou de la microscopie de forces atomiques. Il devrait être possible de visualiser les interactions spécifiques entre deux molécules ou entre une molécule et un substrat, de suivre des réactions chimiques au niveau de la molécule unique ou d'étudier les changements de conformation de macromolécules individuelles (polymères, protéines, acides nucléiques) par spectroscopie de polarisation de fluorescence.

On dispose à l'heure actuelle d'un certain nombre de techniques de manipulations (billes magnétiques, pinces optiques) qui permettent d'étudier certaines molécules biologiques au niveau de la molécule unique ; parmi les molécules étudiées, on peut citer l'ADN et les diverses protéines qui y sont associées (ARN polymérase, topo-isomérase, etc.), les moteurs moléculaires linéaires et rotatifs, les protéines de condensation agissant sur l'ADN, les protéines impliquées dans les mécanismes d'adhésion cellulaire, etc. Ces expériences, d'une grande beauté et techniquement très élaborées, permettent d'atteindre les rôles joués

par les forces et les couples non seulement dans la détermination des structures adoptées par l'ADN, mais aussi dans les mécanismes d'action des enzymes en intégrant le caractère stochastique des phénomènes. Ces expériences ont déjà apporté de nombreux enseignements, mais il y a encore beaucoup à apprendre et ce domaine est appelé à se développer largement. Cette activité expérimentale est utilement complétée par des analyses théoriques fondées sur l'utilisation de la mécanique statistique (systèmes élastiques, transition de désancrage). Un des développements naturels de cette activité devrait concerner des systèmes mettant en jeu un nombre de molécules comparable à celui trouvé dans le vivant.

Les microscopies en champ proche utilisées en mode spectroscopique ont rejoint les techniques précédemment mises en œuvre où les molécules étudiées, dispersées dans une matrice, étaient sélectionnées par un laser. La spectroscopie vibrationnelle résolue d'une molécule unique paraît réalisable. Les mesures électroniques sur biomolécules se développent également. Un des buts pourrait être d'étudier l'hybridation des molécules d'ADN sans devoir recourir à l'incorporation de fluorophores dans l'ADN.

Un corollaire très utile aux études sur les systèmes biologiques est fourni par la conception et la réalisation de systèmes simplifiés isolant une ou plusieurs caractéristiques dont on veut atteindre une compréhension quantitative comparable à celle que l'on peut acquérir en physique de la matière molle. Depuis longtemps par exemple, la communauté a travaillé sur la physique et la physicochimie des vésicules phospholipidiques. Ces études se poursuivent par l'introduction de diverses extensions hors d'équilibre, l'étude des propriétés d'adhésion dans des situations se rapprochant de celles du vivant, l'étude des interactions cytosquelette-membrane, cytosquelette – membrane – moteurs. Les mécanismes de la motilité peuvent aussi s'aborder de manière biomimétique. Cette approche permet une compréhension plus détaillée que par l'étude directe du vivant, car elle permet de faire varier les paramètres dans des gammes plus étendues qu'*in vivo*, tout en permettant une analyse quantitative.

1.2 LA PHYSIQUE À L'ÉCHELLE CELLULAIRE

La physique de la cellule met en jeu, dans de nombreux cas, des échelles de longueur et de temps qui sont typiquement celles de la matière molle et de la nanophysique. En conséquence, les concepts d'auto-organisation, et de transition thermodynamique s'avèrent être des outils conceptuels importants. Au plan méthodologique, l'introduction des protéines chimères (green fluorescent protein (GFP) et leurs semblables), d'alternatives comme les nanocristaux (quantum dots), l'introduction de nouvelles microscopies (comme la microscopie multi-photonique, la microscopie fondée sur le transfert résonant de fluorescence, sur la corrélation de fluorescence) et la modélisation, associées aux déjà traditionnelles chambres de flux, ouvrent la voie aux études quantitatives de la dynamique cellulaire. C'est un domaine de choix pour l'interaction physique-biologie car la réalisation des expériences nécessite une connaissance simultanée et approfondie de la biologie cellulaire, de la physique des milieux condensés et de l'optique. L'adhésion, la signalisation, le transport, la mitose, la motilité cellulaire, la transduction des signaux sont des exemples de domaines où les interactions entre physicochimie et biologie apporteront beaucoup et produisent déjà des résultats nouveaux.

L'interaction de particules chargées de basse énergie avec le milieu vivant joue un rôle prépondérant dans de nombreux domaines : exposition aux rayonnements naturels (radon), exposition professionnelle, cancérogenèse, thérapie anticancéreuse par particules chargées (proton-thérapie, etc.). Comprendre comment de telles radiations agissent, notamment lors de l'exposition à de très faibles doses, reste un enjeu majeur passant par des études à l'échelle cellulaire. Une approche expérimentale récente consistant à utiliser un microfaisceau d'ions va permettre de contrôler le nombre exact de particules délivrées par cellule (jusqu'à un ion/cellule), prédéterminer le point d'impact avec une précision de l'ordre du μm

(noyau/cytoplasme), irradier certaines cellules et vérifier la réponse de cellules voisines et traiter suffisamment de cellules pour mettre en évidence des effets n'apparaissant que sur une cellule irradiée sur mille.

À l'échelle multicellulaire, parmi les problèmes importants qui semblent mûrs pour une approche physique ou physicochimique, citons l'organisation et le fonctionnement de populations neuronales, le développement embryonnaire, la régénération et la différenciation tissulaire (avec en particulier le rôle des contraintes mécaniques), la morphogenèse de systèmes simples comme l'hydre.

1.3 BIOTECHNOLOGIE, GÉNOMIQUE ET PROTÉOMIQUE

Puces à ADN et transcriptome

Les biologistes se sont rapidement appropriés les puces à ADN et l'étude du transcriptome est déjà intégrée dans les outils de base de la biologie moléculaire grâce aux actions incitatives et au réseau des Génopoles. Il reste que le succès de l'utilisation des « biochips » dépend fortement de la maîtrise de la physicochimie du greffage des brins d'ADN ou des protéines. C'est dans ce domaine que l'approche interdisciplinaire a encore un très grand rôle car des progrès restent à faire dans ce domaine de la physicochimie colloïdale et de la matière molle permettant d'aborder la conception et la réalisation de nouveaux procédés utilisables en génomique, en protéomique, en séparation. Il y a là une carte importante à jouer. Les nano- et micro-technologies, en particulier dans le domaine de la microfluidique, sont appelées à jouer un grand rôle à l'interface physicochimie-biologie. Pour l'instant, les analyses génomiques ont été laissées en grande partie aux mathématiciens : la physique statistique commence à s'intéresser au sujet et est susceptible d'apporter un éclairage nouveau.

Sciences des protéines

Les pays à haut potentiel scientifique et industriel produisent des efforts considérables pour le développement de la protéomique. Après la révolution génomique, la communauté internationale s'organise autour du protéome pour répondre à l'explosion des données de séquences nucléotidiques, à l'arrivée massive de connaissances sur la structure 3D des protéines et à l'introduction de nouvelles technologies. L'interdisciplinarité est un atout majeur pour réussir cette nécessaire évolution et répondre aux enjeux économiques.

Analyse protéomique à « haut débit »

La protéomique est applicable à l'analyse de l'expression des gènes, à la mise en évidence des complexes multimoléculaires, à l'étude de fractions subcellulaires, à l'identification de protéines nouvelles ou de cibles potentielles de ligands d'intérêt pharmacologique, à la caractérisation des modifications post-traductionnelles des protéines, à la recherche des origines ou des conséquences d'une pathologie. Grâce à la comparaison d'échantillons protéiques complexes, analysés à des sensibilités suffisamment élevées, les réponses cellulaires ou physiologiques sont susceptibles de devenir accessibles dans leur globalité. L'efficacité de ce type de comparaison dépend de l'échelle et de la vitesse d'exécution des analyses.

Protéomique appliquée aux procédés biotechnologiques

L'analyse protéomique peut contribuer à la maîtrise des cultures cellulaires. Ces cultures se singularisent par des concentrations élevées de cellules dans un contexte contraignant et contrôlé. L'adaptation des outils de la protéomique permettra d'améliorer le suivi dynamique des cultures en fonction de paramètres variés, et d'accéder à une modélisation des procédés intégrant toutes les échelles, de la molécule jusqu'au

réacteur. Grâce au développement ad hoc de logiciels d'acquisition et de traitement de données, une optimisation multi-critères et une supervision intelligente des procédés pourront être atteintes.

Systèmes miniaturisés pour la protéomique, puces à protéines

Une miniaturisation des techniques protéomiques est indispensable pour réduire la taille des échantillons et les temps de prélèvement et de manipulation. Ce besoin de miniaturisation conduit à l'invention de puces à protéines permettant d'analyser, grâce à la mise en œuvre d'un ensemble souvent important de réactions biochimiques, les interactions protéine-protéine ou protéine-ligand. Le choix et le développement des systèmes de puces à protéines, à usage unique ou multiple, impliquent la juxtaposition de compétences multidisciplinaires allant de la microphysique à la biochimie. Parmi les difficultés les plus évidentes, on peut citer la maîtrise des traitements de surface et celle des matériaux, qui doivent être compatibles avec à la fois la technologie mise en œuvre et des champs d'utilisation requérant ou non une préservation de la fonctionnalité des protéines.

Production, contrôle de qualité et cristallisation des protéines membranaires

Les protéines membranaires participent à de nombreuses voies de transduction du signal et sont la cible de nombreux médicaments. Une meilleure connaissance des relations structure-fonction des systèmes protéiques membranaires est indispensable à la compréhension du fonctionnement de la cellule et permettrait la conception rationnelle de médicaments optimisés. Malheureusement, les études structurales des protéines membranaires bloquent souvent sur l'une ou l'autre des deux étapes suivantes : la surproduction de ces protéines sous forme fonctionnelle, et leur cristallisation. Le taux de

réussite dans la caractérisation 3D des protéines membranaires devrait bénéficier des méthodes et des environnements développés sur les plates-formes de génomique structurale.

Ingénierie combinatoire des protéines

L'approche combinatoire du remodelage de protéines par voie génétique, couplée à des techniques de sélection et de criblage à haut débit, ouvre aujourd'hui des perspectives considérables. Cette approche permet, en effet, de générer artificiellement une extraordinaire biodiversité et de faire évoluer, quasiment à volonté, les propriétés d'une protéine : activité, spécificité, affinité, stabilité, solubilité, etc.

Des résultats marquants ont d'ores et déjà été obtenus, notamment au niveau de l'évolution moléculaire dirigée d'enzymes et d'anticorps. Cependant, pour être efficaces et largement accessibles, les méthodes existantes doivent être perfectionnées. Les banques de séquences initiales doivent permettre un tri plus efficace. Les améliorations envisageables concernent la conception et la modélisation de nouvelles méthodes de recombinaison, les outils de cartographie des banques, les techniques d'égalisation. Sont également à considérer les stratégies d'évolution *in vitro* de fonctions complexes (ingénierie de voies métaboliques) et les méthodes de tri des variants obtenus, en recherchant, en particulier, une miniaturisation et une transposition à haut débit des techniques. Ce passage obligé doit déboucher, au plan fondamental, sur une approche renouvelée de l'étude des relations structure-fonction des protéines, et, au plan appliqué, sur la sélection de nouveaux produits performants (biocatalyseurs pour conditions extrêmes, anticorps pour le diagnostic et la thérapie, biocapteurs, transporteurs, récepteurs, effecteurs, etc.).

Prédiction des propriétés structurales et fonctionnelles des protéines

Au sein du protéome, les interactions protéine-protéine ou protéine-effecteur contrôlent une grande partie du flux d'information et de

la réactivité cellulaire. Pour dépeindre ces interactions et comprendre la réactivité associée, il est indispensable de s'intéresser aux structures 3D et aux propriétés physico-chimiques des protéines prises individuellement ou engagées dans des complexes supramoléculaires. Parmi les objectifs importants en sciences des protéines, peut être mentionnée la prédiction du repliement, de la spécificité et de la réactivité des protéines et de leurs amarrages mutuels. Ces prédictions peuvent s'appuyer sur des modélisations par homologie à grande échelle (haut débit) ou des simulations, en intégrant les données protéiques déduites de bases génomiques. Ce problème peut être abordé comme un problème original, et délicat, de physique statistique présentant des interactions à longue portée.

Protéomique appliquée au médicament

L'approche ici est d'utiliser les avancées de la post-génomique (puces à ADN, profils protéiques différentiels, animaux transgéniques) pour définir de nouvelles cibles pharmacologiques. De nouveaux candidats médicaments sont proposés par le screening à haut débit de chimiothèques. La génomique fonctionnelle et la protéomique seront de plus en plus intégrées au criblage pharmacologique et toxicologique et nécessiteront des automates de plus en plus perfectionnés pour offrir des tests sensibles et pertinents. Les progrès de l'ensemble du domaine des sciences du vivant, et particulièrement ceux qui sont réalisés dans le domaine de la modélisation, vont entraîner un retour en force du « drug design ». La vectorisation et les nanotechnologies seront utilisées pour délivrer ces nouveaux médicaments.

1.4 BIOLOGIE IN SILICO

Les données biologiques ont des coûts d'acquisition élevés et la plus-value (scientifique et financière) vient de leur mise en

interaction avec les autres connaissances du domaine. Des approches bioinformatiques permettent de générer massivement des liens entre les connaissances pour une expérimentation *in silico*. Dès lors, il devient indispensable de disposer de moyens informatiques ultra performants pour archiver, gérer et utiliser dans une démarche expérimentale efficace ces données biologiques, avec des exigences fortes de traçabilité et de sécurité.

Le développement des techniques de séquençage d'ADN, les séquençages massifs des génomes entiers des organismes provoquent un véritable déluge d'informations. Le nombre de séquences croît de façon exponentielle, avec un doublement du contenu des bases de données tous les 18 mois environ. Au-delà du volume considérable des informations produites, elles se caractérisent aussi par la variété de leurs formes : fichiers plats de séquences, annotations avec textes semi-structurés, textes libres, images, etc. Une difficulté supplémentaire réside dans la multiplicité et la répartition géographique des fournisseurs de bio-informations, par exemple, de l'ordre d'une quarantaine de noeuds en Europe et en Amérique pour le réseau de l'EMBL : EMBnet.

Dans ce contexte, le traitement des données sur grille informatique constitue un enjeu majeur pour les équipes de recherche des sciences de la vie et le développement des biotechnologies appliquées au domaine de la santé et de l'agroalimentaire. En effet, ce nouveau concept de distribution des données et du calcul semble aujourd'hui le moyen idéal pour faire face, à moindre coût, aux besoins de stockage et de traitement intensif des données produites par les séquençages de génomes, les puces à ADN, bientôt les puces à protéine ou les laboratoires sur puce.

Le développement des technologies de grille figure parmi les choix stratégiques des agences de financement de la recherche. L'application de ces technologies aux sciences de la vie est déjà engagée par des collaborations pluridisciplinaires rassemblant des biologistes, des informaticiens et des physiciens aux États-Unis et en Europe.

1.5 LES NOUVEAUX DÉTECTEURS

Matériaux et nanomatériaux moléculaires

Le développement rapide des systèmes de télécommunications suscite un regain d'intérêt pour les matériaux photo actifs, principalement organiques. L'exemple des diodes luminescentes organiques en passe de remplacer les écrans plats cristaux liquides mérite d'être cité ainsi que celui des photochromes pour les applications en enregistrement optique et des photopolymères pour la micro(nano)stéréolithographie. Les années à venir devraient voir également se développer les matériaux multifonctions à propriétés couplées, photochromisme et optique non-linéaire, magnétisme et photochromisme, magnétisme et optique non-linéaire. Il faudra veiller aux possibles applications de ces développements, par exemple pour la détection d'interactions de faible affinité.

Surfaces, interfaces, couches minces

Tout un ensemble de techniques spécifiques a été développé pour étudier les surfaces et interfaces : dichroïsme, spectroscopie infrarouge en réflexion (IRRAS) et avec modulation de polarisation (PM-IRRAS), réflexion totale atténuée (ATR), réflexion diffuse, spectroscopie de perte d'énergie électronique à haute résolution (HREELS), génération de fréquence somme, génération de second harmonique, etc. Elles permettent de caractériser des sites d'adsorption sur des surfaces diverses, de sonder l'organisation de films, de couches minces, de couches de Langmuir-Blodgett et de caractériser *in situ* les propriétés des interfaces (solide liquide, ou solide-gaz). Des expériences de sorption et désorption contrôlées par laser permettent également de caractériser les liaisons adsorbant-adsorbant. La réalisation de surfaces fonctionnalisées propriétés contrôlées peut permettre de mimer avec des systèmes simples des processus d'interaction beaucoup plus complexes tels que les interactions entre macromolécules et membranes biologiques.

2 – DOMAINES EN PLEIN ESSOR

2.1 LA BIOLOGIE STRUCTURALE

Ce domaine est très demandeur de progrès technologiques dans les domaines suivants :

- radiocristallographie (intérêt du rayonnement synchrotron et du projet Soleil) ;
- cryomicroscopie électronique ;
- RMN (spectroscopie au GHz, RMN du solide) ;
- IRM (hauts champs et produits de contraste) et SRM des milieux vivants (imagerie du petit animal) ;
- spectrométrie de masse (protéomique, imagerie) ;
- spectroscopies optiques ;
- spectroscopies vibrationnelles (imagerie infra-rouge, spectroscopie Raman) ;
- modélisation moléculaire (structures et réactivité des macromolécules, parallélisation et calculs en réseaux).

Les avancées de la biologie structurale

La biologie structurale est mise au défi d'aborder des questions dont la complexité est de plus en plus grande, et le projet de synchrotron Soleil constitue une chance exceptionnelle de développer les technologies de dernière génération qui vont permettre d'aborder ces problèmes. Un enjeu important sera de mobiliser la communauté scientifique vers les possibilités qui seront offertes par ce grand instrument. En effet, les lignes actuellement en cours de construction couvrent plusieurs domaines parmi lesquels la biocrystallographie, la diffusion aux petits et grands angles, la spectroscopie d'absorption X, la spectromicroscopie IR et l'imagerie confocale de fluorescence VUV.

Cette liste non exhaustive illustre les potentialités d'une combinaison de techniques permettant l'étude des entités biologiques depuis la molécule isolée jusqu'aux systèmes intégrés.

L'excellente implantation de spectromètres RMN très puissants, associée à l'installation des cryosondes, permet aux spectroscopistes de travailler avec une sensibilité accrue. Les développements techniques associés aux développements méthodologiques de ces dernières années, notamment avec l'utilisation des couplages polaires résiduels mais aussi des interférences constructives de divers phénomènes de relaxation (effet TROSY), permettent l'étude de molécules de taille toujours plus importante.

Un des grands enjeux actuel de la biologie structurale est l'étude des assemblages multimoléculaires complexes, dont des constituants peuvent dans certains cas n'acquérir de structure 3D qu'en association avec leurs partenaires. L'intégration de la description atomique des constituants dans l'information à basse résolution de ces assemblages permet d'apprécier une interprétation structurale de ces assemblages à haute résolution. Cette combinaison promet d'être particulièrement féconde en associant la radiocristallographie ou la RMN avec la cryomicroscopie électronique ou la diffusion des rayons X aux petits angles (DXPA) qui a complètement changé de visage, en particulier grâce au rayonnement synchrotron. Le développement de programmes *ab initio* donne maintenant accès à l'enveloppe des macromolécules en solution, et cela quelle que soit leur taille. Cette approche permet donc aussi de proposer des modèles d'association de complexes dont la structure atomique des éléments est connue et d'établir de nouveaux liens entre propriétés structurales microscopiques et comportement fonctionnel macroscopique.

Les réponses de la cellule à son environnement et à ses signaux mettent en jeu des cascades d'interactions qui assemblent et modifient des complexes de macromolécules. De ce fait, un enjeu actuel de la biologie structurale est d'établir la relation entre la structure atomique d'une macromolécule, les interactions qu'elle peut

établir et ses effets dans la cellule. Un exemple particulièrement frappant nous est fourni par l'imagerie par microscopie de fluorescence : récemment, les développements des détecteurs numériques vidéo ont rendu possible l'imagerie au niveau subcellulaire en mesurant, entre autres, la distribution de composants cellulaires spécifiques, la concentration locale d'ions cytoplasmiques, la dynamique de la formation de microstructures et les interactions entre constituants. Le développement de nombreux fluorophores chimiques et biologiques (GFP) permet de les attacher à des sites cellulaires spécifiques.

L'interface chimie-biologie structurale-physiologie est celle dont la valeur ajoutée vis-à-vis de l'industrie est la plus claire. En particulier, la biologie structurale à haute résolution des cibles thérapeutiques sert de support à la modélisation de molécules actives, notamment en santé humaine.

Cristallographie

La cristallographie conventionnelle des macromolécules biologiques n'est plus un sujet de recherche pour les physiciens, les méthodes de détermination des structures à résolutions moyenne et haute étant bien établies. En revanche, il est aujourd'hui possible d'obtenir avec les synchrotrons de troisième génération des données à résolution ultra haute (0,5 à 0,8 Å) qui donnent accès à la densité électronique précise et aux propriétés électrostatiques.

Un autre problème toujours difficile concerne les résolutions de structures à partir de données de diffraction très pauvres. L'apport des méthodes cristallographiques, et des études fondamentales pour la production, la caractérisation et la cristallisation des entités macromoléculaires et de leurs complexes restent nécessaires.

Modélisation *ab initio*

Toujours à l'interface physique-biologie, beaucoup reste à faire pour décrypter les informations structurales et fonctionnelles

portées par les séquences des protéines. Très récemment, des notions venues du monde de la physique (par exemple : transfert de dimensionnalité, pavage de Voronoi, concepts de la physique des polymères) ont éclairé d'un jour nouveau l'architecture des protéines et ouvert des voies prometteuses pour le décryptage de leurs séquences, la prédiction de leurs structures et de leurs fonctions biologiques. Ce domaine rejoint celui de la bio-informatique qui est traité dans le cadre d'un autre atelier.

2.2 LA DYNAMIQUE DU VIVANT

L'organisation et la dynamique de la matière biologique intéressent de plus en plus de physiciens. Les progrès conjoints de la biologie moléculaire et cellulaire et de la physico-chimie des systèmes complexes permettent d'aborder de nouveaux problèmes de biologie et de préciser les mécanismes physiques qui interviennent dans et régissent, en partie, les fonctions biologiques. Il s'agit de comprendre le fonctionnement du vivant non seulement en identifiant les mécanismes physiques mis en jeu, mais en mesurant les grandeurs pertinentes (forces, caractéristiques élastiques, électriques, vitesses, diffusivité) de façon à pouvoir modéliser l'évolution du système à partir de lois physiques. Dans les interactions entre molécules à l'échelle de la cellule, des problèmes de mobilité, d'adhésion, de pénétration, d'auto-assemblage se posent ; de l'échelle de la cellule à celle des tissus, un travail de conceptualisation et de quantification est encore nécessaire, auquel les physiciens doivent contribuer.

Assemblages, interactions et dynamique moléculaire

À titre d'exemples, citons l'étude de bicouches libres, systèmes modèles des membranes biologiques et des interactions protéines-membranes ; la rhéologie de vésicules, plus

ou moins solubles, perméables, déformables, en solution. À l'échelle des tissus, il faut mentionner que les techniques de rayons X apportent des informations nouvelles sur la structure d'un système complexe comme la peau, constituée d'un grand nombre de macromolécules différentes. Les fibres biologiques constituent un autre système de choix pour les rayons X qui sont capables de révéler et caractériser plusieurs niveaux d'organisation emboités, des enroulements de molécules aux agencements de celles-ci pour former des micro-fibrilles, lesquelles s'organisent dans la matrice amorphe.

Les quelques dernières années ont été marquées par d'importantes avancées dans la caractérisation structurale des grands assemblages macromoléculaires par cryomicroscopie électronique et diffraction des rayons X : machinerie de la transcription et de la traduction (notamment ribosome), complexes multi-enzymatiques (protéasome, cellulosome) et virus. L'intérêt s'étend maintenant au-delà de la compréhension de l'architecture fonctionnelle de ces structures supra-moléculaires, vers l'étude des interactions entre leurs différents composants, de leur processus d'assemblage, et de leurs mécanismes de régulation, incluant les méthodes résolues en temps (relaxation en RMN, fluorescence résolue en temps ou diffusion des rayons X aux petits angles). De plus en plus d'efforts sont portés vers la compréhension des aspects dynamiques des phénomènes biologiques, qu'il s'agisse des interactions entre macromolécules, des processus catalytiques (métabolisme, polymérisations), de l'adsorption de molécules à des surfaces ou de leur incorporation à des membranes, ou du polymorphisme des protéines et des assemblages macromoléculaires en solution et dans des systèmes lipidiques et membranaires. De grands progrès peuvent être accomplis au niveau de la modélisation, de la simulation dynamique, et de la caractérisation physico-chimique (thermodynamique et cinétique) des processus d'association entre bio-molécules *in vitro* et *in vivo*, et des changements conformationnels qui leur sont associés. Les méthodes de mélange rapide ou de saut de température

ou pression, couplées à différentes techniques d'observation, permettent d'accéder à des cinétiques de changement de conformation ou d'interaction des bio-molécules allant de la microseconde à plusieurs heures.

Instabilités, croissance, morphogenèse

Malgré la complexité inhérente aux systèmes biologiques, certaines étapes de leur développement peuvent se ramener à des problèmes de dynamique d'interface, d'auto-organisation ou de structuration spatio-temporelle. En ce cas, des modélisations non-linéaires développées sur des systèmes physiques analogues (fronts de flamme, fronts de solidification, milieux élastiques, milieux excitables) peuvent se révéler pertinentes, validant ainsi une approche pluridisciplinaire. Elles permettent alors de comprendre la morphogenèse par des concepts d'instabilités, de transition, ou de sélection non-linéaire.

Rentrent dans ce cadre :

- la morphogenèse d'organismes unicellulaires (algues ou champignons) vue comme la dynamique de leur paroi cellulaire pilotée par des champs de courant ioniques ;
- les développements arborescents des poumons, des réseaux vasculaires ou des neurones considérés en analogie avec les phénomènes de branchements dendritiques en solidification de matériaux ;
- la modélisation élastique de la peau et des cheveux ;
- la nervure des feuilles comprise, en analogie avec un réseau de fracture, comme conséquence de l'élasticité du substrat ;
- les circonvolutions des bords de feuilles en croissance rapide (salade) interprétée comme résultat d'un flambage élastique ;
- la phyllotaxie responsable des remarquables organisations spirales des tournesols ou des pommes de pins et comprise comme une auto-organisation à grande échelle issue des émissions répétitives du méristème ;

– la fibrillation cardiaque analysée en termes d'instabilité de la structure spatio-temporelle électrique associée aux contractions cardiaques ;

– les modèles des premières étapes d'embryogenèse par interaction non-linéaire entre activateurs et inhibiteurs.

Dans le premier exemple, la dynamique de l'interface résulte de celle des champs de courants ioniques qu'elle contribue elle-même à entretenir par l'action de ses canaux ioniques. La problématique est donc bien analogue à celle de la dynamique d'un front de flamme (ou de solidification) dont l'avancée est conditionnée par le transport de la chaleur (ou des solutés) qu'il a lui-même produite. D'où le succès de modèles cinématiques dans la reproduction des morphogenèses observées par développement d'instabilités de croissance. Ceux-ci conduisent à reproduire le phénomène de branchements et même à des modélisations de la dynamique des méristèmes. Dans le second exemple, la modélisation du développement de branchements en hiérarchie d'échelles emprunte alors les concepts de la physique hors-équilibre multi-échelle. Les trois autres exemples témoignent de l'importance de l'élasticité dans le développement, par exemple des végétaux. Les deux avant-derniers exemples indiquent comment la structuration aux temps longs ou à grande échelle peut émerger ou contrarier le fonctionnement de ces systèmes hors-équilibre. Le dernier exemple enfin montre comment la diffusion peut être structurante en présence de morphogène d'une manière analogue à celle de l'instabilité de Türing en chimie.

Systèmes supramoléculaires

La photochimie des dendrimères, oligomères en formes d'étoiles, ouvre des perspectives importantes, en particulier avec la mise en évidence d'effets coopératifs dans les processus de transfert d'énergie ou les propriétés optimales non linéaires. Enfin les « machines moléculaires » dans lesquelles les photons induisent des mouvements contrôlés devraient connaître

des développements remarquables. Les moteurs moléculaires capables de tourner dans un seul sens ainsi que les bagues coulissantes capables de se mouvoir réversiblement commencent en effet à devenir réalités.

Ces thématiques biologiques pourraient bénéficier des concepts et méthodes développées en mécanique des fluides, en microfluidique, et pour les études de combustions. Les effets thermiques jouent également un rôle essentiel dans la matière vivante : cryopréservation des cellules et des tissus, traitement de certains cancers, régulation thermique des êtres vivants etc. La biothermique est un axe des biotechnologies qui est appelé à se développer.

Approches post-génomiques

Une recherche alliant génétique, biologie moléculaire, biochimie et bioinformatique a permis de découvrir une foison d'ARN non-codants dont l'existence était insoupçonnée il y a seulement quelques années. Le plus extraordinaire, chez les ARN non codants, est la diversité des phénomènes biologiques qu'ils contrôlent qui, par certains aspects, transgressent le modèle de contrôle génétique proposé par Jacob et Monod dans les années soixante. L'introduction d'ARN double brin chez les nématodes, les insectes, les cultures cellulaires de mammifères et les plantes, provoque une dégradation rapide des ARN messagers complémentaires. Ce phénomène a déjà permis d'entreprendre des inactivations fonctionnelles à grande échelle et représente un des grands atouts de la génomique actuelle. Des résultats essentiels ont été obtenus qui lient la technique ultra-puissante d'inactivation de gènes à l'aide des ARN interférants à toute une biologie, celle des stRNA, qui reste encore à développer et qui aura des répercussions considérables dans le domaine de la pharmacologie.

Enzymologie

L'étude des interactions protéine-ligands et la recherche des fonctions des protéines orphelines identifiées par le séquençage des génomes sont nécessaires à la caractérisation de nouvelles cibles pharmacologiques. Les méthodes d'étude de l'enzymologie (cinétique rapide en stopped flow ou quenched flow, couplée à la spectroscopie UV, spectrofluorimétrie, ou dichroïsme circulaire) sont toujours d'une grande actualité dans l'analyse de systèmes de plus en plus complexes. L'enzymologie a désormais intégré dans ses champs d'étude des objets aussi importants que :

- les machines « processives » telles que les machineries de synthèse protéique ou de recombinaison génétique ;
- les complexes multi-enzymatiques ou membranaires en milieu structuré, naturel ou biomimétique (pompes à protons, ATPases membranaires) ;
- le cycle de maturation des virus qui fait intervenir la formation ordonnée et spatialement dirigée de complexes nucléo-protéiques,
- l'association de protéines dans des cascades de signalisation ;
- la dynamique d'assemblage des polymères du cytosquelette et sa régulation par des effecteurs, dans des systèmes biomimétiques reconstitués, modulaires, présentant un degré d'intégration croissant ;
- l'enzymologie en milieu confiné où l'efficacité enzymatique est associée étroitement à la notion de localisation (utilisation des nanotechnologies pour la conception du confinement).

Ces différentes perspectives replacent l'enzymologie comme discipline d'interfaces dans un cadre qui échappe à la biologie traditionnelle, puisque l'enzymologie intègre désormais des concepts étendus qui nécessitent l'implication de :

- (i) la chimie pour la compréhension intime des phénomènes de catalyse, la biomimétique, et la création d'assemblages supramoléculaires ;

– (ii) la physique pour le développement de techniques innovantes de caractérisation aussi bien au niveau de la molécule individuelle que de la cellule (développements récents et spectaculaires des détecteurs numériques vidéo par exemple qui ont rendu possible l'imagerie par microscopie de fluorescence au niveau subcellulaire et les études en molécule isolée) ;

– (iii) l'informatique pour la modélisation au niveau moléculaire et cellulaire.

Les bases moléculaires et structurales de la transduction du signal

En aval des récepteurs membranaires, les acteurs de la transduction du signal agissent par des interactions protéine-protéine, souvent par l'intermédiaire de modules ou de domaines, eux-mêmes contrôlés par des modifications par phosphorylation dont l'importance est soulignée dans la section suivante. Ces interactions mettent en place des réseaux d'informations, associant les voies de signalisations entre elles et les différents aspects des réponses cellulaires. La biophysique, l'enzymologie, la biologie structurale, la simulation et la modélisation sont les outils à mettre à profit pour s'attaquer à cette problématique essentielle en biologie et en santé humaine.

L'étude des modifications post-traductionnelles

L'étude des relations entre les modifications post-traductionnelles, en particulier la phosphorylation et la glycosylation, et les grandes fonctions biologiques requiert une approche globale que la protéomique permet, *a priori*, de résoudre. Néanmoins, une étude systématique de la nature et de la dynamique des modifications nécessite le recouvrement de la séquence complète des protéines, et donc une optimisation des méthodes de séparation, du traitement de l'échantillon et des techniques de la spectrométrie de masse et de la bio-informatique devant permettre un travail en routine à l'échelle de la fentomole et même de l'attomole.

Par ailleurs, l'extrême complexité des modifications post-traductionnelles impose une étude structurale systématique indispensable à l'étude de leurs rôles, de leurs systèmes de biosynthèse et de leurs cibles moléculaires et cellulaires. Cette démarche nécessite d'optimiser les méthodes et les techniques d'analyse structurale.

Évolution moléculaire des structures et des fonctions

Les travaux sur l'évolution naturelle des structures et des fonctions ont été accompagnés par de très grands progrès dans les capacités d'étude expérimentale de l'évolution des macromolécules biologiques. De nouvelles méthodes sophistiquées de diversification par ingénierie génétique ou chimique ont été mises au point, et des protocoles de plus en plus fins et performants ont été développés pour sélectionner *in vitro* ou *in vivo* des modifications de paramètres physico-chimiques ou fonctionnels des macromolécules tels que leur stabilité thermodynamique, leur affinité ou leur spécificité pour un ligand, leur mode de régulation allostérique ou leur efficacité catalytique. Ces études permettent notamment de sonder la robustesse et la plasticité des replisements moléculaires, et de vérifier la validité des hypothèses quant à leur rôle en tant qu'entités évolutives. Les développements méthodologiques qui leur sont associés ont également permis d'aboutir à de nombreux catalyseurs ou autres molécules actives, optimisés pour des applications dans les domaines de la santé, la chimie fine, l'agroalimentaire ou l'environnement.

Microbiologie

Il est bien clair que nous n'avons encore qu'une connaissance superficielle du monde microbien. La connaissance des génomes, des protéomes et des interactomes, le développement des analyses bioinformatiques et les approches de biologie structurale sont des étapes technologiques marquantes des années 90. Elles ouvrent

des perspectives majeures dans les façons d'aborder des questions telles que :

- biodiversité et versatilité : pathogénicité et mécanismes d'adaptation aux conditions extrêmes ;
- écosystèmes : organisation et dynamique ;
- interactions moléculaires entre les micro-organismes et leur environnement ;
- symbiose et commensalisme ;
- résistance aux antibiotiques et antiviraux ;
- évolution des génomes et des protéomes, et co-évolution hôte-microbe ;
- chronologie et mécanismes d'apparition des grandes voies métaboliques dans l'évolution ;
- limites physiques et chimiques des micro-organismes et des écosystèmes. Mécanismes d'adaptation à des températures, pressions et stress chimiques ou radiatifs extrêmes.

Mécanique du corps humain

La biomécanique concerne deux approches complémentaires. La première est la mécanique appliquée à la biologie. La deuxième est la mécanique du vivant, plus risquée et plus innovante.

La biomécanique des écoulements sanguins a pour objet de modéliser les vaisseaux et le fluide biologique afin de mieux interpréter les mesures non-intrusives, prédire les évolutions notamment de dépôts ou d'anévrismes et aider au diagnostic et aux stratégies réparatrices. Pour cela, l'hydrodynamique non-newtonienne est couplée à la prise en compte de l'élasticité de parois dans des modèles d'aorte, de veine ou de réseaux vasculaires. Par ailleurs, les problèmes classiques d'interaction fluide-structure sont appliqués aux objets biologiques afin de déterminer les déformations de globules rouges ou de capsules dans les écoulements sanguins ou encore les effets

de contraintes induits sur les cellules endothéliales notamment par orientation des fibres d'actine. Enfin les propriétés rhéologiques des tissus sont directement étudiées car ils forment le préalable à une modélisation des comportements des systèmes biologiques ou physiologiques sous contrainte d'écoulements.

En biomécanique de l'être humain, les travaux portent d'une façon générale sur l'analyse des mouvements humains (marche, posture, geste professionnel ou sportif, éventuellement en situation de choc), l'étude des biomatériaux et l'ingénierie tissulaire, la biomécanique ostéo-articulaire, la biomécanique du rachis, du muscle, la biomécanique cellulaire et la rhéologie. Un des objectifs dans ce domaine est de restaurer le contrôle des mouvements en établissant des connexions entre le tissu nerveux et des prothèses robotisées.

L'imagerie est un élément essentiel de la biomécanique, qui permet d'accéder avec précision aux caractéristiques géométriques des matériaux biologiques, mais aussi à certaines de leurs caractéristiques mécaniques. L'imagerie peut aussi être interventionnelle pour aller vers la planification du geste chirurgical.

En accidentologie ou en biomécanique des chocs, l'objectif est de contribuer à l'amélioration des conditions de sécurité des usagers des différents modes de transport, en améliorant la protection des usagers contre les accidents. Cet objectif nécessite de produire des connaissances sur la réponse aux chocs de l'être humain, associée à l'analyse des mécanismes lésionnels, et de les transférer vers des outils d'évaluation : mannequins d'essais de choc, modèles numériques du corps humain.

2.3 LES BIOMATÉRIAUX

L'évolution a sélectionné des matériaux qui souvent ont des propriétés spectaculaires. La compréhension fondamentale du déterminisme de ces dernières et la synthèse de succédanés « intelligents » sont susceptibles

d'apporter des améliorations considérables dans la science et la technologie des matériaux. Cette approche est évidemment importante pour la réalisation de prothèses, mais pas uniquement ; la compréhension des nacres ou des fils d'araignée, par exemple, doit permettre de créer des matériaux d'une résistance exceptionnelle. La synthèse de nouveaux matériaux actifs (c'est-à-dire capables de remplir une fonction comme le font les protéines) paraît aussi promise à un bel avenir.

La complexité extrême des systèmes biologiques et de leur structure met en jeu différents types d'hétérogénéités qui requièrent plus qu'une adaptation des modèles classiques, à cause de la diversité des formes, des dimensions ou des structures des éléments constitutifs et de leurs variabilités dans le temps et l'espace. Ces études de structures hiérarchiques sont indissociables en biomécanique, pour des approches réalistes qui permettent de lier le moléculaire au microscopique et le microscopique au tissu. L'étude des réponses mécaniques de ces structures à des sollicitations statiques et dynamiques, ainsi que l'étude des lésions qu'elles engendrent, sont toujours un problème important pour de nombreuses applications.

Une voie de recherche prometteuse concerne la réalisation d'organes artificiels capables de suppléer aux déficiences du cœur, du rein, du pancréas ou du foie. Ainsi des procédés membranaires issus du génie chimique sont utilisés pour filtrer le sang. Plus ambitieux encore, des complexes associant des cellules à des matériaux de fibre ou de billes sont étudiés pour parvenir à créer des pancréas ou des foies bio-artificiels. La réparation et la régénération osseuse font également appel à des biomatériaux destinés à se substituer aux greffes. Cette recherche s'appuie sur des modélisations de l'architecture interne et des propriétés mécaniques du tissu osseux afin de mieux comprendre l'auto-organisation du métabolisme minéral.

Une meilleure compréhension des mécanismes d'échecs des arthroplasties est un problème important de santé publique. Les activités développées sont plus particulièrement

centrées sur l'étude des interactions des corps en présence, qu'il s'agisse d'interactions entre matériaux inertes ou entre tissus biologiques et matériaux biocompatibles. Différentes échelles sont considérées pour ces interactions : tissus-matériaux, cellules-matériaux, problèmes d'adhésion biomatériaux-matière vivante. Au-delà des problèmes posés par les prothèses à demeure, l'étude de la biocompatibilité s'étend aux matériaux utilisés à titre transitoire (sondes) afin de déterminer leurs éventuels effets cytotoxiques. Elle est également à considérer en cancérologie, l'interaction de cellules cancéreuses avec un matériau pouvant amener soit à la différentiation, soit à l'apoptose.

Les puces à ADN, les profils protéiques différentiels, les paramètres physicochimiques, l'imagerie et la bio-cinématique non destructive, sont également exploités pour développer des référentiels biologiques pour les biomatériaux sur des modèles identifiés, en intégrant la recherche sur les cellules souches adultes et embryonnaires, et pour étudier leur vieillissement physicochimique et biologique.

2.4 BIOLOGIE DES SYSTÈMES INTÉGRÉS

Relations hôtes-parasites

La notion de « biologie des systèmes intégrés » apparaît essentielle pour la découverte de nouveaux concepts concernant l'adaptation des micro-organismes chez l'hôte et l'expression de leur pouvoir pathogène. Ces recherches, qui devront intégrer la dynamique des interactions, feront appel aux disciplines de biologie cellulaire, immunologie, génétique et génomique fonctionnelle (facteurs de pathogénicité, facteurs de susceptibilité) et physiopathologie (modèles expérimentaux). Elles devraient s'appliquer non seulement au niveau cellulaire, *in vitro* ou *ex vivo*, y compris au niveau de la cellule isolée, mais également de façon plus intégrée au niveau d'un tissu, organe ou organisme entier, par le développe-

ment de modèles d'étude physiopathologique pertinents *in vitro* et *in vivo* et l'utilisation des nouvelles techniques d'imagerie *in vivo*.

Neurobiologie et Immunologie

L'évolution des connaissances a conduit les neurobiologistes à se rendre compte que la communication entre cellules et la possibilité de transmettre et de traiter des informations dépendaient de la manière dont les molécules et les cellules sont assemblées, de la nature de ces molécules et de ces cellules, rejoignant une notion familière pour les immunologistes. L'organisation spatiale des molécules et des cellules dans les organes dépend de la spécificité du traitement des signaux reçus et émis par les cellules. Il faut étudier l'activité des molécules et des cellules *in situ*, voire chez l'animal entier par des méthodes d'imagerie microscopique. Les méthodes permettant d'analyser les interactions moléculaires, telles que les « transcriptomes » et « protéomes », deviennent indispensables, mais au-delà de ces données moléculaires, la perception par exemple, particulièrement le toucher (mécanotransduction) ou la transduction des signaux acoustiques en signaux électriques au cerveau dans l'oreille interne impliquent également des questions de physique.

En neurosciences, et particulièrement en neurosciences cognitives, le besoin de relier le fonctionnement normal ou pathologique du cerveau à celui de la pensée et du comportement passe par le développement de nouveaux instruments de mesure (EEG, IRM fonctionnelle, TEP) ainsi que par de nouvelles approches de traitement du signal (ondelettes, approches non-linéaires). Une meilleure compréhension spatio-temporelle de l'interaction entre activation neuronale et réactivité hémodynamique (signal BOLD, par exemple) est nécessaire pour exploiter les données de l'imagerie fonctionnelle (IRMf, TEP). Pour les applications médicales immédiates, ces développements sont particulièrement importants dans le domaine de l'épilepsie et des troubles du sommeil.

Les assemblées moléculaires et cellulaires à l'origine des signaux de différenciation et de développement et de l'établissement des interactions cellulaires et des connexions impliquent clairement la nécessité d'affronter la complexité. Les thématiques qui reposent sur des approches fondées sur une seule méthode, qu'elle soit biochimique, électrophysiologique, anatomique, sont en perte de vitesse.

Organismes et écosystèmes

La compréhension des liens complexes entre les organismes au sein des écosystèmes, du maintien de la biodiversité, de même que l'action de l'homme et son écosystème doit être basée sur des études multidisciplinaires. Les années qui viennent devraient ainsi voir émerger des travaux intégrant des approches chimiques, génétiques, physiologiques, et mathématiques sur des programmes à grande échelle. La disponibilité de plus en plus grande de génomes et d'outils pour leur étude devraient aussi permettre d'avancer dans la compréhension des interactions des organismes et de leur environnement, à court terme (adaptation, régulation génique) et à long terme (approche génomique évolutive).

2.5 LA CHIMIE DU VIVANT

Synthèses et méthodes analytiques

La conception et la mise au point de méthodes analytiques, la spectrométrie de masse, où l'amélioration des seuils de sensibilité est un défi permanent, et la résonance magnétique nucléaire (RMN dans les milieux orientés et RMN du solide) progressent de manière très significative. Pour illustrer le domaine de la physicochimie organique dans un contexte touchant aussi à la physique et à la biologie, on peut prendre pour exemple celui des sondes et des défis en chimie de l'imagerie médicale. Le rôle des chimistes de synthèse et

des physicochimistes doit être renforcé dans la synthèse de nouvelles sondes pour la compréhension et l'étude RPE de radicaux en milieu biologique et des relations entre nouveaux complexes et propriétés de fluorescence, pour la mise au point de marqueurs biomédicaux et des nouveaux composés radiopharmaceutiques pour le diagnostic et la thérapeutique, pour augmenter la spécificité de la vectorisation.

Par exemple, le champ d'étude des radicaux libres en milieu biologique a connu un essor très important ces vingt dernières années et la résonance paramagnétique électronique (RPE) constitue pour cela une méthode de choix. Cela concerne essentiellement la détection de radicaux libres peu persistants, produits par ces milieux, que ce soit dans des conditions physiologiques ou pathologiques, ou qu'ils soient issus du métabolisme de médicaments, et les études conduites en présence de radicaux persistants ou « stables » d'origine exogène. Par ailleurs, les techniques de RPE *in vivo*, et notamment la spectrométrie RPE en bande L, représentent également un champ d'investigation très actif, pour permettre d'effectuer les mesures sur des organismes entiers ou sur des organes.

Un deuxième exemple apparenté à l'interface de la chimie (synthèse organique, chimie de coordination, vectorisation, polymères) de la biologie et de la clinique concerne les composés radiopharmaceutiques et les marqueurs biomédicaux. L'étude *in vivo* d'un processus biochimique ou physiologique nécessite la synthèse de radiotraceurs spécifiques mais aussi la vectorisation de ces composés afin qu'ils puissent atteindre leur cible tissulaire. Des méthodologies de synthèse originales, liées aux radioisotopes utilisés (technécium 99m pour la scintigraphie, carbone 11, fluor 18 pour la TEP, yttrium 90, iodé 131, rhénium 188, astatine 211, bismuth 213, ou actinium 225 pour la thérapie), à leurs quantités et aux formes chimiques disponibles, doivent souvent être développées.

Les perspectives en chimie sont le plus souvent liées aux grands problèmes de santé : vieillissement cérébral, neurodégénérescence,

ischémie cérébrale, cancer, maladies cardio-vasculaires, SIDA et pathologies virales émergentes telles que le SRAS. Les techniques d'imagerie devraient utiliser dans le futur des marqueurs susceptibles de détecter, à un stade précoce, des pathologies neurodégénératives, maladies de Parkinson ou d'Alzeihmer par exemple. Les nouveaux agents de contraste devront être spécifiques pour une enzyme, un récepteur, devront atteindre leur cible biologique, être stables et non toxiques (ainsi que leur agent de vectorisation). Enfin, les techniques d'imagerie du petit animal, devraient permettre la validation de nombreux radiotraqueurs, dans des conditions moins lourdes et moins coûteuses qu'actuellement.

La chimie analytique

La miniaturisation est une étape obligée pour répondre à une diminution de l'usage des solvants organiques, et aux besoins d'analyses rapides, fiables et sensibles.

Des développements spectaculaires sont en cours pour l'utilisation de techniques d'analyse moléculaire robotisées et miniaturisées, telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et la dérivation chimique, incluant l'analyse chirale, et l'électrophorèse capillaire, pour utilisation lors de missions d'exploration planétaire à objectifs exobiologique (mission d'exploration cométaire Rosetta, futures missions d'exploration martienne).

Les microsystèmes intégrés comportent la chaîne analytique totale et le couplage en ligne de toutes les étapes. Ils permettent l'utilisation de certains réactifs chimiques ou biochimiques hautement spécialisés et autorisent l'analyse de quantité infime d'échantillons. La miniaturisation demande de repenser totalement les différentes étapes. Les microsystèmes font appel à la technologie des microcanaux et la microfluidique (flux électroosmotique et micropompage) et demandent des développements particuliers (gels à propriétés spécifiques pour l'électrophorèse, décoration moléculaire de surfaces, modifi-

cations de surface de grains de silice pour la chromatographie, combinatoire d'éluants, etc.). De même des développements spécifiques pour la détection (microélectrodes, ligands et récepteurs spécifiques, couplage avec la spectrométrie de masse, etc.) sont nécessaires.

Les méthodes bioanalytiques émergentes donnent une mesure de concentration pour une substance ou représentative d'un groupe de substances prédéterminées. Les biocapteurs partent des mêmes principes dans leur conception et sont la mesure du futur, *in-situ*, continue, rapide et peu coûteuse. Les recherches actuelles ciblent surtout et l'immobilisation des éléments biologiques et la partie « mesure » sans généralement considérer son intégration avec les phases de préparation et de séparation pourtant nécessaire à tout traitement d'échantillon brut ou de prélèvement brut. Les biocapteurs enzymatiques avec détection électrochimique sont les plus décrits, et un effort est à apporter aux biocapteurs immuno-chimiques utilisant des transducteurs optiques ou piézo-électriques. La technologie actuelle permet le développement de biocapteurs multirésidus, par inclusion dans l'élément capteur d'une série d'anticorps dirigés contre plusieurs composés cibles. Une autre piste de concept analogue est prise actuellement avec les matériaux à empreinte moléculaire capables de mimer des anticorps ou des récepteurs.

Chimie de Synthèse

La mise au point de nouvelles molécules capables de contrôler une fonction biologique donnée est par essence le domaine du chimiste de synthèse qui évolue désormais entre un certain renouveau des produits naturels et la forte émergence des techniques de chimie combinatoire. La chimie de synthèse à l'interface avec la biologie va continuer à se développer. Un des objectifs sera d'obtenir une réelle diversité moléculaire qui est recherchée dans les approches de chimie combinatoire, approche qui doit beaucoup à des concepts algorithmiques. Enfin l'amélioration des procédés est à l'ordre du jour : chimie propre, augmentation des rendements.

L'élaboration de nouveaux concepts pharmacologiques en réponse à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques constitue un axe majeur de la recherche en chimie de synthèse. Cet axe bénéficie d'une conjoncture extrêmement favorable liée aux énormes progrès des sciences biologiques (génomique, protéomique), à l'émergence de nouvelles technologies (chimie combinatoire, informatique, nanotechnologies) et d'un développement instrumental exceptionnel (RMN haut champ, synchrotrons, spectrométrie de masse, imagerie etc.).

Vectorisation

Une convergence tend à apparaître dans la conception des vecteurs et des biomatériaux : il s'agit d'optimiser (ou de minimiser) l'interaction entre le vivant (tissus, cellules) et la matière synthétique. On a donc affaire à la transformation de ces entités avec des agents qui augmentent leur furtivité (souvent des polyéthers) ou au contraire avec des substrats qui permettent une reconnaissance sélective par un type cellulaire ou tissulaire précis (séquences peptidiques proadhésives notamment ou encore ligands dérivés de sucres spécifiques). La synthèse de vecteurs destinés à la transfection cellulaire, qu'elle fasse appel à des monomères, à des oligomères, à des systèmes autoassociés multichargés (tels que les systèmes catanioniques) mais plus généralement les systèmes à libération contrôlée ou à distribution modifiée, ainsi que les biomatériaux sont d'une très grande importance pour les années à venir.

La radiochimie

La radiochimie, ou chimie nucléaire, associe chimie et radioactivité. Elle concerne tous les radionucléides, naturels ou artificiellement produits par fission nucléaire ou accélérateurs (cyclotrons). Elle est confrontée à deux situations extrêmes : une matière radioactive soit présente à l'échelle de quelques noyaux,

ce qui exige la constante progression des moyens de détection de caractérisation des ultra-traces, soit en quantité macroscopique. La relation entre la géosphère, l'environnement et le milieu vivant passe aussi par des éléments traces (stables en général ou radioactifs) qui agissent libres ou liés à des macromolécules. Chez l'homme ou l'animal, ils peuvent donner lieu à des réactions radicalaires et atteinte du génome, propriétés mises à profit pour le traitement des cancers. Une technique peu destructive, la microsonde nucléaire, permet l'étude de matériaux radioactifs ou non, des tissus biologiques. Par ailleurs, les nanosondes avec des faisceaux de l'ordre du dizième de micron, et la possibilité d'envoyer un seul ion (proton, alpha, deuton) sur une cible, fut-elle une cellule vivante ou un microorganisme, ouvrent des perspectives en radiobiologie pour l'étude du rôle des faibles doses.

Un autre enjeu de la Chimie de la matière radioactive concerne la production de molécules marquées à des fins de diagnostic médical (rôle croissant de la TEP et des produits de contrastes IRM et échographie) ou de thérapeutique, ainsi que préciser le rôle des faibles doses sur le vivant.

Radiothérapie interne

La médecine nucléaire est une discipline est déjà ancienne. Dès le moment de la découverte de la radioactivité, ses applications médicales ont été envisagées, de façon souvent naïve, il est vrai. Aujourd'hui, on assiste à un réveil et même à une explosion des approches de radiothérapie interne, grâce à des vecteurs enfin efficaces (anticorps monoclonaux, peptides). Au-delà de l'iode 131 et de l'yttrium 90 des produits thérapeutiques déjà mis sur le marché, de nombreux isotopes plus exotiques (lutétium 177, astatine 211, bismuth 213) pourraient améliorer l'efficacité et l'innocuité des traitements. De même, une meilleure quantification dosimétrique, recourant aux congénères émetteurs de positons, à l'amélioration des algorithmes de reconstruction, de segmentation et de recalage non-rigide et à la simulation numérique des couples patients détecteurs, se met en place.

2.6 L’IMAGERIE BIOMÉDICALE

L'évolution extrêmement rapide des méthodes d'imagerie médicale au cours des deux dernières décennies a des répercussions importantes :

- a) en biologie humaine et en médecine, où l'imagerie médicale constitue le moyen le plus efficace pour mesurer, de manière localisée dans le corps humain, plusieurs dizaines de paramètres avec une innocuité totale ;
- b) dans toutes les recherches nécessitant une expérimentation animale, où les méthodes issues de l'imagerie humaine permettent des études *in vivo* et un suivi longitudinal tout en diminuant le nombre d'animaux sacrifiés pour les besoins de la recherche.

L'intérêt de développer des méthodes d'imagerie moléculaire non destructrices d'objet opaques pour étudier *in vivo* l'expression des gènes est devenu évident. Les techniques de choix dans ce domaine sont la tomographie par émission de positrons (TEP), l'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM), les techniques ultrasonores, optiques et celles basées sur les rayonnements X et gamma. L'objectif principal de ce domaine de recherche est de réaliser une imagerie basée sur l'utilisation d'espèces moléculaires, traceurs ou agents de contraste, possédant la propriété de modifier le signal détectable en réponse à une « activation » locale. Cette imagerie sera de plus en plus une imagerie fonctionnelle, capable de suivre des processus complexes comme le métabolisme ou l'activité cérébrale.

Les très grands progrès réalisés ces dernières années dans le traitement de la propagation des ondes dans les milieux hétérogènes font de la « diffusion multiple » un puissant outil d'étude de ces milieux, qui a des applications en imagerie médicale. Ce sujet est en fort développement. L'approche actuelle fait du désordre un allié alors qu'on cherchait auparavant à en atténuer les effets. On peut ainsi développer une imagerie ultrasonore et sismique « sans source » en utilisant les corrélations du bruit. Les techniques de focalisation

par retournement temporel en milieu diffus ou chaotique sont bien maîtrisées. En acoustique, les applications potentielles en imagerie médicale sont très vastes.

La bioluminescence est de plus en plus utilisée dans l'imagerie du petit animal, en particulier pour la localisation de l'expression génique. L'imagerie de fluorescence, réalisée dans le proche infra-rouge grâce à des traceurs innovants devrait se développer également avec des perspectives d'utilisation clinique en imagerie per-opératoire. Dans un autre domaine, la thérapie photodynamique se développe, avec des prolongements attendus dans le traitement de nombreuses pathologies.

2.7 L’ANALYSE DES RISQUES TECHNOLOGIQUES

Le domaine du couplage ondes-structures biologiques connaît un regain d'intérêt avec le développement de la téléphonie mobile, de nombreuses études ayant déjà été menées dans le domaine des basses fréquences. Dans le domaine des hautes fréquences, l'essentiel des études a été mené dans les gammes de fréquences de la téléphonie mobile avec comme axe principal l'analyse de l'impact sanitaire. Les systèmes sans-fil assurant une communication machine-machine impliquent aussi de prêter une grande attention à « l'obstacle homme ». Et les méthodes d'imagerie et de diagnostic (des très basses fréquences aux micro-ondes et dans la gamme ultrasonore) impliquent aussi cette considération. Il faudrait encourager les études cherchant à analyser les mécanismes de base. Il serait également nécessaire d'étendre ces études aux fréquences élevées et notamment dans les gammes millimétriques. Dans le domaine de la dosimétrie, les études ont beaucoup porté sur la quantification des puissances absorbées par les tissus. Il serait nécessaire de renforcer les études axées sur la « micro-dosimétrie » et l'analyse des interactions au niveau cellulaire. Le couplage ondes-structures biologiques dans

le domaine optique n'est pas moins important, même s'il est moins médiatisé. Par exemple, la visualisation optique de structures biologiques (bactéries, virus, cellules) et de leurs interactions, ou encore les moyens optiques de manipulation de ces structures (pince optique) offrent des perspectives nouvelles à la médecine. Le traitement ou le diagnostic par laser ou fibre optique en médecine constituent aujourd'hui des techniques reconnues aux résultats spectaculaires, dont les domaines ne cessent de s'étendre. Elles devraient bénéficier des progrès des technologies de l'optique, en particulier dans le domaine du guidage du flux de lasers de puissance par de nouvelles générations de fibres optiques.

la question des conditions matérielles de la recherche aux interfaces. Les politiques scientifiques menées ces dernières années présentent des aspects positifs :

- création de réseaux (IFR, GDR, Réseaux d'Excellence européens) qui facilitent les échanges intellectuels et rentabilisent les équipements ;
- création des CID du CNRS qui recrutent et attribuent des promotions à des chercheurs essentiellement interdisciplinaires ;
- lancement de grands programmes de recherche interdisciplinaire.

Il faut cependant rester conscient que la production de la recherche française repose largement grâce à l'attachement des personnels de la recherche à leur travail qui les pousse à se mobiliser davantage pour obtenir les moyens indispensables à leur activité que pour leur salaire ou leur carrière. L'actualité récente a clairement démontré ce point : les mouvements des chercheurs se sont opposés à la précarisation de l'emploi dans la recherche publique et à la diminution constante des crédits des laboratoires et sa répercussion directe sur l'efficacité de leur travail. Le succès d'une recherche interdisciplinaire aux interfaces physique-chimie-biologie nécessitera des niveaux corrects pour l'emploi scientifique et pour le financement du fonctionnement et des équipements des laboratoires. Il nécessitera aussi une méthode dynamique et réactive, à la fois pour ce qui concerne la mise en place de nouveaux partenariats scientifiques et l'émergence des projets, que pour ce qui concerne une évaluation constructive et un financement réaliste.

3 – CONCLUSIONS

L'analyse ci-dessus montre clairement le caractère incontournable de la recherche aux interfaces physique-chimie-biologie dans l'avancement des sciences biologiques, aussi bien pour la résolution des grandes questions fondamentales que pour l'avancement des diverses applications, dans l'alimentation, la médecine, l'environnement.. À l'inverse, la biologie et les défis qu'elle pose à l'instrumentation et aux techniques de calculs et de modélisation sont un des grands aiguillons qui motivent une partie des recherches en physique et en chimie. Dans tous les cas, la situation actuelle montre un incroyable foisonnement d'idées, d'interactions et de projets. Il est donc nécessaire de se poser

ANNEXE

LISTE DES AUTEURS

Jacques Barbet

INSERM U.601, Institut de biologie,
9, quai Moncousu,
44093 Nantes cedex 01

Sylvain Blanquet

UMR7654, École polytechnique,
route de Saclay, 91128 Palaiseau cedex

Vincent Breton

Laboratoire de physique corpusculaire
– LPC (UMR6533), Université Blaise Pascal
(Clermont-Ferrand II), 24 av des landais 63177
Aubière cedex

Didier Chatenay

Laboratoire de physique statistique – LPS
(UMR8550), École normale supérieure, 24 rue
Lhomond, 75231 Paris cedex 05

Vincent Croquette

Laboratoire de physique statistique – LPS
(UMR8550), École Normale Supérieure 24 rue
Lhomond, 75230 Paris Cedex 05

François Guyot

Institut de minéralogie et de physique des
milieux condensés – IMPMC (UMR7590),
Université Pierre et Marie Curie (Paris VI),
140 rue de Lourmel, 75015 Paris

Éric Karsenti

CNRS – Institut Jacques Monod (UMR 7592),
Université Denis Diderot – Paris VII tour 43,
2 place Jussieu, 75251 Paris cedex 05

Jean-Pierre Lefebvre

Laboratoire de mécanique et d'acoustique
– LMA, (UPR7051), Centre national de la
recherche scientifique, 31 Chemin Joseph
Aiguier, 13402 Marseille cedex 20

Alain Pocheau

Institut de recherche sur les phénomènes hors
équilibre – IRPHE, (UMR6594), Université
de Provence (Aix-Marseille I), Technopôle
Château-Gombert, 49 rue F. Joliot Curie,
BP 146 13384 Marseille cedex 13

Isabelle Rico-Lattes

Interactions moléculaires et réactivité
chimique et photochimique – IMRCP
(UMR5623), Université Paul Sabatier
(Toulouse III), Bât. 2r1 RECHERCHE DE
CHIMIE, 118, route de Narbonne, 31062
Toulouse cedex 04

Jean Pierre Samama

Institut de génétique et biologie moléculaire
et cellulaire – IGBMC (UMR7104), Université
Louis Pasteur (Strasbourg I), 1 rue Laurent Fries
BP 10142, 67404 Illkirch cedex

François Raulin

Groupement de recherche en exobiologie
(EXOBIO), GDR1877, 61 avenue du Général
de Gaulle, 94010 Créteil cedex

