

# 16

## CHIMIE DU VIVANT ET POUR LE VIVANT : CONCEPTION ET PROPRIÉTÉS DE MOLÉCULES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE

*Présidente de la section*  
Solange LAVIELLE

*Membres de la section*  
Marie-Christine AVERLAND-PETIT  
Patrick BARTH  
Jean-Daniel BRION  
Isabelle CANET  
Philippe DAUBAN  
Gérard DELERIS  
Arnaud DUCRUIX  
Érick DUFOURC  
Marc FONTECAVE  
Gisèle FRANCK  
Jean-Christophe FRANÇOIS  
Françoise GUÉRITTE  
Éric GUILLET  
Anne IMBERTY  
Céline LANDON  
Dominique LELIÈVRE  
Georges MASSIOT  
Michel ROHMER  
Françoise SCHOENTGEN  
Alain VAN DORSELAEER

Les travaux des chercheurs, enseignant-chercheurs, ingénieurs et techniciens, rattachés à la section 16 du CNRS, ont depuis toujours comme objectif une meilleure compréhension – description – des systèmes biologiques, systèmes régulés par des molécules chimiques et/ou par des réactions chimiques. Ce qui pendant longtemps fut considéré comme une chimie thérapeutique (ou médicinale) a dans une acception élargie évolué vers une Chimie du Vivant pour le Vivant. Cette définition a cependant pour conséquence d'imposer des limites à une recherche qui se veut par essence interdisciplinaire, à la croisée des disciplines que sont la Chimie, la Biologie et la Physique.

Nous proposons, à l'instar de nos Collègues nord-américains, anglais et japonais d'unifier cette recherche transdisciplinaire, ancrée dans une conception moléculaire des processus biologiques, sous l'appellation « Biologie Chimique ». Ceci traduit également l'évolution des problèmes abordés par les membres de la section 16, puisqu'il n'est plus seulement question d'analyser un système hors de son contexte, mais pris dans son contexte biologique.

Le terme générique de Biologie Chimique devrait avoir un effet fédérateur sur une communauté, qui a eu, et a encore trop tendance, à se scinder en groupes, reflets des différentes

écoles de pensée ou de formation : les peptides, les protéines, les sucres, les acides nucléiques, la chimie médicinale ou la chimie thérapeutique, la chimie des substances naturelles, mais aussi les RMNistes, les massistes, les chimistes bioorganiciens *vs.* bioinorganiciens, etc. Tous conviendront que la Biologie Chimique a pour but l'étude de processus régis par des molécules et qu'elle utilise et développe des méthodes issues du monde de la Chimie, et aussi de la Physique, pour répondre à des questions fondamentales de Biologie.

L'ampleur ou l'importance de l'évolution de la Biologie Chimique est soulignée par la parution de nombreux journaux. Il convient de citer le premier «Chemistry and Biology», naissance initiée en 1994 par deux chimistes (KC Nicolaou et SL Schreiber), et parmi les autres : «Current Opinion in Chemical Biology», «ChemBioChem», etc. Tout récemment (juin 2005) ont vu le jour «Nature Chemical Biology», puis en janvier 2006 «ACS Chemical Biology». Ajoutons que toutes les maisons d'édition majeures et les Sociétés Savantes proposent maintenant des journaux spécialisés dans le domaine de la Biologie Chimique.

La section 16, associée au département Chimie est l'alter ego de la section 21 associée au département Vivant, et la Biologie Chimique établit ainsi un continuum de la Chimie vers la Biologie. Une meilleure compréhension des mécanismes fondamentaux qui sous-tendent les processus biologiques ne peut se faire qu'en étroite concertation avec des biologistes, qui à leur tour peuvent s'emparer des concepts et des avancées méthodologiques proposées par le chimiste pour appréhender des problèmes aussi divers que la régulation de la signalisation cellulaire, les relations cellule-hôte, la neurobiologie, etc. dans des systèmes intégrés.

Pour une meilleure analyse de la situation en France, il est recommandé de lire, ensemble, les documents fournis par les sections 16 et 21.

La section 16 en chiffres :

- 293 chercheurs CNRS ;
- 257 ITA ;

– 39 unités relevant, en section principale, de la section 16 : 2 UPR, 28 UMR, 2 FR, 1 GDR, 1 URA, 1 UPS, 1 UMS et 3 FRE.

## PRÉAMBULE

L'écriture de ce rapport «Bilan – Conjoncture» peut apparaître comme un exercice de style, il suffit pour cela de lire les rapports précédents, même de plus de 15 ans ; ou nos Collègues étaient des visionnaires ou vraiment la recherche n'avance qu'à pas comptés ! Il suffirait dans une très grande naïveté ou forfaiture de reprendre et d'insérer certains morceaux choisis écrits par ces Collègues...

Nous n'avons pas voulu faire un bilan exhaustif de ce qu'est l'état de la Biologie Chimique en France à ce jour. Ce rapport ne sera que le reflet des compétences, certes diverses, présentes en section 16 et doit être pris en tant que tel. Il convient aussi de souligner qu'il n'est pas un résumé des activités structurées au sein de l'organisme CNRS, puisque réalisées non seulement dans des UPR mais aussi dans de nombreuses UMR.

Intervenir dans l'analyse et/ou la régulation d'un processus biologique nécessite avant tout des molécules et des méthodes d'analyse, c'est ainsi que sera décliné le champ de la Biologie Chimique. La conception de nouvelles molécules et le développement de méthodes d'analyse étant, bien évidemment, intimement liés aux domaines d'applications.

## 1 – LES MOLÉCULES

L'activité de synthèse de molécules des membres de la section 16 se doit d'être tournée vers «le médicament» : – de l'outil original qui permettra de décrypter, dans un contexte post-

génomique, une voie métabolique ou une (des) voie(s) régulatrice(s) en complément des techniques d'invalidation spécifique de gènes ou d'interférences par ARN double brin, – au candidat-médicament. Identifier une petite molécule, pour moduler une (chaque) fonction protéique humaine ou l'action d'un ensemble de protéines ou de gènes impliquées dans un processus biologiques, est certes très ambitieux, mais ceci doit constituer aujourd'hui un objectif affiché du chimiste biologiste. Cet objectif lui confère de fait une spécificité certaine. Il ne s'agit nullement de prendre la molécule pour sa beauté, dans le seul but du défi synthétique. Le chimiste biologiste ne doit pas perdre de vue que fort souvent la question posée nécessite, avant tout, d'avoir à disposition une quantité « conséquente » de matériel. La synthèse totale d'une molécule à activité biologique comme application d'une méthodologie de synthèse, hors du contexte biologique, n'est clairement pas l'objectif du chimiste biologiste ; par contre, isoler, identifier de nouvelles structures et tenter d'en proposer des substituts plus simples et donc plus faciles d'accès est de son devoir. Les stratégies de synthèse ou d'obtention doivent tenir compte de plusieurs aspects :

- i) le chemin « possible » de biosynthèse de la molécule ciblée ;
- ii) la recherche de molécules « plus simples » (pharmacophore) et/ou ;
- iii) la recherche de la diversité.

Cela implique à la fois de nouvelles synthèses de banques de molécules diversifiées pour du criblage à haut débit mais aussi des stratégies plus traditionnelles de « rational design ».

Au fur et à mesure des progrès de la Chimie, mais aussi de la Biologie, la Médecine a disposé dès la fin du XIX<sup>e</sup> siècle des premières molécules de synthèse douées d'action thérapeutique (aspirine, sulfamides, etc.). La chimie thérapeutique constitue donc une discipline séculaire dont l'histoire est intimement liée à celle de la chimie organique ; les progrès de cette dernière continuent d'ailleurs d'aider largement à la découverte de principes actifs.

Mais au cours des dernières décennies, la chimie thérapeutique a effectué une profonde mutation en intégrant les concepts issus de nouvelles disciplines dont bien évidemment, la biologie moléculaire ou encore la synthèse chimique combinatoire. Malgré ces nouvelles tendances, le schéma en deux temps « conception-optimisation » reste toujours d'actualité, s'accommodant très bien des récents progrès dans différents domaines.

L'analyse du génome et les retombées de la protéomique mettent à jour un nombre toujours croissant de nouvelles cibles – dont il reste cependant parfois à mesurer la pertinence thérapeutique – qui sont autant de nouvelles pistes d'exploration en termes de conception de molécules. La découverte de ligands réceptoriels, l'étude d'activités enzymatiques ou encore l'exploration des domaines d'interaction protéine-protéine, sont accessibles par le criblage des chimiothèques existantes, des collections de substances naturelles isolées ou des bibliothèques issues de la chimie combinatoire. De même, les progrès réalisés dans la détermination de structure de récepteurs ou de complexes récepteurs-ligands (biocrystallographie, RMN ou encore modélisation moléculaire) permettent d'obtenir des informations inestimables pour concevoir des ligands *« de novo »*. A ce niveau, il est intéressant de souligner le rôle du chimiste en tant que concepteur d'outils moléculaires (sondes fluorescentes, radioligands, substrats suicides, etc.) en vue d'une meilleure compréhension des phénomènes biologiques.

Une fois les premières « touches » en main, les mêmes outils structuraux peuvent compléter efficacement la panoplie du pharmacochimiste dans la phase d'optimisation de la molécule active vers ce qui deviendra le principe actif, en tenant compte notamment très tôt, de son absorption, de sa possible métabolisation et d'une éventuelle toxicité par accumulation dans l'organisme. Le défi pour le chimiste sera alors de contourner ces différents obstacles et « d'ajuster » en conséquence la molécule (promédicament, etc.). Sources d'inspiration pour le chimiste organicien, les molécules thérapeutiques peuvent en retour

conduire au développement de nouvelles méthodologies de synthèse, applicables ou non à la synthèse sur support, qui à leur tour enrichiront la diversité structurale. À côté de cet aspect fondamental, la chimie thérapeutique étend désormais son champ d'application vers la création de systèmes plus ou moins sophistiqués de vectorisation, où principes actifs et vecteurs sont liés par une liaison covalente (anticorps-principe actif, dendrimères-principes actifs, etc.).

Ce tableau rapide met en évidence que la chimie thérapeutique constitue un vaste champ transdisciplinaire irrigué par les sciences chimiques et biologiques. Elle doit continuer à tirer parti des avancées dans différents domaines (protéomique, cristallographie, chimie des substances naturelles, etc.) mais aussi de l'émergence de nouvelles disciplines tout en prenant garde, toutefois, à ne pas céder aux phénomènes de mode. Une telle stratégie a démontré encore récemment ses limites, avec une première dérive : «tout» via la modélisation, puis une seconde : «tout» via la chimie combinatoire, etc.

## 1.1 LES BIOMOLÉCULES

Il est des dogmes difficiles à ébranler. Celui clamant que les biomolécules, peptides, carbohydrates, oligonucléosides ou oligonucléotides, ne seraient jamais des médicaments a eu de nombreuses conséquences néfastes sur une communauté de chimistes spécialisés. Associé à l'idée que la chimie des biomolécules n'avait rien «d'honorables» – car répétitive ou peu compliquée (!) – on ne peut maintenant que regretter les lacunes (voire ravages) dans le domaine de la chimie des biomolécules au sein de la communauté française. Nous inclurons dans ce constat les lipides, dont le rôle maintenant établi dans la stabilisation des structures, voire dans la fonction, des protéines membranaires, ou dans la constitution de «radeaux lipidiques» ouvrent de formidables champs d'investigation.

La chimie des acides aminés, peptides et aussi la chimie des protéines, fortes dans de nombreux pays, doivent être reconnues et encouragées, tant les champs d'investigation et d'application sont nombreux : diagnostic, pharmacologie, vectorisation, imagerie, microbiologie, puces à protéines, nanotechnologies, etc. Cette chimie des protéines trouve, par exemple, un domaine d'application en enzymologie. L'enzymologie et la biocatalyse ont connu ces dernières années un regain d'intérêt – (effet «chimie verte»?) –, avec un développement considérable de l'utilisation d'enzymes pour la synthèse de molécules complexes, y compris dans l'industrie (isomérasées, hydrolases, oxydoréductases, lyases, ligases, etc.). Ceci est d'autant plus vrai lorsqu'il y a des étapes de synthèse créant des centres asymétriques. Il convient aussi de mentionner les développements récents sur des biocatalyseurs hybrides, utilisant des protéines-peptides comme récepteurs de complexes de coordination ou complexes organométalliques de synthèse.

Dans la chimie des nucléosides modifiés, des progrès considérables ont été faits pour leur conférer une résistance vis-à-vis des nucléasées et augmenter leurs propriétés thermodynamiques, une fois associés à leur cible qu'elle soit ARN (approche antisens, ou interférence par ARN double brin) ou bien ADN (approche antigène-triple hélice). Des efforts devront être poursuivis dans le domaine de la pénétration cellulaire et de la vectorisation de ces molécules *in vivo* en améliorant les systèmes actuels et en imaginant de nouveaux vecteurs originaux. D'autres axes de recherche utilisant des acides nucléiques et des molécules les reconnaissant spécifiquement sont actuellement développés et nécessitent d'être approfondis, comme la chimie sur matrice ADN, la manipulation, l'imagerie des génomes, l'interférence avec la chromatine et la découverte de nouvelles activités catalytiques médiées par des acides nucléiques (type [désoxy]ribozyme). La chimie assistée par les acides nucléiques, explorée depuis ces dernières années, peut conduire à des découvertes originales, citons par exemple l'élaboration de structures complexes de type nano-structures constituées d'acides nucléiques. Le concept de nucléasées

artificielles datant de quelques années reste toujours d'actualité, corriger un gène défective dans les cellules de mammifères grâce à une recombinaison ciblée reste un objectif important. Plusieurs voies sont explorées à l'heure actuelle, comme l'utilisation de protéines artificielles construites à partir de motifs peptidiques à doigts de zinc. La chimie de conjugaison des oligonucléotides a aussi été explorée pour lier des molécules d'acides nucléiques à des complexes métalliques susceptibles de couper les acides nucléiques, ou à une entité recrutant une nuclease cellulaire. La recherche de nouveaux agents de coupure liés à des oligonucléotides ou à des ligands du petit sillon devrait permettre de disposer d'outils pour induire des recombinaisons ciblées dans des conditions physiologiques.

Le développement de méthodes de détection des acides nucléiques a eu un essor considérable ces dernières années avec notamment l'apparition des puces à ADN. Toutefois, il reste à approfondir et à explorer des méthodes pour visualiser de courtes séquences d'acides nucléiques *in situ* en développant des techniques originales applicables à des systèmes cellulaires. Les approches de sélection aléatoire sur des banques d'acides nucléiques ou approches « aptamères » peuvent aussi permettre de disposer de nouveaux outils de diagnostic ou d'imagerie, via la reconnaissance spécifique d'une protéine cellulaire. Le développement de petits ligands susceptibles d'induire des changements conformationnels d'acides nucléiques représente aussi un domaine en pleine expansion.

La synthèse chimique de carbohydrates complexes reste une thématique ardue, bien que des progrès importants aient été effectués par exemple en chimie combinatoire. Les voies de synthèse biotechnologiques utilisant des enzymes ou directement des micro-organismes sont en pleine expansion. L'intérêt pour l'utilisation des ressources naturelles, tels que les polysaccharides d'organismes marins, reste également pertinent. La conception d'inhibiteurs spécifiques de glycosylhydrolases et glycosyltransférases a des applications importantes pour le développement de nouveaux

agents anti-infectieux ou anticancéreux. Les applications thérapeutiques incluent également la reconnaissance spécifique de certains motifs glucidiques par des récepteurs protéiques. Par exemple, plusieurs laboratoires publics ou privés s'intéressent aux polysaccharides sulfatés de la matrice extracellulaire, héparane sulfate et autres glycosaminoglycanes, qui ont un rôle dans la signalisation cellulaire et la reconnaissance hôte-pathogène. Du point de vue technologique, des développements importants sont en cours dans la conception et la fabrication de glycopuces, mais aussi de glycovesicules et glyconanoparticules qui peuvent être utilisées comme outils de vectorisation ou de diagnostic pour détecter la présence de toxine, virus ou bactéries.

## 1.2 LES SUBSTANCES NATURELLES : DES CLÉS POUR DE NOUVELLES CIBLES

De nombreux médicaments doivent leur existence à la biodiversité du milieu naturel : plus de 40 % des médicaments en proviennent, et dans certains domaines pharmacologiques, cette proportion est encore plus importante. À titre d'exemple, plus de 60 % des médicaments utilisés aujourd'hui en chimiothérapie anticancéreuse sont issus directement ou indirectement de plantes, de microorganismes ou du milieu marin. Par source indirecte, il faut entendre les molécules thérapeutiques « inspirées » de substances naturelles et qui n'auraient vraisemblablement jamais été conçues si les produits-parents n'en n'avaient donné l'idée. Dans les années 90, certaines industries pharmaceutiques, effrayées par une interprétation outrancière de la Convention sur la Biodiversité et poussées en avant par le criblage à haut-débit, ont délaissé l'étude des substances naturelles au profit de recherches dans la synthèse à haut-débit et la chimie combinatoire, dans l'espoir de découvrir rapidement de nouvelles têtes de série, outils biologiques ou médicaments potentiels. Ce changement de stratégie,

certainement trop précipité, n'a pas été couronné par le succès que l'on attendait pour une raison majeure : une diversité structurale en fait très réduite. Or, la diversité structurale est potentiellement liée à une diversité d'interaction avec les cibles biologiques, protéines, enzymes impliquées dans les pathologies. Le milieu naturel (plantes, organismes marins, micro-organismes, insectes) offre cette diversité structurale, source évidente de nouveaux médicaments ou de ligands de cibles spécifiques. Les microorganismes (eubactéries, archaea, eucaryotes unicellulaires) représentent un monde d'une diversité mal estimée (de plusieurs millions à milliards d'espèces différentes) et encore très (trop) peu explorée. La plupart des espèces sont inconnues, ouvrant des perspectives immenses en termes de produits naturels à identifier et de chemins métaboliques à élucider. Les biomarqueurs sédimentaires représentent des fossiles moléculaires d'organismes (la plupart microorganismes) passés ou présent (sédiments récents). La géochimie organique, par exemple, est une source extraordinairement riche de nouvelles molécules, signatures d'organismes ou de voies métaboliques inconnues. Les problèmes associés à la culture de certains eucaryotes unicellulaires, et donc l'obtention d'une biomasse suffisante pour l'analyse, constituent un autre champ d'investigation. Les techniques chimiques et physico-chimiques ainsi que la biologie moléculaire pour travailler ces microorganismes sont suffisamment établies, le goulet d'étranglement se situe certainement au niveau de la microbiologie.

Il est donc essentiel de continuer les recherches sur les substances naturelles, d'autant plus que les méthodes actuelles d'automatisation et robotisation permettent rapidement de découvrir de nouvelles structures et d'évaluer leur activité sur les nouvelles cibles décelées grâce à la génomique et à la protéomique. Ces études, d'une importance capitale, permettront d'assurer le développement de librairies d'extraits naturels (extractothèques), de molécules pures et d'analogues synthétiques (chimiothèques), qui sont, aujourd'hui, des éléments incontournables pour un travail d'envergure dédié à la découverte de nouvelles molécules actives.

La Chimiothèque Nationale (qui inclut l'Extractothèque Nationale), en regroupant plusieurs laboratoires du CNRS et de l'Université, concrétise ainsi déjà cette action. Elle sera réellement efficace quand elle sera associée à une Ciblothèque nationale permettant le criblage des composants de la chimiothèque. Il ne s'agit pas là de rivaliser ou même de « copier » les industries pharmaceutiques, mais de valoriser, autant que faire se peut, le patrimoine chimique de chaque laboratoire. Le but d'une telle démarche est de trouver une (des) molécule(s) capable(s) de fournir des outils originaux pour étudier, valider une cible biologique, un processus cellulaire. La probabilité de trouver une molécule active en criblant un plus grand nombre est bien évidemment augmentée ; le candidat-médicament n'est pas l'objectif premier affiché mais sa découverte peut en découler.

La chimie des substances naturelles est une discipline majeure pour découvrir encore et toujours de nouveaux outils thérapeutiques. Il est regrettable que la valse-hésitation de l'industrie pharmaceutique et des agences de financement de la recherche, hésitant à apporter un engagement total envers cette discipline, hélas considérée comme insuffisamment productive, risque d'en briser l'élan de façon définitive à un moment de notre histoire où la Biodiversité, source de nos molécules, est très menacée. Les outils de l'analyse et les progrès de la synthèse doivent être mis au service d'un renouveau espéré du domaine :

- i) par la synthèse, pour un nouvel éclatement de la diversité chimique dans une chimie combinatoire des substances naturelles et ;
- ii) par l'analyse, dans une compréhension plus globale du métabolisme secondaire, de son rôle et de sa diversité (métabolomique).

## **1.3 BIOMATÉRIAUX – VECTORISATION**

Les biomatériaux concernent essentiellement deux champs principaux. Le premier,

celui des matériaux de substitution d'organes, vasculaires, osseux, etc., repose principalement sur la génération de surfaces fonctionnalisées de manière spécifique par, à la fois des technologies de la microélectronique et de la chimie de synthèse de surface. Cette approche relève pour l'essentiel de l'ingénierie tissulaire et la part de la Biologie Chimique dans cette aventure sera à la hauteur de son investissement dans la compréhension des mécanismes mis en jeu.

Le deuxième champ concerne la vectorisation de principes thérapeutiques actifs qui s'inscrit elle aussi dans la conception de biomatériaux au sens large. Le constat de départ est double, d'abord dans le fait que nombre de molécules, anticancéreuses principalement, présentent des propriétés plus que prometteuses *in vitro* et même *in vivo* chez l'animal, mais ne deviennent jamais un médicament par défaut de biodisponibilité ou par toxicité aspé-cifique. De plus, il est pratiquement obligatoire de disposer, en parallèle à une chimiothérapie efficace, d'un moyen spécifique d'imager l'action de cette chimiothérapie. La réponse à ces questions réside dans la vectorisation de principes actifs ou des biotraceurs. La démarche de vectorisation s'est appuyée au départ sur la conception de systèmes micro- ou nano-particulaires polymères permettant l'encapsulation des actifs. Une deuxième étape a été la conception de systèmes furtifs. L'évolution de l'art mettra en jeu :

- d'une part la conception de nanosystèmes conçus pour s'autoassembler de manière spécifique ou de systèmes hybrides organiques/inorganiques ;

- d'autre part la synthèse de systèmes intelligents de libération, qui s'appuyant, entre autres, sur la connaissance de mécanismes enzymatiques spécifiques, permettront une libération biorégulée tissu-spécifique des principes actifs.

## 2 – LES MÉTHODES D'ANALYSE

Les développements méthodologiques font partie des « mots-clefs » de la section 16. Il est évident que si les membres de la section peuvent revendiquer cette spécificité, les évolutions méthodologiques vont de concert avec les connaissances dans les disciplines, telles que la Chimie, la Physique et la Biologie. Nous citerons avant tout la RMN et la diffraction des Rayons X, la spectrométrie de masse, la modélisation, ainsi que toutes les spectroscopies et spectro-imageries vibrationnelles.

### 2.1 LA RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE

Trois aspects de la Résonance Magnétique Nucléaire sont susceptibles de voir un développement important dans les années à venir : la RMN des solutions, la RMN des solides et l'imagerie.

*RMN des solutions*: L'un des enjeux majeurs de la biologie structurale est la résolution de complexes moléculaires : protéines-protéines, protéines-acides nucléiques, médicaments-protéines ou acides nucléiques. La RMN des solutions a un rôle fondamental à jouer, non seulement pour caractériser la structure spatiale et la dynamique des molécules, mais également celle de leurs complexes. On peut voir dans un proche avenir un développement accru des méthodes capables de déterminer des contacts entre molécules. La RMN à haut-champ a un rôle très important à jouer dans ce domaine. On peut aussi envisager une augmentation du couplage de la RMN des solutions et de la cristallographie, ainsi que des techniques de basse résolution, comme la microscopie électronique et la diffraction des rayons X ou des neutrons aux petits angles (SAXS, SANS). La dynamique des molécules et des interactions moléculaires est

une des caractéristiques de la RMN et devrait voir un développement important en relation avec la modélisation moléculaire à grande échelle (« coarse grain dynamics ») permettant d'accéder à des mouvements à basse fréquence intéressants dans les processus chimie-biologie. La RMN devrait permettre d'obtenir des informations thermodynamiques détaillées sur la formation des complexes. Elle devrait jouer un rôle accru dans l'étude des protéines intrinsèquement non-structurées, et dans leur rôle dans les processus biologiques dans lesquels elles sont impliquées (régulation, signalisation, etc.). Le potentiel de cette technique pour le criblage de ligands sur cibles biologiques devrait se renforcer et bénéficier de la mise en place de chimiothèques. Le rôle de La RMN en glycochimie reste largement à développer. L'étude des métabolites (métabolome) et des lipides (lipodome) commence à prendre de l'ampleur, on peut penser que la RMN des solutions couplée à la spectrométrie de masse a, là aussi, un rôle très important à jouer.

*RMN des solides*: La RMN des solides, en particulier dans sa version rotation à l'angle magique, permet d'étudier les protéines uniformément enrichies en isotopes stables, sous forme de microcristaux, de poudres sèches ou hydratées. Elle devrait voir des développements majeurs dans les années à venir. Comme la résolution est intrinsèquement plus faible qu'en RMN des solutions, les haut-champs magnétiques (20 Tesla et au-delà) seront indispensables. Les protéines membranaires représentent 30% de l'expression des différents génomes et sont difficiles à étudier en raison de leur insolubilité dans l'eau. Il est capital de pouvoir aussi étudier le comportement des peptides biologiquement actifs et des protéines membranaires dans l'environnement natif, c'est-à-dire avec les lipides membranaires. Ce type d'études devrait donc aussi prendre une importance de plus en plus grande avec des systèmes reconstitués sous forme colloïdale (détecteurs, micelles, bicelles) ou bien membranaire. La RMN des solides, soit sous sa forme statique ou bien en rotation à l'angle magique, sur ces systèmes reconstitués devrait voir son importance s'accroître. Les lipides ne sont maintenant plus considérés comme les

parents pauvres de la biologie structurale et voient leurs études se développer de manière importante. Les « radeaux » de lipides semblent avoir un rôle fonctionnel majeur dans les mécanismes de trafic cellulaire et de reconnaissance lors des processus de croissance ou de dérèglement comme le cancer ou lors de la mort programmée des cellules. L'étude par RMN des solides des lipides marqués isotopiquement et sous leur forme membranaire devrait également s'accroître dans les années à venir.

*Imagerie*: L'imagerie, en particulier dans sa forme spectroscopique, apporte des informations moléculaires de première importance et surtout de manière non invasive. Son développement devrait s'accroître dans les années à venir, avec un lien en particulier avec les aspects cognitifs des études sur le cerveau. Un autre aspect à anticiper est le couplage de l'imagerie haute résolution avec la vectorisation des médicaments, en particulier pour les études topologiques de bio-disponibilité de ces particules colloïdales.

De manière générale, les développements méthodologiques très variés : instrumentaux (par exemple les sondes, y compris pour la RMN des liquides), spectroscopiques (méthodes rapides ou sélectives d'acquisition), chimiques (dérivatisation des macromolécules) ou biochimiques (marquage par segment des objets, étiquettes actives en RMN, etc.) sont un axe très actif de recherche, riche de perspectives. Certains de ces développements permettront de répondre à la problématique du moyen, voire du haut débit. En tout état de cause, la saisie, servie par une culture d'interface, de problématiques biologiques ambitieuses, par des approches structurales multiples, est la voie la plus prometteuse du développement de la discipline.

## 2.2 BIOCristallographie – CRYOMICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

Un des grands enjeux d'aujourd'hui est d'identifier et de caractériser des objets molé-

culaires dont l'étude est difficile (problèmes de production, solubilité, ou stabilité) et/ou de complexité de plus en plus grande(s). La complémentarité et la synergie entre RMN et diffraction des rayons X y sont indispensables. De plus, le séquençage des génomes entiers indique qu'un grand nombre de protéines ne sont pas complètement repliées, voire pas du tout, et n'acquièrent leur structure qu'en présence de leur cible. Dans ces conditions, la RMN apparaît comme une méthode de choix capable d'extraire des informations sur l'état conformationnel de ces molécules. Si la description d'une structure à l'échelle atomique fournit en elle-même une moisson d'informations, un des enjeux de l'étude structurale est d'envisager l'objet au sein d'assemblages multimoléculaires complexes. La combinaison de leur description à basse résolution avec une description atomique de leurs composants permet ainsi d'approcher une interprétation structurale de ces assemblages à haute résolution. Cette combinaison promet d'être particulièrement féconde si on y ajoute la diffusion des rayons X aux petits angles.

La connaissance de la séquence des génomes, avec l'aide de la bioinformatique, a un formidable impact dont l'une des retombées les plus immédiates est la «génomique structurale» visant à résoudre des structures à haut débit dans le cadre de thématiques *a priori* peu ciblées.

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. Il reste que les problèmes de clonage, expression, purification et cristallisation sont loin d'être résolus. Leur issue passera, entre autres, par l'élaboration de nouveaux détergents en collaboration avec les physico-chimistes de la matière molle.

Le synchrotron Soleil sur le plateau de Saclay, qui doit ouvrir ses portes en 2007, constitue une chance exceptionnelle de déve-

lopper les technologies de dernière génération qui vont permettre d'aborder les problèmes complexes. Les synchrotrons sont le lieu de nombreuses innovations technologiques, par exemple dans le domaine des automatisations qui atteignent actuellement un degré sans précédent, et vont progressivement éliminer les étapes inutilement laborieuses.

Les progrès des techniques de microscopie électronique (cryomicroscopie, canon à émission de champ, tomographie, techniques de traitement d'images) permettent également d'obtenir d'importantes informations structurales sur des systèmes non-cristallins certes au prix d'une moindre résolution, mais avec l'avantage de pouvoir traiter des arrangements multimoléculaires dans leur environnement membranaire physiologique.

## 2.3 SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Incontestablement, la spectrométrie de masse «est sortie» des seuls laboratoires de chimie. Tout laboratoire et/ou plate-forme de protéomique revendique maintenant l'accès à divers spectromètres de masse. La banalisation de cette technique d'analyse est à considérer avec prudence en se posant deux questions : que peut apporter la spectrométrie de masse à la communauté et qui peut apporter un nouvel élan pour le futur de la spectrométrie de masse?

La protéomique, ce n'est que le début! La demande en analyse protéomique est en forte croissance et le restera longtemps, le champ d'application de l'analyse protéomique s'est élargi considérablement du peptide, à la protéine aux complexes multi-protéiques, englobant maintenant toutes les biomolécules. Rançon du succès oblige, en France de nombreuses plate-formes protéomiques sont actuellement saturées. Le nombre accru d'analyses laisse peu de temps disponible pour des interactions fructueuses avec les biologistes (choix des stratégies d'analyses, interprétation des données, etc.) et pour l'innovation.

Si les Sciences de la Vie ont réalisé un gros effort d'équipement pour des plate-formes protéomiques, la Chimie a modestement soutenu leur développement. Ceci est regrettable ; il est indéniable que les avancées de la spectrométrie de masse et de la protéomique d'aujourd'hui reposent sur les résultats obtenus précédemment dans les laboratoires de chimie. La Chimie a fait beaucoup pour la spectrométrie de masse et la protéomique, mais elle peut sans nul doute faire encore plus. Développer de nouvelles méthodologies en protéomique incombe à la Chimie et il faut laisser la place et le temps à l'innovation pour le futur de la spectrométrie de masse. S'il est possible de caractériser aujourd'hui des centaines de protéines en quelques heures, c'est principalement grâce aux résultats obtenus en spectrométrie de masse des peptides par la communauté des chimistes ; celle-ci a patiemment, sur une durée de plus de 30 ans, mis au point des méthodes de séquençage peptidique sur quelques femtomoles. Il s'agit de méthodes d'analyses directes, et celles-ci peuvent certainement être améliorées par des approches novatrices issues, par exemple, de la chimie analytique. Il ne s'agit pas de mettre au point des appareils plus sensibles, cela est réalisé par les constructeurs. Seules de nouvelles approches analytiques permettront, en effet, d'augmenter les capacités en analyse protéomique, quantité, mais aussi qualité et spécificité des données. Ces méthodes d'analyse devront évidemment être adaptées, ce qui demande une maîtrise technique des instruments, des concepts de la spectrométrie de masse et bien évidemment des compétences en chimie.

Il est important de préserver et de renforcer en France les quelques plate-formes capables de réaliser des analyses sophistiquées à haut débit, mais aussi de poursuivre les développements méthodologiques. Ceci nécessite de disposer d'une masse critique d'appareils, de personnel technique, et bien sûr de chercheurs. La stratégie du saupoudrage a été utilisée jusqu'à présent pour la constitution de plate-formes protéomique, il en résulte que de nombreuses plate-formes réclament actuellement un renouvellement de leur appareillage pour rester compétitives. Or, le taux d'utilisation

et les performances de certaines plate-formes locales ne justifient pas d'investissement nouveau. Néanmoins cette situation détourne des financements, (souvent locaux) des quelques sites nationaux compétitifs qui devraient disposer des appareils plus performants. Il est urgent de soutenir en priorité ces quelques sites qui seront les seuls à pouvoir contribuer aux futurs développements de la spectrométrie de masse et de la protéomique.

## 2.4 MODÉLISATION

La modélisation moléculaire est sûrement l'outil d'analyse qui s'est récemment le plus banalisé dans les laboratoires, grâce à l'augmentation de puissance de calcul des ordinateurs de bureau. Il s'agit bien sûr d'une évolution positive puisqu'elle permet de construire rapidement une image des molécules et encourage les chimistes à penser « en trois dimensions ». Il est nécessaire de maintenir une recherche de haut niveau dans ce domaine, pour poursuivre le développement de logiciels et de champs de force et pour modéliser des systèmes complexes ou sur des échelles de temps plus grandes. Des applications intéressantes sont en train d'apparaître sur des objets moléculaires de tailles variées.

Au niveau des petites molécules biologiquement actives, les méthodes de criblage et de « docking » virtuels sont interfacées avec le développement de chimiothèques. À l'échelle des protéines, les puissances actuelles de calculs permettent d'utiliser les méthodes quantiques (QM) ou les méthodes hybrides (MM/QM) non plus sur quelques atomes mais sur des enzymes en interaction avec leurs substrats, ce qui permet d'élucider des mécanismes réactionnels et ainsi concevoir des inhibiteurs basés sur l'état de transition de la réaction mise en jeu (« rational design ») ou de contribuer au remodelage de ces enzymes. Enfin, les méthodes de dynamique moléculaire, par exemple les approches « gros grain » et les algorithmes multi-échelle, permettent maintenant de simuler des objets de grande taille en présence de

solvant et de (modèles de) membranes, et sur des échelles de temps qui commencent à se rapprocher de celles des méthodes spectroscopiques et qui leur donnent une pertinence biologique étendue.

La modélisation moléculaire a donc élargi son champ d'action et doit maintenant permettre, en complémentarité d'autres approches structurales, de résoudre des structures biologiques très complexes ou d'aider à la conception de molécules actives.

Développements méthodologiques et couplage avec l'expérimental accompagneront le développement des approches de modélisation moléculaire.

## **2.5 SPECTROSCOPIES ET SPECTRO-IMAGERIES VIBRATIONNELLES**

Grâce à des développements techniques récents, qui ont amélioré leur sensibilité, les spectroscopies vibrationnelles ont acquis dans les dernières années un intérêt important. Des méthodes nouvelles sont apparues pour étudier, entre autres, les systèmes biochimiques, particulièrement, par réflexion infrarouge polarisée, de monocouches qui permet d'obtenir des informations sur la conformation et les interactions de biomolécules situées à l'interface membranaire. Il est aussi possible actuellement de doser un grand nombre de constituants sériques sur des micro-prélèvements sanguins, d'effectuer des classifications sur des spectres vibrationnels qui permettent le phénotypage de micro-organismes pathogènes.

L'arrivée sur le marché de détecteurs matriciels a permis l'émergence de l'imagerie infrarouge. La mise en évidence de marqueurs biomoléculaires sur des coupes tissulaires permettra le développement d'une anatomo-pathologie moléculaire et des progrès applicables en temps réel en clinique (gliomes notamment) dans une discipline où ils ont été quasi inexistants depuis une cinquantaine d'années.

Les progrès naissants dans la résolution des imageurs (six micromètres actuellement) et l'utilisation de sources synchrotron donneront accès à l'imagerie fonctionnelle cellulaire.

## **3 – RAPPORTS AVEC LES AUTRES ORGANISMES DE RECHERCHES**

Les chercheurs, enseignant-chercheurs, ingénieurs et techniciens rattachés à la section 16 ont une spécificité, ou une formation initiale, ancrée dans le moléculaire, étant chimistes, physicochimistes ou biochimistes, qui leur confère originalité et force par rapport à des collègues d'autres organismes, tels que l'INSERM et l'INRA. Les problèmes qui ne peuvent être ignorés par l'organisme relèvent plus de la position de certains chimistes, agents CNRS, isolés dans des laboratoires du CNRS qui ne dépendent pas du département chimie, ou affectés dans des laboratoires hors organisme : concertation et réaffectation (réaffectations croisées) seraient peut-être une solution pour une meilleure efficacité, dans tous les cas une meilleure concertation apparaît nécessaire dans une première étape.

## **4 – FORMATION – ENSEIGNEMENT**

Les membres de la section 16 doivent réfléchir à la formation par la recherche et l'enseignement dans le domaine de la Biologie Chimique, surtout dans le contexte des nouveaux parcours universitaires, LMD. Ce sont des chimistes qui feront évoluer la Biologie Chimique. C'est aux chimistes de faire le pont

entre les deux disciplines. Il convient donc d'avoir une formation forte en chimie et de plus faire l'effort, qui peut paraître considérable, d'une formation dans l'étude des processus biologiques. Ce constat est d'autant plus vrai du fait du recul progressif de la biochimie, discipline, qui était forte en France et dans d'autres pays. La plupart des biochimistes ont délaissé cette formation dans leur recherche, et par voie de conséquence de l'enseignement, au profit de l'étude des systèmes intégrés (Biologie Systémique). La réforme des études des Sciences de la Santé a conduit à une quasi-disparition de l'enseignement de la Chimie. Il serait souhaitable que la Chimie soit à nouveau inscrite comme une des priorités dans la structuration de la pensée des étudiants de ces cursus. Avoir une formation forte ancrée en chimie tout en ayant très tôt une ouverture ou une sensibilisation aux concepts et méthodes de la Biologie et de la Physique, tel devrait être le parcours du chimiste biologiste.

Le constat est facile :

1. les étudiants sont « fascinés » par les questions posées par les Sciences de la Vie, et s'inscrivent en nombre dans ces cursus de formation, alors que les filières Physique et Chimie se vident ;
2. de nombreux étudiants (doctorants) « biologistes de formation » ont des problèmes d'insertion.

Une proposition peut être avancée. Il conviendrait de démontrer aux étudiants qu'ils pourraient répondre à des questions relevant du Vivant (et donc à leur attente) par une formation initiale ancrée en Chimie, si l'image de la chimie n'était plus seulement associée aux nuisances du monde moderne, mais aussi aux avancées dans les Sciences du Vivant. Une évolution de l'image de la Chimie par une meilleure communication et une meilleure information au niveau de la formation à l'interdisciplinarité sont les premières étapes à franchir.

La plupart des Universités ont regroupé, peut-être trop tôt dans le cursus, des formations qui sont interdisciplinaires, alors que des Universités, plus grandes en taille, ont eu tendance à organiser des parcours monothématiques

trop loin dans leurs cursus (M inclus). Toujours est-il que la sectorisation des disciplines semble revenir en force, à un moment où le décloisonnement devrait être le maître mot ! Il est encore trop tôt pour mesurer les conséquences du système LMD dans la formation en Biologie Chimique, mais on se doit d'être très vigilant ; la disparition de la Biochimie, mais aussi d'autres formations connexes (pharmacologie, physiologie), impose cette prudence.

Cette tendance regrettable au cloisonnement des disciplines est aussi le lot des organismes de tutelle, du CNRS (départements) aux Universités (UFRs), au ministère, (*voir* pages suivantes).

La deuxième question que la section est en droit de poser touche à l'évolution du profil des laboratoires. Dans les UPR, mais aussi dans les UMR, se pose le problème du renouvellement des cadres chercheurs, soumis à la loi des concours, mais aussi (sans démagogie, on pourrait dire surtout) de celui des ingénieurs et techniciens. Bien souvent la politique du CNRS met en péril des activités dépendant des compétences et du savoir-faire spécifique de ces personnels, dont le renouvellement n'est plus assuré. Il ne s'agit pas seulement d'un problème de plan de formation, il s'agit de la définition de la place et du rôle de ces ingénieurs et techniciens au sein même d'une structure.

## 5 – RAPPORTS AVEC L'INDUSTRIE

Globalement, recherche académique et recherche privée ont longtemps cohabité, etc. en s'ignorant, sauf dans le domaine de la Santé où les relations entre chercheurs et industrie pharmaceutique existent depuis longtemps. La situation a évolué ; les incompréhensions de nature culturelle tendent à s'estomper, mais des obstacles d'ordre structurel restent à surmonter. La Biologie Chimique se prêtant très bien aux relations industrielles – la dotation de

laboratoires est constituée en partie, pour certains importantes, par des contrats avec des sociétés industrielles – la section 16 souhaite apporter quelques éléments de réflexion.

Les regroupements industriels de ces dernières années ont permis la constitution de grands ensembles de taille internationale. Ces fusions ont entraîné des restructurations importantes dans les départements de Recherche et Développement avec un impact important sur l'innovation en France, notamment lorsque les centres de recherche ont été transférés à l'étranger... Il a été alors mis fin aux collaborations nouées auparavant et les demandes de ces « anciens partenaires privilégiés » ont évolué dans le contenu et dans la forme, avec des conséquences non négligeables sur les financements des laboratoires.

Les relations avec les « jeune-pousses », les sociétés de biotechnologies et PME, très friandes de collaborations menées avec le monde de la recherche publique (dont parfois les fondateurs sont issus), soulèvent des difficultés d'un autre ordre. Sensibles aux caprices du marché et à ceux des capitaux-risqueurs, les longévités de ces nouveaux partenaires ne reposent pas uniquement sur les résultats de l'innovation. Leur finalité tournée vers une application « rapide » devient beaucoup plus (trop?) pesante, voire contraignante, dans les laboratoires publics.

Un des éléments qui freine le partenariat privé-public est sans nul doute à mettre sur le compte de la faiblesse des structures de valorisation dans les organismes, où peut-être les efforts en moyens humains (des professionnels de la valorisation) et financiers n'ont pas toujours été rassemblés. Or, un des éléments clés de la relation entre privé-public concerne la protection de la découverte. Dans le cadre de collaborations, c'est souvent l'industriel qui maîtrise – financièrement – les opérations, se réservant le droit d'abandonner le brevet en fonction des objectifs stratégiques du moment. La prise de brevets par les seuls organismes de recherche relève encore du parcours du combattant, d'enormes progrès de structuration doivent être faits.

Les nouvelles structures mises en place, dont les pôles de compétitivité, ont pour but de clarifier les situations et d'institutionnaliser les relations entre recherche académique et recherche privée. Un certain scepticisme sur la pérennité de telles associations peut être de mise si on considère les problèmes soulevés par la valorisation entre grands groupes, « jeune-pousses », PME et laboratoires publics.

## 6 – CONCLUSION

Transdisciplinarité, interdisciplinarité, ou pluridisciplinarité, credo des trente dernières années, acceptées voire prônées par de nombreux organismes, doivent faire face en France à une tendance administrative fâcheuse de catégorisation (pour évaluation, est-il dit), qui trop souvent freine bon nombre d'initiatives. Dans ce domaine, l'organisme CNRS comme tous les autres organismes ont d'énormes progrès à faire, il ne suffit pas de graver dans le marbre le mot interdisciplinarité, encore faut-il en aider et faciliter la pratique, et ceci à tous les niveaux de la formation à l'application en recherche. Regrouper toutes ces activités et les acteurs dans une discipline reconnue à part entière, la Biologie Chimique, devrait éviter dispersion ou balkanisation, néfaste à toute la communauté des chercheurs, comme aux organismes.

L'appartenance et l'évaluation des acteurs de ces recherches, plus que les projets eux-mêmes, restent dans nos systèmes le talon d'Achille de l'interface. Au moment où se met en place un nouveau mode d'évaluation des chercheurs et des laboratoires, la section 16 souhaite affirmer avec force sa position. Les équipes et les personnes les constituant (chercheurs, enseignant-chercheurs, ingénieurs et techniciens) doivent être évaluées dans le contexte d'un projet de recherches, si besoin est au sein de la structure d'appartenance (UMR, UPR, Institut, etc.). Des recherches d'interface, telles que celles développées par les

acteurs de la section 16, nécessitent des compétences variées, mises au profit, à un moment donné (4 ans-8 ans?), d'une question posée et/ou d'une thématique. C'est dans ce contexte que TOUT doit être évalué : projet et acteurs. Nous ne pouvons envisager une « équipe de compétence » que dans un contexte qui sert la Science et non pas dans un contexte dont la finalité est l'évaluation !

« Inventer c'est penser à côté », sans disserter sur cette phrase de A. Einstein, nous souhaitons rappeler qu'il faut laisser la place à l'imagination et à la spéulation. Une trop grande planification peut être aussi un frein aux grandes avancées. L'évolution ces dix dernières années et maintenant la place prise par les nanotechnologies, dans tous les domaines, témoignent de cette part d'imagination mais aussi de la volonté de toute la communauté d'appliquer les découvertes faites. Dans ce cas particulier, il conviendrait d'éviter l'emballlement d'un trop grand enthousiasme, en prenant toutes les précautions pour éviter dangers et écueils (*Voir l'absence de dialogue scientifique autour des OGM*).

Toute recherche nécessite des moyens en personnel et en matériel ! Pratiquer la politique

de la sébile n'aide pas à attirer les jeunes et à les convaincre de suivre un long chemin de formation difficile, peu rentable ou « rentabilisé » quand comparé avec d'autres parcours. On ne rentre plus en recherche comme en religion, vocation oui mais encore faut-il la susciter et l'entretenir.

Les financements via l'ANR se mettent en place, ces subventions vont constituer à court terme un ballon d'oxygène pour nombre de laboratoires. Il faut cependant se montrer prudent :

– i) il ne faut pas perdre des compétences en écartant (en ne finançant pas) des recherches fondamentales, sous prétexte que la case « applications » n'est pas renseignée ou « convaincante » ;

– ii) il faut éviter les réorientations thématiques opportunistes, en laissant la possibilité de financement non pas sur 3 ou 4 ans (un coup) mais renouvelable sur 6 à 8 ans voire plus ; la science avance à pas comptés ;

– iii) il ne faut pas perdre des savoir-faire existants, parce que moins productifs l'espace de quelques années.