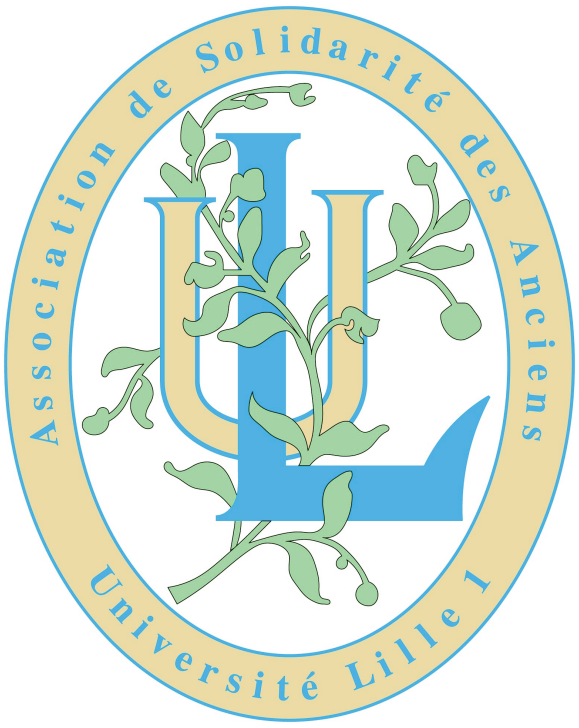
Histoire de la Biochimie

à la Faculté des Sciences
et
à l'Université de Lille
Sciences et Technologies

de 1958 à 2000



Tome 13
de
L'Histoire de la Faculté des Sciences de Lille
et de l'Université de Lille 1 - Sciences et Technologies

Filigrane de couverture:

Modèle moléculaire d'un glycanne N-acétyllactosaminique biantenné proposé par le laboratoire en 1975

Pure and Applied Chemistry, vol 42, No 3, 431 - 477 (1975)

Edition novembre 2015

Histoire de la Faculté des Sciences de Lille et de l'Université des Sciences et Technologies de Lille

Tome 1: Contributions à l'Histoire de la Faculté des Sciences (1854 - 1970)
Par A.Lebrun, M. Parreau, A. Risbourg, R. Marcel, A. Boulhimsse, J. Heubel, R. Bouriquet, G. Gontier, B. Barfetty, A. Moïses

Tome 2: Le Laboratoire de Zoologie (1854 - 1970)
Par Roger Marcel et André Dhainaut

Tome 3: La Physique à Lille (du XIXème siècle à 1970)
Par René Fouret et Henri Dubois

Tome 4: L'Institut Electrotechnique (1904 - 1924) et l'Institut Electromécanique (1924 - 1969)
par Arsène Risbourg, **l'Institut Radiotechnique et les débuts de l'électronique (1931 - 1969)** par Yves Leroy, **l'Automatique (1958 - 1997)** par Pierre Vidal

Tome 5: Histoire de la Botanique à la Faculté des Sciences (1856 - 1970)
par Robert Bouriquet, Le Doyen Maige par Raymond Jean

Tome 6: L'Electronique à l'Université de Lille de 1968 jusqu'à l'an 2000
par Yves Crosnier

Tome 7 : La Physiologie Animale et la Psychophysiologie à la Faculté des Sciences de Lille de 1958 à 1970
par Pierre Delorme et Jean-Marie Coquery

Tome 8 : La Géologie à la Faculté des Sciences de Lille de 1857 à 1970
par François Thiébault

Tome 9: L'Institut de Géographie de 1970 à 1986
par Étienne Auphan, Alain Barré (coordination) , Brigitte Coisne, Monique Dacharry, Charles Gachelin, Éric Glon, Claude Kergomard, Jean Sommé, Nicole Thumerelle et Jean Vaudois.

Tome 10: Nouvelles réalités, nouvelles exigences, une option volontariste : le SUAIO
p ar Jean Bourgain - Alain Carette - Claudine Dumont - Francis Gugenheim Françoise Langrand - Daniel Lusiak (coordination) - Jean Marlière - Jeanne Parreau Henri-Jacques Saint-Pol.

Tome 11: L'histoire de l'IUT A de 1966 à 1986
par J. Defrenne, M. Descamps, H. Ghestem, Y. Leroy, M. Lobry, B. Pourprix, F. Wallet.

Tome 12: Histoire de la Chimie à la Faculté des Sciences et à l'Université des Sciences et Technologies de Lille de 1950 à 1986
par Jean-Claude Boivin, Jean-Pierre Bonnelle, Jacques Bonte, Claude Brémard, Guy Buntinx, Michel Delhaye, Bernard Dubois, Jacques Foct, Michel Guelton, Françoise Langrand, Jean Lhomme, Claude Loucheux (coordinateur), Jean-Pierre Sawerysyn, Henri Sliva, Michel Wartel.

Tome 13: Histoire de la Biohimie à la Faculté des Sciences et à l'Université des Sciences et Technologies de Lille de 1958 à 2000
Sous l'autorité de Jean Krembel, coordinateur : René Cacan
Ont participé à la rédaction : Stéphane Bouquelet, François Caner, Henri Debray, Philippe Delannoy et Gérard Strecker avec le concours des Anciens : Emile Ségard, Michel Monsigny et Louis Grimmonprez

Sommaire

I- Origine de la biochimie à la Faculté des sciences de Lille 5

II- Le fondateur et animateur : Jean Montreuil 5

III- Les premiers temps (1958-1966): la rue Gosselet et les premiers collaborateurs 8

IV- De l'ARN à la biologie moléculaire 11

V- La saga des glucides libres et conjugués 13

1- Les oligosaccharides libres des milieux biologiques 13
Monosaccharides urinaires 13
Oligosaccharides urinaires 14
Oligosaccharides du lait 15
2- Détermination de la structure des oligosaccharides et glycoasparagines accumulés dans les urines de patients atteints de maladies lysosomiques 16
3- Les oligosaccharides liés aux protéines : les glycannes 18
Les N-glycannes 18
Les O-glycannes 19
4-Polysaccharides et lipopolysaccharides bactériens, mannoseinositolphospho-céramides fongiques, polysaccharides végétaux 21

VI- Le métabolisme des glucides conjugués 22

1- Glycosidases et catabolisme 22
Catabolisme normal et pathologique des glycoconjugués (maladies lysosomiques) 22
Purification de glycosidases dans un but théorique (mécanisme d'action) et technique (utilisation de la spécificité pour déterminer la séquence d'un oligosaccharide) 23
Développement de l'étude des glycosidases 24
2- Biosynthèse et glycosyltransférases 26
Etude des ectoglycosyltransférases 1974-1981 26
Etude du transport des glycosylnucléotides 1982-1989 27
Etude de la régulation du cycle des dolichols et des cellules mutantes de glycosylation 1989-2000 27
Etude des glycosyltransférases responsables de l'addition des sucres périphériques 27

VII- De la conformation à la fonction 29

1- Les biomembranes des cellules normales et cancéreuses 29
Les lectines végétales : isolement, détermination de leurs spécificités et utilisation dans le fractionnement de glycoconjugués d'origines diverses 29
Les glycoconjugués des membranes plasmiques des cellules normales et transformées 30
Les glycoconjugués de Plasmodium falciparum pendant sa phase asexuée érythrocytaire 34
2- De la glycosylation de la lactoferrine à ses fonctions biologiques 34
La glycosylation des transferrines 35
Les lactoferrines : de la purification à la production par génie génétique 35
La lactoferrine : une arme défensive 36
La lactoferrine aujourd'hui 38
3- De la lactoferrine à la cyclophiline 38

VIII- La biochimie appliquée à l'industrie agroalimentaire **39**

1- L'amidonnerie-glucoserie **39**
2- Procédé industriel de préparation d'un édulcorant à partir d'un végétal : *Stevia rebaudiana bertoni* (1982-1986) **40**
3- Enzymes à effet anti-rassissant du pain (1998-2001) **41**
4-Caractérisation de marqueurs précoces de l'altération de la chair de poisson (1993-1999) **41**

IX- L'enseignement de la biochimie **42**

1- La licence et la maîtrise de biochimie **42**
Contenu des certificats **42**
Organisation de l'enseignement **42**
A propos des travaux pratiques **43**
2- Participations aux enseignements de l'UFR de biologie **44**
3- Le troisième cycle **44**
4- Enseignements à l'IUT **44**
5- Enseignement au Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM) **46**
6- Institut Agricole et Alimentaire de Lille (IAAL) **46**
7- Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille (ENSCL) **47**
8- Participations à la création de l'enseignement de biochimie dans d'autres universités **47**
9- Accompagnement des étudiants. **47**
Accompagnement en premier cycle : le DEUG Biostages **48**
Accompagnement en deuxième cycle ***48***
Accompagnement en troisième cycle ***49***

X- Les temps forts de la biochimie : les dessous de l'organisation des congrès et d'écoles internationales **51**

1- Le colloque international du CNRS sur les glycoconjugués (20-27 juin 1973) Villeneuve d'Ascq **51**
2- Les écoles d'automne **51**

XI- Témoignages **52**

1- Mes débuts en biochimie, à Lille (1958 - 1961) par Emile Ségard **52**
2- Souvenirs de la rue Gosselet par François Caner **57**
3- Souvenirs de la construction du C9 par François Caner **62**

XII- Biographies **70**

1- Bernard Fournet (1940-1993) par François Caner **70**
2- Geneviève Spik (1939-2009) d'après Jean Montreuil **72**
3- André Verbert (1942-2000) d'après Jean Montreuil **74**
4- Jean Krembel (1929-2015) **76**

XIII- B.A.-BA de glycobiologie **79**

Auteurs et remerciements **81**

Histoire de la biochimie à la Faculté des sciences de Lille et à l'Université des sciences et technologies de Lille de 1958 à 2000

I- Origine de la biochimie à la Faculté des sciences de Lille

La biochimie à la Faculté des Sciences est fille de la chimie biologique médicale. Parmi les fondateurs figurent les auteurs du *Traité de biochimie médicale* qui fit référence pendant de nombreuses années : Michel Polonovski, Albert Lespagnol, Paul Boulanger et Jean Montreuil.

M. Polonovski, doyen de la Faculté de médecine de Lille disparut en 1954 dans un accident de la route; A. Lespagnol était doyen de la Faculté de pharmacie de Lille, où il enseignait la chimie organique biologique; P. Boulanger, élève de M. Polonovski, était titulaire de la chaire de biochimie à la Faculté de médecine de Lille, où il dirigeait le laboratoire de chimie biologique ; enfin, J. Montreuil, pharmacien de formation, était l'élève de P. Boulanger et enseignait la chimie biologique en dirigeant, à la Cité hospitalière, le laboratoire de biochimie cellulaire de l'Institut de recherches sur le cancer de Lille (IRCL)

J. Montreuil fut nommé professeur à la Faculté des sciences en 1963. Le laboratoire de biochimie de la Faculté des sciences est installé au départ dans les locaux vacants de l'institut de zoologie, rue Gosselet, dans le quartier latin de Lille. Des thèmes de recherche se développent dans deux domaines : la santé et la pathologie d'une part, le transfert des connaissances et des technologies vers les entreprises locales d'autre part.

II- Le fondateur et animateur : Jean Montreuil

Homme du Nord, J. Montreuil (né en 1920) se plaisait souvent à rappeler malicieusement ses origines flamandes. Il obtient son baccalauréat philosophie en 1939 au lycée Henri Wallon de Valenciennes. Suit la difficile période de la guerre où J. Montreuil entre comme engagé volontaire et participe à la Campagne de France. Cette période marquera beaucoup certains traits de son caractère tels que discipline et sens du devoir. A son retour, il entreprend des études de pharmacie et après avoir obtenu son diplôme de pharmacien, il ouvre en 1945 une officine qu'il dirigera de 1945 à 1948. Il se plaisait souvent à rappeler à ses

amis médecins ou scientifiques cette spécificité « je suis pharmacien ». Cette formation lui donnera d'ailleurs une double passion pour la biologie et la chimie.

***Figure 1.** Le Professeur Jean Montreuil créa le laboratoire de chimie biologique en 1958 et le dirigea jusqu'en 1990.*

Passionné par la recherche scientifique, il rejoint l'Institut de recherches sur le cancer de Lille (IRCL) où sous la direction de son maître le Professeur P. Boulanger, il entreprend des travaux dans le domaine de la structure des acides nucléiques et soutient sa thèse de doctorat ès sciences en 1952. Successivement assistant à la Faculté de médecine et pharmacie de Lille, puis chef de travaux pratiques, maître de conférences en 1958, il est nommé professeur titulaire de la chaire de chimie biologique en 1963.

C'est à cette époque qu'avec son équipe, il crée le laboratoire de chimie biologique d'abord à Lille (rue Gosselet), puis dans la nouvelle Université des sciences et techniques de Lille encore en friche à Villeneuve d'Ascq. En novembre 1958, J. Montreuil est chargé de la création *ex-nihilo* des enseignements de biochimie à la Faculté des sciences. J. Montreuil était un enseignant et pédagogue hors pair. On ne suivait pas ses cours, on les vivait. J. Montreuil était un orateur né, un grand séducteur. Il n'avait pas besoin des moyens modernes de l'informatique pour rendre ses cours attrayants, attractifs, illustrés d'exemples les plus contemporains de la recherche en biologie, allant jusqu'à montrer aux étudiants les résultats expérimentaux les plus récents obtenus par son équipe. Nul doute que ses cours ont été pour beaucoup à l'origine de vocations pour l'enseignement et la recherche.

J. Montreuil était un scientifique hors du commun. Beaucoup de choses étaient pour lui source d'émerveillement. Visionnaire, il a toujours été convaincu de l'intérêt et de l'importance de l'interdisciplinarité en sciences et notamment en chimie biologique allant jusqu'à localiser son nouveau laboratoire à la croisée des territoires de la biologie et de la chimie. Si les acides nucléiques, qui étaient déjà très en vogue dans les années 60 avec la découverte de la structure de l'ADN et du code génétique, furent ses premières amours, très vite il entreprend des recherches que nous pouvons qualifier comme étant à contre-courant pour leur époque, sur ce qui fut la passion de toute une vie, la recherche sur les « sucres ».

Avec une poignée de pionniers parmi lesquels Emile Ségard, Michel Monsigny, Gérard Strecker, Jacques Descamps, André Chéron, François Caner, Bernard Fournet, Geneviève Spik, répartis entre la Facuté des sciences et l'IRCL, il entreprend des recherches sur la structure, la fonction et le métabolisme des glycoprotéines et des molécules glucidiques complexes. Les résultats obtenus dans ce domaine de recherche lui confèreront ses « lettres de noblesse » et lui vaudront, ainsi qu'à son équipe, une reconnaissance nationale et internationale encore aujourd'hui incontestée. Son nom est à jamais associé à la recherche sur les sucres. J. Montreuil est un pionnier de la glycobiologie moderne et se qualifiait, à qui voulait l'entendre

de « glycomaniaque ». A cette époque, la structure primaire des N-glycannes demeurait inconnue. Son équipe s'attachera dans un premier temps à développer les outils analytiques nécessaires aux études structurales : dosages colorimétriques, chromatographie en phase gazeuse, procédés chimiques tels que l'hydrazinolyse, l'acétolyse, la méthylation. Ces méthodes sont d'ailleurs réunies dans trois fascicules, édités à 1500 exemplaires et diffusés gratuitement dans l'ensemble des laboratoires français. Cette véritable bible a servi de manuel de laboratoire pour les jeunes générations. Ces travaux conduiront en 1973 à la description de la structure primaire du premier N-glycanne, celui de la sérotransferrine, protéine découverte et étudiée dans son laboratoire, et par la suite étendue à une autre protéine isolée et caractérisée par G. Spik, la lactotransferrine (aujourd'hui lactoferrine). Très vite son laboratoire acquiert une renommée internationale et se voit confier l'organisation du second *Congrès international sur les Glycoconjugués* à Villeneuve d'Ascq en 1973. Le laboratoire oriente par la suite ses travaux sur la conformation des glycannes, vers le métabolisme des glycoprotéines et sa régulation, vers la biologie moléculaire de ces composés et vers leur pathologie. Le virus de la recherche n'a jamais cessé d'habiter J. Montreuil, puisque lorsqu'il quitte la direction du laboratoire en 1990 (remplacé à ce poste par le Professeur André Verbert), plutôt que de goûter à une retraite bien méritée, il initie dans le laboratoire de nouvelles recherches sur le vieillissement et l'apoptose des hématies, recherches qu'il animera jusqu'à sa disparition en 2010.

Jean Montreuil est l'auteur de 760 publications, plusieurs dizaines de chapitres d'ouvrage et de cinq ouvrages faisant référence dans le domaine de la biochimie des molécules glucidiques. Il est organisateur de plus d'une dizaine de congrès internationaux et notamment avec A. Verbert des *FEBS Schools in Glycobiology* qui se déroulaient tous les deux ans à Villeneuve d'Ascq et qui ont contribué à former des centaines de chercheurs. D'importantes distinctions ont reconnu la valeur des travaux de J. Montreuil : prix Maurice Nicloux en 1956, grand prix de la Fondation Jaffé en 1982, prix Charles Léopold Mayer en 1985, médaille d'argent de l'Université royale d'Utrecht en 1988 décernée pour la première fois à un étranger. Il fut membre de l'Académie de médecine et de l'Académie des sciences de Paris, membre d'honneur de l'Académie roumaine, commandeur dans l'Ordre des palmes académiques et dans l'Ordre national du mérite et, en 2006, commandeur dans l'Ordre national roumain de la culture. Sa renommée internationale lui a valu d'être nommé *Docteur honoris causa* de l'Université libre de Bruxelles, de l'Université d'Utrecht, des Universités AL. I Cuza d'Iasi et Vasile Goldis d'Arad en Roumanie.

Homme de devoir, Jean Montreuil s'investit dans de nombreuses fonctions de responsabilité dans différentes organisations décisionnelles de la Recherche au niveau national, notamment au CNRS. Conseiller auprès de la Direction de la recherche du ministère de l'éducation nationale et de la recherche pour le secteur des sciences de la vie et de la santé, délégué scientifique du CNRS pour la région Nord/Pas de Calais, président du conseil du Département des sciences de la vie du CNRS, J. Montreuil aura eu le mérite d'établir un solide réseau d'amitiés où science et humanisme auront été les lignes directrices.

J. Montreuil quitte la direction du laboratoire (alors Unité mixte de recherches Université-CNRS) en 1990. Il est remplacé par le Professeur A. Verbert. Ce dernier était entré au laboratoire en 1967 et commença ses travaux sur la transcription sous la direction d'un chercheur venu de l'Université Libre de Bruxelles : Velibor Krasmanovic. Il suivit V. Krasmanovic, que l'évolution des recherches amenait à utiliser les outils de la virologie, pour un séjour dans l'unité INSERM de virologie dirigée par le Professeur Jean Samaille. C'est en 1974 qu'A. Verbert rejoignit le laboratoire de biochimie pour faire équipe avec René Cacan et développer la thématique des glycosyltransférases. Il prit la direction du laboratoire à la suite de J. Montreuil jusqu'à son décès prématuré en 2000. Pendant cette période, deux groupes rejoignirent le laboratoire. Ce fut d'abord en 1987 le groupe Steven Ball qui se consacrait à des recherches sur la biosynthèse de l'amidon avec comme modèle une algue unicellulaire *: Chlamydomonas reinhardtii.* Puis une année plus tard, celui de Jean-Pierre Bohin dont le thème des recherches était l'étude des glucanes périplasmiques osmorégulés synthétisés par les bactéries à Gram négatif.

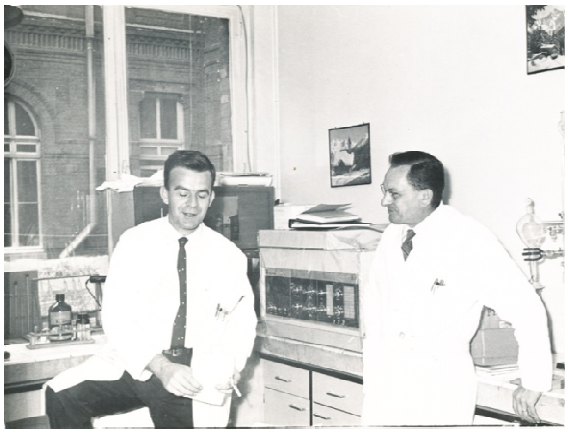
III- Les premiers temps (1958-1966) : la rue Gosselet et les premiers collaborateurs

Comme il était en usage à l'époque, deux sujets de thèse furent proposés à E. Ségard, premier élève de J. Montreuil. Le premier concernait les méthodes d'extraction des ARN macromoléculaires à partir des nucléoprotéines des cellules de foie de rat et des fractions subcellulaires. Le second concernait les sucres du lait de femme, sujet sur lequel A. Lespagnol avait travaillé et publié, et plus particulièrement le colostrum des premiers jours de la lactation. Il avait décrit une méthode de fractionnement par des concentrations croissantes de méthanol et identifié plusieurs fractions de glycoprotéines et d'oligosaccharides de masses moléculaires décroissantes, jusqu'à arriver au lactose qui cristallise dans le méthanol pur. Il avait enfin caractérisé une fraction finale entièrement soluble dans ce dernier, de même composition que le lactose, qu'il a appelé allolactose ; il avait suggéré à l'époque qu'il pouvait s'agir de l'isomère 1-6 du lactose, caractéristique du lait colostral, mais personne ne l'avait formellement démontré. Le projet était donc d'isoler à nouveau cette fraction et de démontrer par méthylation s'il existait ou non un 2, 3, 4 triméthyl glucose. Ce sujet permettait d'implanter au laboratoire de la rue Gosselet les méthodes de perméthylation des glucides et les techniques de séparation et identification des dérivés méthylés des sucres.

C'est en janvier 1960 qu'eut lieu à la Faculté des Sciences de Lille, dans un amphi de la Société de biologie présidée par le Professeur René Defretin, la première communication scientifique sur la question de l'allolactose du lait de femme. Jean Montreuil était très heureux d'entendre son premier élève parler de glucides à la Faculté des sciences ; c'était la première fois que les participants entendaient parler de glucides par quelqu'un d'autre que lui-même !

Durant le dernier trimestre 1959, une quantité suffisante de fraction allolactose était isolée pour pouvoir commencer à envisager d'en définir la structure. Après avoir identifié tous les dérivés partiellement méthylés du galactose et du glucose, E. Ségard démontra l'absence de 2, 3, 4 triméthyl glucose dans les fractions finales du fractionnement méthanolique du colostrum, ce qui signifiait que l'isomère 1-6 du lactose n'existait pas dans le lait de Femme. Ce résultat fut publié avec A. Lespagnol dans les *Comptes Rendus de la Société de chimie biologique* ; il s'agissait en fait d'un résidu de lactose entraîné dans la fraction finale de méthanol pur.

Avec les arrivées de Suzanne Mullet, Arlette Chosson (plus tard Mme Adam-Chosson) et Wanda Kobus (plus tard Mme Defert-Kobus), un nouveau thème de recherche fut développé concernant les glucides et glycoprotéines des fluides biologiques, dont les premiers résultats furent présentés en 1960 au *Symposium sur la Chromatographie de Bruxelles*. Les travaux se poursuivirent ensuite avec les arrivées successives de Jacques Queval, Nelly Sheppler, Geneviève Spik, Nicole Duquesne, Michel Monsigny, Yves Boulanger, Jacques Brohon, Bernard Castiglioni ; on les retrouve dans les conférences et publications sur le lait, les urines et le sérum humain, notamment dans *International Symposium on Carbohydrates and Glycoproteins* de Jouy en Josas, en 1961, ainsi qu'à Bruxelles en 1962 et à la *Société de biologie de Lille* la même année. Avec l'extension à l'ovomucoïde, les travaux de la rue Gosselet étaient lancés. Parallèlement les travaux d'E. Ségard à l'IRCL ont commencé à se développer plus activement par une étude comparative des principales méthodes d'extraction phénolique des ARN macromoléculaires d'une part, et sur les cellules libres, d'autre part. Les ARN étaient extraits en travaillant d'abord sur le tissu total (le foie de rat) puis sur des fractions cellulaires isolées par centrifugation différentielle, dans le but d'isoler et de comparer les ARN macromoléculaires des noyaux, mitochondries, ribosomes et cytoplasme. Cela a permis à E. Ségard de travailler avec Alain Demaille en microscopie électronique pour déterminer des conditions précises permettant d'isoler chaque fraction cellulaire dans un état de pureté maximum. La progression de ces travaux a été décrite aux réunions de la *Société de Biologie* en 1960 et 1961, tandis que les résultats sur les extractions phénoliques paraissaient dans les *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*.



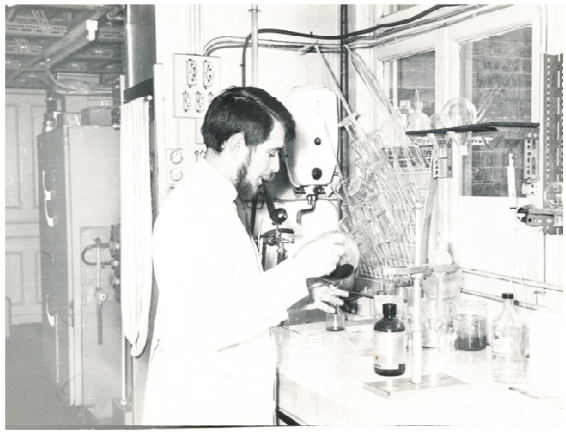


Figure 2. : Deux photographies prises dans le laboratoire de la rue Gosselet. En haut : Emile Ségard à gauche et Jean Montreuil à droite, en bas : Michel Monsigny.

Concernant l'isolement de cellules à partir des tissus, diverses méthodes furent utilisées : simple dispersion mécanique, perfusion par des complexants du calcium ou par des solutions enzymatiques protéolytiques, incubations de fragments de tissus à des températures physiologiques dans des solutions isotoniques avec protéases et complexants du calcium. Ces méthodes furent comparées en regardant à la fois les rendements en cellules totales, leurs intégrités morphologiques en microscopie électronique, leurs activités métaboliques par incorporation de phosphate radioactif (^{32}P) dans les ARN et, pour les meilleures, leur développement en culture *in vitro*. Grâce à Annette Colbeau un nouveau milieu a pu être défini. Celui-ci, à base de sérum + ATP + sels de Mn, fournissait des cellules plus actives, présentant une intégrité morphologique au microscope électronique et une survie en culture *in vitro.*

E. Ségard présenta ses 2 sujets de thèse le 23 Mai 1964 et fut nommé maître de conférences en 1965. La nouvelle équipe de la rue Gosselet se développait activement, entièrement dirigée sur les glycoprotéines par J. Montreuil. E. Ségard reçut le Prix des deuxièmes thèses de l'Union des industries chimiques à Paris et, en Juin 1965, il fut élu membre de la Société chimique de France.

A l'IRCL, l'équipe des cellules libres voyait arriver Jean Pierre Mallevais en plus d'A. Colbeau, de Claire Mangez et de W. Defert-Kobus.

De septembre 1959 jusqu'à son départ à Grenoble en 1969, E. Ségard assura les cours de biochimie de BMPV, rue Gosselet et ceux du CPEM dans les bâtiments provisoires à Annappes.

E. Ségard a décidé en 1969, à la suite de profondes divergences avec J. Montreuil, d'arrêter ses activités en recherche fondamentale à Lille, d'accepter le poste proposé par la Société Air Liquide dans son Centre de recherche à Grenoble et de démissionner de l'Education Nationale. Il venait d'être nommé professeur des Universités à 33 ans.

Les thèmes de recherche concernant les glucides libres et conjugués se développèrent au retour de J. Montreuil des *Gordon Conferences* organisées par le Professeur Roger.W. Jeanloz à Swampscott en 1964. Une équipe de jeunes chercheurs fut mise en place (elle fut rapidement baptisée : la chaîne Ford) dont chaque participant avait pour mission de mettre au point ou de perfectionner des méthodes analytiques relatives à l'étude des glycoconjugués tout en poursuivant ses recherches personnelles. Parmi ceux-ci, M. Monsigny qui introduisit (avec A. Adam-Chosson) le dosage des acides aminés après chromatographie, électrophorèse ou électrochromatographie sur papier. Après l'étape de séparation, les acides aminés étaient révélés par pulvérisation d'une solution de ninhydrine et séchage à température modérée dans une armoire chauffante. Les tâches étaient ensuite dissoutes dans un solvant et la quantité d'acides aminés était appréciée par la mesure de l'absorbance de la solution. Quelque temps après, suivant les conseils du Professeur Gérard Biserte, J. Montreuil obtint des crédits pour acheter un « auto analyseur Technicon ». M. Monsigny fut nommé responsable de l'analyse des acides aminés avec cet appareil de chromatographie sur résine échangeuse d'ions et révélations en continu grâce au réactif à la ninhydrine. Cette technique a été d'une très grande utilité pour l'ensemble des jeunes chercheurs travaillant sur les glycopeptides et les glycoprotéines du laboratoire. M. Monsigny mit en évidence le point d'attache entre le glycanne et la protéine dans les glycoprotéines N-glycosylées.

G. Spik préparait sa thèse : *étude comparée des propriétés physicochimiques et de la structure de la sérotransferrine et la lactotransferrine humaines*. Son second mémoire de thèse rassemblait ses résultats sur les procédés chromatographiques et électrophorétiques de dosage des monosaccharides. Ce mémoire fit partie des monographies du laboratoire éditées à 1500 exemplaires qui furent largement diffusées. Le sujet de la lactotransferrine et des IgA de sécrétion était également travaillé par J. Descamps qui venait d'avoir un poste de stagiaire de recherches au CNRS. G. Strecker commençait à l'IRCL les études sur les mono- et oligosaccharides de l'urine humaine. B. Fournet put accompagner M. Monsigny (en partageant sa bourse postdoctorale) lors de son stage à la Queen's University, Kingston, Ontario, Canada dans le département de Chimie sous la direction du Professeur J.K.N. Jones pendant le printemps et l'été 1969. A son retour au laboratoire, il se spécialisa dans la méthylation des oligosaccharides et l'analyse des dérivés méthylés, avec comme modèle l'orosomucoïde du plasma humain. Louis Grimmonprez poursuivait les travaux sur les oligosaccharides du lait de femme. Bernard Bayard, recruté à l'IRCL, perfectionnait une méthode de coupure partielle des glycannes : l'acétolyse. F. Caner se chargeait des méthodes séparatives en particulier de l'électrophorèse. André Chéron était, quant à lui chargé de l'étude de la lactotransferrine bovine. Se joignait à cette équipe Claude Cardon, assistant en biologie animale, qui essayait d'isoler d'une neurohormone d'annélide (*Nereïs diversicolor)*, recherches effectuées sous la direction du Pr Maurice Durchon (laboratoire de biologie animale de la Faculté des sciences de Lille).

IV- De l'ARN à la biologie moléculaire

A la rentrée universitaire de 1966, Henri Debray rejoignit le laboratoire de chimie biologique C9 de Villeneuve d'Ascq qui, quittant la rue Gosselet à Lille, était en train de terminer son déménagement.
Avec lui entraient au C9 Gérard Barbry, Stéphane Bouquelet, Serge Desreumaux et Pierre Dupont alors que Bernard Bayard et Jean Pierre Kerckaert rejoignaient l'IRCL, tous attirés par la Biochimie.
Avec G. Barbry et S. Desreumaux, H. Debray rejoignit E. Ségard. Celui-ci définit son sujet de recherches sur l'étude des relations entre le couplage de la phosphorylation oxydative et les biosynthèses des ARN, en utilisant comme modèle les cellules hépatiques du foie de rat adulte obtenues par dissociation du tissu dans un milieu renfermant du sérum de bœuf, du citrate de sodium, de l'ATP et des sels de Mn. Le développement de ce procédé d'isolement des hépatocytes, l'étude de leurs activités respiratoires et du métabolisme des ARN avaient constitué le premier sujet de thèse d'E. Ségard, thèse soutenue en 1964.
En octobre 1966, alors que le C9 sur le campus universitaire d'Annappes n'était encore qu'un vaste chantier, H. Debray fut envoyé en stage à l'IRCL par E. Ségard pour apprendre auprès de A. Colbeau, J.P. Mallevais et R.P. Singhal la méthode d'isolement des cellules libres, la détermination de leurs activités respiratoires avec l'appareil de Warburg, l'isolement des ARN totaux et l'étude de leurs métabolismes après incorporation de ^{32}P.
Ce stage se poursuivit jusqu'en janvier 1967, date à laquelle H. Debray rejoignit le C9 et commença le programme de recherches établi avec les hépatocytes de rat isolés par la méthode au sérum citraté et la détermination de leurs activités respiratoires en présence de différents substrats avec l'appareil de Warburg. Quelques essais de déterminations de ces activités furent également réalisés à cette époque à l'aide d'un analyseur d'oxygène Beckman.
Dans un premier temps, une étude critique des conditions d'isolement et d'incubation des hépatocytes conduisit à adopter une nouvelle méthode d'isolement des hépatocytes par perfusion du foie de rat par une solution de saccharose et d'EDTA à 4° C. Les cellules obtenues présentaient une activité respiratoire avec différents substrats supérieure à celles préparées par la méthode au sérum citraté /ATP/Mn, qui subissaient les conséquences d'une surcharge en citrate.
A partir de décembre 1967, la détermination des rapports de phosphorylation (P/O) de mitochondries, isolées de foie de rat, en présence de différents substrats, fut mise au point et appliquée aux hépatocytes isolés en milieu saccharose / EDTA et en mars 1968 commencèrent les études sur l'incorporation d'uridine tritiée dans ces cellules, incubées en absence ou en présence de différents substrats (succinate, citrate, …) et d'ADP + Pi ou en présence de citrate, ADP + Pi et d'inhibiteurs de l'activité respiratoire. Ces incubations étaient suivies par l'extraction des ARN totaux dans lesquels l'activité spécifique de l'acide uridylique incorporé ainsi que les rapports G+C / A+U et Pur / Pyr étaient déterminés.
Les résultats obtenus montraient que la composition des ARN après respiration endogène des cellules isolées était très voisine de celle du tissu total incubé dans les mêmes conditions, alors que les cellules ayant respiré avec le citrate ou le succinate présentaient des modifications profondes de cette composition. Cependant, la complexité des facteurs de régulation intervenant au niveau de la cellule entière conduisit à poursuivre ce travail avec des systèmes simplifiés associés à des contrôles de l'intégrité des ARN néoformés, par centrifugation en gradient de densité de saccharose. Ces systèmes devaient associer le complexe ADN-ARN avec des mitochondries isolées présentant une intégrité du couplage de la phosphorylation oxydative et des fractions ribosomiques isolées également du foie de rat. Dès mars 1968 avec F. Caner, l'isolement des polysomes, des ribosomes 80 S et de leurs sous unités 60 et 45 S fut mis au point ainsi que l'extraction au phénol des ARN messagers ou ARN ribosomiques des fractions obtenues.
En ce qui concerne les cellules libres, une lignée hépatocytaire, obtenue en 1973 par H. Debray et Maud Collyn à partir de foie de rat Wistar normal, dissocié par action de la collagénase et de la hyaluronidase, put être entretenue jusqu'en juin 1975 par repiquage hebdomadaire. Ces cellules présentaient, en microscopie électronique, un aspect « épithélium-like », synthétisaient la sérum albumine et présentaient une stimulation de l'activité tyrosine aminotransférasique par les corticoïdes. L'obtention de cette lignée et ses propriétés firent l'objet en 1974 et en 1976 de 2 notes aux *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*.

En juin 1975, cette lignée d'hépatocytes fut perdue et fut remplacée par la lignée de cellules RL, hépatocytes de rat adulte également adaptés à la culture in vitro par le Dr. M.E. Kaingh à partir d'un foie de rat Sprague, selon la méthode de Cahn *et al*. Ces cellules ainsi que leurs homologues transformées par le virus de Moloney (RL/MSV) nous avaient été fournies par le Pr Luc Montagnier (laboratoire de virologie, Institut Pasteur, Paris).

Les recherches sur les acides nucléiques furent poursuivies après le départ d'E. Ségard par l'équipe dirigée par Jean Krembel et composée de F.Caner, Didier Dubruille et par la suite de Claude Dissous, de Colette Lempereur (plus tard Mme Dissous) et de Claudie Verwaerde. Cette équipe s'est engagée dans l'étude du rôle des polysomes libres et des polysomes liés à la membrane du réticulum endoplasmique du foie de rat dans la biosynthèse des glycocoprotéines.
Après une mise au point longue et minutieuse des techniques d'isolement et de purification (thèse de C. Lempereur 1978), ainsi que des méthodes de contrôle de l'intégrité structurale par microscopie électronique (thèse de Cl. Verwaerde) et fonctionnelle (système acellulaire) des deux catégories de polysomes, le choix s'est porté sur la synthèse d'une glycoprotéine du lysosome : l'alpha-L-fucosidase (thèse de Cl. Dissous 1979). Le choix de cette enzyme a été guidé par plusieurs facteurs : présence de L-fucose dans beaucoup de composés biologiques : glycoprotéines, oligosaccharides, glycolipides, facilités d'isolement et de purification, même en quantités faibles et une déficience héréditaire connue de cette enzyme qui provoque l'accumulation de glycoconjugués fucosylés dans les tissus nerveux, maladie connue sous le nom de fucosidose.
Ces travaux ont précisé le rôle des polysomes liés dans la synthèse de l'alpha-L-fucosidase exportée, confirmant l'hypothèse de la "séquence signal", mais n'excluant pas d'autres interactions membranes-ribosomes (thèse de Cl. Dissous). Dans le cas de la synthèse de l'alpha-L-fucosidase lysosomale, la participation des polysomes libres à la synthèse n'a pas pu être confirmée.

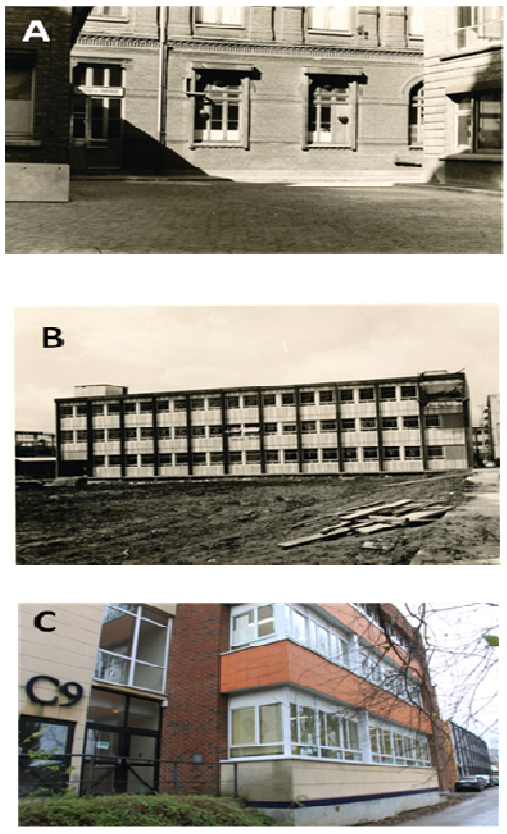


Figure 3. L'évolution du laboratoire de chimie biologique. A : entrée du laboratoire rue Gosselet, B : le bâtiment C9 du Campus de Villeneuve d'Ascq peu avant le déménagement en 1966, C : le C9 actuel : vue de l'extension ajoutée dans les années 1990.

V- La saga des glucides libres et conjugués

Reprenant d'anciens travaux sur les sucres du lait de femme, J. Montreuil se consacra avec ses premiers élèves à l'étude de ces glucides en utilisant une nouvelle technique : la chromatographie sur papier, qu'il avait introduit dans son ancien laboratoire de la Faculté de médecine. Ce fut le point de départ d'une recherche fructueuse sur les sucres libres et conjugués à des protéines, c'est-à-dire les glycoprotéines. L'évolution de ces travaux de recherche s'est faite par étapes successives :

La première est caractérisée par la mise au point de techniques fondamentales d'analyse et de détermination des structures glucidiques, fondées sur des procédés chimiques (hydrolyse, méthanolyse, β-élimination, méthylation, acétolyse, hydrazinolyse), un travail de pionnier long et méticuleux dans lequel tous ses collaborateurs étaient engagés.

La deuxième étape fut marquée par l'introduction, grâce à l'étroite collaboration avec Johannes Frederik Gerardus Vliegenthart (Université d'Utrecht), de la résonance magnétique nucléaire (RMN) dans l'étude des glycannes en très petites quantités (50 à 200 µg). L'acquisition et la maîtrise de cette nouvelle technique, plus performante et plus rapide que les techniques précédentes, va conduire naturellement vers l'étude du métabolisme de ces composés.

La troisième étape voit la réorientation de beaucoup d'équipes vers la biologie moléculaire introduite autour des années 1970. Les voies du catabolisme des glycoprotéines furent abordées ainsi que celle de la biosynthèse des glycannes et le rôle des enzymes spécifiques du métabolisme (glycosidases et glycosyltransférases) est précisé.

La dernière étape concerne le développement de la biologie et de la pathologie des constituants des membranes cellulaires : glycoprotéines et glycolipides. Le rôle général de la glycosylation est étudié dans l'expression, le repliement et la durée de vie des protéines auxquels ces glycannes sont couplés. Durant cette période, des équipes se sont orientées vers l'étude du rôle des glycannes dans des récepteurs membranaires, les antigènes de surface (antigènes oncofœtaux).

1- Les oligosaccharides libres des milieux biologiques

Monosaccharides urinaires

Recruté en 1963 comme boursier DGRST (Délégation à la recherche Scientifique et technique) par J. Montreuil, G. Strecker se voit confier le soin de poursuivre les travaux déjà engagés sur les monosaccharides et oligosaccharides urinaires provenant du métabolisme glucidique et du catabolisme des glycoprotéines.

En ce qui concerne les monosaccharides, la présence de glucose (et son élimination massive dans les cas de diabète), de galactose (dans le cas beaucoup plus rare de galactosémie congénitale) et de sucres d'origine purement alimentaire comme le lactose, le saccharose, le xylose (consommation excessive d'oignons) ou le mannoheptulose (consommation d'avocats) était parfaitement connue. G. Strecker avait également pour mission de confirmer la présence d'allulose (identifié par J. Montreuil) et d'établir son origine. Ces travaux conduisirent à l'identification de nombreux cétoses comme le sédoheptulose, le ribulose et le xylulose et de certains sucres provenant de la modification de sucres naturels au cours de la cuisson des aliments comme il fut montré pour l'allulose et le 3-cétofructose.

En 1966, les Professeurs Guy Fontaine, Jean-Pierre Farriaux (pédiatres) et Gérard Biserte observèrent que l'urine d'un enfant de trois ans souffrant d'une pathologie neurologique difficile à diagnostiquer présentait un pouvoir réducteur équivalent à 1,5 – 2 g de glucose par litre. Cependant l'analyse chromatographique montrait l'existence d'une substance inconnue, éventuellement de nature glucidique dont l'identification fut confiée à G. Strecker. Ce sucre fut alors identifié en moins de 24 heures comme étant de l'acide sialique (ou acide N-acétylneuraminique), sucre connu alors depuis une dizaine d'années. Il convient de signaler que G. Strecker, à la demande de J. Montreuil, venait d'isoler, à partir de plusieurs kg de glandes sous maxillaires de bœuf, de mouton et de cheval, plusieurs centaines de mg d'acides sialiques différents : acides N-acétyl neuraminique et N-glycolyl neuraminique éventuellement O-acétylés (4 OAc, 9 OAc, 4,9 OAc).

Figure 4. ***Le personnel du laboratoire de Biochimie en 1994. La nouvelle aile du bâtiment C9 venait d'être terminée et André Verbert venait de remplacer Jean Montreuil à la direction du laboratoire.***

L'urine du patient renfermait 5 à 12 g d'acide sialique par litre. Il était donc nécessaire de mesurer l'élimination journalière de ce sucre qui était en fait de 6 à 7 g / 24 h. Cette élimination massive d'acide sialique était accompagnée de celle de N-acétyl mannosamine (précurseur de l'acide sialique), de N-acétyl glucosamine (précurseur de la N-acétyl mannosamine sous l'action d'une 2' épimérase) et de 2-acétamido glucal (produit intermédiaire de la réaction précédente). Sachant que le nucléotide de transfert CMP- NeuAc est l'inhibiteur allostérique de la 2' épimérase, cette synthèse massive d'acide sialique ne pouvait être due qu'à une mutation du site allostérique de cette enzyme.

Cette maladie métabolique, appelée donc sialurie ou plutôt sialurie massive, est restée unique durant plus de 25 ans jusqu'à ce qu'un deuxième cas soit observé aux Etats Unis et les auteurs confirmeront alors cette hypothèse.

Le terme sialurie massive vient du fait qu'un autre type de sialurie, discrète cette fois (puisque l'excrétion urinaire est alors de l'ordre de plusieurs dizaines de mg / 24h), mais responsable de très importants troubles neurologiques, fut décrit quelques années plus tard en Finlande. Cette maladie (Salla disease) est plus fréquente et résulte de l'absence de la protéine qui transporte l'acide sialique du lysosome vers le cytosol, après avoir été libéré par une sialidase.

Oligosaccharides urinaires

G. Strecker s'était vu confier le soin de vérifier la présence dans l'urine d'oligosaccharides (précédemment décelés à l'état de traces par chromatographie sur papier) provenant du catabolisme des glycoprotéines et éventuellement caractéristiques de certaines pathologies. L'urine renferme 20 à 50 mg / L d'oligosaccharides dont une forte proportion de saccharose, de lactose et d'oligosaccharides renfermant du xylose. Le protocole mis au point pour cette étude consista à collecter 10 litres d'urine d'une même personne, à concentrer 10 fois ce liquide puis à précipiter les protéines par de l'éthanol. Le surnageant était concentré et le résidu sec repris par un petit volume d'eau. La solution était alors déposée sur une colonne de charbon éluée par de l'éthanol à 50 p. 100. La solution obtenue ne renfermait que du matériel oligosaccharidique et,

en dissolvant ce matériel dans 4 ml d'eau, l'urine était pratiquement concentrée 4000 fois. Il était donc maintenant possible de les visualiser par dizaines par chromatographie sur papier et de les isoler. Ce procédé permettait d'étudier la composition en sucres d'un oligosaccharide dont la concentration urinaire n'excédait pas 0,2 mg / L.

La plupart de ces oligosaccharides ont des séquences proches de celles des oligosaccharides du lait, c'est-à-dire qu'ils possédaient du lactose sur lequel venait se greffer des unités de N-acétylglucosamine, de galactose et de fucose. Ils étaient en outre terminés par des unités d'α-N-acétylgalactosamine ou d'α-galactose selon le groupe sanguin (A ou B) du sujet.

Aux cours de ces études, G. Strecker eut l'occasion d'analyser l'urine de deux patients atteints de galactosémie et observa la présence d'oligosaccharides absents des urines précédemment étudiées et possédant du galactose en position terminale réductrice. Des épreuves de galactosurie provoquée chez des collègues volontaires ont permis de répéter ces observations et surtout de préparer plusieurs centaines de milligrammes de chacun de ces composés. Ces observations ont permis en outre de démontrer que la majorité des oligosaccharides urinaires ne provenait pas d'un catabolisme incomplet des chaînes oligosaccharidiques des glycoprotéines ou des glycolipides mais de biosynthèses occasionnelles se réalisant dans certaines muqueuses en présence de galactose ou de lactose en excès. Une autre expérience réalisée avec du xylose a conduit à la caractérisation du tétrasaccharide acide sialique-galactose-galactose-xylose, résultat en soi intéressant quand on sait que la séquence galactose-galactose-xylose représente le point d'attache de certains glycosaminoglycannes avec une protéine.

Les oligosaccharides du lait possèdent des déterminants antigéniques tels que Lewis^{a} Lewis^{x} ou Lewis^{b} mais jamais de substance A ou B. Le Dr A. Lunblad (Université de Lund, Suède) a depuis montré qu'un nourrisson de groupe sanguin A ou B nourri au sein (donc absorbant plusieurs grammes d'oligosaccharides par jour) éliminait dans ses selles tous ces oligosaccharides. Toutefois les oligosaccharides portant les épitopes Le^{a} et Le^{b} restent intacts tandis que ceux qui possèdent la séquence terminale fucose-galactose (épitope H) sont quantitativement transformés en substances de groupe A (ou B) par addition d'α-N-acétylgalactosamine ou de β-galactose durant leur transit intestinal. Ces observations renforcent les conclusions faites à propos de l'origine des oligosaccharides urinaires.

Oligosaccharides du lait

Les recherches sur les oligosaccharides du lait, qui avaient constitué l'un des thèmes de base du laboratoire bien avant les années 60, ont bénéficié à partir de 1964 de l'arrivée de L. Grimmonprez dont l'activité scientifique sera alors entièrement consacrée à ce sujet. Certes de nombreuses difficultés techniques restaient à surmonter et en premier lieu, celui de la perméthylation quantitative des oligosaccharides et surtout celle de leur identification par chromatographie, puisque la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse n'était pas encore devenue une méthode de routine. Les procédés de méthylation et la préparation des dérivés standards nécessitaient de grandes quantités de matériel. De plus le laboratoire devait tenir compte de la concurrence de grands laboratoires comme celui de Richard Kuhn en Allemagne, et plus tard, celui de Kobata, au Japon.

Les travaux de L. Grimmonprez ont porté essentiellement sur une méthodologie de fractionnement des oligosaccharides selon leur charge, en mettant à profit les caractéristiques de l'électro-rhéophorèse. C'est ainsi que fut isolé le premier oligosaccharide disialylé : le disialyllacto-N-tétraose, qui est en fait l'oligosaccharide acide majeur du lait. Des dizaines d'autres composés furent également caractérisés par L. Grimmonprez, avant son départ pour Montpellier en tant que maître de conférences, puis de professeur de la Faculté de pharmacie.

Ces travaux seront poursuivis par G. Strecker, dix ans plus tard, dans le cadre d'un contrat avec le laboratoire Merck. Ces travaux seront largement facilités grâce à l'introduction de la RMN au laboratoire, puisque la séquence d'un oligosaccharide peut être établie en une étape par examen du spectre RMN réalisé avec 1 à 2 mg de matériel.

Trois nouvelles séquences de base furent ainsi identifiées, portant ainsi à 12 le nombre de ces dernières. La fucosylation et la sialylation de ces 12 « noyaux » conduit à près d'une centaine d'oligosaccharides. Les derniers composés étudiés au laboratoire sont des hexa et heptasaccharides sulfatés, décrits pour la première fois dans le lait par Yann Guérardel *et al.* en 1999.

2- Détermination de la structure des oligosaccharides et glycoasparagines accumulés dans les urines de patients atteints de maladies lysosomiques.

L'étude des oligosaccharides urinaires avait conduit à la conclusion que ces derniers ne provenaient pas du catabolisme des glycoprotéines, mais les travaux sur la sialurie et la galactosémie avaient permis de commencer une collaboration avec le Pr J-P. Farriaux (pédiatre à la Faculté de médecine de Lille) à propos d'un nourrisson présentant les symptômes proches de ceux de la maladie de Tay-Sachs. Cette maladie génétique est causée par la déficience en N-acétylglucosaminidase et se caractérise par l'accumulation de glycolipides terminés par une osamine qui s'accumulent dans les tissus sans accumulation d'oligosaccharides urinaires. Toutefois chez ce patient la présence d'oligosaccharides urinaires riches en N-acétylglucosamine avait conduit au terme provisoire « pseudo Tay-Sachs ». Pendant que cette étude était réalisée au laboratoire, le Dr Sandhoff en Allemagne montrait chez un patient identique la déficience de deux glucosaminidases au lieu d'une seule dans la cas de la maladie de Tay-Sachs. La maladie « pseudo Tay-Sachs » était en réalité la maladie décrite par Sandhoff. Compte tenu de l'accumulation importante des oligosaccharides urinaires (environ 0,5 à 0,8 g/L), il était aisé de les étudier et le plus simple d'entre eux avait la séquence suivante Glucosamine-$(Mannose)_2$-Glucosamine ; un autre était Glucosamine-$(Mannose)_3$-Glucosamine. Il était bien démontré à cette époque (1972) que dans le noyau glycannique commun à toutes les N-glycoprotéines, le tri mannose est relié à l'asparagine de la protéine via un dimère d'osamines (N-acétylchitobiose).
En 1973, J-P. Farriaux faisait parvenir l'urine d'un patient atteint de « I Cell Disease » dont la cause à l'époque était encore inconnue. Etait seulement connue la perte d'activité glycosidasique du lysosome, tandis qu'une élévation de ces activités était observée dans le sérum. L'analyse de l'urine montrait encore une accumulation d'oligosaccharides (3 à 400 mg/L) dont la caractéristique était d'être sialylés et de posséder une seule osamine en position terminale réductrice. D'où l'hypothèse d'une déficience en sialidase, hypothèse infirmée par la suite. En effet, il sera démontré que l'absence de phosphorylation du mannose des glycosidases lysosomiques empêche l'adressage de ces enzymes vers le lysosome.

D'autres maladies lysosomiques étaient connues comme la GM1 gangliosidose (galactosidose), la fucosidose, l'aspartylglucosaminurie ou la mannosidose. La gangliosidose à GM1, en particulier, s'accompagne d'une importante accumulation d'oligosaccharides riches en galactose. Une simple chromatographie sur couche mince de 10 µL d'urine permet de visualiser les oligosaccharides et de comparer ces différents profils. Or, lors d'un congrès à Anvers en 1975, le Dr Maroteaux (Hôpital Necker-Enfants malades, Paris) présenta le cas d'un patient dont l'analyse urinaire montrait une accumulation de type GM1, mais dont les signes cliniques démentaient le diagnostic. G.Strecker a pu mettre en évidence dans cette urine une excrétion massive de sialyloligosaccharides (1,5 à 2 g/L) et une étude enzymatique a confirmé une déficience en sialidase. Les travaux concernant la sialidose ont réservé de nombreuses surprises. En effet, après une collaboration avec le Professeur Durand de Gènes, concernant la fucosidose, ce dernier avait fait parvenir deux échantillons qui, après analyse, s'étaient révélés être aussi riches en matériel sialylé que l'urine du premier patient. Il convient peut-être de préciser l'extrême gravité de ces maladies lysosomiques qui touchent généralement de très jeunes enfants, atteints le plus souvent de graves troubles neurologiques et sans espoir de guérison, d'où la priorité donnée encore aujourd'hui à un diagnostic anténatal. Or en ce qui concerne ces deux échantillons, le Dr Durand fut très surpris du résultat de ces analyses, car ces deux patients âgés de 13 et 15 ans, étaient venus en consultation ophtalmologique à cause de la présence d'une tache rouge dans le fond de l'œil, mais ne présentaient aucun signe clinique justifiant l'envoi des échantillons. Pensant à une erreur, il

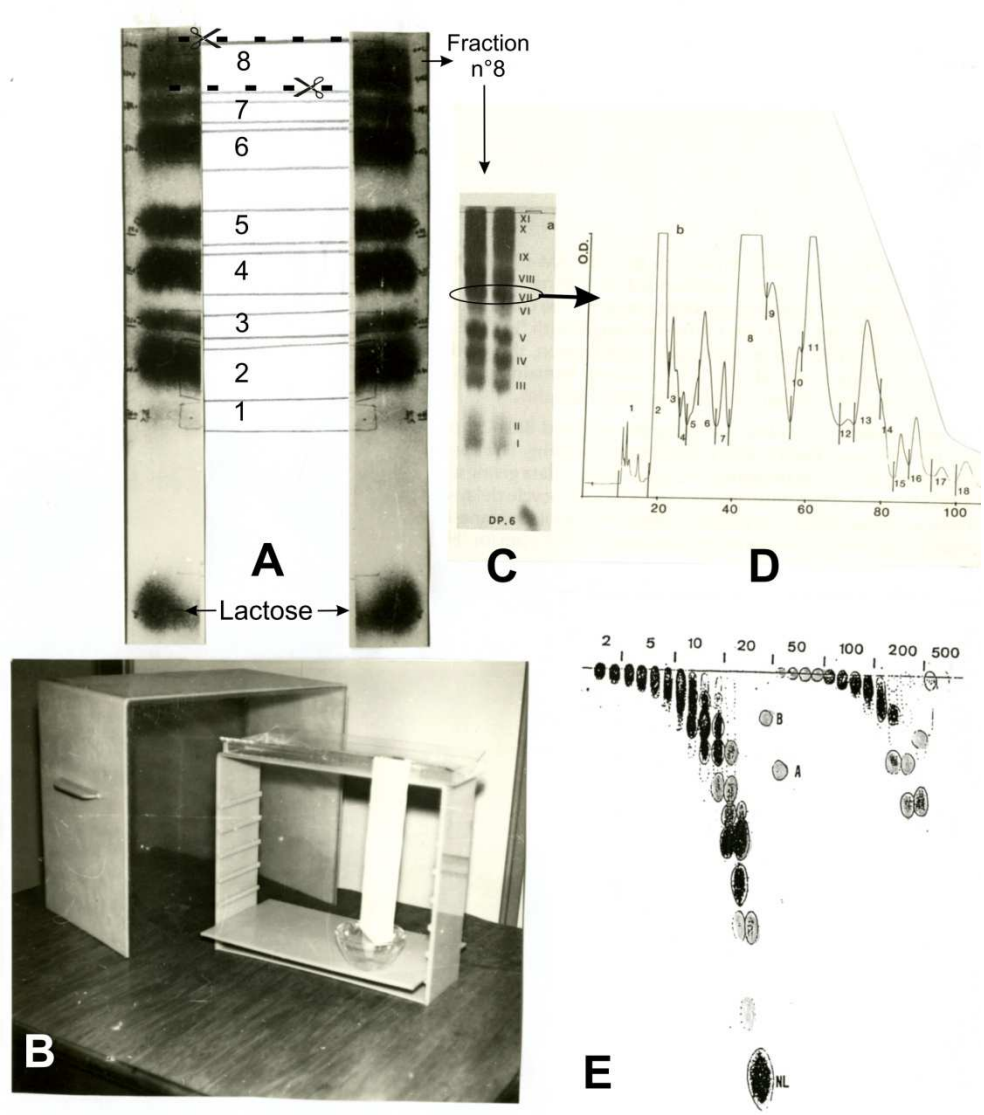


Figure 5. ***Evolution des procédés de préparation des oligosaccharides du lait de femme. A : En 1956, chromatographie '' préparative'' sur papier (migration 48h), B : Les oligosaccharides repérés sur les bandes latérales grâce à un réactif spécifique sont élués selon le procédé de Dent. Ces clichés sont de Jean Montreuil. C : En 1985, le procédé de 1956 est reproduit, mais chacune des fractions éluées est soumise à une chromatographie de plus longue durée (8 à 30 jours). Ainsi, par exemple, la fraction n° 8 fournira 11 bandes en 12 jours de migration. D : La fraction VII elle-même ne renferme pas moins de 18 constituants comme le montre l'analyse réalisée avec un appareil de chromatographie liquide à haute pression, E : Les oligosacharides acides renfermant de l'acide sialique, préalablement fixés sur une colonne échangeuse d'ions, puis élués par un gradient discontinu d'acétate de pyridine (2 à 500 mM), seront isolés par chromatographie sur papier (ici la migration est de 6 jours) ou par HPLC. A ce jour, une centaine d'oligosaccharides du lait ont ainsi été étudiés.***

fit revenir ces personnes et veilla personnellement à l'envoi des flacons dont l'analyse, évidemment, confirma les premiers résultats. Cette sialidose est désormais connue en tant que « Cherry-red spot-myoclonus syndrome », pour les Anglo-Saxons ou encore de sialidose de type 1 ou sialidose normomorphique. Les signes cliniques apparaissent entre 12 et 20 ans et les patients ont une espérance de vie bien plus longue que dans le cas de la plupart des autres maladies lysosomiques.

A cette époque, toujours en 1977, un autre syndrome, particulièrement sévère et touchant cette fois des enfants en bas âge était connu sous le nom de mucolipidose de type 1 à cause de la nature encore mal définie du matériel glucidique accumulé. C'est alors que le Dr Jürgen Spranger (Université de Freiburg, Allemagne) fit parvenir à Lille un échantillon urinaire dont l'analyse montra qu'il s'agissait bien d'une sialidose. A partir de 1979, des travaux furent entrepris dans de nombreux laboratoires afin de localiser le(s) gène(s) de(s) sialidase(s) et la nature des mutations afin de mieux comprendre la génétique de ces nouvelles maladies autosomales récessives. En 2014, les sialidoses sont désormais classées en 2 groupes : la sialidose de type 1 ou « cherry-red-spot syndrome » et les sialidoses de type 2 comprenant la mucolipidose néonatale (ancienne mucolipidose de type 1) et la sialidose de type 2 juvénile. Ce dernier syndrome a pu passer comme étant une sialidose compte tenu de l'excrétion de sialyloligosaccharides urinaires, mais des études plus poussées ont montré qu'il résultait en fait du déficit primitif d'une troisième protéine lysosomique bifonctionnelle associée à la galactosidase et à la sialidase : la protéine protectrice/cathepsine A ou PPCA. Le terme de galactosialidose a ainsi été également retenu pour définir cette maladie.

Le catabolisme d'une chaîne glycannique nécessite l'action séquencée et ordonnée de plusieurs exoglycosidases qui ne peuvent agir que dans un ordre bien déterminé : fucosidase et sialidase, puisque ces sucres sont toujours en position terminale non réductrice, puis β-galactosidase, β-N-acétylglucosaminidase, α-mannosidase et β-mannosidase. Le sort des deux dernières unités de N-acétylglucosamine demeurait incertain. A partir des urines des patients présentant ces déficits en glycosidase, plus de 80 oligosaccharides seront isolés et leur structure établie sur la base des méthodes mises au point au laboratoire. Dans le cadre de la collaboration établie avec l'équipe de J.F.G. Vliegenthart (Université d'Utrecht, Pays-Bas), ces oligosaccharides de référence furent ainsi les premiers modèles de ce type à être analysés par RMN. En effet, ces sucres possédaient de 4 à 12 unités monosaccharidiques et la comparaison progressive allant du plus simple au plus complexe d'entre eux permettait de mesurer l'effet produit par l'addition d'un sucre à un endroit donné de la molécule. Une fois ces incréments de glissements chimiques mesurés, l'analyse RMN permettait d'étudier de nouveaux composés. Il faut rappeler qu'à la fin des années 70 la RMN bidimentionnelle n'était pas encore utilisable. Ces travaux ont donc fourni les bases de l'interprétation des spectres 1 D grâce la notion alors établie de « structural-reporter-group ». L'analyse de ces sucres urinaires a permis en outre de constituer un « catalogue » de séquences déjà connues, mais parfois à découvrir.

3- Les oligosaccharides liés aux protéines : les glycannes

Les N-glycannes

Ces travaux ont connu trois époques, dont la plus épique fut sans nul doute la première, durant laquelle J. Montreuil décida de venir à bout de la structure des chaînes N-glycanniques des glycoprotéines, constituants majeurs du plasma sanguin et des membranes cellulaires.
Au début des années 1960, seules les fractions glycanniques disaccharidiques des mucines et les glycoaminoglycannes étaient connues, tandis que les glycoprotéines résistaient à toute tentative d'analyse. Nous savons aujourd'hui que ces glycannes sont ramifiés, à l'opposé des protéines et des acides nucléiques, qui de ce fait bénéficient désormais de méthodes de séquençage automatisées. Ainsi, pour montrer la complexité de ces analyses, on rappellera le résultat d'un chercheur américain qui a montré, dans les années 90, qu'à partir des 20 acides aminés constitutifs des protéines, il est possible d'imaginer 10^6 octapeptides possibles, alors qu'avec un seul sucre, le nombre d'octasaccharides possibles excède 10^{17}. Mais bien avant que ces calculs ne soient effectués, il était courant de penser que chaque glycoprotéine possédait une ou plusieurs structures glycanniques qui lui étaient propres. Et comme on savait déjà que les glycoprotéines possèdent très souvent plusieurs sites de glycosylation, certains pensaient que ces oligosaccharides variaient eux-mêmes en fonction de la séquence peptidique voisine du point d'attache.
Comme nous l'avons vu, à son retour des '' *Gordon conferences* '' organisées par le Pr R. Jeanloz, à Swampscott en 1964, J. Montreuil décida la création de « la chaîne Ford » dont chaque participant avait pour

mission de mettre au point ou de perfectionner des méthodes analytiques relatives à l'étude de ces glycoprotéines. Il convient de préciser que le laboratoire ne disposait pas alors des appareils devenus aujourd'hui indispensables que sont les chromatographes en phase gazeuse ou liquide (de type HPLC) et encore moins de spectromètre de masse ou de RMN à haut champ.

Il serait fastidieux de fournir la liste des techniques inventées ou revisitées, mais grâce à ces efforts, en 1972 deux résultats majeurs étaient au rendez-vous. Pour la première fois, la structure d'un glycanne, celui de la sérotransferrine, était décrit sans la moindre ambiguïté et qui plus est, différait de celle proposée par des équipes concurrentes. Et surtout, il était démontré que 5 glycoprotéines, choisies parce que ne renfermant ni fucose ni acide sialique, et traitées par l'hydrazine puis par l'acide nitreux, conduisaient toutes aux mêmes produits, un monomère (2,5-anhydromannose), un tétramère $(Man)_3$-2,5-anhydromannose et un dimère Galactose-2,5-anhydromannose. En rappelant que le 2,5-anhydromannose résulte de la désamination nitreuse de la glucosamine désacétylée par l'hydrazine et sur la base du résultat précédent, une seconde expérience a consisté à réduire l'ensemble de ces produits avec du borohydrure tritié afin d'en déterminer les rapports par chromatographie sur papier. En fonction de la glycoprotéine étudiée, ces rapports étaient 1 (tétramère), 1 (monomère) et de 2 à 5 (expérimentalement : 4,6) pour le dimère. Ces expériences prouvaient clairement que la copule glucidique des glycoprotéines possédait un noyau ramifié commun de 3 résidus de mannose dont chacun des 2 mannoses externes est substitué par un nombre variable de courtes séquences (Galactose-Glucosamine) surnommées antennes et dont le nombre varie de 2 à 5. Restait à déterminer les liaisons osidiques par perméthylation et leur anomérie à l'aide de glycosidases spécifiques.

En juillet 1973, J. Montreuil organisait, sous l'égide du CNRS, un symposium international rassemblant près de 100 participants. Ce symposium sera par la suite considéré comme ayant été le premier *« International Glycoconjugate Symposium* », symposium se tenant désormais tous les 2 ans. C'est à la suite de ce premier symposium que J. Montreuil associa le laboratoire à celui du Professeur J.F.G. Vliegenthart dans le but de réaliser l'analyse par RMN des chaînes glycanniques grâce à l'installation à Groningen du premier appareil de RMN à 360 MHz.

A partir de 1974, la ''chaîne Ford'' n'a plus de raison d'exister et les chercheurs qui la constituaient, et qui sont tous maintenant responsables d'une équipe et d'une thématique qui leur est propre, vont occasionnellement collaborer sur des objectifs ponctuels. Deux groupes vont s'individualiser et poursuivre des recherches essentiellement d'ordre structural, mais dans des domaines foncièrement différents. En 1974, G. Strecker rejoint le laboratoire du Dr Svensson à Lund (Suède) et prend connaissance de la méthode de microméthylation de Hakomori (Université de Seattle, Washington, USA) modifiée et réalisée sous atmosphère d'azote et la transmet immédiatement à B. Fournet afin qu'il se procure le matériel nécessaire et en particulier un bain ultrasonique nécessaire à la dispersion des réactifs. Il s'initie à la spectrométrie de masse et rédige un manuel à usage interne décrivant l'ensemble des mécanismes de fragmentation des monosaccharides ou de leurs polyols selon qu'ils aient été acétylés, méthylés ou partiellement méthylés et acétylés.

En 1987, l'arrivée à l'USTL d'un premier appareil de RMN de 400 MHz va rendre autonome le laboratoire de biochimie. Jean-Michel Wieruszeski, bientôt nommé ingénieur d'étude au CNRS, devient le responsable du laboratoire en tout ce qui concerne cette méthodologie. Il va concentrer toute son activité à l'analyse de centaines d'oligosaccharides de toute origine et de nombreux polysaccharides bactériens. Disparu prématurément et en hommage à son travail, le bâtiment RMN 600 MHz de la Haute Borne, porte aujourd'hui son nom. Les glycannes isolés de l'urine seront utilisés pour l'étude du catabolisme lysosomique et cytoplasmique réalisée sur des lysosomes isolés en suivant les étapes de leur dégradation par RMN.

Les O-glycannes

Les mucines qui tapissent les tissus des tractus digestif, respiratoire, et uro-génital possèdent un tout autre type de glycosylation caractérisé par une liaison O-glycosidique impliquant la N-acétylgalactosamine et la sérine ou la thréonine. L'étude des mucines bronchiques et salivaires de sujets normaux et atteints de

diverses maladies respiratoires, dont la mucoviscidose, fut le domaine de la Faculté de médecine (unité des protéines, U16, Lille).

L'étude des O-glycannes avait déjà été abordée au laboratoire à la fin des années 60 à une époque où distinguer une liaison O-glycannique d'une liaison N n'était pas toujours chose facile. Mais la généralisation de la méthode de β-élimination en milieu réducteur et l'équipement en appareils de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et d'un spectromètre de RMN à haut champ avait permis d'étudier plus aisément ce type de glycannes. Les premiers travaux concernant l'ovomucine du blanc d'œuf (première analyse RMN effectuée sur des glycannes sulfatés), les mucines accumulés dans le méconium du nourrisson, les O- glycannes des immnoglobulines IgA du lait humain et les mucines salivaires du martinet (*Collocalia vestita*) (nids hirondelles de Chine) furent réalisés dans les équipes de B. Fournet, G. Spik et G. Strecker.

Les O-glycannes des IgA du lait avaient comme caractéristique d'être rigoureusement identiques aux oligosaccharides du lait à un détail près, toutefois, le glucose terminal étant remplacé dans ce cas par une N-acétylgalactosamine.

Les O-glycannes du ''nid d'hirondelle'' possédaient des séquences inédites et l'une de leurs caractéristiques était d'être liés à la protéine par le dimère GalNAc(β-1,3)GalNAc. Or ce type de point d'attache venait d'être décrit par un laboratoire japonais dans les mucines de tumeurs du colon et à ce titre comme éventuellement spécifique du cancer. En 1989, de nombreux laboratoires tentaient d'isoler des antigènes ''onco-fœtaux'' dans le but de préparer les anticorps monoclonaux correspondants. Il convient de préciser dès maintenant que le dimère décrit ci-dessus a été décrit ultérieurement comme une séquence habituelle des mucines coliques. Mais l'idée avait germé que des mucines d'espèces animales inférieures (poissons, amphibiens ...) pouvait fournir des modèles pour ce genre d'étude, en écho à la vieille théorie obsolète de la récapitulation : « l'ontogenèse est la récapitulation de la phylogenèse ». Et le choix s'est dirigé vers les amphibiens d'autant que des pleurodèles (*Pleurodeles waltl)* et des axolotls (*Ambystoma mexicanum)* étaient élevés dans le laboratoire de biologie de notre Université.

Les premiers résultats furent plus qu'encourageants : les mucines oviducales de pleurodèles, qui constituent les gelées entourant les œufs au cours de la ponte et qu'il est possible de collecter en très grandes quantités, possédaient des structures caractéristiques des groupes tissulaires humains de type Lewis^{X}, Lewis^{Y} et A Lewis^{Y}. Ces mucines étaient sialylées, mais l'acide N-acétylneuraminique traditionnel était remplacé par du KDN (acide 2 céto 3 désoxy nonulosique) autrement dit un acide sialique résultant de la condensation de mannose (au lieu de la N-acétylmannosamine) avec du pyruvate. Cet acide sialique avait été découvert trois ans auparavant par une équipe japonaise, dans les œufs de poisson. La seule consolation était d'observer que la mucine de pleurodèle ne renferme pas d'autre acide sialique, contrairement aux œufs de poisson chez lesquels le rapport KDN/NeuAc est inférieur à 10 p.100.

Les mucines d'Axolotl, par contre, ne possédaient aucune structure glycannique ressemblant à une structure de mucine humaine. De plus, la séquence Fuc(α1,3)Fuc(α1,5)KDN était le premier exemple d'un acide sialique fucosylé. De nouvelles séquences « exotiques » telles Fuc(α1,2)[Fuc(α1,3)]Fuc(α1,5)KDN et Fuc(α1,4)[Fucα1,5)KDN prouvaient l'existence d'au moins 4 nouvelles activités α-fucosyltransférases (dont une activité α1,5 fucosyltransférase !) qui ne s'intègrent pas dans les modèles d'évolution proposés.

Chez le Xénope (*Xenopus laevis),* Y. Guérardel mettait en évidence 4 phénotypes glycanniques caractérisés par la nature des sucres terminaux, Fuc(α1,3) ou Gal(α1,4) pour les deux premiers, un troisième possédant ces 2 sucres, le quatrième n'en possédant aucun. Cette observation rappelle la discrimination entre groupes sanguins humains O, A, B et AB qui fait intervenir l'α-galactose et l'α-N-acétylgalactosamine.

L'étude de 26 espèces d'amphibiens a conduit à la description de plus de 400 structures inédites impliquant l'existence d'une vingtaine d'activités glycosyltransférasiques toutes aussi nouvelles. D'un point de vue évolutif, il a été observé que deux espèces voisines comme *Bombina bombina* et *Bombina variegata*, dont la divergence liée aux phénomènes de glaciation remonte à 2 millions d'années, possèdent des phénotypes glycanniques très différents nécessitant la mutation ou l'apparition de plusieurs gènes de glycosyltransférases. Il en est de même pour deux espèces de pleurodèles et deux espèces de rainettes.

En résumé, l'étude a montré que les O-glycannes des mucines oviducales possédaient des structures non seulement spécifiques à chaque espèce mais constituaient des marqueurs évidents de l'évolution. Des

travaux semblables effectués sur les mucines de poissons par des équipes japonaises ont confirmé une telle spécificité d'espèce.
Ces travaux sur la diversité des structures O-glycanniques du monde animal ont été réalisés sous la direction de G. Strecker avec la collaboration d'Alexandra Coppin, Florence Delplace, Doïna Florea, Marie-Dominique Fontaine, Yann Guérardel, Ossarath Kol, Emmanuel Maes, Willy Morelle, Yves Planque et Jean-Michel Wieruszeski. Ils ont fait l'objet d'une trentaine d'articles.

Une étude du même type a été entreprise par Y. Guérardel qui a décrit six nouvelles structures O-glycanniques (imprévisibles !) chez le nématode *Caenorhabditis elegans*. En effet, elles possèdent 1 à 3 unités de β-glucose, sucre décrit pour la première fois dans une mucine : GlcA(β1,3)[Glc(β1,6)]Gal(β1,3)[Glcβ1,6]GalNAc. L'acide glucuronique (GlcA) est absent des mucines humaines mais existe chez de nombreux amphibiens. En ce qui concerne le glucose, il parait évident que ce dernier a pris la place qui revient (dans les mucines humaines) à la N-acétylglucosamine qui est liée en β1-6 sur le galactose ou la N-acétylgalactosamine. Or, des auteurs avaient mis en évidence chez *Caenorhabditis elegans*, six gènes dont les séquences présentaient des homologies importantes avec une famille de β6-GlcNAc-transférases, sans pour autant pouvoir vérifier cette activité en utilisant comme donneur de GlcNAc l'UDPGlcNAc. Après avoir pris connaissance de ces structures glucosylées, ces auteurs ont pu transférer avec succès du glucose à partir de l'UDPGlc.
L'ensemble de ces travaux a montré l'importance des analyses structurales dans l'élucidation d'une activité glycosyltransférasique. D'autre part, sachant que l'activité des glycosyltransférases est très sensible aux mutations, même ponctuelles, les amphibiens constitueraient un excellent modèle d'études phylogénétiques de ces enzymes.
Le lecteur trouvera l'ensemble des structures glycanniques déterminées au laboratoire sur le site glycobase.univ-lille1.fr.

4- Polysaccharides et lipopolysaccharides bactériens, mannose-inositolphosphocéramides fongiques, polysaccharides végétaux

Les travaux de B. Fournet et de son équipe portant sur ce matériel glucidique ne constituaient pas un axe de recherches propre au laboratoire, mais résultaient de nombreux contacts et collaborations avec différents laboratoires universitaires français et étrangers et souvent, de contrats passés avec des laboratoires pharmaceutiques.

Ces travaux portèrent tout d'abord sur des polysaccharides bactériens et représentaient un nouveau défi lorsque l'on sait que ces polymères possèdent des masses moléculaires très élevées (mais sont fort heureusement souvent constitués d'unités de répétition), sont parfois insolubles dans l'eau et renferment fréquemment des monosaccharides inconnus à ce jour dont il faut chaque fois préciser la forme furanique ou pyranique, l'isomérie D ou L, la configuration R ou S de chaque carbone et l'anomérie de la liaison glycosidique. Ces recherches portèrent essentiellement sur *Klebsiella pneumoniae* O1K2, *Pseudomonas syringae*, *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus circulans*, *Enterobacter agglomerans*. Elles firent l'objet des travaux de Thierry Fontaine, Jérôme Lemoine, Ossarath Kol, Yannis Karamanos, Jean Pierre Bohin, Philippe Talaga et Guy Dubreucq.

A la fin des années 90, après la disparition tragique de B. Fournet, l'équipe de G. Strecker poursuivit une collaboration avec le Pr Daniel Poulain du laboratoire de mycologie fondamentale et appliquée de l'INSERM (Faculté de médecine de Lille) qui conduisit à l'élucidation de la structure d'un nouveau type de glycosphingolipide de la famille des mannoseinositolphosphocéramides, considéré comme l'un des principaux facteurs de virulence de *Candida albicans*. De même, cette équipe établit par RMN la séquence de l'unité de répétition du polysaccharide capsulaire de la cyanobactérie *Mastigocladus laminosus* , unité

de répétition constituée de pas moins de 15 unités de monosaccharides : 3 acides glucuroniques , 1 acide galacturonique , 2 xyloses , 2 fucoses , 1 rhamnose , 3 glucoses , 1 mannose , 2 galactoses , soit un nombre théorique de combinaisons pas très éloigné du nombre d'Avogadro (collaboration avec Vincent Gloaguen, Laboratoire de chimie des substances naturelles, Faculté des sciences , Université de Limoges).

VI- Le métabolisme des glucides conjugués

1- Glycosidases et catabolisme

Catabolisme normal et pathologique des glycoconjugués (maladies lysosomiques)

L'examen des structures accumulées dans les urines des patients a apporté de nombreux renseignements quant au processus du catabolisme des glycoprotéines. Dans la majorité des cas, le matériel accumulé était constitué d'oligosaccharides, donc détachés de la protéine, mais ne possédant qu'une seule osamine terminale à la place tenue normalement par le chitobiose (dimère de la N-acétylglucosamine). Dans le cas de la fucosidose humaine, le matériel accumulé est représenté par de nombreuses glycosyl-asparagines ayant gardé le chitobiose attaché à l'asparagine de la protéine. Toutefois l'osamine liée à l'asparagine est alors substituée par du fucose. Ceci a permis de démontrer que la fucosylation empêche la libération de l'oligosaccharide, et donc que dans le catabolisme normal, l'action d'une fucosidase est nécessaire au clivage de chitobiose du point d'attache.

Enfin reste le cas de l'aspartylglucosaminurie : par suite du déficit en N-aspartylglucosaminidase, l'aspartylglucosamine s'accumule dans les tissus et l'urine. Cependant l'urine renferme également des molécules comme Man(α-1,6)Man(β-1,4)GlcNAc(β-1,4)GlcNAc(β-1,N)Asp , Gal-GlcNAc–Asp, Gal-GlcNAc-Gal-GlcNAc–Asn et bien d'autres. La première de ces structures est conforme à ce que l'on connaît sur la biosynthèse des glycoprotéines, mais les deux suivantes sont tout à fait nouvelles et existent en quantité appréciable dans l'urine des patients. La recherche de tels constituants dans des tissus ou le sérum n'ayant rien apporté de probant, ces constituants ont été considérés comme des artéfacts résultant de biosynthèses non contrôlées par suite de la « décompartimentation » des substrats impliqués dans ces réactions. D'ailleurs l'équipe de J. Vliegenthart montra quelque temps après que l'urine d'un patient déficient en β-mannosidase accumulait bien le disaccharide Man(β-1,4)GlcNAc, mais aussi le composé sialylé NeuAc(α-2,6)Man(β-1,4)GlcNAc, puis démontra qu'*in vitro* le β-Mannose est un excellent accepteur d'acide sialique.
L'équipe codirigée par J. C. Michalski et G. Strecker (Thierry Baussant, Thierry Grard, Dominique Brassart et Jean-François Haeuw) avait postulé que le catabolisme des glycoprotéines commençait par l'action d'une endo-β-N-acétylglucosaminidase coupant entre les deux osamines au point d'attache avec la protéine, libérant ainsi un oligosaccharide tel qu'il est observé dans l'urine et une protéine ayant juste gardé une unité de glucosamine, éventuellement fucosylée. Mais, malheureusement toutes les tentatives de mettre en évidence une telle activité enzymatique dans le lysosome échouèrent. Dans l'intervalle, Raymond Pierce, de l'équipe de G. Spik, avait mis en évidence une telle enzyme dans le cytosol en utilisant comme substrat $(Man)_n(GlcNAc)_2$AsnAcétyl[^{14}C]. Cependant, comme le pH optimal d'activité de cette enzyme était de 8, il était probable qu'elle était différente des enzymes lysosomiques dont le pH optimal est inférieur à 5. En 1987, l'arrivée à l'USTL d'un premier appareil de RMN à 400 MHz avait rendu autonome le laboratoire de biochimie. Les glycannes isolés des urines, ainsi que des glycopeptides préparés à partir du sérum humain et de l'ovalbumine, ont servi de substrat afin de suivre par RMN les étapes de leur catabolisme en utilisant des lysosomes ou du cytosol préparés à partir de foie de rat. Pour réaliser ces études, il fallait disposer de glycopeptides ne possédant qu'un seul acide aminé, en l'occurrence l'asparagine. Quel que soit le matériel utilisé, il était possible de reconnaître le proton anomère de la première osamine, libre ou liée à l'asparagine et la seconde glucosamine. Il était ainsi possible de visualiser l'action d'une aspartylglucosaminidase et de la

distinguer de celle d'une endoglucosaminidase. Il était également possible de reconnaître un galactose sialylé d'un galactose terminal et ainsi de suite, c'est-à-dire de suivre en direct la dégradation séquentielle du glycanne jusqu'au mannose. Dans le cas de glycannes multiantennés, il était même possible de préciser quel galactose avait été désialylé le premier. Six échantillons identiques ont été étudiés en RMN après des incubations variant de 2 h à 8 h. Les incubations étaient réalisées à pH 5 ou pH 8. Les résultats ont été sans appel : avec une asialoglycoasparagine, le proton anomère de l'osamine du point d'attache apparaissait le premier suivi du proton anomère de la seconde osamine et d'un autre signal prouvant le départ d'un des galactoses. Ainsi le catabolisme commençait par l'action de l'aspartylglucosaminidase, suivie de celle d'une chitobiase. Des expériences réalisées avec des oligosaccharides montraient d'autre part une hydrolyse beaucoup plus rapide des sucres périphériques. Ces expériences montraient également que l'aspartylglucosaminidase est active à pH 5. Le rôle du fucose lié sur la première osamine n'a pu être examiné. Néanmoins, compte tenu de la nature des glycosylasparagines accumulés dans les cas de fucosidose, il semble probable que la présence de ce fucose soit un obstacle à l'action de l'aspartylglucosaminidase. Ce blocage ne semble pas stopper le catabolisme des glycannes mais le ralentit notablement.

Le catabolisme d'une glycoprotéine est donc probablement bidirectionnel puisque les exoglycosidases peuvent agir sur la molécule native. Mais les endopeptidases vont rapidement conduire à des glycopeptides voire à des glycoasparagines. L'action de la fucosidase est essentielle pour laisser l'aspartylglucosaminidase agir. Une fois la première osamine libérée par la chitobiase, l'action des exoglycosidases, qui a certes déjà commencé, va s'en trouver amplifiée. En l'absence d'activité exoglycosidasique (sialidase, galactosidase, etc), les oligosasaccharides seront libérés en entier sauf dans le cas d'une fucosylation de la première osamine. Ainsi était démontré que l'endo-β-N-acétylglucosaminidase cytosolique n'intervenait pas dans le catabolisme lysosomique des glycoprotéines.

Dans une nouvelle série d'expériences, l'oligosaccharide $Man_9GlcNAc$ a subi le même traitement en présence de lysosomes, de cytosol et d'appareil de Golgi. Il a ainsi été montré que les mannosidases lysosomiques hydrolysent d'abord les α-1,2 mannoses périphériques, conduisant ainsi à un pentasaccharide dont l'hydrolyse ne reprend qu'après addition des sels de zinc. En ce qui concerne le cytosol, il fut montré que l'hydrolyse de $Man_9GlcNAc$ conduisait à l'hexasaccharide Man(α1,2)Man(α 1,2)Man(α 1,3)[Man1,6]Man(β 1,4)GlcNAc, séquence clef de la biosynthèse d'une chaîne glycannique.

Purification de glycosidases dans un but théorique (mécanisme d'action) et technique (utilisation de la spécificité pour déterminer la séquence d'un oligosaccharide)

Les préoccupations concernant la détermination de la structure de la copule saccharidique des glucides libres ou conjugués comme les oligosaccharides du lait, les glycoprotéines sériques ou encore celles de sécrétion, mettaient en œuvre différentes technologies et techniques chimiques (hydrolyse chimique ménagée, acétolyse, méthylation…). A cette époque, aucune méthode chimique ne permettait de déterminer l'anomérie de liaison des monosaccharides les uns avec les autres dans une structure complexe. La seule solution était l'hydrolyse spécifique par l'intermédiaire d'enzymes. J. Montreuil a très tôt compris l'intérêt d'une recherche sur les glycosidases, car celles-ci n'étaient que très peu commercialisées et étaient très peu étudiées d'un point de vue de la recherche fondamentale. Cela était forcément intéressant puisque ces molécules étaient les seules qui puissent, lors d'une détermination structurale, préciser le type d'anomérie de liaison entre les différents saccharides. Le sujet a été confié à un tout petit groupe de travail sous la direction de Stéphane Bouquelet. Sur le papier il suffisait de purifier ces glycosidases et de les faire agir sur les substrats divers isolés et purifiés au Laboratoire. C'était en somme le dernier maillon de la « chaîne Ford » mise en place au laboratoire, voire la cerise sur le gâteau pour obtenir la structure complète d'un glycanne.

Développement de l'étude des glycosidases

En fait, le champ d'étude était beaucoup plus vaste que ce qu'on imaginait au départ. Les traités de biochimie de l'époque passaient en revue les différentes classes de glycosidases et on en était encore à une « biochimie contemplative », donc descriptive. La plupart des enzymes décrites étaient celles que l'on trouvait en grande quantité dans certains organismes qu'ils soient du règne animal, végétal ou dans les micro-organismes.

Les connaissances acquises au laboratoire permettaient de déterminer la composition centésimale, voire molaire et les enchaînements saccharidiques d'un certain nombre de glucides libres et conjugués. Pour être exhaustif, il était nécessaire de pouvoir disposer de huit glycosidases différentes pour envisager la détermination de l'anomérie de liaison entre les différents saccharides des molécules étudiées au laboratoire. Ces enzymes étaient : une neuraminidase, une α-L-fucosidase, une α-D-galactosidase, une β-D-galactosidase, une N-acétyl-α-D-glucosaminidase, une N-acétyl-β-D-glucosaminidase, une α-D-mannosidase et une β-D-mannosidase.

Le but du travail était d'isoler chaque enzyme afin de les obtenir dans un état de pureté analogue à celui des produits chimiques. J. Montreuil pensait, à l'époque, qu'il était possible d'obtenir aussi facilement une enzyme qu'une protéine ou qu'une glycoprotéine. Toutefois parmi les enzymes citées, la mission n'était pas de purifier la neuraminidase qui avait été caractérisée chez les bactéries (*Clostridium perfringens, Vibrio cholerae*) ou chez les virus. Le laboratoire n'était pas, à l'époque, équipé pour travailler en toute sécurité les micro-organismes.

La première problématique à résoudre était de savoir si pour préparer ces enzymes, il fallait partir d'une source riche en potentialités enzymatiques (nécessaires aux études structurales) ou au contraire partir d'une source avec une activité enzymatique prédominante ? Le dépouillement de la littérature scientifique de l'époque et plus particulièrement du *Biochemical Journal* a conduit l'équipe à tenter l'extraction des glycosidases à partir d'une source unique (en grande partie par manque de maturité, d'une part, et une trop grande confiance dans les techniques séparatives de l'époque, d'autre part). Le tissu qui semblait le plus approprié était d'origine animale et nécessitait un approvisionnement aux abattoirs de Lille, uniquement à certains moments de l'année. Cette « récolte » était facilitée par le fait que le directeur des abattoirs était un ancien collaborateur de J. Montreuil. Cette source d'enzymes fut très vite abandonnée, car le milieu était beaucoup trop complexe d'un point de vue biochimique. La conclusion a été de rechercher des sources enzymatiques diversifiées renfermant des entités spécifiques soit abondantes soit caractéristiques.

Après un séminaire avec l'équipe de J.E. Courtois (Laboratoire de biochimie de la Faculté de pharmacie de Paris) qui travaillait sur les glycosidases agissant sur des glycannes végétaux (cellulose, glucanes), une source enzymatique d'origine végétale a été envisagée et les graines de *Trigonella foenum graecum* (Fenugrec) furent choisies. Par rapport à la précédente source enzymatique animale, les graines se trouvaient dans le commerce en abondante quantité et, après quelques déboires dus au traitement des graines entières nous avons procédé à une mise en germination des graines. Cette étape permettait d'éliminer un mucilage qui gênait fortement l'extraction et de définir le meilleur moment pour obtenir une production enzymatique maximale ou encore d'envisager une production différenciée en fonction de la partie aérienne de la plantule. Le screening des activités enzymatiques a permis de caractériser l'activité lactasique décrite par J.E. Courtois et qui a été utilisée au cours de l'année 1968 à la détermination de la structure d'un tétrasaccharide isolé du lait de femme. A côté de cette lactase, une activité N-acétyl-β-D-glucosaminidasique, peu décrite dans la littérature, fut caractérisée. Cette enzyme fera l'objet d'un développement plus particulier tout en cherchant bien évidemment à obtenir les activités glycosidasiques nécessaires à l'étude des glycoconjugués (plus particulièrement ceux isolés de la sérotransferrine).

La conclusion de ces travaux ont été les suivantes :

- **on ne trouvait bien évidemment que les activités enzymatiques que l'on cherchait,**
- **les enzymes commercialisées n'étaient pas pures d'un point de vue enzymatique et structural (les préparations enzymatiques renfermaient de nombreuses autres activités glycolytiques ainsi qu'un fort ballast en protéines non enzymatiques),**
- **une activité purifiée pouvait en fait exister sous formes de différentes isoenzymes,**
- **la mise en œuvre des glycosidases sur des substrats plus complexes (glycoconjugués, oligosaccharides) que les hétérosides de synthèse mettaient en évidence que la réactivité enzymatique pouvait varier en fonction de nombreux facteurs (spécificité enzymatique).**

L'étude plus particulière de la spécificité d'action de ces glycosidases en prenant comme modèle les N-acétyl-β-D-glucosaminidases a par la suite été envisagée. Le but principal n'était plus la détermination de l'anomérie de liaison dans une structure oligosaccharidique, mais l'étude des propriétés enzymatiques et surtout de la spécificité d'action de N-acétyl-β-D-glucosaminidases d'origines diverses. C'était un parfait exemple de la complexité d'action de ces enzymes et par extension des autres activités enzymatiques.

C'est l'époque où le laboratoire organise le deuxième symposium international sur les glycoconjugués (1973). Parmi les participants, de longues et fructueuses discussions se sont établies avec Y.T. Li (Université de Tulane, USA) et ont amené le groupe à s'intéresser à l'extraction d'enzymes à partir de *Canavalia ensiformis.* Cette source enzymatique allait donc s'ajouter à celles qui étaient déjà travaillées au laboratoire.

Le travail a démontré que l'activité de la N-acétyl-β-D-glucosaminidase se révélait positive sur des substrats renfermant de la N-acétylgalactosamine. Par des études de cinétique d'une part et par immunochimie d'autre part sur une enzyme purifiée, il fut démontré qu'il n'y avait qu'une seule entité protéique porteuse d'un site de catalyse unique et qu'il était nécessaire d'employer le terme de N-acétyl-β-D-hexosaminidase avec une numérotation (EC. 3.2.1.52) différente de ce qui existait dans la littérature. C'est aussi au cours de ce travail que nous avons mis en évidence l'extrême versatilité des glycosidases. Nous avons surtout mis en évidence qu'il ne suffisait pas seulement de choisir par exemple une galactosidase pour hydrolyser le galactose d'un glycoconjugué, mais qu'il fallait tenir compte de l'origine de l'enzyme, de la conformation du substrat, de la nature de la liaison, de la nature du monosaccharide sur lequel était attaché le saccharide à hydrolyser. L'utilisation de glycosidases a permis de compléter les études physicochimiques et de caractériser les structures complètes de 34 oligosaccharides et de 2 glycannes de glycoprotéine.

Entre temps, le laboratoire avait participé à la création de l'Institut Universitaire de Technologie de Lille. La formation en IUT se terminait par un stage de plusieurs mois en industries et les enseignants faisaient ce qu'on appelait les visites de stagiaires au niveau des entreprises. C'est grâce à ces visites et la rencontre avec le directeur d'une usine (Dr Delecourt, société Rapidase à Seclin) qui préparait des enzymes pour différentes industries (alimentaires, confection, emballage…) que le laboratoire s'est vu offrir la possibilité de tester les activités glycosidasiques des préparations issues de la fermentation de micro-organismes. Les extraits obtenus étaient bien évidemment stériles ce qui permettait, à la fois de respecter la confidentialité du process industriel et de pouvoir les traiter sans problème au niveau du laboratoire. Le screening des extraits renseignait à la fois l'industriel et le laboratoire sur des potentialités susceptibles d'être intéressantes. La collaboration est devenue encore plus étroite quand par la suite la société fut reprise par un grand groupe et qu'une direction scientifique (P.J. Sicard) fut créée avec des préoccupations de recherches plus fondamentales. Des moûts de fermentation, il a été possible de caractériser et de purifier une β-D-mannosidase et une endo N-acétyl-β-D-glucosaminidase. Cette dernière enzyme fut très utile pour les études structurales des glycoconjugués et a fait l'objet de la thèse d'O. Kol.

L'intérêt de la recherche concernant les glycosidases comme outils dans la détermination de l'anomérie de liaison des copules saccharidiques n'étant plus d'actualité avec l'essor de la RMN, le travail a été réorienté

vers les années 1990 vers une nouvelle source d'activités enzymatiques : *Bifidobacterium bifidum.* On peut se poser la question : pourquoi cette recherche ? Il s'agit d'un retour aux prémices de recherche engendrées par J. Montreuil dont une des préoccupations a été la nutrition infantile par l'intermédiaire de la maternisation des laits industriels en prenant le lait de femme comme modèle. Il est démontré que les intestins des nourrissons allaités au sein renferment en quantité majoritaire une bactérie : *Bifidobacterium bifidum* et que ces enfants présentent moins de mortalité et de morbidité infantile. De cette observation, il n'y avait qu'un pas à faire pour tenter de relier à la fois potentialités glycosidasiques, oligosaccharides du lait et protection de l'intestin par la mise en place d'un effet de barrière dû à la prolifération de cette bactérie particulière (elle disparaît au moment du sevrage). Ce travail a commencé par une collaboration avec le laboratoire de microbiologie de la Faculté de pharmacie de l'Université de Lille 2 qui possédait les techniques d'anaérobiose pour cultiver ce micro-organisme. Les activités lytiques propres à l'hydrolyse des oligosaccharides du lait de femme ont été caractérisées sans toutefois mettre en évidence une hydrolyse du lactose, terme ultime de la dégradation. En tentant d'élucider ce déficit, il est apparu que la bactérie utilisait le lactose comme précurseur pour la biosynthèse de β-1,3-D-galacto-oligosaccharides qui doivent jouer un rôle dans l'osmolarité de la cellule. La comparaison des activités glycosidasiques chez différentes souches de bifidobactéries qui s'étagent temporellement dans l'intestin montrent des différences significatives et justifient de s'intéresser au catabolisme des saccharides chez ces micro-organismes (transport du lactose, du glucose, du galactose, fructokinase et métabolisme du fructose). Enfin, comme les saccharides peuvent être des signaux de reconnaissance pour l'attachement des bactéries au niveau intestinal, l'adhésion de *Bifidobacterium bifidum* au niveau de la muqueuse intestinale a été étudiée afin d'élucider le phénomène de barrière caractérisé chez le nourrisson allaité. Ces travaux ont fait l'objet des thèses d'université de Sylvain Stievenard, Laurence Appourcheaux, Etienne Boutry, Vincent Dumortier, Isabelle Fontaine, Frédéric Krzewinski et Cristina Caescu.

Entre temps, le groupe a travaillé sur des projets industriels dans le cadre des retrouvailles avec P.J. Sicard au sein d'une société leader dans le traitement des produits amylacés (Roquette Frères, Lestrem). Au cours de cette longue (10 ans) et fructueuse collaboration, différentes enzymes susceptibles de modifier plus ou moins l'amidon ont été abordées (glucose-isomérase libre et immobilisée, maltitol hydrolase et cyclomaltodextrine glucanotransferase).

En conclusion, si on regarde bien les champs d'investigation abordés, on peut voir que d'une préoccupation purement technique : purification de glycosidases pour l'étude structurale, l'équipe dirigée par S. Bouquelet a été amenée, de par les techniques utilisées, à côtoyer différents milieux de la recherche fondamentale et appliquée. En passant de la désorganisation d'un homogénat cellulaire à une étude plus intégrée de l'activité glycosidasique dans le catabolisme des sucres chez les micro-organismes, cette équipe est passée des techniques extractives à grande échelle (purification) à la mise en œuvre des techniques de biologie moléculaire pour la caractérisation des gènes de certaines de ces enzymes.

2- Biosynthèse et glycosyltransférases

Quand en 1974 A. Verbert rejoignit le laboratoire de biochimie à Villeneuve d'Ascq, il fit équipe avec René Cacan et ils choisirent comme thématique l'étude de la biosynthèse des glycoprotéines et en particulier, celle des glycosyltransférases.

Etude des ectoglycosyltransférases 1974-1981

Le schéma général de la structure des N-glycannes commençait à être connu, du moins la notion de sucres externes et celle de noyau interne. A ce schéma structural, correspondaient les données sur la biosynthèse. Le noyau interne étant synthétisé dans le reticulum endoplamique alors que les sucres périphériques étaient ajoutés dans l'appareil de Golgi voire pour certains, à la surface cellulaire même. Le Pr A. Verbert et R. Cacan se sont engagés dans l'étude des glycosyltransférases, responsables de l'addition des sucres périphériques,

en particulier celles situées sur la membrane plasmique des cellules (ectoglycosyltransférases) et dont la présence à cette époque était encore soumise à discussion. En plus de leur activité biosynthétique, certains auteurs décrivaient pour ces enzymes un rôle potentiel dans la reconnaissance cellulaire. En effet, en s'associant à leur substrat, les ectoglycosyltransférases (particulièrement l'ectogalactosyltransférase) pouvaient déclencher l'une des premières phases de l'adhésion entre deux cellules. En utilisant comme modèle cellulaire le lymphocyte splénique de rat, (cellule naturellement libre), des activités galactosyl-, sialyl- et fucosyltransférase ont été mises en évidence, ces activités étant bien entendu « latentes» puisque le deuxième substrat de ces enzymes, les glycosylnucléotides, ne sont pas présents dans le milieu extracellulaire. Pendant cette période, une collaboration s'est engagée avec l'équipe de recherches du Pr J. Caen, hématologue (hôpital Lariboisière, Paris), sur l'étude de l'activité ectosialyltransférase des plaquettes sanguines impliquées dans le phénomène d'agrégation plaquettaire et la formation du thrombus. Une de ses collaboratrices, Brigitte Beauvois est venue soutenir sa thèse dans le laboratoire.

Etude du transport des glycosylnucléotides 1982-1989

Les premières enzymes responsables de la biosynthèse des donneurs de sucres (les glycosylnucléotides) ont été caractérisées dans le cytoplasme des cellules. Leur utilisation est luminale puisque les sites actifs des enzymes responsables du transfert du sucre (les glycosyltransférases) sont dirigés vers la lumière de l'appareil de Golgi. Il se posait donc le problème du transport des donneurs de sucre sur les lieux de glycosylation. Les principaux donneurs de sucres sont transportés dans l'appareil de Golgi grâce à des mécanismes d'antiport: l'UDP-galactose avec un échange UDP-Gal / UMP, le CMP-acide sialique avec un échange CMP-NeuAc / CMP et le GDP-fucose avec un échange GDP-Fuc / GMP. Ces transports ont été mis en évidence en utilisant un matériel biologique original : les cellules dont la membrane plasmique a été perméabilisée, permettant ainsi de modifier la composition du cytoplasme. La technique des cellules perméabilisées a été par la suite largement utilisée dans les études sur la biosynthèse du noyau commun des N-glycosylprotéines dans le reticulum endoplasmique.

Etude de la régulation du cycle des dolichols et des cellules mutantes de glycosylation 1989-2000

Le noyau commun des N-glycosylprotéines est synthétisé en deux étapes. La première consiste en l'addition séquentielle sur un lipide isoprénique (le dolichol) d'un glycanne précurseur qui, dans un deuxième temps, est transféré en bloc sur la protéine en voie de synthèse. En utilisant les cellules perméabilisées, il a été montré que ce processus est accompagné de la libération d'une quantité importante de matériel oligosaccharidique. En collaboration avec le Pr S. Krag (Johns Hopkins University, Baltimore Md, USA) qui fournit des cellules mutantes de glycosylation, le groupe dirigé par A. Verbert a pu montrer que ce matériel est le témoin des processus de régulation du cycle des dolichols permettant d'adapter la production de glycanne à transférer à la quantité de protéines à glycosyler.

Etude des glycosyltransférases responsables de l'addition des sucres périphériques

Dès les années 80, le clonage des gènes des glycosyltransférases, ou plutôt de leurs ADN complémentaires est apparu de première importance pour mieux comprendre les mécanismes de biosynthèse des structures glycanniques retrouvées à la périphérie des glycannes, et ainsi, pouvoir entreprendre des études à la fois structurales et fonctionnelles. En effet, à cette époque les glycosyltransférases périphériques, notamment les sialyltransférases, n'étaient étudiées que par des dosages d'activité enzymatique basés sur l'utilisation de précurseurs radio-marqués et de substrats accepteurs plus ou moins spécifiques, ne permettant pas de discriminer entre des enzymes de spécificités voisines et d'impliquer l'une ou l'autre de ces enzymes dans la biosynthèse d'une structure particulière. Par ailleurs, le nombre et la diversité de ces glycosyltransférases périphériques restaient un point d'interrogation, de même que leur architecture et leur rôle respectif. Le

clonage moléculaire des ADNc de ces enzymes et la production d'enzymes recombinantes étaient donc un pré-requis indispensable.

Le premier article relatant le clonage de l'ADNc de la β-galactoside α2,6-sialyltransférase (EC 2.4.99.1) de foie de rat, démontrant pour la première fois que les glycosyltransférases golgiennes étaient des protéines membranaires de type 2, ancrées dans la membrane de l'appareil de Golgi par leur extrémité N-terminale, a été publié par l'équipe de James C. Paulson en 1987 dans le *Journal of Biological Chemistry*. La stratégie employée à l'époque était basée sur le criblage de banques d'ADNc à l'aide d'anticorps ou de sondes nucléotidiques déduites de la séquence en acides aminés de la protéine et nécessitait de pouvoir au préalable purifier l'enzyme en qualité suffisante. Plusieurs articles basés sur des stratégies similaires s'en sont suivis mais le développement des techniques de PCR (réaction de polymérisation en chaîne) a conduit au début des années 90 à une accélération dans l'identification des ADNc des glycosyltransférases périphériques, en mettant à profit les signatures moléculaires retrouvées dans la séquence des enzymes de la même famille. C'est ainsi que plusieurs ADNc codant des glycosyltransférases que les analyses structurales ou les dosages d'activité n'avaient pas permis de suspecter, ont été identifiés. L'identification de ces ADNc et l'augmentation du nombre d'enzymes caractérisées a conduit Philippe Delannoy à publier en 1995 une revue générale intitulée "1994, the year of sialyltransferases" dans le journal *Glycobiology* et à proposer avec d'autres en 1996 une nouvelle nomenclature des sialyltransférases.

A cette date, la plupart des ADNc qui avaient été identifiés provenaient de sources animales (rat ou souris) mais paradoxalement peu d'ADNc humains avaient été caractérisés. C'est donc dans ce contexte que dès 1996, Ph. Delannoy et son équipe ont entrepris la caractérisation des ADNc des sialyltransférases humaines. Pour cela, l'équipe a bénéficié des progrès considérables du séquençage de l'ADN et de la mise en place des banques de données génomiques et d'expression (EST : *expressed sequence tags*) permettant des recherches d'homologies de séquence *in silico* et la reconstitution des séquences d'ADNc et des gènes. Ceci a permis de faire l'inventaire complet des gènes de sialyltransférases humaines et d'aborder la phylogénie moléculaire et l'étude de l'évolution de cette famille de gènes chez les vertébrés et les invertébrés.

L'identification des ADNc des glycosyltransférases périphériques a également très vite suscité un intérêt majeur pour la production d'enzymes recombinantes pour la synthèse d'oligosaccharides par voies chimio-enzymatiques et pour l'humanisation de la glycosylation des protéines recombinantes d'intérêt thérapeutique. En effet, si le code génétique et la machinerie de synthèse protéique sont très largement conservés entre les espèces, il n'en est pas de même pour la machinerie de glycosylation, notamment en ce qui concerne la glycosylation périphérique, et les glycoprotéines recombinantes produites dans différents systèmes d'expression (levures, cellules d'insectes ou de mammifères, plantes) présentent des différences parfois importantes de glycosylation pouvant modifier leurs propriétés et leur antigénicité. C'est ainsi qu'à l'initiative d'A. Verbert a été créé en 1997 le réseau GTrec (Glycosyltransférases Recombinantes) regroupant une dizaine d'équipes françaises autour de cette thématique, réseau qui évoluera par la suite sous la forme du GDR CNRS G3 (Génomique et Génie des glycosyltransférases) animé par la suite par Ph. Delannoy. L'identification des gènes des glycosyltransférases autorise maintenant des études fonctionnelles permettant de déterminer le rôle précis de ces enzymes dans les étapes de biosynthèse des structures glycanniques périphériques et leur implication dans la physiopathologie des maladies humaines, tels que les cancers, les maladies inflammatoires et auto-immunes.

VII- De la conformation à la fonction

1- Les biomembranes des cellules normales et cancéreuses

Les lectines végétales : isolement, détermination de leurs spécificités et utilisation dans le fractionnement de glycoconjugués d'origines diverses

Lors du 2ème Symposium International sur les Glycoconjugués, organisé à Villeneuve d'Ascq du 20 au 27 juin 1973 par J. Montreuil, plusieurs communications reportaient le fait que certaines lectines végétales agglutinaient plus fortement les cellules transformées que les cellules normales. C'est sans doute cela qui détermina J. Montreuil à envoyer un peu plus tard R. Cacan, Monique Cacan-Durieux, Renée Debray-Vandersyppe et H. Debray effectuer un stage dans le laboratoire du Professeur Nathan Sharon au Weizmann Institute of Sciences, de Rehovot, en Israël, du 1er juillet au 31 octobre 1974.
Ce stage, sous la conduite de Reuben Lotan, permit à H. Debray de s'initier à la chromatographie d'affinité. Après l'immobilisation de différents monosaccharides, attachés par l'intermédiaire d'un bras sur un support insoluble (Sepharose 4B), ces supports d'affinité étaient utilisés pour isoler des lectines végétales dont la lectine de graines de soja (SBA) ou de germes de blé (WGA).
Au cours de ce stage, la lectine de graine de soja (SBA), glycoprotéine de type oligomannosidique a été radiomarquée sans altérer ses propriétés biologiques, c'est-à-dire les activités de reconnaissance de résidus de galactose ou de N-acétylgalactosamine et l'agglutination d'érythrocytes de lapin.
La structure quaternaire de la SBA a également pu être précisée. En 3 mois de travail, ce stage se concrétisa par 3 publications, mais fut également pour H. Debray le début d'un travail de recherche sur l'isolement de nouvelles lectines végétales par chromatographie d'affinité et la détermination de leurs spécificités envers des séquences oligosaccharidiques bien précises en vue de leurs utilisations dans le fractionnement des glycoconjugués membranaires.

De janvier 1975 à juillet 1977, les spécificités de 12 lectines que H. Debray avait toutes isolées, à l'exception de la concanavaline A, seront étudiées, par inhibition de l'hémagglutination provoquée par ces lectines, par des oligosaccharides ou des glycopeptides fournis par G. Strecker, G. Spik ou B. Fournet.
Ce travail fit l'objet d'une publication dans *European Journal of Biochemistry*. montrant que des lectines reconnaissant un même monosaccharide pouvaient présenter des spécificités totalement différentes envers des structures glycanniques plus complexes. Cette publication qui a fait date, a fait l'objet de plus de 700 citations et H. Debray fut invité à préparer un commentaire sur cet article dans *Current Contents* (citation classic).

A cette époque, l'étude de la spécificité des lectines était un enjeu pour la glycobiologie : invité au *Symposium on Lectins as Tools in Biology and Medecine*, qui se tenait à Calcutta du 7 au 9 janvier 1981, H. Debray montra l'importance déterminante du résidu de fucose lié en α 1-6 sur le résidu de N-acétylglucosamine du point d'attache et appartenant à un glycopeptide (tel que celui de la lactotransferrine humaine) pour la reconnaissance de ce glycanne par les lectines de lentille (LCA), de pois (PSA) et de fève (VFA). A ce symposium assistait Ajit P. Varki qui travaillait à l'époque dans le laboratoire de Stuart et Rosalind Kornfeld (St Louis, USA) et le même résultat fut publié par ce groupe peu de temps après dans *Journal of Biological Chemistry*, soumis pour publication le 23 janvier 1981 !

Cependant, la méthode d'étude de la spécificité des lectines, par inhibition de l'hémagglutination fut remplacée par l'étude des comportements chromatographiques sur des colonnes de lectines immobilisées, d'oligosaccharides ou de glycopeptides radiomarqués. Les consommations de ces oligosaccharides ou glycopeptides marqués devenaient très faibles et ils pouvaient même être récupérés après la manipulation. D'autre part, des colonnes de lectines immobilisées, étalonnées par ce procédé, devenaient des outils très

précieux pour le fractionnement d'oligosaccharides ou de glycopeptides d'origines diverses. Un schéma de fractionnement sur colonnes de Con A et LCA immobilisées est montré figure 6.

Ainsi, certaines de ces lectines immobilisées ont permis l'isolement par Bernard Bayard et Jean-Pierre Kerckaert, des variants d'alpha-fetoprotéine de rat (lectine de ricin) ainsi que la caractérisation d'un antigène circulant du parasite *Schistosoma mansoni*, travail réalisé en collaboration avec G. Strecker, Y. Carlier, D. Bout et A. Capron.

Les lectines insolubilisées (Con A et LCA) ont également servi à isoler des asialoglycopeptides d'immunoglobulines A de secrétion du lait humain.

A partir de janvier 1981, H. Debray continua à étudier les modifications des glycannes des N-glycosylprotéines lors de la transformation maligne des cellules en continuant d'utiliser les lectines végétales comme outils de fractionnement. Dans ce but, de nouvelles lectines furent isolées (isolectines de haricot PHA L4 et PHA E4, lectine du champignon *Aleuria aurantia* (AAA) ou d'écorce du sureau *Sambucus nigra* (SNA) et leurs spécificités fines précisées ainsi que celles d'autres lectines isolées dans d'autres laboratoires (collaborations avec N. Sharon, P. Rougé, E. Zenteno ou H. Franz). De 1981 à 1990, les spécificités fines de 20 lectines furent ainsi définies. Afin d'améliorer les performances de la chromatographie d'affinité sur lectines immobilisées sur Sepharose, une méthode d'immobilisation des lectines sur silice fut développée permettant de fractionner des oligosaccharides ou des glycopeptides en mode chromatographie d'affinité de haute performance.

En Janvier 1999, dans le cadre d'un projet CAPES/COFECUB (CoordinAtion pour le Perfectionnement du Personnel de l'Enseignement Supérieur/Comité Français d'Évaluation de la Coopération Universitaire et Scientifique avec le Brésil) « Isolement et caractérisation de nouvelles lectines de la flore brésilienne: détermination de leurs spécificités envers des structures oligosaccharidiques complexes et utilisation dans le fractionnement des glycannes potentiellement impliqués dans différentes pathologies cellulaires », les spécificités fines de 15 nouvelles lectines isolées de la flore brésilienne et de 6 algues marines par les groupes des Professeurs M.V. Ramos et B.S. Cavada (Université Fédérale de Céara, Brésil) furent étudiées.

Dans le cadre d'un projet ECOS (Evaluation-orientation de la Coopération Scientifique) mené en collaboration avec le Professeur E. Zenteno (UNAM, Mexico, Mexique), la spécificité fine de la lectine de graines d'*Amaranthus leucocarpus* a été définie et un récepteur pour cette lectine a été isolé de thymocytes murins. Au cours de l'année sabbatique passée par le Pr E. Zenteno dans notre laboratoire (septembre 1998-juillet 1999), la structure primaire de cette lectine a été déterminée par une approche protéomique et publiée dans *Glycoconjugate Journal*.

Les glycoconjugués des membranes plasmiques des cellules normales et transformées

Dès les années 1970, un certain nombre de laboratoires avaient établi que les propriétés de surface (sensibilité aux lectines, répartitions et densité des composés polyanioniques, perméabilité) étaient souvent attribuées aux glycoconjugués de surface (glycolipides et glycoprotéines). Le laboratoire s'engagea donc dans l'étude comparée des glycoprotéines des membranes plasmiques de cellules normales et transformées.

Avec une souche d'hépatocytes de foie de rat Wistar normal, dissocié par action de la collagénase et de la hyaluronidase, cellules isolées par H. Debray et cultivées par Maud Collyn et qui conservaient leurs caractéristiques morphologiques, biochimiques et fonctionnelles des cellules d'origine, les premiers marquages métaboliques purent être envisagés à la fin de l'année 1973.

Après incorporation de glucose ^{14}C, de glucosamine ^{14}C ou ^{3}H ou de fucose ^{14}C ou ^{3}H, une action contrôlée de la trypsine sur ces hépatocytes permettait d'obtenir des glycopeptides trypsiques radiomarqués. Par chromatographie de gel filtration, 2 fractions pouvaient être séparées. Une fraction de type « mucin-like », alcali-labile, ne renfermait que du galactose, de l'acide N-acétylneuraminique et de la N-acétylgalactosamine, celle-ci liée par une liaison O-glycosidique aux protéines membranaires et à partir de laquelle 2 oligosaccharides purent être caractérisés: un monosialyl- et un disialyl-galactosido-N-acétyl-galactosaminitol et une fraction alcali-stable, renfermant des glycannes liés N-glycosidiquement qu'une

colonne de lectine insolubilisée (Concanavaline A) a permis de fractionner en 2 sous-groupes : des glycopeptides non retenus, de type N-acétyllactosaminique et des glycopeptides de type oligomannosidique, retenus par la Con A immobilisée.

Les recherches sur les glycoconjugués des membranes plasmiques des cellules normales et transformées se développèrent dans deux directions :

- **D'abord sur des membranes isolées : à partir de juin 1978, des glycopeptides furent préparés par digestion pronasique, à partir du stock de membranes plasmiques lyophilisées, isolées de foie de rat normal ou hépatomateux et préalablement délipidées, et après N-réacétylation par l'anhydride acétique ^{14}C, fractionnés par chromatographie d'affinité sur colonnes de Con A et de lectine de lentille immobilisées. L'étude des glycannes présents dans les différentes fractions obtenues fut réalisée à Utrecht par le groupe de J.F.G.Vliegenthart par spectroscopie ^{1}H-RMN à 360 MHz. L'analyse d'une fraction permit d'identifier un glycanne de type N-acétyllactosaminique biantenné. Ce glycanne a ainsi été (même si cette structure avait déjà été caractérisée dans de nombreuses glycoprotéines d'origines diverses) le premier glycanne d'origine membranaire identifié par spectroscopie ^{1}H-NMR et cette nouvelle approche fut publiée en 1981 dans *European Journal of Biochemistry* (Figure 6).**

De plus, sur la base de la répartition des glycopeptides dans les 6 fractions obtenues après chromatographie d'affinité sur lectines immobilisées, H. Debray mettait en évidence, dans un hépatome chimio-induit, une altération structurale des glycannes membranaires se traduisant par un enrichissement en glycannes de type N-acétyllactosaminique tri- et tétraantennés au détriment des glycannes biantennés.

- **Ensuite, en comparant des lignées cellulaires normales et transformées par différents agents tumorigènes : d'abord des hépatocytes de rat RL et de leurs homologues transformés par le virus de Moloney, puis les fibroblastes de rein de Hamster (BHK 21), n'ayant subi qu'un nombre limité de passages *in vitro*, comme cellule normale de référence et le même fibroblaste après transformation par le virus oncogène du sarcome du Hamster (BHK 21 / HSV). Ces 2 lignées cellulaires avaient été fournies par le Pr L. Montagnier. Des cellules lymphoïdes humaines normales (cellules LHN13) et pathologiques provenant de l'institut de cancérologie et d'immunogénétique (Pr C. Rosenfeld) furent également étudiées. Deux approches furent utilisées : d'une part, l'étude des glycopeptides obtenus par action contrôlée de la trypsine sur les cellules, après marquage métabolique ou marquage chimique des glycannes de surface, et d'autre part l'analyse des glycoprotéines membranaires marquées, fractionnées par chromatographie d'affinité sur colonnes de lectines immobilisées (Con A, LCA ou PNA) et l' analyse des fractions obtenues par électrophorèse en gel de polyacrylamide.**

Ces travaux, réalisés avec Ph. Delannoy, qui avait rejoint H. Debray en 1979, et avec Philippe Debeire, montrèrent clairement l'inversion des proportions des structures de type N-acétyllactosaminique biantennées / structures de type N-acétyllactosaminique tri- et tétraantennées dans les fibroblastes transformés BHK 21 / HSV au profit des structures lourdes et au détriment des structures biantennées. Cette augmentation de poids moléculaire des glycopeptides, observée par chromatographie de tamisage moléculaire, provenait bien des glycannes, car ceux-ci, libérés par hydrazinolyse, présentaient toujours l'augmentation de poids moléculaire.

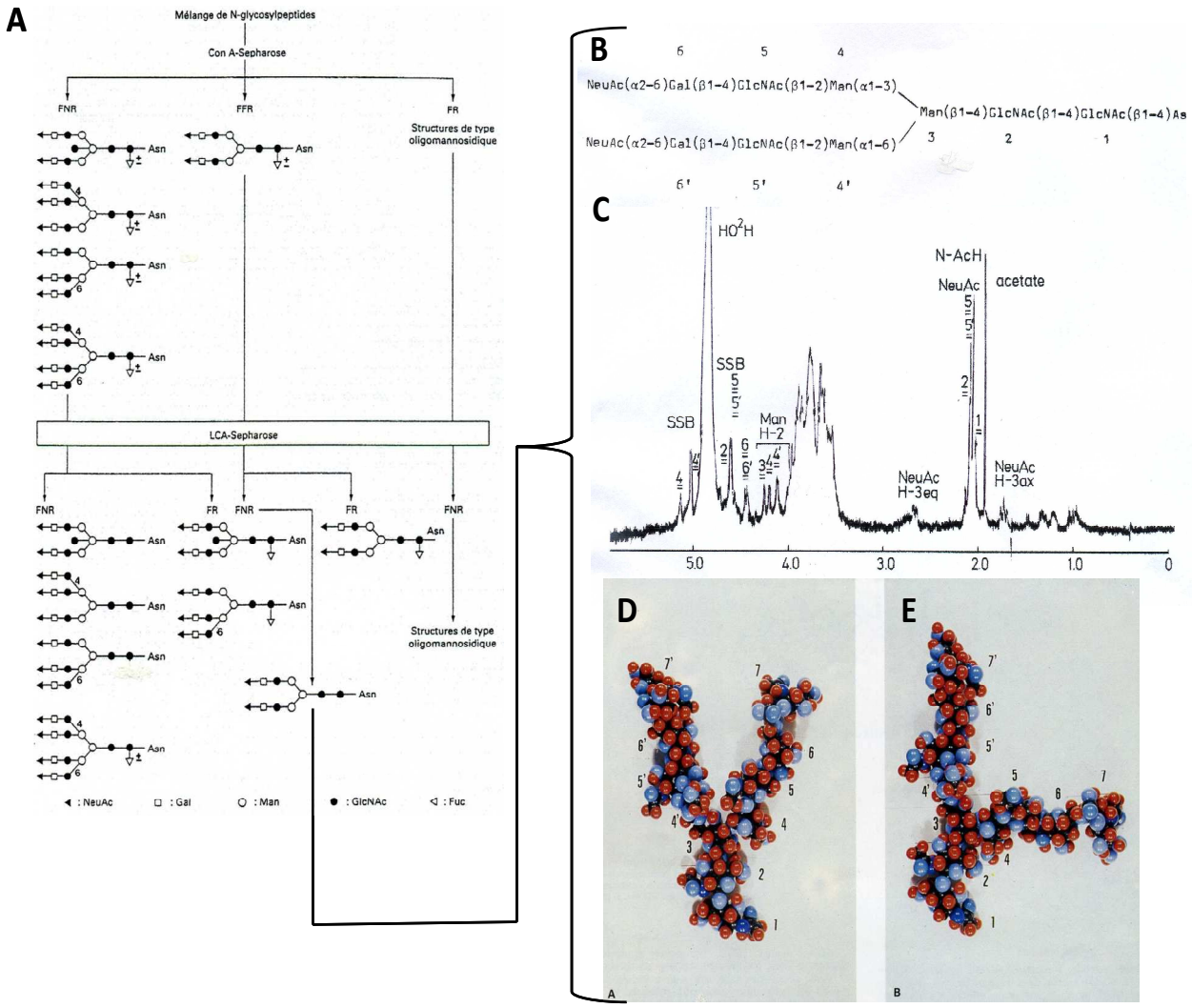


Figure 6. Fractionnement et structure des N-glycannes. A : fractionnement de glycopeptides N-glycosylés sur des colonnes de lectines (Concanavaline A : ConA-Sépharose et de lentille : LCA- Sépharose), FNR : Fraction Non Retenue, FFR : Fraction Faiblement Retenue, FR : Fraction Retenue. Symboles des monosaccharides constituant les N-glycannes : NeuAc : acide sialique, Gal : galactose, Man : o mannose, • GlcNAc : N-acétyl glucosamine, Fuc : fucose. B et C : Structure et spectre RMN d'un N-glycanne biantenné isolé de membranes plasmiques de foie de rat. D et E : Modèles moléculaires de N-glycannes biantennés sialylés dans deux conformations différentes, en Y (D) et en T (E). Les chiffres correspondent à la position des monosaccharides indiquée en B.

Ces résultats furent confirmés par l'étude comparée des glycopeptides obtenus par digestion d'une glycoprotéine de la matrice extracellulaire : la fibronectine. La comparaison des glycopeptides préparés à partir des fibronectines, isolées des milieux de culture des fibroblastes normaux BHK 21 ou transformés BHK 21/ HSV, après marquage métabolique par la glucosamine (^{3}H) ou (^{14}C) montra que les phénomènes de polyantennarisation et d'hypersialylation étaient encore plus significatifs lorsque le procédé de fractionnement était appliqué aux fibronectines isolées des milieux de culture de fibroblastes normaux ou transformés. Les glycannes majeurs isolés de la fibronectine de fibroblastes normaux, essentiellement neutres ou monosialylés, possédaient une structure de type N-acétyllactosaminique biantennée, fucosylée en α-1-6 sur l'osamine du point d'attache. Au contraire, dans la fibronectine de fibroblastes transformés, la proportion des glycannes biantennés passait de 62 à 28 % alors que la proportion des structures tri- et tétraantennées passaient de 30 à 69 %. D'autre part, la transformation enrichissait la fibronectine en glycannes di-, tri- et tétrasialylés, n'existant qu'en faible proportion dans la fibronectine de fibroblastes normaux.

En septembre 1981 commença une collaboration entre H. Debray et Danuta Dus. Cette dernière gérait, au Département d'immunologie des tumeurs (directeur Pr Czeslaw Radzikowski) à l'Institut Hirszfeld d'immunologie et de thérapie expérimentale de Wroclaw, Pologne, une banque de cellules tumorales de renommée internationale. Une collaboration s'établit autour de 2 modèles cellulaires différents.

Le premier était constitué par 7 lignées de cellules uro-épithéliales humaines présentant des degrés de transformation maligne bien définis, établies à partir de tissus sains ou cancéreux par le Pr J. Kieler à l'Institut Fibiger de Copenhague au Danemark qui confirma que les cellules correspondant au degré III de transformation, étaient enrichies en glycannes de type N-acétyllactosaminique tri- et tétra-antennés avec une diminution concomitante du taux de glycannes biantennés, par rapport aux glycannes présents dans 2 autres lignées cellulaires non-tumorigènes et non-invasives (degré II de transformation). Cette observation illustrait bien le fait que la polyantennarisation des glycannes de type N-acétyllactosaminique représentait bien un marqueur précoce de la transformation maligne des cellules.

Le deuxième modèle, constitué par les cellules LL2 du carcinome pulmonaire murin de Lewis, permit d'étudier le rôle des glycoconjugués de la surface cellulaire dans le processus de diffusion métastatique. Des variants cellulaires de la lignée LL2 résistants à l'action cytotoxique de 3 lectines : la lectine du germe de blé (WGA) reconnaissant des résidus de N-acétylglucosamine ou d'acide N-acétylneuraminique, la lectine de ricin (RCA II ou ricine) reconnaissant des résidus de galactose ou de N-acétylgalactosamine en position terminale non réductrice et la lectine du champignon *Aleuria aurantia* (AAA) que H. Debray venait d'isoler et qui reconnaissait les résidus de fucose liés en α1-6 ou en α1-3 furent sélectionnés. Ces variants possédaient des pouvoirs métastatique et tumorigène différents selon la lectine utilisée.

Trois variants cellulaires WGA^{R} (résistants à l'action de la WGA) furent obtenus, restant tumorigènes mais présentant des pouvoirs métastatiques naturels ou expérimentaux réduits. Un variant AAA^{R}, résistant à l'action de la lectine fucose-spécifique, présentait un pouvoir métastatique naturel réduit, mais un pouvoir métastatique expérimental 10 fois plus élevé que la lignée LL2 mère. Enfin, un variant RCA II^{R} présentait des pouvoirs métastatiques naturel et expérimental réduits, mais un pouvoir tumorigène accru.

L'étude des glycannes de surface montrait que pour 4 variants lectine-résistants, une diminution des pouvoirs métastatiques à la fois naturel et expérimental allait de pair avec une simplicification apparente des glycannes des N-glycosylprotéines membranaires. Ces résultats furent publiés en 1990 dans *Clinical and Experimental Metastasis*.

Pour la lignée qui possédait un pouvoir métastatique 10 fois plus élevé que celui de la lignée mère, les structures de 4 glycopeptides biantennés purent être déterminées au laboratoire par ^{1}H-RMN à 400 MHz. Ils présentaient le motif Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ1- en position terminale non réductrice sur l'antenne liée en α1-6, avec pour 2 de ces glycannes, l'expression concomitante d'un résidu d'acide N-acétylneuraminique lié en α 2-3.

A partir de 2000, dans le cadre d'un nouveau projet CAPES/COFECUB avec le laboratoire du Pr B.S.Cavada (Université Fédérale du Céara, Brésil) intitulé " Etude de l'interaction de lectines végétales isolées de la flore

brésilienne avec différentes lignées de cellules du cancer du colon humain ou appartenant au système immunitaire : identification et caractérisation des récepteurs membranaires spécifiques", l'étude du rôle éventuel des glycoconjugués membranaires fucosylés présentant des antigènes Lewis (Le^x, Le^a, Sle^x, Sle^a, Le^b et Le^y) dans les pouvoirs invasifs et métastatiques de cellules du cancer du colon humain a été entreprise. Encore une fois, les lectines ont été utilisées, mais cette fois en utilisant la cytométrie de flux. Les profils glycanniques des différents variants ont été analysés au laboratoire, par cytométrie de flux à l'aide de 30 lectines différentes marquées par la fluorescéine et correspondant pour la plupart aux nouvelles lectines de la flore brésilienne dont les spécificités avaient été déterminées. De plus, les activités fucosyltransférasiques d'homogénats préparés à l'aide de ces différentes lignées cellulaires envers différents accepteurs ont fait apparaître l'expression d'activités fucosyltransférases différentes selon les lignées en corrélation avec le type d'antigène exprimé en surface.

Les glycoconjugués de Plasmodium falciparum pendant sa phase asexuée érythrocytaire

La caractérisation des glycoconjugués du parasite *Plasmodium falciparum* pendant sa phase asexuée érythrocytaire, entreprise au C9 en 1994 avec Liliana Ceafalu en collaboration avec le Pr J. Schrével (Museum National d'Histoire Naturelle, Paris) a constitué un des thèmes de recherche de H.Debray.
Les résultats obtenus indiquaient la présence d'une N- glycosylation de certaines protéines de *Plasmodium falciparum* ainsi que d'une O-glycosylation « classique » associée à une O-GlcNAc glycosylation pendant sa phase érythrocytaire. Ces travaux sont rassemblés dans la Thèse d'Université de Denis Leleu, soutenue en Février 2001. L'existence confirmée de ces N-glycosylprotéines a conduit à étudier la structure et la biosynthèse de ces glycannes liés N-glycosidiquement avec la recherche d'intermédiaires de type dolichol-PP-oligosaccharides et les moyens d'interférer dans cette biosynthèse afin de bloquer le cycle de développement érythrocytaire du parasite. Depuis cette date, l'inventaire des glycosyltransférases nécessaires à la biosynthèse des N-glycosylprotéines chez *Plasmodium falciparum, a été* réalisé dans différents laboratoires.

2- De la glycosylation de la lactoferrine à ses fonctions biologiques

Les travaux de G. Spik se sont déroulés en trois vagues successives. Ils ont d'abord porté sur la mise au point de procédés de détermination de la structure des glycannes des glycoprotéines qu'elle a appliqués, d'abord à l'étude des glycannes des transferrines, puis à celle d'autres glycoprotéines. A partir de 1970, une seconde thématique est abordée : celle de la structure des transferrines et de leur site de fixation du fer, pour déboucher, vers 1975, sur une troisième orientation qui concerne la biologie et la pathologie moléculaires des transferrines. L'ensemble des travaux de G. Spik et de ceux de son groupe a été rassemblé dans 180 publications et a donné lieu à une quarantaine de thèses. G. Spik contribua avec Bo Lönnerdal, Ted Baker, Cristina Teng, Hiroyuki Tsuda et Jeremy Brock à fonder la «*First International Lactoferrin Conference*» à Honolulu en 1993. Membre du Scientific Board, elle a œuvré pour que le congrès se déplace sur différents continents. Elle a organisé la *3rd International Lactoferrin Conference* au Touquet en 1997. Après son départ de la direction du groupe « lactoferrine », J. Mazurier puis A. Pierce ont repris le flambeau. Le groupe lillois des lactoferrines et notamment A. Pierce et D. Legrand ont été invités à organiser la *8th International Lactoferrin Conference* en 2007 à Nice. Le prix « Geneviève Spik » fut créé suite à son décès pour souligner sa très large contribution au monde des lactoferrines. Il récompense la meilleure prestation d'un ou d'une jeune congressiste.

Les très nombreux champs d'action de la lactoferrine (exposés par la suite) ont contribué à sa renommée dans le monde de l'industrie et tout particulièrement dans celui des laits dits maternisés. Le premier collaborateur industriel du groupe de G. Spik, était l'un des fondateurs du groupe Biopôle (Belgique), Jean-Paul Perraudin. Ce dernier a favorisé et favorise encore les relations recherche académique-recherche industrielle. Le groupe de G. Spik a collaboré avec de nombreuses autres firmes industrielles dont GenePharming qui a produit des animaux transgéniques qui synthétisaient la lactoferrine humaine dans le lait de vache. Parmi les nombreuses péripéties de cette aventure dans le monde des transgènes, il y a eu : 1)

La naissance d'Herman, le premier veau transgénique qui est devenu un énorme taureau mélomane (la musique adoucissant les mœurs, Herman adorait entre autre la musique de Mozart). 2) Puis, bien entendu, la naissance de nombreuses jeunes vaches qui produisaient dans leur lait de la lactoferrine humaine. La fraction glycannique de cette lactoferrine humaine était identique à celle de la lactoferrine de vache renforçant l'idée de la tissu-spécificité de la glycosylation. 3) Le dernier problème fut la levée de boucliers des écologistes néerlandais qui ont assigné la firme en justice, demandé la mise à mort des animaux transgéniques. Herman a eu néanmoins la vie sauve et a fini son existence à l'étranger.

La glycosylation des transferrines

Le groupe de G. Spik, avec la « chaîne Ford », a décrit en 1973 la première structure complexe (complex type des anglo-saxons), un glycanne biantenné : celui de la transferrine sérique humaine. Puis son groupe poursuivit l'exploration de diverses structures glycanniques, recherches qui sont jalonnées d'une série de découvertes. Il s'agit en particulier de la détermination de la structure des glycannes des transferrines (B. Coddeville, D. Léger, B. Campion en collaboration avec les groupes de G. Strecker et J.F.G. Vliegenthart) et des IgA de sécrétion du lait de femme (M. Pamblanco et A. Pierce), de la découverte de deux variants tri-antennés de la transferrine sérique humaine dont l'intérêt en pathologie est lié à leur apparition dans les atteintes hépatiques et sont utilisés comme témoin des syndromes congénitaux de glycosylation (CDG) et de l'étude phylogénétique de la structure des glycannes des transferrines de diverses espèces aboutissant à la démonstration que chaque transferrine possédait ses glycannes propres et que les glycannes étaient des marqueurs de l'évolution.

Les lactoferrines : de la purification à la production par génie génétique

D'avoir œuvré à la connaissance de la structure des glycannes de transferrines, glycoprotéines d'une masse moléculaire de 80000 daltons capables de fixer réversiblement 2 ions Fe^{+++} incita G. Spik à s'orienter vers l'étude de la structure et de la conformation de la fraction protéique de ces protéines et du site de fixation du fer. Avec le laboratoire de Pierre Jollès (Laboratoire des Protéines, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6), son groupe (notamment J. Mazurier, D. Legrand, J.P. Decottignies) a contribué à la détermination de la séquence peptidique des 703 amino-acides de la lactotransferrine humaine. Puis sur la base des résultats obtenus à l'aide de méthodes chimiques et physiques, d'une part, et grâce à la connaissance de la structure primaire de la protéine d'autre part, l'équipe de G. Spik a résolu le problème de la structure des sites de fixation du fer et construit le modèle moléculaire de la « cage du fer » du lobe N-terminal de la lactotransferrine humaine après avoir isolé et cristallisé le plus petit peptide (18 kDa) capable de fixer le fer connu à ce jour. C'est à la suite de ces travaux que G. Spik fût surnommée « la dame du fer ». Par la suite, l'équipe s'orienta vers le clonage des lactotransferrines et de leurs récepteurs, réalisa le séquençage de l'ADNc de la lactoferrine de vache (A. Pierce, D. Colavizza, M. Benaïssa), la production de lactoferrine humaine recombinante dans différents organismes : tabac, cellules d'insectes, de mammifères, *Pichia pastoris* …. (D. Legrand, Valérie Salmon, M. Carpentier, Marie-Estelle Losfeld) et identifia la nucléoline de surface au récepteur lymphocytaire de la lactoferrine (D. Legrand, E. Elass-Rochard, J. Mazurier).

Les premiers travaux du groupe avaient nécessité la purification d'une très grande quantité de lactoferrine et d'IgA de sécrétion. Durant cette période, les chambres froides à – 20°C étaient remplies de milliers de litres de lait humain et bovin provenant de la France entière. Les précipitations au sulfate d'ammonium étaient journalières, les dialyses dans des boudins de diamètre impressionnant permettaient d'éliminer les sels. Les chambres froides de l'époque étaient équipées de bac de dialyse contenant jusqu'à une centaine de litres d'eau qu'il fallait changer tous les jours. La biochimie « des grosses gamelles » a, en quelques années, fait place à une « chasse aux mites » lorsqu'il s'est agi de purifier le récepteur de la lactoferrine. En effet, le groupe s'intéressa ensuite à la relation structure-fonction des lactoferrines humaine et bovine et prit le virage de la biologie cellulaire et moléculaire.

Depuis sa découverte, et ce jusqu'à aujourd'hui, on peut dire que la lactoferrine s'est révélée être et reste une molécule énigmatique et fascinante. Mise en évidence simultanément au sein de trois laboratoires en 1960 dont celui de J. Montreuil, la lactoferrine, synthétisée par les glandes exocrines, est sécrétée dans de nombreux fluides biologiques dont le lait maternel. Elle est stockée dans les granules secondaires des leucocytes polymorphonucléaires qui dégranulent et la libèrent dans la circulation sanguine lors du processus inflammatoire. Elle est retrouvée dans le système nerveux central et plus particulièrement dans la substance grise. Au laboratoire, Carine Fillebeen a montré qu'elle était produite par les cellules gliales et qu'elle était retrouvée dans les neurones dopaminergiques (collaborations avec David Dexter, Parkinson's disease research Unit, Department of neurodegenerative disorders, Imperial college school of medicine, London, UK et le groupe de J-C. Beauvillain, Laboratoire de neuroendocrinologie et physiopathologie neuronale, INSERM U 422, Lille, France). Par ailleurs en collaboration avec le groupe de Roméo Cecchelli (LBHE, Université d'Artois Jean Perrin, Lens, F), C. Fillebeen a montré que la lactoferrine passait la barrière hémato-encéphalique et que ce passage était favorisé lors de l'inflammation. Béatrice Leveugle a montré que le taux de lactoferrine cérébrale augmentait avec l'âge mais également dans le cas des pathologies neurodégénératives (collaborations avec Pr Hof, Department of geriatrics and adult development, Mount Sinai school of medicine, New York, USA; E.C. Hirsch, Y. Agid et B. Faucheux, Institut national de la santé et de la recherche médicale, Unité 289, hôpital de la Salpêtrière, Paris).

La lactoferrine : une arme défensive

Bien qu'appartenant à la famille des transferrines, la lactoferrine n'est pas directement impliquée dans l'homéostasie martiale. Elle a longtemps été considérée comme un simple chélateur de fer protégeant contre les infections bactériennes par sa capacité à priver les bactéries du fer nécessaire à leur croissance. Depuis ces vingt dernières années, de nouvelles fonctions orchestrées par la lactoferrine ont été découvertes: activités anti-microbiennes indépendantes de ses propriétés chélatrices du fer (bactéries, virus, champignons, parasites), immunomodulation (immunités innée et acquise), protection contre le cancer et régulation de la croissance osseuse. Le groupe de G. Spik a largement contribué à décrypter certains de ces mécanismes d'action. La plupart des fonctions proposées et démontrées de la lactoferrine, exceptée l'activité de fixation du fer de la lactoferrine de sécrétion, dépendent de sa capacité à se fixer à d'autres macromolécules (protéines, lipopolysaccharides (LPS), glycosaminoglycannes (GAG), ADN). Cette capacité de fixation est dépendante des caractéristiques de surface de la lactoferrine. La lactoferrine est une protéine très basique (pHi 9). En effet, la nature cationique de la lactoferrine, qui la différencie de la transferrine, est impliquée dans sa capacité à se lier à de nombreux types cellulaires et de nombreuses molécules anioniques.

- ***Activité anti-microbienne***

La lactoferrine est un élément clef du système de défense inné de l'hôte et possède un large spectre anti-microbien qui s'étend des bactéries Gram- et Gram+, levures, champignons, à certains virus et protozoaires.

Elle est à la fois bactériostatique et bactéricide. Le mécanisme principal par lequel son action s'exerce est la ferri-privation. Elle entre en compétition avec les sidérophores bactériens et séquestre du fer libre inhibant par voie de conséquence la croissance des bactéries. À côté de cette activité bactériostatique, la lactoferrine exerce aussi une activité bactéricide. En se fixant directement aux LPS, aux acides lipoteichoïques ou aux porines, la lactoferrine va déstabiliser la membrane bactérienne, provoquer leur fragilisation et augmenter leur perméabilité (travaux d'E. Elass-Rochard, D. Legrand, Frédéric Sallmann). L'activité bactéricide de la lactoferrine passe également par l'inhibition de l'attachement des bactéries aux cellules hôtes. Ainsi, en se fixant aux GAG et intégrines de l'hôte, la lactoferrine neutralise ces pathogènes dès les premiers stades de l'infection.

Le mécanisme de l'action antivirale de la lactoferrine n'est toujours pas élucidé. Néanmoins, dans la plupart des études réalisées *in vitro*, la lactoferrine inhibe l'attachement et l'entrée des virus en interagissant avec les GAG (travaux d'E. Damiens, J. Mazurier, D. Legrand) et les intégrines utilisées par les virus pour pénétrer leurs cellules hôtes. Ainsi, la lactoferrine se fixe aux trois co-récepteurs du VIH que sont les GAG, la nucléoline de surface et le récepteur DC-SIGN. D. Legrand a démontré que l'interaction de la lactoferrine avec la nucléoline de surface bloquait l'attachement et l'entrée des particules virales du VIH dans les cellules HeLa P4 (collaboration avec le groupe de A. G. Hovanessian (Unité propre de recherche n° 2228 du CNRS, Université Paris Descartes).

- ***Activité anti-inflammatoire***

La lactoferrine est un puissant modulateur de la réponse inflammatoire protégeant l'organisme des agressions de pathogènes mais jouant également un rôle clef dans les pathologies inflammatoires comme les allergies, l'arthrose et le cancer. Ces travaux ont largement été décrits dans de nombreuses revues du groupe. Ils ont également conduit à des collaborations fructueuses avec les groupes de Michael Zimecki et Danuta Dus (Institute of immunology and experimental therapy, Wroclaw, Poland), Anca Roseanu (Institut de biochimie de l'Académie roumaine, Bucarest, Roumanie). Les travaux d'E. Elass-Rochard, Sophie Baveye, D. Legrand ont montré que la lactoferrine interagit avec les LPS et de nombreux récepteurs à la surface des cellules endothéliales et immunes. En effet, en réponse à une activation par le LPS au sein des cellules monocytaires *in vitro* et *in vivo,* la lactoferrine inhibe la production de cytokines pro-inflammatoires. Le mécanisme d'action passe par une inhibition des interactions de haute affinité entre le LPS et le CD14 membranaire (mCD14), récepteur majeur du LPS sur les macrophages-monocytes, leucocytes et lymphocytes. Au laboratoire, D. Legrand, E. Elass-Rochard et S. Baveye ont montré qu'il existe également des interactions de haute affinité entre la lactoferrine et le CD14 soluble provenant du sérum (sCD14) et entre la lactoferrine humaine et le complexe sCD14/LPS. L'interaction entre la lactoferrine et le sCD14 est responsable de l'inhibition de l'expression de molécules d'adhésion telles que la E-sélectine, I-CAM1, VCAM et la chimiokine IL-8 dans les cellules endothéliales ombilicales. Ces résultats montrent que la lactoferrine en modulant la production de cytokines et le recrutement de cellules immunes au site de l'inflammation protège du choc septique.

- ***Activité anti-cancéreuse***

La lactoferrine est impliquée dans la régulation de la prolifération cellulaire, de la tumorigénèse ainsi que dans la réduction de la formation de métastases. Elle va utiliser différents mécanismes d'action pour exercer son rôle d'agent anticancéreux tels que des effets anti-angiogéniques, une régulation de la prolifération cellulaire, l'apoptose ainsi que l'immunomodulation. Puisque la lactoferrine possède des activités antitumorales, elle pourrait se comporter en suppresseur de tumeur. Les gènes suppresseurs de tumeur perdent leur fonction dans les cancers humains, et il a été montré que l'expression de la lactoferrine est fortement diminuée, voire éteinte dans certains cancers. Des altérations génétiques et épigénétiques inactivent le gène de la lactoferrine fournissant aux cellules cancéreuses un réel avantage prolifératif. Dans le groupe, M. Benaïssa et A. Pierce ont montré que la lactoferrine est un facteur de bon pronostic dans le cas de cancer du sein puisqu'une forte expression des transcrits est associée à une survie plus importante des patientes (collaboration avec le groupe de Jean-Philippe Peyrat, Centre Oscar Lambret, Lille). Qui plus est, la lactoferrine exerce une activité antiproliférative sur les cellules cancéreuses puisqu'elle est capable de réduire la croissance tumorale. Yolande Boilly-Marer, E. Damiens et Ikram El Yazidi montrent que la lactoferrine limite la prolifération cellulaire des cellules MDA-MB-231 et qu'elle provoque un arrêt du cycle cellulaire en phase G1/S. Cet arrêt du cycle passe par l'inhibition des cyclines cdk2 et cdk4 et l'induction de l'expression de la protéine p21 (*cdk inhibitor*) *via* la voie de signalisation des MAPK. Elles montrent également que la lactoferrine stimule l'activité cytotoxique de cellules NK vis-à-vis des cellules cancéreuses mammaires.

- ***Activité facteur de transcription***

Cette question n'a toujours pas trouvé de réponse claire. La lactoferrine humaine possède la capacité de se fixer à des séquences spécifiques d'ADN dont l'une d'entre elles s'est révélée être un élément de réponse fonctionnel *in vitro*. Elle possède deux séquences NLS (séquence de localisation nucléaire). La séquence en C-terminal a été mise en évidence au laboratoire (A. Pierce, C. Mariller, Stephan Hardivillé) et D. Legrand a montré que la lactoferrine était internalisée, associée à la nucléoline de surface et qu'une faible proportion était retrouvé dans le noyau. Ces travaux ont été poursuivis par le groupe d'A. Pierce et ont commencé lorsque J. Mazurier a pris la direction du groupe lactoferrine. Ils ont montré que l'isoforme intracellulaire de la lactoferrine tronquée des 25 premiers résidus (delta-lactoferrine, obtenue par épissage alternatif du gène *lactoferrine*), est un facteur de transcription régulant des processus cellulaires cruciaux : progression du cycle cellulaire et apoptose. Cette isoforme est aussi sous-régulée dans les cas de cancer et pourrait également être classée parmi les suppresseurs de tumeur.

La lactoferrine aujourd'hui

La découverte de la lactoferrine dans le lait maternel il y a soixante ans par J. Montreuil et les premiers travaux de G. Spik ne permettaient pas d'imaginer que la lactoferrine puisse posséder un tel potentiel thérapeutique. Ses nombreuses activités biologiques, dont la spécificité a parfois été mise en doute mais dont les effets ont souvent été clairement démontrés *in vivo*, et le fait qu'elle soit dépourvue de toxicité, font qu'elle suscite un intérêt industriel important dans les domaines agroalimentaire et pharmaceutique, et la classent parmi les alicaments. Cent tonnes de lactoferrine bovine sont purifiées et mises sur le marché chaque année. Les applications sont nombreuses et de plus en plus d'essais cliniques sont réalisés afin de tester *in vivo* son efficacité en tant qu'agent antimicrobien, immunomodulateur et/ou anti-cancéreux.

3- De la lactoferrine à la cyclophiline

D'autres protéines ont été isolées du lait : une angiogénine dans le lait de vache et, surtout, une cyclophiline dans le lait de femme qui conduisit à la prise de brevets avec la société Sandoz. L'extraordinaire développement des recherches concernant la cyclophiline amena G. Spik à se consacrer uniquement à cette protéine et à confier la poursuite des travaux sur les lactotransferrines à une équipe dirigée par J. Mazurier et composée d'A.Pierce, de D. Legrand et d'E. Elass. Elle-même s'entoura d'un petit groupe, animé par Fabrice Alain, Agnès Denys, Mathieu Carpentier et Christophe Mariller, qui se lança dans la recherche de nouveaux facteurs de croissance dans le lait de femme et découvrit en 1991 une seconde cyclophiline.
Dénommée cyclophiline B, cette protéine fut à l'origine de l'identification d'une nouvelle famille de protéines dont on dénombre actuellement une dizaine chez les mammifères. Les cyclophilines possèdent d'une manière générale, une activité peptidyl-prolyl cis-trans isomérase, mais l'intérêt porté à cette famille est surtout lié à son rôle de médiateur dans l'activité de la cyclosporine, un puissant immunosuppresseur utilisé contre le rejet des greffes. La découverte d'une forme sécrétée de cyclophiline a rapidement intéressé la communauté scientifique internationale et c'est dans le cadre d'un contrat Biomed de l'Union Européenne *: Optimizing of cyclosporin immunosuppression : role of the different cyclosporin receptors and CD28 activation pathways for activity and toxicity* obtenu en 1994 que l'équipe de G. Spik a étudié l'influence de la cyclophiline B dans les mécanismes de sensibilité à l'immunosuppression. Leurs travaux se sont ensuite orientés vers l'identification des éventuelles cibles cellulaires de cette cyclophiline sécrétée et l'équipe démontra que la cyclophiline B interagissait avec de nombreux acteurs des réponses inflammatoires et immunes, lymphocytes T, monocytes/macrophages, neutrophiles, via des interactions fortes avec les héparanes sulfates présents à la surface de ces cellules. Il a ensuite été démontré que la cyclophiline B possédait une fonction inflammatoire en stimulant la migration et l'adhérence des lymphocytes *T in vitro*. Ces derniers travaux ont largement contribué à démontrer que les cyclophilines sécrétées étaient des médiateurs de l'inflammation et de la réponse immunitaire innée.

Les travaux sur la cyclophiline B ont conduit à la publication d'une quinzaine d'articles dans des revues de renommée internationale et ont été présentés dans plusieurs congrès nationaux et internationaux, en particulier, lors d'un workshop *Cyclophiline Structure and Function* organisé par le laboratoire à Lille en 1996.

VIII- La biochimie appliquée à l'industrie agroalimentaire

Les années 1980 ont été marquées, au niveau des industries agroalimentaires, par une volonté de réduire la consommation en sucre. C'est l'époque où le saccharose est la molécule la plus décriée permettant aux industriels de différents secteurs d'imaginer des stratégies pour remplacer en totalité ou partiellement cette molécule. Le laboratoire de biochimie, référence dans le domaine des « Sucres », se devait d'être consulté. Cela s'est traduit par plusieurs collaborations de l'équipe de S. Bouquelet avec des sociétés locales, leaders de leur secteur, soit au niveau national voire international. Cette collaboration s'est étalée sur une dizaine d'années et s'est traduite par la soutenance de 6 thèses de Docteur-Ingénieur : Claudine Rosiers, Denis Viot, Bernard Layous, Philippe Ourceaux, Marie-Odile Jaisson, Daniel Backer et des thèses d'université de Lionel Bovetto et de Jacques Villette.

1- L'amidonnerie-glucoserie

C'est dans ce secteur industriel que la collaboration a été la plus longue puisqu'elle s'est déroulée sur une période allant de 1981 à 1991 et la plus fructueuse sur le plan de la formation des étudiants à la Recherche (5 thèses). Le laboratoire s'est engagé dans une recherche concernant différentes enzymes susceptibles de modifier l'amidon plus ou moins transformé. Il s'est agi de la glucose-isomérase (xylose-isomérase) libre et immobilisée, la maltitol hydrolase et la cyclomaltodextrine glucanotransférase.

La glucose-isomérase produite par une souche industrielle de *Streptomyces* a été étudiée afin de produire un mélange de glucose et de fructose (52/48) à partir d'un sirop de glucose. Ce mélange possède un pouvoir sucrant supérieur au saccharose, son coût de production est inférieur à celui du saccharose et il est moins insulinogène que le saccharose à saveur sucrée équivalente. Le mélange est cependant plus lipidogène. Les propriétés lipidogènes de ce monosaccharide associées au lobby des sucriers a fait que l'on est toujours au régime des quotas (180000 tonnes/an au niveau UE au moment de l'étude contre 303000 tonnes en 2005 ; la production aux USA est de l'ordre de 18,6 millions de tonnes). Le mélange est utilisé comme le sucre inverti des confiseurs.

Le maltose obtenu à partir de l'hydrolyse enzymatique de l'amidon gélatinisé peut être hydrogéné et, donner du maltitol. Le maltitol présente une propriété intéressante : il n'est pas cariogène et pour certains nutritionnistes il serait acalorique. Chaque individu possède au niveau intestinal une enzyme (maltose hydrolase) susceptible d'hydrolyser le maltose en glucose. Le but du travail était de vérifier si, au niveau intestinal le maltitol était plus ou moins hydrolysé. *In vitro* le maltitol est hydrolysé par la maltose hydrolase, mais avec des paramètres cinétiques qui sont très différents de ceux obtenus en présence de maltose. La vitesse d'hydrolyse est 200 fois inférieure à celle obtenue en présence du maltose, ce qui peut justifier que dans une ration alimentaire renfermant à la fois du maltose et du maltitol ce dernier ne sera pratiquement pas transformé par les enzymes de la muqueuse intestinale. Par contre, il arrivera au niveau du colon pour être intégralement transformé par la microflore intestinale. Des résultats similaires sont obtenus in vivo à l'aide de rats gavés au maltitol.

Le troisième système enzymatique abordé est celui des cyclomaltodextrines glucanotransférases. En effet, on utilise les cyclodextrines dans les industries pharmaceutiques et agroalimentaires comme moyen d'encapsulation. Ces macrocycles ou dextrines de Schardinger sont obtenus par l'intermédiaire d'un système enzymatique : la cyclomaltodextrine glucanotransférase. Il existe 3 types d'enzymes biosynthétisant des α, β et γ cyclodextrines. Des essais ont été faits pour séparer l'activité dextrinifiante de l'activité cyclisante puis pour mieux connaître le mécanisme réactionnel. Il a été montré que le site de catalyse était constitué par un

sous-site donneur et un sous-site accepteur; ce dernier ressemble à un système lectinique, spécifique du glucose en position terminale non réductrice. La réaction de transglycosylation intramoléculaire se réalise par une transconformation du site de catalyse obtenue après fixation de la molécule de substrat au niveau du site donneur. Le sous-site accepteur est localisé du coté C terminal au niveau des 2 domaines supplémentaires que possède l'enzyme par rapport à une α amylase classique. Il a été démontré en plus que l'enzyme de *Bacillus circulans* était susceptible de s'associer aux grains crus d'amidon. Ces observations nous permettent de conclure que l'enzyme doit réagir par l'intermédiaire de 3 sites d'interaction. Ces recherches ont bénéficié de 2 contrats CIFRE (Conventions Industrielles de Formation par la REcherche)

2- Procédé industriel de préparation d'un édulcorant à partir d'un végétal : *Stevia rebaudiana bertoni* (1982-1986)

Cette recherche a bénéficié d'un contrat CIFRE, de subventions de l'ANVAR (Agence Nationale de Valorisation de la Recherche) et du MRT (Mission de la Recherche et de la Technologie) et a permis la soutenance d'une thèse de Docteur-Ingénieur. Elle a amené l'équipe de S. Bouquelet à mettre au point en collaboration avec la société SABE un procédé d'extraction de deux édulcorants naturels le stévioside et le rébaudioside à partir de feuilles de *Stevia rebaudiana bertoni*. Ce procédé a permis, au niveau du laboratoire d'obtenir des puretés de produit de l'ordre de 99% et au stade industriel de l'ordre de 90%. Ce produit avait pour vocation d'être utilisé dans les industries agroalimentaires en remplacement partiel ou total du saccharose (pouvoir sucrant 200 à 300 fois celui du sucre). Il a été mis en évidence que ce produit n'était pas hydrolysé par les enzymes de la muqueuse intestinale, mais qu'il pouvait, par contre, l'être par la microflore du colon. Les bilans matière effectués au cours d'un transit intestinal (chez la souris) montraient qu'il y avait un déficit de l'ordre de 30% en stévioside ou en ses dérivés. La molécule obtenue après hydrolyse des glucoses constituant cette molécule est le stéviol qui peut se retrouver soit sous la forme de glucurono-conjugués et être éliminé par les fèces ou tout simplement adsorbé par la muqueuse intestinale. Le stéviol est connu comme étant un inhibiteur des réactions de phosphorylation et ceci peut, de ce fait, limiter son utilisation en industries alimentaires. D'autre part, les récits de voyages de Bridel et Lavielle (les découvreurs du stévioside) rapportaient l'utilisation de décoction de feuilles de *Stevia rebaudiana bertoni* par les populations indiennes du Matto Grosso pour leur propriété abortive.

Des études in vivo du stévioside ont été entreprises en collaboration avec le service de pharmacologie de l'Institut Pasteur de Lille. Il s'agissait dans ce cas d'étudier l'action du stévioside sur les fonctions de reproduction de la souris. Les résultats obtenus ont montré qu'il pouvait exister une relation dose-effet qui se traduit par une augmentation du taux de résorption précoce des fœtus. Cette propriété est d'autant plus marquée que l'ingestion était effectuée par voie orale en comparaison avec une ingestion par gavage gastrique et pour les concentrations les plus faibles en édulcorant.

Cette action était incompatible, à l'époque, avec une autorisation du CSHP (Conseil Supérieur de l'Hygiène Publique) pour la mise sur le marché agroalimentaire de ce produit. Nous avons signé le billet de mort du stévioside en 1986 après avoir essayé de modifier le stévioside, en le transformant en rébaudioside ou en dérivés analogues par branchement de molécules supplémentaires de glucose. Les produits obtenus étaient généralement de moins bonne qualité que les molécules naturelles (augmentation de l'amertume, produits linéaires susceptibles à l'action des enzymes du tractus, moins bonnes tenues thermiques). A cette époque, le stévioside était interdit d'utilisation à des fins agroalimentaires dans les pays occidentaux, mais autorisé dans les pays d'Asie du sud-est et d'Amérique du sud. Depuis le 07/09/2009, le stévioside se trouve dans tous les linéaires de grandes surfaces françaises avec une Dose Journalière Admissible de 4mg/kg de poids/jour. Il est autorisé au niveau de l'Union Européenne depuis le 02/12/2011. On n'évoque plus les risques de résorption précoce des fœtus et on signale seulement qu'il n'est ni cancérigène ni mutagène et qu'on aurait tort de ne pas en consommer…

3- Enzymes à effet anti-rassissant du pain (1998-2001)

Cette étude, réalisée avec la société Lesaffre, a bénéficié d'un contrat CIFRE et a fait l'objet de la thèse de Mirella Sirghie-Colleoni. On sait que différents systèmes enzymatiques sont susceptibles de retarder le phénomène de rassissement du pain et plus particulièrement les enzymes qui agissent sur l'amidon. On admet que l'amidon par le mécanisme de la rétrogradation intervient pour une partie dans le durcissement de la mie du pain. Le projet a concerné dans un premier temps l'étude de l'action de différentes amylases sur un milieu modèle constitué par de l'amidon associé à du gluten. Ce milieu a été validé et il peut être utilisé en remplacement de la farine de blé, ce qui limite les variabilités dues aux phénomènes de maturation de la farine. L'action de ces amylases a été étudiée par l'intermédiaire de la teneur en oligosaccharides qui apparaissent au cours du traitement et qui reflète l'activité des amylases. Les oligosaccharides sont quantifiés par chromatographie d'exclusion sur gel (mise en évidence des dextrines), par HPLC (petits oligosaccharides) et par HPAE-PAD (DP6 à DP25). Les résultats obtenus sont corrélés avec ceux obtenus par calorimétrie différentielle à balayage (mesure de la rétrogradation) et par les mesures rhéologiques de fermeté et d'extensibilité des pâtes (rassissement). Les résultats montrent que la structure de l'amidon intervient sur le phénomène de rassissement et plus particulièrement en ce qui concerne la structure des chaînes externes. Nous pouvons, à présent, définir les critères qui doivent caractériser les enzymes susceptibles d'être utilisées en milieu industriel, dans le secteur de la panification à des fins anti-rassissantes.

4- Caractérisation de marqueurs précoces de l'altération de la chair de poisson (1993-1999)

Ce sujet n'a rien à voir avec le champ d'expertise en glucides libres ou conjugués. En fait, c'est une réminiscence du travail qu'avait fait G. Barbry en son temps sur des laitances de poisson. Il a été proposé à l'équipe de S. Bouquelet parce qu'elle avait une certaine expérience dans le domaine du traitement des enzymes et que l'altération du poisson résulte de réactions enzymatiques. La curiosité a fait le reste. Le travail a été réalisé lors de l'encadrement de deux chercheurs en thèse (Michel Valle et Guillaume Duflos), en collaboration avec le laboratoire Afssa d'études et de recherches sur les produits de la pêche, site de Boulogne sur Mer. Le travail a bénéficié d'un contrat de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL). L'altération de la chair de poisson se traduit par l'apparition de molécules volatiles : les amines biogènes obtenues à partir des réactions de décarboxylation des acides aminés. Le dosage des amines biogènes a été mis au point par chromatographie liquide haute performance et de nouveaux indices ont été proposés afin de prendre en compte un nombre plus important de ces molécules et de faire abstraction de l'ammoniac produit. Cependant, le dosage de ces amines biogènes ne donne pas satisfaction, surtout dans le cadre de la filière de la transformation des produits de la pêche et plus particulièrement dans le cas du saumon. La caractérisation des amines biogènes met déjà en évidence une modification importante du muscle du poisson par l'intermédiaire des protéases et de l'action des décarboxylases. Aucune corrélation directe entre indice de fraîcheur et la protéolyse ou l'activité des décarboxylases n'a pu être établie. On peut mettre en évidence que l'altération est un phénomène multifactoriel où vont entrer en jeu les enzymes endogènes et celles qui s'expriment de par la présence de certains micro-organismes comme *Schewenella putrefasciens*. L'éviscération systématique des poissons dès leur capture permet de préserver cet indice de fraîcheur. La caractérisation des marqueurs précoces de l'altération s'oriente maintenant vers l'étude des molécules volatiles produites dans les tout premiers stades de la réaction. Il a été mis en évidence, grâce à la chromatographie en phase gazeuse (technique du head space) associée à la spectrométrie de masse, que le stade de l'altération correspondait à la présence ou l'absence de certaines molécules. Celles-ci sont présentement à l'étude.

IX- L'enseignement de la biochimie

La mise en place de l'enseignement de biochimie à la Faculté des Sciences s'est faite progressivement par un cours magistral dispensé par J. Montreuil dès 1952 dans le cadre d'un enseignement de chimie devenu ensuite, avec des travaux pratiques, le certificat de chimie biologique (futur C1 de la Licence). Puis, c'est avec la réforme Aigrain de 1957, qu'a été entérinée l'introduction « officielle » de la biochimie comme discipline dans le cursus des études universitaires scientifiques. C'est ainsi qu'est apparu un certificat mixte nommé BMPV (biochimie, microbiologie et physiologie végétale). La maîtrise de biochimie, pour sa part, avec ses quatre certificats, n'a vu le jour qu'en 1969. L'organisation, dès lors, des enseignements comportait cours, travaux dirigés, travaux pratiques. Les programmes s'articulaient sur quatre ans avec un premier cycle de deux ans (le DEUG B, diplôme d'études universitaires générales de biologie) au cours duquel la biochimie était enseignée la deuxième année, puis venait un deuxième cycle (licence, maîtrise, chacune un an).

1- La licence et la maîtrise de biochimie

Contenu des certificats

Le certificat C1 obligatoire : « biochimie structurale et métabolique » était destiné à donner une culture très approfondie sur la structure et les propriétés physicochimiques des biomolécules : glucides, protides, lipides, acides nucléiques ainsi que sur leurs métabolismes (dégradation, synthèse), leurs propriétés biologiques et leur rôle dans la vie cellulaire. Ces réactions sont les bases introduisant le rôle des enzymes (biocatalyseurs), les notions de bioénergétique (le cycle de Krebs, les chaînes d'oxydations cellulaires, la fermentation, les chaînes de biosynthèse).
Le certificat C2, intitulé « chimie organique biologique », relevait exclusivement des chimistes organiciens. Il était le complément indispensable pour élargir les connaissances des mécanismes réactionnels et d'analyses chimiques en application des lois physicochimiques classiques propres à la discipline.
Ces deux certificats obligatoires pour l'obtention de la licence étaient complétés par deux autres certificats optionnels choisis dans les licences de chimie ou de biologie selon l'orientation physico-chimique ou biologique que l'étudiant voulait donner à sa licence.
Ainsi armés pour l'étude du fonctionnement et des dysfonctionnements (pathologie) des cellules ou des organites, les étudiants pouvaient atteindre le niveau maîtrise, également par deux certificats obligatoires :
Le C3 : « biologie physicochimique et moléculaire » décrivait les molécules impliquées dans le fonctionnement de l'appareil génétique : les acides nucléiques (ADN, ARN) ainsi que les processus-clés de la biologie moléculaire : réplication, transcription et traduction. Il s'y ajoutait un cours de régulation métabolique et de glycobiologie. Cet enseignement étroitement adossé à la recherche concernait l'étude de la structure et des fonctions des glycoconjugués.
Le C4 était un certificat d'application plus pratique dénommé « biochimie alimentaire ». Il développait les connaissances dans le domaine de la chimie des aliments et dans celui de la nutrition. Ceci englobait les méthodes de fabrication et de conservation des aliments et l'étude de leurs dérivés. Une partie des cours était délivrée par des professionnels, en particulier dans le domaine de la brasserie et de la laiterie. Ces cours étaient complétés, outre les travaux pratiques, par des visites d'usines agroalimentaires régionales.

Organisation de l'enseignement

L'enseignement de la biochimie, conduisant au titre de maître en biochimie, se décomposait en cours, travaux dirigés (TD) et travaux pratiques (TP). Les enseignants intervenant sur ces trois niveaux s'étaient mis d'accord sur deux principes : la mutualisation des moyens et l'application des trois formes d'enseignement aux domaines de la santé et de l'alimentation.

En ce qui concerne la mutualisation des moyens, elle consistait en une permutation possible des enseignants évitant la perte d'un quelconque créneau horaire au niveau des cours comme au niveau des TD et TP. Par ailleurs, les « points » apportés par les étudiants étant équivalents du DEUG à la maîtrise, l'équipe enseignante s'était mise d'accord pour une « progressivité » des travaux pratiques aussi bien sur les acquis pour le niveau supérieur qu'en termes de coûts, réservant les plus gros moyens pour la maîtrise.
Quant aux applications, elles allaient de soi pour l'ensemble des cours-TD-TP avec un fort regard vers la recherche, mais aussi vers les applications industrielles tant vers les débouchés pharmaceutiques ou médicaux que vers le secteur agro-alimentaire avec référence aux fleurons des entreprises régionales.

Dans le domaine des applications, il est important de noter, la volonté, conformément aux souhaits de l'Université, de développer une politique des stages, en entreprise comme en organismes de recherche. Une section a notamment été développée en DEUG B avec stage intégré.

<u>Remarque</u> : La récente réforme LMD (licence, maîtrise, doctorat) a instauré une licence en trois ans et un master en deux ans incluant une première année correspondant à l'ex-maîtrise et une deuxième année correspondant à l'ex-début de troisième cycle (DEA ou DESS), pour satisfaire à l'harmonisation européenne. Cette modification n'a pas changé fondamentalement l'organisation et la progression du cursus de formation à la biochimie.

A propos des travaux pratiques

Les travaux pratiques étaient un des points forts de la formation des étudiants de biochimie. J. Montreuil estimait que la biochimie : « se faisait d'abord à la paillasse ». D'abord grâce à la détermination de F. Caner sous la direction duquel les étudiants apprenaient en seconde année de DEUG les premiers gestes de la discipline. Et ensuite grâce à l'investissement d'A. Chéron qui, gestionnaire du matériel de travaux pratiques, a toujours su renouveler le matériel pour le mettre au niveau de celui utilisé en recherche. Ainsi tous les types d'appareils de chromatographie (en phase gazeuse, HPLC) ou d'électrophorèse et même un compteur de radioactivité ont été mis à la disposition des étudiants de licence et maîtrise.
Pour la mise en place de TP de qualité, des investissements importants ont été nécessaires par les enseignants concernés, comme cela a été aussi le cas pour l'Institut Universitaire de Technologie (IUT) ou le Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM). Voici deux exemples :

- *Le certificat de chimie biologique des années 60 à Lille* : le Laboratoire ne disposait pas d'une salle autonome qu'il n'obtiendra qu'à l'arrivée sur le campus de Villeneuve d'Ascq. Force était donc d'accepter l'hébergement par une autre structure, en l'occurrence une salle de TP de chimie minérale octroyée par le Pr Germain dans des locaux de l'Institut de chimie, rue Barthélémy Delespaul. Cette salle avait des châssis métalliques au plafond ouverts et complétement rouillés, ce qui obligeait l'hiver à mettre à l'avance en route les becs Bunsen pour obtenir une température acceptable. La rouille se déposait aussi sur les paillasses gênant certaines manipulations. Se trouvaient dans cette salle des colonnes échangeuses d'ions qu'il fallait boucher car il n'était pas rare de les retrouver blanches d'un dépôt qui donnait une petite idée de la teneur habituelle de l'atmosphère de la pièce. Il fallait aussi transporter le matériel emprunté au laboratoire en voiture particulière, ce qui ne facilitait pas la tâche.

- *Le certificat C3 de biologie physico-chimique et moléculaire créé en 1968* : les séances de TP ont été conçues et réalisées dans les locaux de recherches du laboratoire du Campus de Villeneuve d'Ascq en deux temps. La première année, Henri Debray, responsable des TP, a mis au point des manipulations, souvent d'une semaine à l'autre, en particulier sur l'isolement des ADN de thymus de veau et les ARN de foie de rat et la démonstration des méthodes d'exploration de leurs métabolismes à l'aide du radiophosphore.
En 1969-70, il dut se consacrer, avec l'aide de François Caner, pendant toute l'année universitaire, à l'installation de nouvelles séances de TP. Celles-ci se sont réparties en trois séries de six manipulations tournant sur six semaines par série. Les manipulations allaient de l'extraction du glycogène de foie de rat et à

son étude par gel filtration à la préparation de mitochondries de foie de rat et l'étude de leurs activités respiratoires avec l'appareil de Warburg, en passant par l'action de la ribonucléase pancréatique sur les polysomes de foie de rat et leur analyse par ultracentrifugation analytique en gradient de densité. Plus tard des expériences de chasse métabolique qui utilisaient des précurseurs radioactifs furent introduites.
Pour le certificat C4 : biochimie alimentaire, l'enseignement de l'IUT fut initialement pris comme modèle tant du point de vue du contenu des séances que de l'esprit de l'enseignement pratique. Les TP, sous l'impulsion d'André Chéron, ont ensuite évolué dans l'esprit général de la maîtrise.

2- Participations aux enseignements de l'UFR de biologie

Les enseignants de biochimie participèrent activement aux enseignements dispensés à l'UFR de biologie en particulier dans la formation des maîtres. Un certificat de biochimie cellulaire était un prérequis dans la préparation du CAPES de sciences naturelles (maintenant SVT). Ce certificat sous la responsabilité de R. Cacan comportait un ensemble de cours, TD et TP. Les cours de biochimie étaient aussi dispensés sous forme de leçons en préparation de l'agrégation de sciences naturelles.
Plus spécifiquement la préparation au CAPET de biotechnologie formait les enseignants en BTS. L'entrainement des étudiants à l'écrit et à l'oral était assuré par A. Verbert et R .Cacan, avec une préparation à l'épreuve de travaux pratiques sous la direction de Cécile Fort.
Pour les licences et maîtrises classiques de biologie ou physiologie (animale ou végétale), la formation en biochimie consistait pour l'étudiant à choisir un ou des certificats de la licence ou de la maîtrise de biochimie.

3- Le troisième cycle

La formation par la Recherche a toujours été un objectif majeur post-maîtrise, et le laboratoire était un lieu de stages privilégié pour les étudiants en DEA (entre 5 et 10 par année). Certains de ces étudiants poursuivaient en thèse et il faut noter que, comme pour beaucoup de laboratoires universitaires, ces thésards constituaient un vivier pour le recrutement des futurs assistants puis maîtres de conférences.
La formation par le Laboratoire s'est longtemps distinguée par un DEA de biochimie appliquée, anticipation des débouchés connus aujourd'hui comme Bac+5. L'étudiant qui ne souhaitait pas poursuivre vers une thèse, recevait cours et stage d'un an au laboratoire dans une équipe qui l'accueillait sur un thème adapté à son projet qui, selon ses souhaits, pouvait concerner un sujet à dominante industrielle. Ce DEA a disparu quand la formation par la Recherche a été unifiée sous le vocable de DEA « Biologie et Santé » réunissant biologistes, biochimistes et médecins des Universités de Lille I, de Lille 2 et de certains organismes. Heureusement, en cette période, les DESS ont pris leurs essors. Egalement, le débouché vers les écoles d'ingénieurs s'est aussi amplifié permettant à nos étudiants des poursuites d'études valorisantes. C'est ainsi que la maîtrise de biochimie lilloise a accueilli jusqu'à 160 étudiants quand d'autres de villes comparables se limitaient à 50 voire 30 étudiants. C'était bien entendu dans une politique concertée de notre Université, mais cela a nécessité un accompagnement important pour permettre à nos diplômés de réussir leur entrée sur le marché du travail.

4- Enseignements à l'IUT

L'Institut universitaire de technologies de Lille a vu le jour en 1966. Les premiers enseignements tant au niveau théorique que pratique étaient effectués dans les locaux de l'ancien Institut de physique, rue Gauthier de Chatillon à Lille. La création de cette nouvelle entité d'enseignement dirigée vers la formation de cadres intermédiaires pour les entreprises après deux années d'étude suscitait à la fois un engouement avec la perspective d'une mise en place de nouvelles formes d'enseignement plus proches des étudiants et une méfiance certaine de certains directeurs de formation qui voyaient disparaître un contrôle sur les contenus

des enseignements. Il se fallait d'être présent au niveau de l'IUT, mais sans que cela puisse « nuire » aux formations existantes. En fait, il n'y avait pas de concurrence, car la grande majorité des enseignements étaient à créer. Le Laboratoire de biochimie était donc représenté au sein du Département de Biologie Appliquée. Il devait assumer un enseignement général de biochimie en première année et des enseignements spécifiques en deuxième année correspondant aux deux options mises en place dans un premier temps à Lille : analyses biologiques et biochimiques (ABB) et industries alimentaires (IA). Il faudra attendre quelques années plus tard pour que soit créer la troisième option : diététique.

A cette époque, l'IUT était un formidable creuset où se côtoyaient des enseignants venus de tous les horizons (Université des sciences, de médecine, Institut Pasteur, milieux socioprofessionnels). Le laboratoire a mis en place un enseignement de biochimie à la fois théorique et pratique à l'usage des bacheliers, qui, à l'époque, n'avaient jamais encore entendu parler de cette discipline. Cela a dérouté un certain nombre d'étudiants qui venaient au département de biologie appliquée pour faire de la biologie, discipline qui était loin d'être majoritaire parmi toutes celles enseignées. Le rythme de travail était très soutenu à la fois pour l'étudiant qui recevait les enseignements théoriques le matin et les enseignements pratiques et de travaux dirigés l'après-midi. Les séances de TP commençaient à 13 heures et se terminaient théoriquement à 19 heures mais jamais avant 20 heures, sous l'œil réprobateur du concierge qui attendait pour fermer les locaux. A cet égard, au niveau du département de biologie appliquée, il y a eu des démêlés avec les services de la médecine étudiante. Il fallait laisser aux étudiants la possibilité de pouvoir utiliser les services des restaurants universitaires le soir. Au niveau du département de biologie appliquée, les étudiants connaissaient les contraintes et, plutôt que d'avoir des emplois du temps bancals, préféraient mettre en place les repas en chambre d'étudiant. Cette contrainte resserrait encore plus la notion d'appartenance à un groupe. Les samedis matins étaient réservés aux contrôles des connaissances. A ce niveau, ce n'était pas celui qui dispensait le cours qui faisait le contrôle.

Les travaux pratiques dispensés en première année permettaient de former les étudiants aux techniques d'analyse grâce à 6 heures de TP par semaine. Le travail était d'envergure puisqu'il fallait développer la technicité (les bacheliers avaient rarement manipulé au lycée) et les qualités de réflexion. Si les enseignements conservaient leur esprit disciplinaire, les enseignants intervenaient aussi bien en TP de chimie que de biochimie. A une certaine époque, une demi-journée était consacrée tout au long de l'année à la réalisation d'un microprojet par des groupes de trois étudiants. Ces microprojets étaient proposés soit par des enseignants soit par des étudiants après validation scientifique.

Au niveau des options, l'enseignement était très spécialisé. Le but était de former l'étudiant aux techniques qu'il allait obligatoirement rencontrer sur son lieu de travail et de l'amener à réfléchir sur les résultats obtenus afin de pouvoir les critiquer. Dans le cadre des TP de biochimie alimentaire, l'enseignement pratique se décomposait en deux périodes, le premier trimestre permettait de se familiariser avec les méthodes officielles d'analyses grâce à 9 heures de TP par semaine et le deuxième trimestre, juste avant le départ en stage était constitué par des périodes bloquées en alternance de deux semaines entières : en biochimie ou microbiologie ou halle pilote de génie industriel alimentaire. Ce fonctionnement en large autonomie des étudiants (mais sous contrainte des projets) les amenait à prendre conscience de leur future réalité lorsqu'il serait en stage ou en poste de travail. Chaque enseignant se voyait attribuer en fonction de sa spécialité un certain nombre de stagiaires à encadrer.

La charge de travail en IUT était évidemment importante, car en plus d'un encadrement important des étudiants, il a fallu de 1966 (création) à 1971 (déménagement sur le campus) préparer les réactifs des TP au sein du laboratoire et les transporter, avec son véhicule personnel, sur la salle de TP de la rue Gauthier de Chatillon à Lille. La venue sur le campus a permis de gagner du temps de transport mais a aussi permis de faire évoluer les enseignements. La proximité permettait d'intervenir plus facilement, les enseignants n'étaient plus tenus au carcan des trois heures que durait une séance de TP. Il était possible de rencontrer les étudiants en dehors des séances formelles soit pour arrêter soit pour mettre en route une manipulation.

Les années 70 ont vu le développement de technologies nouvelles au sein des entreprises (fermentations, techniques séparatives…) et entraîné une modification des enseignements de l'option industries alimentaires. Il a été proposé en 1981, avec Bernard Montuelle, alors chef du Département de biologie appliquée, un nouveau programme d'enseignement (avec de nouvelles matières) au niveau de la commission nationale paritaire DUT. Le programme de Lille fut adopté et l'option changea alors d'intitulé pour devenir : option industries alimentaires et biologiques.

5- Enseignement au Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM)

Le laboratoire de chimie biologique s'est impliqué dans les enseignements au CNAM (enseignement de chimie agricole) dans le but de participer à la formation des techniciens en poste dans l'industrie. Ces techniciens occupaient des fonctions qui n'étaient pas toujours en relation avec leur qualification originelle. La perspective de « décrocher », après de très longues années de formation dispensée le soir et le samedi un diplôme d'ingénieur du CNAM motivait un grand nombre de ces « techniciens maison ». Bien souvent, les groupes d'enseignés venaient d'un nombre restreint d'entreprises de la région. Le but n'était pas de former au niveau de la technicité, car les étudiants étaient très largement compétents, mais à partir de manipulations relativement simples, de démonter les mécanismes réactionnels. La gageure fut d'installer des manipulations plus ou moins « biologiques » dans un laboratoire qui servait à réaliser les manipulations de chimie. Les locaux et les infrastructures n'étaient pas adaptés à ce type d'enseignements pratiques. Par contre, l'intérêt de ce type d'enseignement résidait dans le fait que les « étudiants » étaient beaucoup plus matures, ce qui entraînait de fructueuses discussions. Ces rapports privilégiés ont débordé du cadre de l'enseignement formel pour donner lieu à des formations encore plus spécifiques dans le cadre du travail de ces « étudiants ». Le laboratoire est intervenu pendant trois années consécutives dans un enseignement d'enzymologie au sein d'une société productrice d'enzymes industrielles.

6- Institut Agricole et Alimentaire de Lille (IAAL)

De très longue date, la « culture » agricole et ce qui en découle est ancrée dans la région. Terre féconde, le Nord-Pas de Calais est réputé pour ses productions et de nombreuses entreprises se sont spécialisées dans la sélection de semences depuis le XIXe siècle. L'Université de Lille ne pouvait se désintéresser du développement de ce secteur et on retrouve des traces de travaux de recherche dans l'ancien bâtiment de botanique de la Faculté des sciences. Des enseignements liés à l'agriculture ont sans doute vu le jour progressivement. On se souviendra aussi du passage de Pasteur comme doyen de la Faculté et de sa collaboration, ne serait-ce qu'avec l'industriel Bigo-Tilloy, producteur de sucre et d'alcool de betteraves, inaugurant l'essor des sciences agroalimentaires.

Une phase de « végétation » laisse des souvenirs de travaux conjoints de certains universitaires avec les professionnels des semences, mais il a fallu le déplacement à Villeneuve d'Ascq et la mise en place de certains laboratoires sur le campus (physiologie végétale, microbiologie) pour qu'apparaisse le besoin de nouveaux enseignements adaptés à de nouveaux débouchés professionnels liés aux relations avec les entreprises et industries régionales (Roquette, Lesaffre, Bonduelle, …)

Sous l'impulsion des Professeurs Robert Bouriquet, physiologiste végétal spécialiste des cultures *in vitro* et Jean Guillaume, microbiologiste, une maîtrise de sciences et techniques agricoles a vu le jour dans les années 70 parallèlement au développement de l'IUT, à laquelle la biochimie lilloise a été associée par certains de ses enseignants-chercheurs. Il était question pour ces derniers de dispenser des connaissances de base de leur discipline, mais aussi des techniques d'analyse des aliments. Cette collaboration a abouti à des créations de postes qui, *ipso facto*, ont entrainé le retrait de certains biochimistes.

Une profonde mutation des enseignements de la maîtrise de sciences et techniques eut lieu, lors de la

reconnaissance par la Commission des Titres d'Ingénieurs (CTI), avec la transformation de la maîtrise en Ecole d'Ingénieurs sous l'appellation d'Institut Agro-Alimentaire de Lille (IAAL), habilité à délivrer le titre d'ingénieur (1985). Cette entité s'installa au rez-de-chaussée du bâtiment C6.
A cette époque, les enseignements de biochimie qui étaient assurés sous forme de vacation par les enseignants-chercheurs sont devenus pérennes, ce qui a permis de développer des enseignements spécifiques tant au point de vue théorique que pratique et un essor au niveau des postes affectés à cette discipline.
Une nouvelle étape a été franchie lorsque l'USTL a fait construire de nouveaux bâtiments pour accueillir et regrouper ses Ecoles d'Ingénieurs Universitaires (EUDIL et IAAL). Ce regroupement au sein d'une même structure a entraîné la fusion des deux écoles au sein d'un pôle intitulé Polytech'Lille. La biochimie s'y trouve dispensée sous une forme très appliquée et surtout sous la forme de projets pratiques grâce à la présence de matériels adaptés et à l'existence d'un laboratoire d'analyses sensorielles.

7- Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille (ENSCL)

L'Ecole Nationale de Chimie de Lille, vieille institution lilloise qui avait déjà ses locaux insérés dans ceux de la Faculté de Chimie, rue Barthélémy Delespaul a toujours eu d'excellentes relations avec l'Université. Ecole renommée d'ingénieurs, son installation sur le campus s'est tout naturellement faite dans le secteur de la chimie où des relations humaines se sont largement développées, y compris avec des membres du laboratoire. C'est ainsi que sous la direction du Pr Lablache-Combier s'est mis en place un enseignement de biochimie, parallèlement à ceux de microbiologie et de biologie végétale. Il s'agissait d'une sensibilisation des étudiants de dernière année aux molécules biologiques et leurs dérivés (structures, propriétés, fonctions), d'une initiation aux techniques d'analyses spécifiques à la discipline, de notions d'enzymologie, de bioénergétique, voire de biologie moléculaire permettant une ouverture d'avenir à ces futurs managers.

8- Participations à la création de l'enseignement de biochimie dans d'autres universités

Le laboratoire a largement essaimé vers d'autres sites et particulièrement vers Calais, Amiens et Lens pour contribuer à l'émergence de nouveaux pôles universitaires dépendant de Lille I avant d'être autonomes.
Pour l'UFR de Calais, c'est en 1975 que notre collaboration pour développer cette antenne a pris effet en « ouvrant » la deuxième année du DEUG B sous une forme hybride alliant les principales matières réparties à Lille en trois options. Il n'avait pour tout effectif, la première année, que quatre étudiants dont … un pharmacien à la retraite ! Cette « faiblesse » initiale d'effectif a permis certaines expérimentations dont une collaboration originale avec la chimie organique entrainant des alternances, notamment pour les fonctions organiques, qui alliaient le côté théorique et les applications aux molécules biologiques. Comme lors de toute création, ce sont les travaux pratiques qui ont nécessité quelques adaptations locales puisqu'une seule salle de TP servait pour plusieurs matières. Cette collaboration a cessé d'elle-même au bout de cinq ans.

Ces investissements sont survenus comme une surcharge largement consentie, sachant, en ce qui concerne plus particulièrement la biochimie lilloise, que c'était en partie par cette « croissance externe » qu'elle pouvait elle-même croître.

9- Accompagnement des étudiants

L'accompagnement des étudiants fut une spécificité de l'enseignement de biochimie. Il est intervenu à trois niveaux.

Accompagnement en premier cycle : le DEUG Biostages

Une section particulière du DEUG B filière chimie-biologie a été instituée en 1989 sous l'appellation initiale de CBX, puis de biostages. L'originalité était que, durant l'année universitaire composée de deux semestres, les enseignements étaient regroupés pour dégager un temps complet de stage en Janvier-Février. Cela demandait un effort conséquent aux étudiants et étudiantes (qui ont été largement majoritaires !), mais celui-ci était largement récompensé par le fait de disposer d'une véritable expérience professionnelle dès la deuxième année universitaire et déterminante pour la poursuite d'études. Pas de sélection à l'entrée, mais un entretien de motivation autour d'un projet avec le responsable des stages. Au cours du premier semestre, une séance hebdomadaire se tenait pour mettre en commun les démarches individuelles et affiner la stratégie. Au fur et à mesure du développement de cette section, l'expérience des promotions précédentes n'a jamais fait défaut pour encourager, accompagner et informer les nouveaux. Ainsi s'est créé un répertoire d'anciens et des stages effectués. De véritables filières d'accueil se sont ainsi constituées où un stagiaire était attendu tous les ans. Pour illustration, la collaboration avec l'IFREMER de Boulogne a vu l'encadrement et l'embarquement sur le bateau océanologique « Thalassa » dix années consécutives, trois semaines en mer du Nord, dans le cadre de l'Europe Bleue, sous les ordres du même ingénieur de recherche ! Les stages pouvaient s'effectuer à la demande localement ou … dans le monde entier. Certains(nes) ne se sont pas privé(e)s de partir en Amérique du Sud, en Afrique ou en Polynésie …
Le stage était mis en exploitation au retour et donnait lieu à un rapport et une soutenance devant un jury de deux professeurs. Les maîtres de stages y étaient invités par leurs étudiants sans obligation. Le stage était noté au premier semestre par l'appréciation du maître de stage et le rapport et la soutenance au deuxième semestre avec des notes officielles d'options. Cette expérience a été unique en France jusqu'en 2002. On peut ajouter que tous les stages allant jusqu'à la région parisienne et la proche Belgique ont fait l'objet d'une visite systématique renforçant par là même le partenariat. La section Biostages bénéficiait d'une allocation de cinq heures annuelles par étudiant comme pour toute filière de l'Université incluant des stages et cette enveloppe a toujours été suffisante pour indemniser tous les acteurs concernés par les visites et les soutenances et rétribués au prorata de leur participation effective.

Accompagnement en deuxième cycle

L'Université ayant toujours été « volontariste », aucune limite aux effectifs n'a jamais été instituée et elle a pu longtemps se prévaloir d'être la championne de France des heures supplémentaires ! Accueillir sans restriction était louable pour le développement de la région mais la contrepartie a très vite appelé un soutien. Le Service Universitaire d'Accueil, d'Information et d'Orientation (SUAIO) a pris un essor important se traduisant, dès 1979, par une collaboration soutenue avec l'Association Pour l'Emploi des Cadres (APEC Paris) pour la formation de personnels et d'enseignants préparés à l'encadrement de sessions de « Recherche d'emploi ». La créativité qui en a découlée a entrainé la création d'outils. Ainsi sont nés en licence de Biochimie des exposés en amphithéâtre sur les grands groupes industriels de l'époque (Rhone-Poulenc, Pernod Ricard …) à partir des rapports d'activité et de l'information recherchée, l'édition d'une feuille appelée « Biologie et Economie » rassemblant articles du Nouvel Economiste et références du Kompass ciblés sur les leaders régionaux pharmaceutiques ou agro-alimentaires. Les idées germant, les étudiants ont créé de toutes pièces, en liaison avec le point d'accueil sciences naturelles qui leur était destiné, un carrefour Université-Entreprise digne d'une bonne école d'ingénieur. Dans la même veine, une plaquette « maîtres en biochimie » (voir Fig.7) vantant la formation lilloise et subventionnée par nos industries partenaires facilitait l' « exportation » de nos étudiants en sortie de deuxième cycle vers les écoles, DESS et DEA extérieurs. En 1981, les deux tiers de l'effectif d'un DESS de Dijon ont été conquis par nos lillois qui s'étaient particulièrement bien organisés … collectivement. En plus, sous l'impulsion d'un cadre industriel d'une entreprise « amie » et de deux enseignants, un annuaire de la maîtrise, entièrement subventionné par la publicité spécialisée, a permis de recenser la dispersion exceptionnelle de tous nos

diplômés. En 2001, il en rassemblait 1150 qui avaient donné leur accord pour y figurer et qui représentaient plus de la moitié des effectifs des promotions depuis 1969.

Accompagnement en troisième cycle

Comme dans la plupart des universités, l'association Bernard Grégory a accompagné les docteurs de troisième cycle pour leur recherche d'emploi en milieu industriel et la biochimie en a été un partenaire effectif et efficace.
Toutefois, malgré bien des efforts, il n'était pas rare que des étudiants reçus en maîtrise se retrouvent sans accès à une poursuite d'études malgré tous les outils mis en place par l'Université et le laboratoire de biochimie en particulier. En effet, se déclinant à partir des sessions de « Recherche d'emploi » de type APEC-SUAIO, il avait été mis en place des mini-sessions en maîtrise de quatre demi-journées, incluses dans le cursus pour les volontaires et dispensées autant que de besoin pour se présenter dans de bonnes conditions aux filières de troisième cycle extérieures à notre Université.
Finalement, pour ne pas abandonner ceux et celles qui n'avaient pas intégré quoi que ce soit, une nouvelle formule a été mise au point qui a pris nom : « Atelier Intégration et Services en Entreprise (InSerE) ». Il impliquait une réinscription à l'université, indispensable pour pouvoir signer des conventions de stage. Dans cette formule, plus aucun cours mais une succession de stages d'une durée de trois à quatre mois pour acquérir la fameuse expérience professionnelle qui fait souvent terriblement défaut. Entretien sur CV pour dégager un projet et formuler une stratégie, choix des stages adapté avec mise en commun trimestrielle. Bref, tout ce qui avait déjà fait ses preuves était rassemblé avec des parcours individualisés. Cette année sans examens était ressentie par les intéressés comme une bouffée d'oxygène permettant de se poser et de préparer son avenir dans une ambiance conviviale. Bien entendu, une plaquette « commerciale » parrainée par Gaz de France, Moët et Chandon, Roquette et Lesaffre servait de passeport pour les prises de contact. Pourquoi plusieurs stages et pas un stage d'un an dans un seul endroit ? Pour simplement voir plusieurs environnements et ajuster la stratégie par rapport à l'évolution du projet ou rectifier le programme. Une exception toutefois était possible. Ce fut le cas notamment pour la formation pratique en biologie moléculaire. Même si la cible était une entreprise, le passage par une équipe dans un organisme spécialisé pouvait nécessiter un séjour un peu plus long. La justification relevait d'une remarque faite par un formateur : « Vos étudiants ont le niveau théorique largement suffisant, mais comme l'apprentissage du chinois, il y a une marge entre la connaissance de l'alphabet et la pratique de la langue ! ». Le succès de cette formule qui a concerné jusqu'à 15 à 20 étudiants par an a permis bien des réussites personnelles allant jusqu'à des intégrations professionnelles directes.

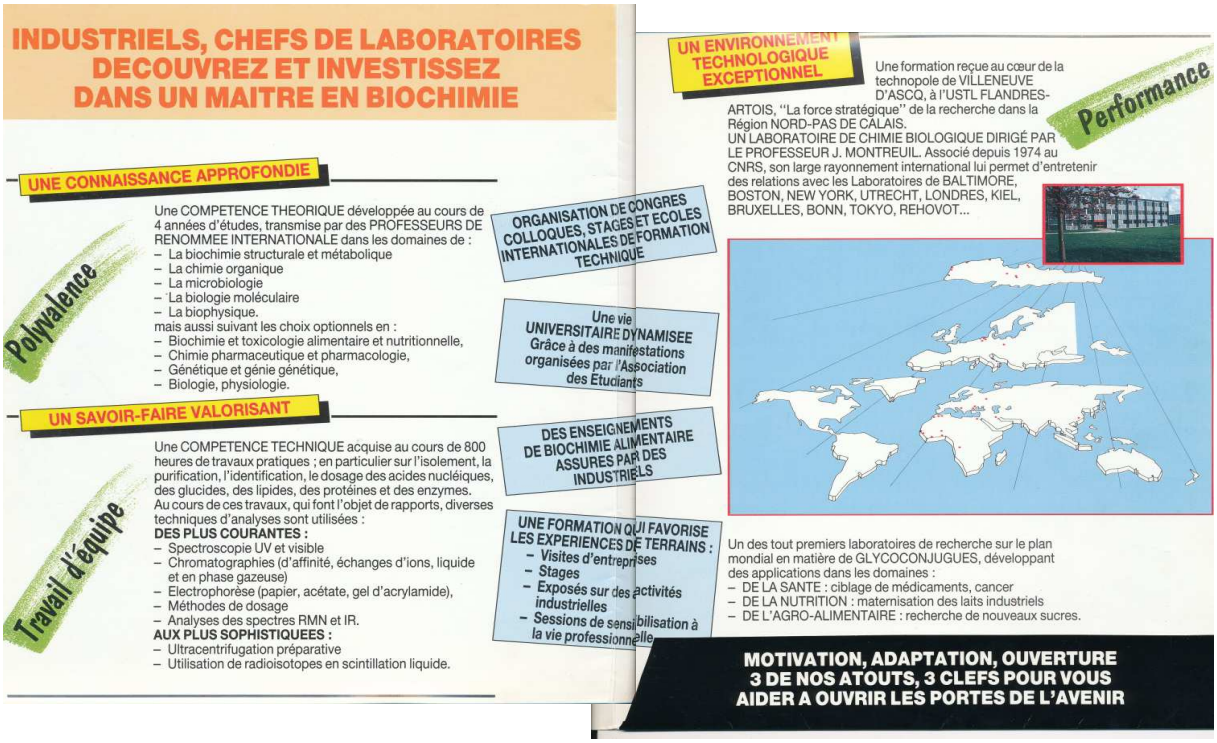


Figure 7. Plaquette réalisée en 1989 à l'intention des industriels par l'AEAB (Association des Etudiants et Anciens de Biochimie créée sous le parrainage de F. Caner et A. Verbert et de Philippe Clément, société Lesaffre).

X- Les temps forts de la biochimie : les dessous de l'organisation de congrès et d'écoles internationales

L'organisation d'événements scientifiques était le prétexte d'une mobilisation générale de l'ensemble du personnel. Toutes les équipes avaient conscience que la réussite de l'événement contribuerait à améliorer la notoriété du laboratoire. Deux événements ont été particulièrement mobilisateurs : le premier colloque international de Villeneuve d'Ascq en 1973 et, pendant une quinzaine d'années, la mise en place des écoles d'automne sur les glycoconjugués.

1- Le Colloque international du CNRS sur les glycoconjugués (20-27 juin 1973) Villeneuve d'Ascq

Bien que ce symposium, qui a eu une répercussion internationale exceptionnelle, ait été du ressort scientifique exclusif des équipes travaillant sur les glycoconjugués, l'ensemble du personnel et la toute jeune équipe de J. Krembel se sont mobilisés pour assurer le plein succès de cette manifestation. Il faut dire que J. Montreuil y tenait particulièrement et qu'il avait l'intention de recevoir ses hôtes comme on sait le faire dans le Nord et plus encore… à la Flamande ! C'était un orfèvre en la matière et même si la plupart des congressistes devait être logés dans des chambres de résidence universitaire sur le campus, rien n'empêchait de soigner la réception et cela allait jusqu'aux fleurs dans les chambres avec quelques confiseries ! D'où une intendance exceptionnelle qui fut très appréciée.

Le programme des festivités a aussi été à la hauteur de l'événement. Deux manifestations particulières ont émergé. La première a été un déplacement à Bruges qui s'est terminé par un repas « médiéval » avec force bières et présentation de plats sur une table déplacée à bras d'hommes. Le côté le plus original du déplacement, c'est qu'il y avait dans le bus du voyage, un certain nombre de … « passagers clandestins » ! En effet, les ressortissants de l'Est n'avaient aucun visa… pour passer en Belqique ! Eux qui avaient l'habitude de présenter leur passeport à tout moment ont dû se poser bien des questions. Ni à l'aller, ni au retour, il n'y a eu le moindre incident. La visite du vieux Lille a aussi été soigneusement préparée. Nous avons obtenu le concours de madame Six-Thiriez, fondatrice de la Renaissance du Lille Ancien. Celle-ci a prêté son concours en mettant à la disposition du laboratoire un guide bilingue. A une époque où le tourisme lillois n'avait aucun sens, le commentaire en anglais de l'alignement du Beau Regard délivré sur les marches de la Nouvelle Chambre de Commerce à un groupe hétéroclite d'étrangers a dû laisser aux passants une impression étrange ! Les temps ont bien changé, mais comme en sciences, nous étions des précurseurs.

2- Les écoles d'automne

La notoriété du colloque a engendré la mise en place de *Work Shops* qui ont pris leur essor peu après et se déroulaient tous les deux ans les deux premières semaines de septembre. Ils ont été patronnés par des instances européennes (FEBS). Ces enseignements pratiques et théoriques, entièrement réalisés par le laboratoire avec quelques grands noms d'invités internationaux, étaient délivrés sous forme de conférences et de démonstrations techniques pointues. Les participants, au nombre de quelques dizaines étaient des jeunes chercheurs venant de grands laboratoires français et étrangers pour se former aux tous derniers progrès des connaissances sur les glycoconjugués dont le laboratoire était devenu un spécialiste incontesté. L'ambiance joyeuse et décontractée était renforcée par le repas du midi pris en commun au sous-sol du bâtiment C9 avec une intendance parfaitement rodée animée par A. Chéron et R. Cacan assistés par Joselyne Celen, Annie-France Bouquelet, Jacqueline Dondeyne et Jeanine Moerman. Si J. Montreuil en était l'artisan incontesté, l'animateur « vedette » en était sans contexte A. Verbert, aussi à l'aise pour placer une plaisanterie à l'anglosaxone que pour faire un affichage rehaussé d'un coup de crayon inimitable!

XI- Témoignages

1- Mes débuts en biochimie, à Lille (1958 – 1961) par Emile Ségard.

Figure 8. De gauche à droite : A. Chéron, G. Strecker, J. Descamps, E. Ségard et C. Cardon en 1964

Mars 1959 **- Comme toutes les semaines depuis début novembre 1958, j'étais dans un des amphis de l'Institut de chimie, non loin de la place Philippe Lebon et du bâtiment administratif principal de l'Université. Je suivais, pendant une heure et demie, le cours du certificat de chimie biologique faisant partie du 4ème module de la nouvelle maîtrise de sciences physiques qui venait d'être définie à compter de novembre 1958.**

Comme le cours de chimie biologique étant enseigné par le Professeur Jean Montreuil, j'ai donc fait connaissance et pratiqué « les 2 » en même temps (Jean Montreuil et la rue Gosselet), mais je ne savais pas encore ce que l'avenir me réservait !!!

Revenons donc dans l'amphi ; le cours de M. Montreuil se terminait. Pour ce qui me concernait, ce cours me passionnait à la fois par le sujet et par le style et l'entrain du professeur. Ce dernier, en effet, montrait une qualité pédagogique que je n'avais pas encore rencontrée dans tous les autres cours que j'avais suivis depuis mes débuts en Faculté ; il nous entraînait dans le rythme soutenu d'une personne jeune en pleine action (il avait à l'époque 38 ans). Jean Montreuil, pharmacien de formation, était l'élève de Paul Boulanger qui enseignait la chimie biologique en dirigeant, à la cité hospitalière, le laboratoire de biochimie cellulaire de l'Institut de Recherches sur le Cancer de Lille (l'IRCL). Personnellement, m'étant vite passionné pour la chimie biologique durant mes deux années précédentes en Licence de physique-chimie, j'avais déjà acheté des livres (cf page 5) antérieurement et j'y avais facilement retrouvé Jean Montreuil dans les chapitres spécialisés sur les sucres, glycoprotéines et acides nucléiques. C'est dire que le fait de le retrouver au cours dans l'amphi avait pour moi une signification particulière…

A la fin des 90 minutes du cours, parvenu à nous enthousiasmer sur les réactions en chaîne du cycle de Krebs, au lieu d'abandonner le pupitre, il se mit à nous dire : « Je vous demande de rester quelques minutes, pour ceux qui le peuvent, car je veux vous expliquer quelques points qui intéressent l'enseignement et le développement futur de la chimie biologique dans cette Faculté des sciences…Vous avez pu constater qu'on ne vous a pas parlé pour l'instant de travaux pratiques pour cet enseignement qui débute ; en fait vous n'en n'aurez pas cette année, car nous n'avons ni locaux installés ni personnel pour assurer cette part de

l'enseignement…On m'a promis un poste d'assistant pour la prochaine rentrée et j'ai la possibilité d'installer un laboratoire dans un local de l'Institut de zoologie, pas loin d'ici, mais tout est à faire, depuis le gaz et l'électricité jusqu'aux paillasses…Je voudrais pouvoir commencer à faire fonctionner tout cela, mais j'ai besoin dès maintenant d'une aide pour suivre le programme d'installation quand je suis pris ailleurs et même pour mettre la main à la pâte si nécessaire. S'il y a parmi vous ici quelqu'un qui est en fin de cursus en ne suivant que quelques certificats pour être suffisamment libre pendant les journées, il pourrait faire équipe avec moi. Qu'il vienne me voir tout de suite après…Je précise que ce sera entièrement bénévole pour maintenant, mais si tout va bien par ailleurs il pourrait prendre le poste d'assistant à la rentrée de novembre prochain. C'est pour cela qu'il faut absolument quelqu'un qui aura fini sa maîtrise de sciences en juin et qui est intéressé à faire de l'enseignement après… S'il en est un parmi vous, qu'il vienne me voir tout de suite, nous pourrons essayer de faire équipe ensemble dès maintenant… ».

J'ai regardé les quelques autres qui étaient restés. J'avais très vite réfléchi à mon cas pendant que M. Montreuil parlait et je suis descendu le voir tout de suite (mais j'étais le seul, car les autres ne répondaient pas aux conditions qu'il avait posées)…Il se faisait que j'étais très peu pris pendant la journée car il n'y avait pas de TP non plus en chimie générale II, enseigné par M. Germain. Les TP semestriels de biologie appliquée venaient de se terminer et je n'étais pris en fait que quelques heures par semaine (même en suivant en amateur le certificat d'électricité). J'étais marié depuis Juillet dernier ; nous habitions provisoirement à Fives une maison en fin de chantier prêtée par des amis, et nos parents subvenaient à notre dernière année d'étude jusqu'en septembre prochain. Mon épouse terminait sa dernière année d'un BTS en centre-ville et je devais, chaque jour, la conduire le matin et la reprendre le soir avec notre vieille 2CV donnée par un de mes frères. C'était donc pour moi « la situation transitoire » idéale pour répondre à la proposition de M. Montreuil et ouvrir peut-être une porte sur l'avenir… Tout fut donc réglé ainsi rapidement et M. Montreuil me fixa rendez-vous dès le lendemain à l'institut de zoologie à 10h30 (« vous rentrez dans la cour à la grille dans la petite rue, vous verrez ; attendez moi, je serais peut-être en retard de quelques minutes… »). Je lui avais expliqué ma situation ; « je vois, m'a-t-il dit, je vais essayer de vous trouver une place rapidement ».

C'est ainsi que le jeudi de la deuxième semaine de mars 1959 à 10h30, je débutais mes premiers contacts avec « la Rue Gosselet ».

M. Montreuil, arrivé en trottinant rapidement, me montra d'abord le bâtiment dans la cour, adossé en extension sur le mur principal de l'institut de zoologie, auquel on accède par la porte principale donnant sur la cour. « Vous voyez, me dit-il, cette extension était ce que l'on appelait l'aquarium, où l'on entreposait pour la zoologie les quelques poissons vivants et les collections d'animaux marins. Cela ne sert plus maintenant et on nous donne ce bâtiment ; il communique avec le rez-de-chaussée de l'institut, que l'on nous donne également, sauf l'amphithéâtre à l'extrême droite, qui restera affecté pour l'ensemble des enseignements de zoologie en plus des nôtres, quand nous serons installés. Globalement, il va donc falloir nettoyer puis équiper et installer en bureaux et laboratoires tout ce rez-de-chaussée ; nous commencerons par l'aquarium et la partie communicante intérieure ; pour le reste, on verra plus tard. L'idéal serait de rendre opérationnel cette première partie, d'ici le début novembre prochain, pour en faire un début de labo de recherche pour vous, en commençant à y installer les premiers matériels dont je dispose et que j'entrepose pour l'instant à l'Institut du cancer, à la cité hospitalière. Il va falloir commencer à faire des cloisons intérieures, poser les distributions de gaz, eau et électricité, puis monter des paillasses… Venez voir l'intérieur avec moi ; vous allez voir, il y a du boulot… Heureusement, il y a un garçon de laboratoire, M. Noël, qui sait faire beaucoup de choses et qui va pouvoir travailler avec nous ; il nous attend et vous allez le voir tout à l'heure. »

<u>Mars à octobre 1959</u> : A partir de ce Jeudi de la deuxième semaine de mars, j'arrivais le matin vers 8h30, avec ma caisse à outils personnelle dans ma 2CV, et je retrouvai M. Noël, avec lequel j'avais formé très facilement une très bonne équipe. Après avoir nettoyé complètement l'aquarium et la pièce communicante à l'intérieur du bâtiment principal, nous avons éliminé quelques cloisons mal positionnées et nous avons commencé à poser les portes intérieures et les cloisons en placoplâtre pour délimiter un bureau, un petit

labo et une chambre noire dans la pièce existante à l'extrémité côté cour de l'aquarium ; dans la pièce principale de l'aquarium, la majorité de l'emplacement fut réservée pour y positionner le maximum de paillasses. M. Montreuil venait très souvent et il passait avec nous le temps qu'il pouvait, lui aussi avec sa propre caisse à outils, y compris le samedi matin en l'absence de M. Noël. Il nous a montré des capacités surprenantes d'architecte d'intérieur, voyant toutes les possibilités d'aménagements et aussi précisant dans les détails les astuces d'implantation pour arriver au maximum d'exploitation des surfaces. Pendant la semaine, avec M. Noël et un autre employé électricien, nous avons tiré des lignes électriques et des canalisations d'eau et de gaz, ainsi que les tuyaux d'évacuation en creusant des canalisations supplémentaires dans la dalle. J'ai appliqué mes connaissances antérieures de soudure pour toutes les distributions d'eau et de gaz ; j'avais appris cela dans l'entreprise de mes frères durant mes vacances scolaires, quand j'étais en 1ère et terminale. Les travaux avançaient vite, mais je me demandais d'où viendraient les paillasses ; or un matin M. Montreuil est arrivé avec une botte de cornières perforées de plusieurs tailles : le DEXION était arrivé ! C'est, en effet, avec ce produit qu'il avait décidé de construire les paillasses, éviers, rayonnages de rangement et même de faire des planchers pour couper en hauteur la pièce du bâtiment côté Institut, dont la hauteur de plafond était suffisante pour récupérer une surface de plancher supplémentaire…Avec quelques cisailles adaptées, nous avons donc entrepris du travail de mécano pendant plusieurs semaines pour équiper toutes les pièces ; les tables et les éviers ainsi construits furent recouverts de Novopan et de plaques de PVC moulées pour obtenir un ensemble étanche parfait. Dans un deuxième temps, l'étage supplémentaire avec escalier fut construit sur le même principe… (voir les détails dans la note de F. Caner).

C'est le vendredi que, le plus souvent, on voyait passer M. Scriban, qui s'occupait de l'école de Douai ; sachant que M. Montreuil serait certainement là, il venait voir et donnait ses conseils d'astuces d'aménagement, car il avait fait aussi de son côté des travaux intérieurs « de bricolage », comme il disait. M. Seynave venait aussi, le plus souvent le samedi matin ; très intéressé, il donnait aussi des conseils « de bricolage », car il avait la pratique des abattoirs de Lille, dont il dirigeait les laboratoires de contrôle. Je suivais son cours en chimie agricole, dans le bâtiment voisin… Je soupçonne que ce fut l'un des deux (ou les deux) qui a introduit le Dexion dans nos opérations, mais on ne le saura jamais ! Pendant la semaine, de temps à autre, M. Defretin descendait de son 1er étage juste au-dessus de nous pour voir où nous en étions. Il dirigeait l'Institut de zoologie où nous étions et il venait peut-être voir quand il serait débarrassé du bruit de nos travaux !

Quoi qu'il en soit, c'est bon an mal an que cette « 1ère tranche » est devenue prête à l'emploi dans le courant du mois d'octobre ; un matin on a vu arriver dans une camionnette de la cité hospitalière un ensemble de matériels de laboratoire. Comme M. Montreuil avait prévenu, j'avais apporté une bouteille de mousseux ; après avoir disposé et branché un pH-mètre, une balance de laboratoire, un colorimètre, une petite centrifugeuse de table et la grosse centrifugeuse réfrigérée blanche « International », nous avons débouché le champagne avec des acclamations vers M. Montreuil, qui en a été très ému…Nous attendions pour la semaine suivante des livraisons d'un spectrophotomètre et de tout un lot de verreries diverses et petits matériels habituels. Le laboratoire de chimie biologique de la Faculté des sciences de Lille allait pouvoir commencer à fonctionner bientôt…Mais pour moi, les choses allaient commencer à se compliquer…

En effet, à la rentrée de septembre, M. Montreuil m'avait fait une proposition : « Ségard, j'ai des nouvelles pour vous…Je vous avais dit que j'attendais un poste d'assistant pour la rentrée. C'est toujours vrai, mais je crois que cela sera pour la prochaine…Je me suis dit que vous ne pouviez pas attendre sans avoir de quoi faire bouillir la marmite tout de suite. Aussi, je vous ai cherché une possibilité ailleurs et je viens d'obtenir pour vous une bourse de la ligue nationale française de lutte contre le cancer, à condition que vous vous inscriviez pour préparer une thèse de doctorat. Comme vous venez de réussir en Juin tous vos examens et je vous en félicite, vous pouvez vous inscrire en thèse… Je ne sais pas ce que vous voulez faire pour la suite de votre vie active, mais c'est le moment de vous décider. Dites-moi rapidement ce que vous voulez car je dois prendre position pour la ligue. Si vous suivez sur la bourse de la ligue, vous aurez 80% du SMIC garanti pendant 3 ans minimum et vous aurez un poste d'assistant de recherche à l'Institut de recherches sur le

cancer à la cité hospitalière. Si vous venez, nous allons réfléchir pour vous trouver un 1er sujet de thèse qui convienne pour la ligue, et il faudra prendre un 2ème sujet pour la thèse. En choisissant astucieusement, vous pourrez ainsi continuer à venir ici à temps partiel, mais vous aurez des allées et venues à faire entre la cité et ici…Evidemment, je vous ferai nommer sur le poste d'assistant de Faculté dès qu'il sera débloqué… Réfléchissez et dites-moi vite. »

Pour gagner ma vie tout de suite, j'avais envisagé de prendre un poste de chercheur dans l'industrie chimique, mais il se posait les problèmes d'un déménagement vraisemblable et du service militaire. Or mon épouse ayant obtenu un poste d'enseignante stagiaire à Lille et n'ayant pas de perspectives dans des industries de la région, il était préférable d'éviter de quitter la région et de reculer le service militaire en reportant mon sursis d'incorporation. L'option de la thèse sur les bases proposées était donc adéquate et j'ai, après concertation, accepté la proposition de M. Montreuil. C'est ainsi que j'ai commencé à l'Institut du cancer à la cité à partir du 1er octobre. J'ai donc fait le champagne de démarrage, alors que je n'étais plus « présent » rue Gosselet… Mais nous allons voir comment les choses ont évolué assez rapidement…

<u>Octobre 1959 à octobre 1961</u> : Arrivé à l'IRCL, je n'ai pas eu plus de 3 jours pour faire le tour de la maison et faire connaissance avec le personnel directement rattaché à M. Montreuil (trois laborantines) ainsi que le personnel des services généraux qu'il m'avait présenté en arrivant. J'ai hérité d'un petit laboratoire avec un bureau, implanté au premier étage près de l'animalerie au fond du couloir (vous allez en avoir besoin, m'a-t-il dit en me faisant visiter)…Dès l'après-midi, M. Montreuil ayant disparu en me disant « je reviens ce soir », je me suis installé pour analyser les possibilités très intéressantes de la bibliothèque de l'Institut. J'y ai vu arriver, dès 17 h, une équipe de médecins jeunes et dynamiques (Alex Clay, professeur d'histologie, André Dupont, professeur de cancérologie expérimentale, Alain Demaille, professeur d'anatomie pathologique, Laurent Adenis, assistant en préparation d'agrégation de Médecine) ; ils se détendaient tous en échangeant leurs problèmes après leurs journées d'opérations et de consultations au Centre anticancéreux Oscar Lambret. Le soir, M. Montreuil devait me présenter au Professeur Jules Driessens, directeur de l'IRCL et du centre Oscar Lambret, ainsi qu'à Roger Osteux, professeur de chimie organique biologique, dont j'avais suivi en Faculté de médecine les cours redoutés sur les stéroïdes et les terpènoïdes. « Et puis, m'avait- il, demain à midi nous devons rencontrer le Professeur Lespagnol pour votre sujet de diplôme ; je vous expliquerai ce soir… ». « Eh bien, me suis-je dit, j'ai l'impression que tu ne vas pas t'embêter ici ; il va falloir prendre ta respiration et tenir le pas de gymnastique !!! ».

A 18h, M. Montreuil m'a pris en bibliothèque et m'a poussé dans le bureau directorial de M. Driessens, qui m'attendait en signant le courrier de la journée. « Bonjour, cher Monsieur, je suis heureux de vous recevoir ici comme nouveau membre de l'équipe de ce cher Montreuil…Il m'a dit beaucoup de bien de vous ; je souhaite en dire autant dans quelques temps après vous avoir vu à l'œuvre chez nous. Nous mettons à votre disposition tous les moyens de cette maison, ce n'est pas pour vous y reposer ; je sais que ce n'est pas votre genre, et vous avez des devoirs vis-à-vis de la ligue du cancer, qui est très importante pour tout notre ensemble lillois. Je souhaite donc que vous réalisiez ici d'excellents travaux pour renforcer notre réputation ; sous la conduite de Montreuil, je ne m'inquiète pas là-dessus. Je ne doute pas qu'avec le temps vous allez devenir pour tout le monde ici un excellent collègue. Vous me trouverez toujours présent, non seulement pour vous encadrer, selon les règles internes de la maison, mais pour vous aider en équipe avec votre excellent patron qui est ici à vos côtés. N'hésitez pas à me contacter par son intermédiaire si nécessaire…Allez, au revoir cher Monsieur Ségard, en attendant notre prochaine rencontre… ».

A partir du 2ème semestre 1960, j'ai pu commencer à mettre en opération, rue Gosselet, la chromatographie en phase gazeuse ; ce fut la première opération lilloise de mise en œuvre sur les sucres de cette technique nouvelle ; elle était apparue l'année précédente aux Etats-Unis et en Grande Bretagne. Il se fait que les dérivés méthylés des sucres, qui étaient stables et solubles dans les solvants organiques à températures élevées, étaient les produits adaptés pour développer cette technique nouvelle de séparation. Monsieur Montreuil a donc trouvé les crédits pour acheter un chromatographe en phase gazeuse anglais, de marque Shandon, qui a trouvé sa place dans les toilettes, au fond du couloir du côté de l'aquarium, en passant sous

les chambres d'électrophorèse et de chromatographie de l'étage en Dexion. Nous devions travailler avec des mélanges hydrogène-azote et des solvants organiques à haute température. Il fallait donc un local bien ventilé et isolé au maximum du reste des laboratoires : les toilettes étaient « le lieu idéal » !!! J'ai donc été chargé par M. Montreuil de prendre en main et mettre en oeuvre cette technique « aventureuse »…J'avais plusieurs problèmes pas évidents à résoudre : définir les colonnes chromatographiques à utiliser et déterminer tous les profils de référence de tous les isomères méthylés des oses principaux présents dans les fractions de glucides et glycoprotéines travaillées au laboratoire.

Au stade où en était la technique à l'époque, définir les colonnes c'était d'abord « une question de plomberie ». En effet, il n'existait pas de colonne standard disponible, que l'on aurait pu acheter sur le marché. Après avoir beaucoup étudié le problème, j'ai fini par retenir du tube de cuivre de 0,3 à 0,4 de diamètre intérieur, que l'on pouvait acheter au mètre sur le marché, ainsi que des embouts en laiton qui s'adaptaient aux branchements du Shandon et qu'il fallait braser au chalumeau à la longueur voulue. Il fallait ensuite définir les types de support à introduire dans la colonne avec les systèmes solvants adaptés. Un poste de soudure à hydrogène a donc été réservé sous l'étage en Dexion ; j'y fixais les embouts sur les tubes de cuivre que j'avais sélectionnés, et, pour des questions de sécurité (!!!), il ne fallait personne dans la pièce pendant que je soudais ! Pour finir la préparation « plomberie » de ces colonnes, il fallait que je fixe les longueurs en fonction des mélanges à séparer… Il serait trop long de rentrer dans cette question très « subjective », dont je ne saurai jamais définir les principes exacts. Quand cette longueur « subjective » était figée (à la scie à métaux !) et que les embouts étaient soudés, je choisissais la poudre de silice sur laquelle j'avais adsorbé le mélange solvant retenu comme phase liquide et « je montais » avec le tout au 1er étage dans la cage d'escalier. Le tube rigoureusement droit de la colonne en cuivre était tenu dans le trou de la cage d'escalier et, avec un entonnoir, je remplissais la colonne de la poudre de silice, en la tassant avec un fil de cuivre. Il restait à la torsader ou la replier pour la rentrer et la brancher dans l'enceinte du chromatographe. Il fallait ensuite « dégorger » et « inerter » la colonne à la température d'usage prévue, avec le débit de gaz et les réglages d'enregistrement fixés. Quand « la ligne de base » était stable, il ne restait plus qu'à injecter les mélanges d'hydrolysats en méthanol/HCl d'oses méthylés, à analyser sous forme de méthylosides…Sous cette forme, on obtenait des pics différents pour les isomères α et β de chaque dérivé méthylé. Fin 1960, j'avais maîtrisé cet enchaînement d'opérations. Comme j'étais mobilisé de plus en plus à l'IRCL à partir du début de 1961, je n'ai pas été en mesure de transférer mes connaissances pratiques aux nouveaux arrivés de la rue Gosselet ; les cours que j'avais pris en charge, ainsi que mon départ en mission en Inde fin 61, ne m'ont malheureusement pas permis d'assurer un transfert satisfaisant. Il a fallu attendre plus de 2 ans que Michel Monsigny, avec son excellent sens technique, reprenne sur ce sujet, après mon départ à l'armée en Mai 63..

Figure 9. J. Montreuil dans le laboratoire de la rue Gosselet

2- Souvenirs de la rue Gosselet par François Caner

Le laboratoire de chimie biologique de la Faculté des sciences de Lille (devenu celui de l'USTL à Villeneuve d'Ascq) a toujours été appelé « La Rue Gosselet ». En tant qu'ancien, je n'ai jamais su exactement pourquoi. La rue Gosselet est effectivement une rue de Lille qui longe le bâtiment de géologie de l'ancienne Faculté (devenu aujourd'hui le siège de nombreuses associations dont la Maison de la Nature et de l'Environnement) mais le laboratoire était situé dans le bâtiment de zoologie qui lui, était perpendiculaire à la rue Claude Bernard…. par laquelle nous avions notre accès principal. Le seul fait qui accrédite l'appellation est l'adresse postale du laboratoire qui précisait « 23 rue Gosselet ». Là se trouve vraisemblablement l'origine.

Petit historique :

Je suis arrivé au laboratoire de la rue Gosselet début septembre 1963. Je n'ai donc que des éléments partiels de ce que je crois être la période de la création, avant cette date. La biochimie est devenue une discipline scientifique à part entière en Faculté des sciences par une réforme des études de biologie dite « loi Aigrain » qui l'a introduite dans les cursus en 1957. La biochimie existait par contre de longue date en Faculté de médecine et de pharmacie (ancienne chimie physiologique), ce qui explique la candidature de M. Montreuil au premier poste créé de maître de conférences (titre remplacé aujourd'hui par celui de professeur), celui-ci étant pharmacien docteur-ès-sciences d'origine, élève du Professeur Paul Boulanger de la Faculté de médecine de Lille. M. Montreuil est arrivé sans rien rue Gosselet, si ce n'est des thématiques de recherche et une extraordinaire capacité à enseigner. Il a été très bien accueilli en zoologie par le Professeur Defretin (qui sera par ailleurs le dernier doyen de la Faculté des sciences à Villeneuve d'Ascq) et lui a affecté des locaux situés au rez-de-chaussée du bâtiment sur lesquels nous reviendrons. Leur ancienne utilisation laissera le nom d' « aquarium » à la pièce principale de cet ensemble.

Parmi les personnalités qui ressortent de cette phase de création initiale, il faut citer Messieurs Scriban de l'école agro-alimentaire de Douai et Seynave qui fût en charge du laboratoire des abattoirs de Lille. Le Professeur Michel Parreau, doyen de la Faculté des sciences en cette période et futur président de l'USTL, a toujours été cité par M. Montreuil comme un homme ayant eu la très grande lucidité de l'avenir de la discipline biochimique, alors qu'il était lui-même mathématicien. Il est celui qui a apporté les investissements nécessaires pour le décollage des premières années, à une époque où les demandes de crédits ne passaient pas par des procédures aussi complexes qu'aujourd'hui, mais les demandes étaient aussi beaucoup plus modestes!

Les premiers collaborateurs de Monsieur Montreuil dont les noms sont souvent revenus et qui étaient partis avant mon arrivée se nomment Nelly Scheepler, Queval, Jacubzak, mais la liste n'est pas exhaustive. Arlette Adam-Chosson a quitté le labo pour la région parisienne après sa thèse fin 63. Emile Ségard est resté au laboratoire jusqu'à la fin des années 60. Geneviève Spik et Michel Monsigny ont été recrutés en 1962 avec, je le pense, Nicole Duquesne et Bernard Castiglioni. Mon arrivée coïncide avec celle d'André Chéron, d'Yves Boulanger (fils de Paul Boulanger, qui poursuivra sa recherche en Faculté de médecine) et de Gérard Strecker qui fera une longue carrière de chercheur à l'IRCL avant de venir nous rejoindre à Villeneuve d'Ascq. Bernard Fournet est entré pour sa part au laboratoire en Janvier 1964. Jean-Pierre Decottignies, recruté peu de temps avant notre départ de Lille, est lui resté officiellement le dernier en fonction au C9.

Les locaux :

Nous disposions de deux types de locaux. Le principal était une construction « moderne » en rez-de-chaussée « incrustée » au bâtiment de zoologie et réalisée manifestement avant 1957 dans la cour entre le bâtiment de géologie et celui de zoologie. Il formait un ensemble constitué de plusieurs zones de travail dont le cloisonnement fonctionnel n'empêchait pas la vision à hauteur d'homme dans toutes les directions à l'exception du bureau de M. Montreuil, très exigu placé dans un coin dont la porte était rarement fermée et qui servait également de secrétariat et de bibliothèque (les ouvrages étaient disposés sur des rayonnages jusqu'au plafond et on pouvait accéder aux plus hauts grâce à une échelle). La particularité de ce local était

que sa partie « incrustée » étant haute de plafond avait été aménagée sur deux niveaux grâce à l'échafaudage d'une structure métallique faite de cornières boulonnées de façon savante (le fameux Dexion qui, récupéré, a eu de nombreux usages dans les premières années du C9!). Inutile de dire que l'espace était utilisé au maximum d'autant plus que la biochimie étant en pleine expansion, il fallait chaque année faire de la place aux nouveaux : le centimètre carré de paillasse était cher! Ce « vaste » local était accessible par deux entrées, l'une de service venant de la cour arrivait derrière à hauteur d'un boyau qui avait été couvert de « tôles » en plastique translucide et qui abritait les cages préfabriquées en béton de nos lapins d'expérience, l'autre, principale qui nous permettait d'entrer à partir du hall de l'Institut de zoologie. Cette porte dite principale était dans un recoin sombre du hall, lui-même encombré d'armoires métalliques de vestiaires et il fallait être un habitué pour savoir qu'elle existait. En usage courant, elle n'était jamais fermée et était un lieu de croisements incessants. Lorsque l'on rentrait par cet accès, on avait l'impression de pénétrer dans un « mâchicoulis » peu éclairé et surprenant par cet aspect « construction préfabriquée ». Il fallait laisser devant soi le « couloir des colonnes » (colonnes des résines échangeuses d'ions et autres Séphadex en régénération) qui conduisait à l'escalier en Dexion permettant d'accéder aux salles d'électrophorèse et de chromatographie construites sur la superstructure métallique mais aussi à deux toilettes (dont une avait été transformée pour recevoir le seul appareil de Phase Gazeuse de l'époque!) elles-mêmes dans l'axe d'un couloir (toujours sombre) qui conduisait au musée d'histoire naturelle qui lui existe toujours. On devait donc immédiatement tourner à gauche pour accéder à la pièce principale non sans passer devant notre installation de désionisation d'eau qui faisait notre fierté scientifique car nous étions seuls à en posséder une semblable! Là se trouvait une grande surface de travail centrale qui servait de paillasse sèche, de bureau collectif et de table pour les réunions de groupe qui se tenaient une fois par semaine. Au fond de la pièce se trouvait Geneviève Spik et sa petite équipe dans laquelle on retrouvera au fil du temps, entre autres, Annie Bourgeois (devenue Madame Jacques Descamps), Jenny Dumesnil et Renée Vandersyppe (devenue Madame Henri Debray). Cette partie était entourée sur deux côtés de paillasses appuyées au mur; côté structure en Dexion, il y avait notamment une grosse centrifugeuse General Electric blanche qui, lorsqu'on enlevait le rotor, nous servait de chambre froide à -20°C, en particulier pour les précipitations des protéines au rivanol. A l'autre bout, coté couloir conduisant au bureau de M. Montreuil, était installé Michel Monsigny qui disposait d'un quasi bureau côté grande table et derrière lui d'une grande paillasse bien éclairée à la lumière du jour, la seule de ce secteur. Il naviguait entre cette place et une autre salle où se trouvait l'analyseur automatique d'acides aminés, le célèbre Technicon sur lequel il régnait en maître avec deux techniciens (Guy Decroix et Francis Décamp). Sur la paillasse, entre Geneviève Spik et Michel Monsigny, on a vu travailler un certain Jacques Brohon, vrai fan de Jacques Brel et donnant l'impression « de ne pas y toucher », ce qui n'était pas toujours très bien vu. A côté de cette pièce principale, il y en avait « encore » une autre, contiguë au bureau de M. Montreuil où se trouvait son second, à savoir Emile Ségard autour duquel travaillaient Bernard Castiglioni (retrouvé au Rectorat d'Orléans à la fin des années 80), Louis Grimmonprez (devenu professeur de pharmacie à l'Université de Montpellier) et Claude Cardon qui s'illustra sur le maïs avant de s'intéresser aux invertébrés.

Nous disposions également de deux autres pièces au rez-de-chaussée de l'institut de zoologie qui nous imposaient de traverser le hall et de parcourir un couloir conduisant au grand amphithéâtre où se tenaient la plupart des cours de biologie animale et certains de…. biochimie. Vous imaginez l'« expédition » que représentait le parcours de ces dix à quinze mètres qui les séparaient de la pièce principale quand le hall était plein à craquer d'étudiants attendant leurs cours ou leurs travaux pratiques qui eux se faisaient à l'étage! Ceci d'autant plus que le couloir était encombré d'appareils dont une ultracentrifugeuse Beckman Spinco L50 (dont la sécurité avait été sollicitée un jour par un inconnu qui avait poussé la vitesse au-dessus de la limite autorisée) et que le hall recevait, en dessous de la cage d'escalier, notre « gros » lyophilisateur (installé ultérieurement au C9). Je vous renvoie pour les « scènes de liesse » aux étapes de chargement et de déchargement de l'appareil au milieu de la foule et aux mises en route qui s'accompagnaient souvent d'abondantes fumées d'huile qui montaient aux étages à la grande fureur du personnel concerné. Tout cela se passait dans la « bonne » humeur et au mépris de règles élémentaires de sécurité mais à l'époque, nul ne

s'en souciait. Il fallait que la Science avance et tout était bondé sous la pression de la montée des effectifs des années 60.

Les deux pièces étaient par-dessus le marché de chaque côté du couloir et en quinconce. Au fond du couloir et à gauche juste avant l'entrée de l'amphithéâtre, se trouvait la salle des balances et des spectrophotomètres (dont le Zeiss qui était une merveille pour l'époque) occultée par un immense rideau noir et qui, en veille, ne se trouvait éclairée que par les lampes des dits spectros. Il fallait donc choisir le bon moment pour y accéder sachant qu'en plus nous étions plusieurs à vouloir faire une pesée ou une mesure mais globalement ça se passait bien. L'autre salle, appelée « Labo 1 » (ce qui relevait sans doute du désir inavoué d'en avoir d'autres!) était « moderne » et équipée de bonnes paillasses et d'une hotte aspirante. Sa hauteur de plafond et le manque de place inspirèrent au courant de l'année 1964 un projet qui se réalisa et qui consista à couper la pièce en deux dans le sens de la hauteur grâce à un plancher entièrement en bois recouvert d'un lino moyennement étanche (suivez mon regard). Evidemment, cela a doublé la surface de travail mais avec des conséquences « inattendues ». Primo, on ne pouvait plus ouvrir les fenêtres, secundo, la perte de luminosité imposait de travailler en lumière artificielle au long des jours, tertio, il faisait une température exceptionnelle à l'étage (habituellement supérieure à 30°C) due au plafond bas et à l'accumulation des appareils, en particulier le Technicon et les gros collecteurs de fractions LKB accompagnés de leurs équipements. Heureusement, la présence n'était pas permanente pour la plupart d'entre nous mais ceux qui étaient en dessous dont j'étais, bénéficiaient en dehors de la fréquence des passages du bruit de l'escalier d'accès et du craquement du plancher. Se sont retrouvés dans ce laboratoire un peu à l'écart du « Saint des Saints » Nicole Duquesne, Jacques Descamps et Bernard Fournet.

Dans le personnel technique qui accompagnait l'ensemble de cette « fine équipe » dont la plupart avait autour de 25 ans, il y avait une secrétaire (qui changeait assez régulièrement pour que je ne donne pas de nom précis), Joselyne Celen dont le souvenir est impérissable, Jean-Pierre Decottignies[1] qui sera le « dernier des Mohicans » à survivre en activité au C9 et trois autres personnages sur lesquels je voudrais revenir. Tout d'abord, Emilien Noël, le garçon de labo hyper dévoué toujours prêt à rendre service pour tout et en toute occasion qui malheureusement décédera d'un cancer dans les mois qui précédèrent notre déménagement en octobre 66. Son souvenir lui vaut d'avoir donné son nom à la bibliothèque du premier étage du C9 où l'on retrouve son portrait. Le deuxième personnage, haut en couleur était Paul Durand qui avait été plombier-zingueur dans le privé et qui avait aussi ses habitudes dans un café des environs, ce qui faisait qu'on savait où le trouver … quand il n'était pas là! Ce qui retiendra notre attention c'est le travail qui lui était demandé en permanence et qu'il exécutait avec plus ou moins de bonheur. En particulier, malgré son origine professionnelle, on lui demandait beaucoup … d'« améliorations » électriques à chaque fois qu'il fallait installer un appareil. Alors Monsieur Paul tirait des lignes … à partir des précédentes, … à partir des anciens tableaux dont les fusibles sentaient parfois « délicatement » la résine de pin chauffée ce qui nous alertait sur la surcharge électrique. Un vrai poème imposé par les circonstances que l'on tolérait avec beaucoup d'inconscience, faute de mieux. Quand on parle de Monsieur Paul, on ne peut pas ne pas évoquer Monsieur Fleck (dont le prénom était Lucien, mais personne ne se serait avisé de l'appeler Monsieur Lucien…. par respect). Monsieur Fleck avait une carrure imposante, une grosse voix et il ne se privait pas d'envoyer paître qui il voulait. Il faut dire que c'était un ancien adjudant-chef qui avait beaucoup baroudé. Cette grande gueule…. qui avait le sens de la discipline pour peu qu'on lui en impose ou qu'on soit juste était un remarquable menuisier[2]. Il a dû cohabiter avec Paul Durand qui était bien fluet par rapport à lui. Son arrivée au labo de la rue Gosselet coïncide avec l'absence de Monsieur Noël pour longue maladie et est sûrement

---

[1] *Jean-Pierre Decottignies m'a signalé le 15 octobre 2001 qu'il était arrivé au labo autour du 10 octobre 1965, le même jour que Joselyne Celen et Renée Vandersyppe.*

[2] *Ceci lui permit de vivre en bonne intelligence avec Monsieur Montreuil « amoureux du bois » qui lui commandera un nombre incalculable de meubles dont les plus célèbres sont les tables de ferme de l'Espace Fournet.*

consécutive, car ils se connaissaient[3]. Elle a eu pour conséquence une installation avec son alter ego dans une cave de l'institut de zoologie (un vrai cachot humide tout en briques et avec un petit soupirail). Les deux s'y installèrent quelques mois et Monsieur Fleck accepta de remettre en état, avec bonheur, tout le petit matériel qui allait bientôt déménager à Annappes. Je le soupçonne, le connaissant bien, d'avoir pris son mal en patience dans l'attente d'un grand atelier flambant neuf qui lui était promis.

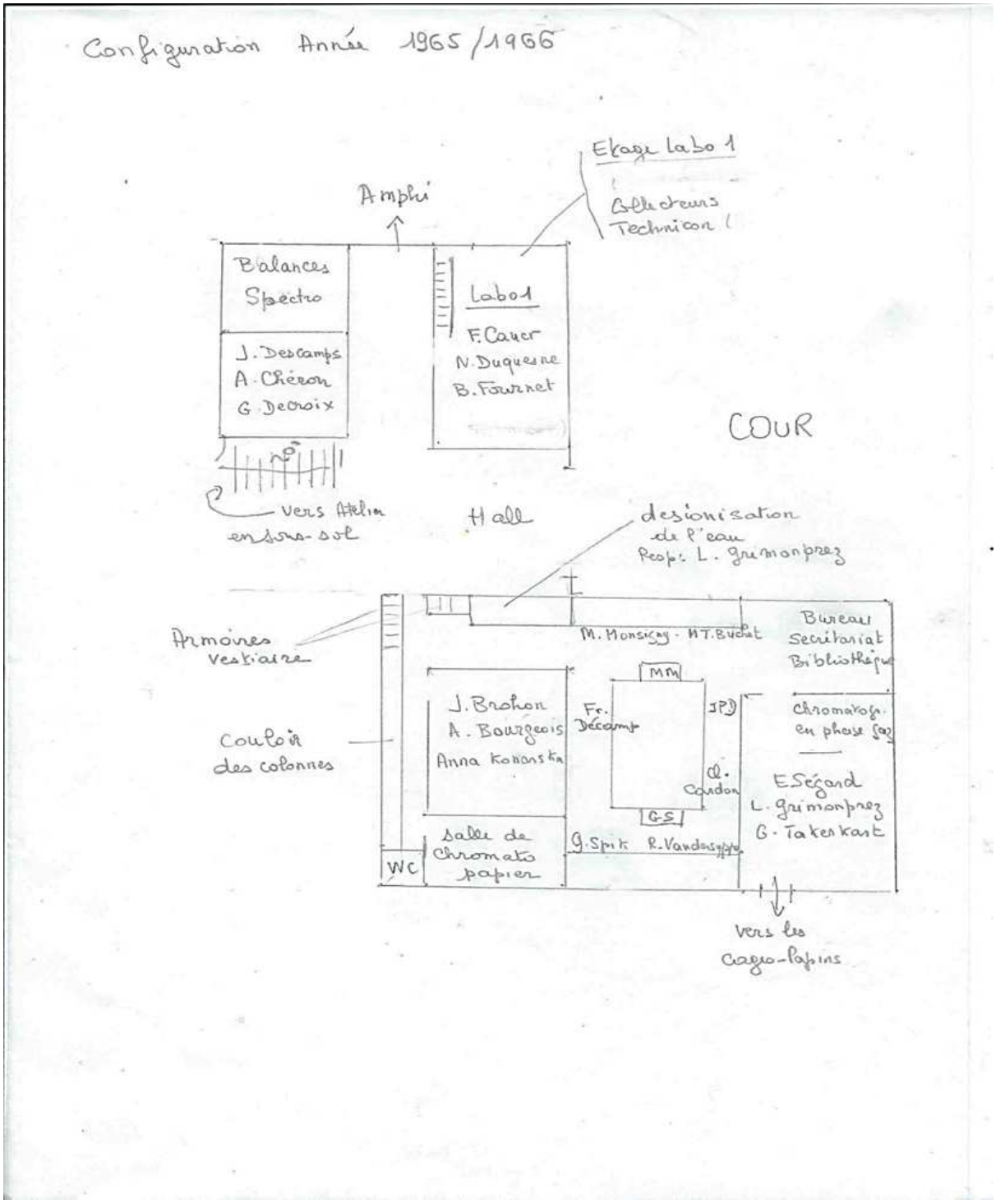


Figure 10. Plan du laboratoire de la rue Gosselet relevé par Renée Vandersyppe (aimablement communiqué par R. Debray-Vandersyppe).

[3] *Monsieur Fleck habitait avec sa famille dans le même immeuble que Monsieur Noël et s'est beaucoup occupé de lui dans ses derniers temps.*

Quelques mots encore :

Je n'évoquerai pas les thèmes de recherche qui étaient notre lot quotidien. D'autres sont beaucoup plus qualifiés que moi pour en parler. Tout au plus peut-on dire que les tâches étaient multiples et que le métier de chercheur s'apprenait beaucoup sur le tas d'autant plus que l'équivalent d'une maîtrise permettait de s'inscrire directement en thèse. Pour l'enseignement, c'était une autre histoire qui mériterait d'être contée ultérieurement. On bossait dans les deux cas avec ardeur sans se poser beaucoup de questions, d'autant plus que les assistants, avant mai 68 n'avaient guère voix au chapitre et vivaient cantonnés dans leur laboratoire. Autres temps, autres moeurs ….

En guise de conclusion :

Aujourd'hui, les bâtiments évoqués existent toujours. La pièce principale qui nous abritait est devenue une annexe du musée d'histoire naturelle où les taxidermistes se donnent beaucoup de mal pour restaurer les collections. Curieusement ils rénovent pour ce musée qui, à notre époque, était bien poussiéreux et peu fréquenté et qui en ce début de siècle a retrouvé une nouvelle jeunesse. La rue Gosselet qui représentait le symbole de la Science « nouvelle, jeune et conquérante » fait maintenant partie d'un passé révolu avec la plupart de ceux qui y ont vécu, même si la biochimie a encore aujourd'hui un bel avenir devant elle. Curieux croisement de destins que nous ne pouvions imaginer…

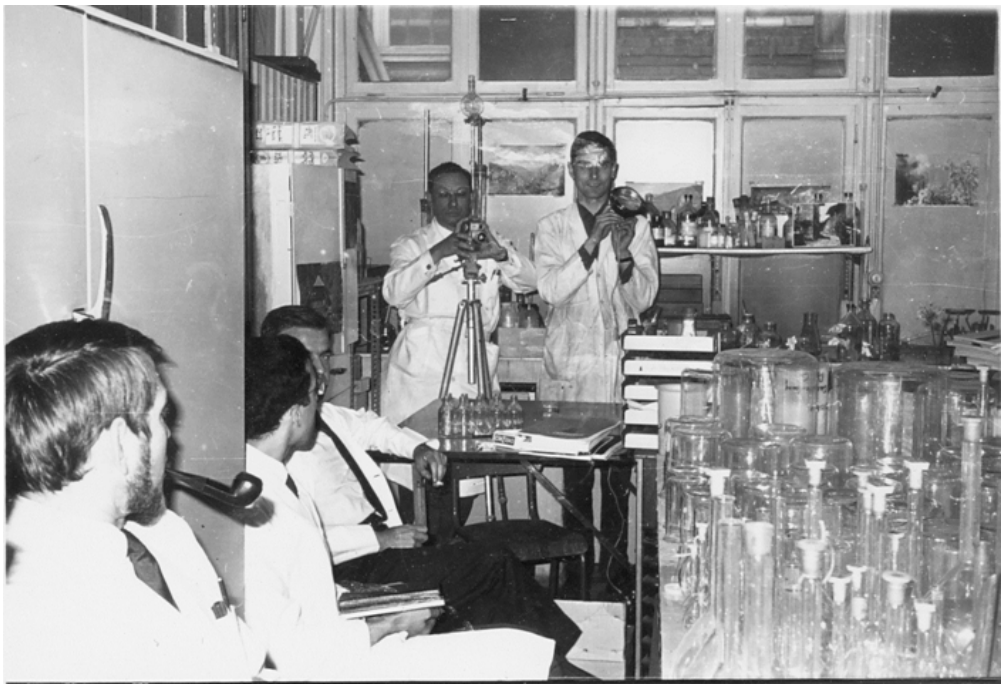


Figure 11. Ambiance de la rue Gosselet : au fond, J. Montreuil et F. Caner, au premier plan M. Monsigny.

3- Souvenirs de la construction du C9 par François Caner

La joie est dans le risque à faire du neuf (Marilyn Ferguson)

9 mars 1964. Ça y est ! Monsieur Montreuil nous annonce solennellement que les plans du futur bâtiment de chimie biologique d'Annappes sont arrêtés et que la construction va être entreprise. Dire l'effet que cela nous a fait, c'est difficile. Nous étions une bonne dizaine de jeunes dont la moyenne d'âge était de 23-24 ans, fraîchement recrutés pour la plupart, habitués d'une faculté en pleine ville autour de la place Philippe Le Bon avec restaurant universitaire rue de Valmy et finalement pas loin de la rue de Béthune. Alors vous pensez, Annappes, les champs de betteraves, tout cela tenait de ce que l'on appellerait aujourd'hui un « campus virtuel ». Pour Monsieur Montreuil, c'était très important, car il avait beaucoup investi dans la réalisation de « son » bâtiment, d'abord dans de nombreuses réunions concernant la définition de la Cité scientifique mais surtout dans les plans de ce laboratoire qui représentait un énorme espoir à ses yeux, ne serait-ce qu'à cause du passage de 250 mètres carrés « incroyables » à une surface de 1500 sur trois niveaux. Cette perspective nous atteignait peu et nous échappait d'autant plus que nous étions confrontés à des préoccupations de recherche et d'enseignement dans des conditions que les principes de sécurité de 2001 nous obligent à taire provisoirement.

Il ne s'est pas passé grande chose pendant un temps de latence de plus d'un an. C'est donc au printemps 65 que les choses ont commencé à prendre tournure. M. Montreuil nous exhortait à aller voir le chantier, mais cela n'enchantait pas les foules. Il désigna deux responsables par étage pour surveiller le chantier du nouveau bâtiment, dont j'étais, qui ne changea pas la situation, ce qui l'exaspérait quelque peu tant ce projet lui était important. En ce qui me concernait, à partir du moment où l'on arrivait au concret, la chose devenait intéressante. Est-ce parce que j'avais dans les veines du sang d'entrepreneur de construction, est-ce parce que des perspectives de départ à moyen terme au service militaire me conduisaient à voir la période précédant l'échéance sous un nouveau jour? Sans doute un peu des deux m'a conduit à aller voir et par la suite à faire une offre de service à M. Montreuil.

Je situe ma première visite sur le chantier à mai 65. Il fallait déjà accéder sur la zone puis au chantier de ce qui allait être le C9. Le bâtiment en était à la phase « Sous-sol ». Dans une cuvette creusée dans une boue collante, les murs extérieurs étaient coulés ainsi que les piliers centraux qui représentent l'épine dorsale de ce type de construction. De ce que je me souviens de ce jour-là, c'est que le chantier était arrêté et donc silencieux, ce qui me laisse supposer que c'était en week-end. A cette époque, le C1 était un immense trou très profond (deux futurs niveaux de sous-sol) qui atteignait largement la craie qui servait par le fait même à des remblais. Le secteur Sciences Nat. était nettement plus avancé, notamment le SN3 pour lequel l'homologue de M. Montreuil était le Professeur Durchon. Les deux se connaissaient bien et avaient pareillement investi dans leurs constructions. Mais la sonnette d'alarme que tirait déjà M. Durchon (« Méfiez-vous Montreuil ! ») ne semblait pas atteindre M. Montreuil qui était sûr de son projet et de sa future réalisation qu'il inspectait aussi régulièrement. Une visite, d'ailleurs, avec André Chéron mérite d'être contée, mais je laisse le soin à l'intéressé de le faire.

L'étape décisive d'intervention sur le chantier se situe à peu de chose près un an plus tard. Le gros œuvre était terminé mais c'était une grande carcasse au plein vent et sans fenêtres. On accédait à l'intérieur par la porte du pignon Nord que certains fréquentent aujourd'hui journellement. La cage d'escalier comportait les plates-formes intermédiaires ainsi que les crémaillères sur lesquelles étaient posées de grosses poutres de bois. Le cloisonnement intérieur était pratiquement achevé grâce à des éléments qui étaient fabriqués sur place dans une centrale commune à l'ensemble des constructions en cours, située devant l'actuel C1 en bordure de la voie circulaire de la Bibliothèque universitaire. Lorsque l'on montait au dernier étage, on avait une vue panoramique notamment du côté de la Physique avec de multiples grues. Bref, c'était le chantier !

A ce stade, étant quasiment le seul jeune enseignant-chercheur à m'intéresser au chantier, j'avais commencé à étudier les plans et au cours de mes visites qui devenaient plus fréquentes, mon attention a été attirée sur

un point particulier. Au rez-de-chaussée, au niveau de ce qui devait être la porte de communication entre la salle de TP (voir plus loin) et le couloir intérieur, des ouvriers étaient en train de « tirer » des lignes électriques. J'avais beau relire les plans que m'avait confiés M. Montreuil, ça ne collait pas. Pire, essayant de m'informer auprès des ouvriers du chantier, je constatais que les uns et les autres n'avaient pas les mêmes plans, en particulier les miens. Dans un premier temps, M. Montreuil, incrédule, refusait l'évidence. Je consultais alors son bras droit, Emile Ségard, dont j'étais proche et après visite locale qui confirmait les faits et compte tenu de ma disponibilité, ce dernier réussit à convaincre M. Montreuil de me laisser suivre le chantier pour redresser tout ce qui pouvait l'être.

Et c'est ainsi que j'ai passé pratiquement cinq mois à venir quasi journellement pour participer à l'achèvement du laboratoire. Cela ne s'est pas fait sans mal pour plusieurs raisons. La première, c'est que je me suis présenté comme un intrus notamment aux yeux des responsables de l'ensemble des constructions du campus qui n'apprécièrent que moyennement mes premières interventions. Ce fut le cas en particulier de M. Fuzet, coordinateur OTH, en charge de l'ensemble de la réalisation des bâtiments, ce qui représentait des dizaines de constructions dans un état d'avancement différent. Le litige majeur qui nous opposait venait des très nombreuses particularités de notre bâtiment qu'avait voulu M. Montreuil et qui étaient justifiées par les besoins d'une discipline encore jeune, la biochimie. M. Montreuil restait convaincu qu'il ne pouvait pas y avoir de problèmes car tout était consigné dans le cahier des charges. Mais ce cahier des charges qui définissait par exemple la température des salles de chromatographie, il était dans les baraques de chantier où avaient lieu les réunions avec l'architecte en chef, sur le secteur de la physique à peu près à mi-chemin du P1 et de l'emplacement de l'actuelle station de métro « Cité scientifique » et il n'en sortait pas ! Mieux, il fallait du courage pour extraire le cahier des charges du C9 parmi les dizaines d'autres et quand on voulait s'y référer, on avait l'impression de déranger d'autant plus que nous semblions être les seuls à avoir défini de pareilles exigences sur lesquelles nous reviendrons. Quant à l'existence de plans différents dans les mains des exécutants, la réalité a montré qu'il s'agissait de différentes versions d'élaboration du bâtiment dont la dernière mouture n'avait pas été transmise à tous les participants.

Bref, c'est dans ce climat-là que j'ai commencé à opérer. Il sera rigoureusement impossible de raconter au jour le jour les péripéties d'une telle aventure et même leur chronologie exacte mais les faits principaux qui vont être relatés méritent le détour.

Trois corps de métier intervenaient simultanément lorsque j'ai commencé à m'introduire dans la place : les chauffagistes, les plombiers et les électriciens. Comme tout ce petit monde n'avait pas réussi à se mettre d'accord et que la direction du chantier laissait à désirer, ils avaient décidé de se partager le territoire, c'est-à-dire grosso modo chacun son étage et de préférence en commençant par les extrémités pour se voir le moins possible. Ce qui m'intéressait particulièrement, c'était l'électricité, car c'était plus directement l'alimentation de nos futurs appareils et notre demande s'articulait autour de la force 380V, la ligne 220V (devenue classique) et une ligne dite « sèche » qui devait, tout en restant dans la majorité des cas raccordée en 110V (beaucoup de nos appareils de la rue Gosselet tournaient encore avec ce voltage!), pouvoir être alimentée éventuellement en courant continu (ce qui n'a jamais été le cas). De plus, le concept de la Cité avait prévu deux lignes de terre par tableau d'alimentation, une de protection et une de mesure avec des « méga-lignes » en cuivre. Tout cela coûtant fort cher et compte tenu des restrictions budgétaires en cours de chantier dues, en autre, à des retards dans les réalisations et à des suréquipements, fut abandonné et on finit par raccorder les deux terres l'une à l'autre. Dans les anomalies majeures de suréquipement que je découvrais grâce à la complicité des chefs d'équipe, il y avait le fait que les tableaux généraux (un obligatoire par pièce) étaient alimentés avec des sections en « 8 ou 10 carrés » et que les sorties étaient en « 16 carrés ». Explication : les lots. Électricité d'alimentation des tableaux et d'alimentation des paillasses n'étaient pas les mêmes !

Figure 12. Quelques vues du futur bâtiment C9 lors de la construction du campus universitaire d'Annappes, future Université des sciences et technologies de Lille.

Je me suis rapidement fait un ami du chef d'équipe Électricité. Son raisonnement était le suivant : « Monsieur, je n'ai aucune instruction précise. Si vous m'en donnez, je gagne éventuellement trois semaines de chantier, ce qui est très important pour mon patron. A partir de ce moment-là, que vous vouliez des prises ou des lignes supplémentaires, il n'y a pas de problème ». Alors on a rattrapé la sauce où l'on a pu car des problèmes, il y en avait : quel éclairage fallait-il dans les chambres froides? Où fallait-il poser les tableaux d'alimentation des appareils et à quelle hauteur? J'en passe et des meilleures. J'avais un carnet à souche qui me permettait de garder un double de mes prescriptions et j'affichais dans chaque pièce avec une punaise le

menu avec le positionnement à la craie des « tableaux bleus » à trois prises qui ont aujourd'hui complètement disparu (ainsi que les « tableaux à fiches » qui étaient placés sur une poutre au plafond dans chaque pièce technique et qui n'ont pratiquement jamais été utilisés). Au départ, mes papiers ont été retirés systématiquement par l'OTH qui jugeait ces interventions comme contraires à sa position mais grâce à une intervention dont je n'ai pas l'origine, la situation a été rétablie et j'ai pu continuer, en relation avec M. Montreuil, à distribuer mes conseils.

Une situation épique s'est présentée lorsque chauffagistes partis du rez-de-chaussée, plombiers et électriciens ont fini par se rencontrer aux mêmes endroits. J'ai assisté alors à des scènes assez violentes, tout le monde voulant la même place. J'avoue que je n'étais pas un spécialiste et si j'étais maintenant bien toléré, il fallait dans ce cas un expert que j'allais chercher. Et c'est ainsi qu'il fut convenu, ce qui était une règle logique, qu'aux endroits où les trois se retrouvaient, l'électricité passait au-dessus de la plomberie qui elle-même passait au-dessus du chauffage. Mais tout le monde voulait aller le plus vite possible, ce qui nécessitait régulièrement des mises au point où je me trouvais en position d'arbitre.

Côté plomberie, à part les rencontres avec les autres corps de métier, il y avait moins de problèmes car l'alimentation des paillasses imposait des règles qui n'étaient pas de mon ressort. Citons pour ne pas être en reste une anecdote. Un jour je vois un plombier qui tire une ligne de cuivre en plein milieu d'un mur à environ un mètre cinquante de hauteur. Je lui demande ce qu'il fait en lui indiquant que notre future installation réclamera des murs totalement libres pour y placer des armoires. Réponse de l'intéressé : « Ca va donner de la rigidité au mur! ». J'ai dû aussi intervenir sur des siphons d'évacuation démontables qui se trouvaient parfois au-dessus de tableaux électriques. Quand je faisais remarquer qu'ils devaient être positionnés de l'autre côté du mur dans la gaine technique, on m'expliquait que c'était plus difficile parce qu'il y faisait noir.

Au fur et à mesure que l'équipement avançait, des tas de choses nouvelles apparaissaient que je tâchais de prévenir en allant aux nouvelles et à chaque fois qu'une décision stratégique était nécessaire, j'alertais M. Montreuil pour qu'il vienne sur place et lui ménageais un rendez-vous avec la personne adéquate, y compris dans certains cas avec l'architecte en chef. Ce fut le cas notamment pour le revêtement des couloirs lorsque l'on apprit que celui-ci n'était pas du carrelage mais du linoléum. Rencontre, décision, d'accord mais je ne vous dis pas la tête de celui à qui on retirait le lot pour le donner à un autre. Par ailleurs, sur ce point, la pose n'était pas la même, ce qui nous a valu une intervention catastrophique qui explique la malfaçon. J'ai vu poser les « granitos » (pavés crème mouchetés noirs) par surface d'un mètre carré. A peine c'était réalisé qu'on posait des planches pour que d'autres ouvriers puissent passer avec des brouettes, ce qui explique les nombreux éclats faciles à observer sur ce beau matériau. On a été les seuls de la fac à avoir ce revêtement. Autre décision stratégique lorsque M. Montreuil a été informé de ce qui se tramait dans la cage d'escalier et qui par répercussion concernait aussi les couloirs. L'architecte avait, de par ses prérogatives, un droit absolu sur la décoration. C'est ainsi qu'il avait prévu, ce qui s'est retrouvé dans tous les autres bâtiments, que les marches d'escalier devaient être d'une autre couleur que les granitos des paliers, que la main courante du garde-corps devait être de couleur différente (plutôt vive) de celle de celui-ci, que le dessous des crémaillères de l'escalier devait être différent du reste. C'était pour que ce soit plus gai. Or Monsieur Montreuil avait une idée très précise de la décoration de « sa maison ». Il voulait une couleur gris clair pour l'ensemble des circulations avec des couleurs de porte différentes pour chaque étage (gris, vert et bleu foncés) permettant une décoration ultérieure avec des tableaux et des plantes (surtout des plantes). Devant l'insistance de M. Montreuil et sa démonstration convaincante, l'architecte a cédé, ce qui n'a pas été sans laisser les professionnels admiratifs car ils n'avaient jamais vu ça. Cela a eu des côtés positifs et d'autres moins. Le peintre, heureux d'avoir un travail facilité, m'a assuré qu'il mettrait autant de couches que je le souhaitais tant cela lui simplifiait la tâche pour ses mélanges. Par contre, la livraison de nos marches s'est fait attendre, car elles n'avaient pas été programmées. Quand vous ajoutez à cela le fameux couloir « en baïonnette » du rez-de-chaussée, pour agrandir la salle de TP, le débat « petite trame-grande trame » pour permettre de réaliser des labos équilibrés de chaque côté des couloirs (nous y reviendrons), ce qui était

contraire à tout ce qui s'est fait ailleurs où la petite trame a été réservée aux bureaux, vous comprendrez l'originalité de notre présence mais aussi finalement son acceptation.

C'est au moment où les paillasses et les hottes ont commencé à arriver et que la SIAB est entrée en œuvre que de nouveaux épisodes ont été écrits. Le chef d'équipe de la SIAB était du genre « baroudeur qui ne s'en laisse pas compter ». Il arrivait alors que bien des choses s'étaient passées, pratiquement en finition. Nous, nous étions prévenus et attentifs après avoir été échaudés. Lui avait ses hommes et son matériel et il était à sa énième installation d'une nouvelle université en France. On allait voir sans pouvoir essayer avant la fin. Le matériel était monté et raccordé. Rien à dire de particulier, à part qu'il s'est avéré dans le temps que nous avons hérité de paillasses avec des carreaux collés sur bois plutôt destinées aux biologistes alors que ces derniers ont reçu des paillasses avec supports de plans de travail en béton alvéolé plutôt adaptées à des chimistes. Problème de marchés et de lots. Vu dans ces conditions, c'est la matière constituant les vidanges qui nous intriguait. Il s'agissait de vulcatène qu'on nous présentait comme inaltérable dans un labo et il était permis d'en douter car nous avions l'impression qu'il s'agissait d'un vulgaire plastique. Quelques échantillons récupérés furent testés rue Gosselet avec différents solvants sans qu'il y ait à redire, ce qui reste vrai aujourd'hui. Sur ce point des tuyaux de vidange, finalement les difficultés immédiates et à terme furent autres. Les premières furent l'objet d'une prévention qui fut la suivante. Nous avions des craintes de déformation par la chaleur surtout sur des longueurs importantes et les tuyaux qui sortaient par le plancher étaient suspendus par des bagues plastiques au plafond du dessous. Ce dispositif ne nous semblait pas très sûr et curieusement la chimie sur le territoire de laquelle nous nous trouvions n'était pas traitée comme la biologie. M'en ouvrant au chef d'équipe de la SIAB, celui-ci me donnait toutes les assurances de sécurité mais allant inspecter de plus près ce qui allait devenir le SN3 et le C3, je m'aperçus que mes craintes étaient fondées : au SN3, ça tenait, au C3, ça décrochait. J'ai donc tendu un piège en toute connaissance de cause à l'homme qui « affirmait » en lui demandant s'il était prêt à me faire le montage « Biologie » si je lui prouvais que le montage « Chimie » n'était pas bon. Très sûr de lui, il a relevé le défi et il a perdu et nous n'avons jamais rencontré de difficulté sur ce point-là. Par contre, deux graves anomalies sont apparues à l'usage dont la première que nous ne pouvions pas soupçonner : d'une part, le fait qu'une multitude de raccordements de vulcatène n'ont pas été soudés d'origine, ce qui a occasionné pendant longtemps des fuites imprévisibles, d'autre part, le fait que ces canalisations ont été raccordées sur des colonnes montantes en fonte dans les gaines techniques et que nos prévisions pessimistes sur leur corrosion par les acides se sont avérées exactes. Pendant des années, nous avons dû colmater les brèches avec des emplâtres jusqu'au remplacement définitif par des évacuations… en vulcatène !

Parallèlement à l'installation des paillasses, d'autres événements ont meublé nos journées de visite sur le chantier. Citons pour ne pas abuser de la patience du lecteur les chambres froides, le tableau noir de la salle de TP et l'installation du circuit d'eau désionisée. Etaient prévues une chambre à +4°C au rez-de-chaussée et deux chambres froides au second étage, une à +4°C et une à -20°C. Passons sur celle du rez-de-chaussée où M. Montreuil entendait bien qu'un de ses côtés vienne en façade, se référant à un plan que l'architecte n'accepta jamais car non conforme à ses normes d'esthétique extérieure sur lesquelles il est resté intransigeant (ce qui nous a posé la même difficulté pour une salle de chromatographie que nous avons contournée ultérieurement après entrée dans les murs). Attardons nous sur les chambres froides du second qui furent réalisées par la même entreprise. Premièrement, leur coût d'installation avait été oublié. D'où un certain temps de latence pour laisser à qui de droit le soin de faire le nécessaire, ce qui n'a pas été sans conséquence. En exhumant les documents du projet et les plans divers, il apparaissait des éléments d'une grande originalité au cours des discussions avec les professionnels. Les portes prévues étaient métalliques, un chauffe-eau à gaz devait être installé dans la chambre à +4°C. Bien qu'acquérant de la crédibilité dans le temps, vous imaginez sans peine les réactions de M. Montreuil à ces « bonnes nouvelles ». Pour ma part, j'étais devenu blindé et je ne m'inquiétais pas outre mesure des réponses qui seraient apportées. L'entreprise est arrivée, elle nous a posé les isolations (celle de la chambre à -20°C nous a valu la pose de deux couches de carrelage, la première d'origine et la deuxième sur l'isolation du sol qu'il a bien fallu réaliser; ce double carrelage n'a jamais empêché les fuites à l'étage du dessous lors de décongélations

intempestives!), les portes en bois et les groupes frigorifiques qui nous ont donné par la suite bien des soucis. Petit détail passé inaperçu à la construction : pas de cordon chauffant dans l'épaisseur de la porte à -20°C. Demandez à Jean-Pierre Decottignies, responsable de la lyophilisation, ce qu'il en pense. Le dégivrage de la porte a été un calvaire pendant des années.

La surprise du tableau noir de la salle de TP vient de l'analyse du plan d'architecte, référence suprême, qui comportait une anomalie totalement inattendue. Le tableau noir était représenté en coupe par un gros trait épais au niveau de deux sorbonnes qui étaient censées l'encadrer. Le seul problème, c'est que le gros trait « rentrait » de chaque côté dans les sorbonnes … qui étaient déjà posées. Allant voir l'homme de l'art, je m'en ouvrais de cette anomalie qui ne semblait pas le perturber outre mesure, ce qui n'était pas mon cas en tant que futur utilisateur. Il me proposa une solution : mettre un tableau plus petit, ce qui somme toute, relève d'un certain bon sens. Il n'y avait qu'un petit détail : si on mettait un tableau plus petit, il n'y avait plus d'éclairage. C'était comme ça : si le tableau descendait en dessous d'une certaine taille, il n'avait plus droit à être éclairé. Je ne vous dis pas la bataille qu'il a fallu livrer pour qu'il le soit!

Pour l'eau désionisée, là encore la question a été épineuse et nous n'avons pas abouti. Ultérieurement, l'installation d'un réseau complet de distribution a été faite aux frais du laboratoire alors que M. Montreuil qui comptait beaucoup sur cette installation initiale, restait persuadé que le dossier avait été parfaitement bouclé dans le cahier des charges. J'avais personnellement des doutes qui se confirmaient au fil du temps, mais M. Montreuil lorsqu'il passait sur le chantier me rassurait : « Regardez, là en haut des poutres, il y a des réservations pour faire passer les canalisations ». En fait de réservations, on a eu droit à la pose à ces endroits des axes des volets roulants et malgré toutes les démarches, rien n'a été fait. Tout au plus avons-nous découvert beaucoup plus tard, au sous-sol, l'existence d'une énorme cuve en béton qui allait servir à la collecte des eaux de pluie et qui nous fut présentée comme la réponse à nos préoccupations. Il y avait quelque peu confusion qui fut entretenue jusqu'à la fin du chantier. A chacune de nos demandes insistantes, on nous répondait que c'était prévu. Or nous savions exactement ce qu'un tel dispositif comportait. A la fin, quand l'ambiguïté a été complètement levée, on nous a proposé… un adoucisseur qui a été promptement transféré au restaurant Pariselle.

On dit souvent que « la résignation est le début du contentement ». Compte tenu du contexte et de bien d'autres déboires de l'ensemble du chantier de la Cité scientifique, nous nous en sortions pas trop mal même si toutes nos « exigences » initiales n'étaient pas satisfaites. Je parle d'exigences car il semble s'être avéré que bien des collègues ont laissé construire leurs bâtiments en décidant de les adapter à leurs besoins en les occupant. Ainsi fut faite la réception, en présence de M. Lebrun, professeur de physique à qui l'on doit rendre hommage pour la pugnacité qu'il a déployée pour défendre au mieux les intérêts de l'Université et M. Soots, représentant de l'Equipement (?) qui faisait de son mieux pour défendre le maître d'œuvre, l'Etat.

Une fois dans la place, il fallait prévoir le transfert de la rue Gosselet au futur C9. Deux épisodes me reviennent qui me permettront de conclure cette partie du récit. Un jour, nous étions seuls M. Montreuil et moi, venus faire une reconnaissance en ce sens. Tout était totalement calme (le silence, lors d'une panne générale d'électricité, n'est qu'une approximation). Tout à coup, un sifflement discret s'est fait entendre qui se généralisait quelle que soit la pièce vers laquelle nous nous dirigions. Et puis brutalement, alors que nous tâchions d'identifier cette manifestation, des jets d'eau noire ont giclé de tous les radiateurs. Je ne sais plus exactement comment nous avons réussi à faire cesser ce phénomène mais Monsieur Montreuil était hors de lui, excédé par le nombre invraisemblable d'anomalies qui étaient survenues. Il en appelait au recours à l'huissier. Renseignements pris après l'incident : la compagnie générale de chauffe mettait en eau ses circuits tout à fait normalement en ce début d'octobre et elle ne « savait pas » que la société installatrice qui avait tout naturellement vérifié l'étanchéité de son réseau, avait par contre « oublié » de fermer les purges lors de la vidange après essais, ce qui lui incombait. Je vois encore les deux ouvriers de la compagnie générale de chauffe venant constater les dégâts, avec une grosse clé anglaise sur l'épaule. De toute façon, ils avaient coupé la mise en eau mais ils ne pouvaient pas en faire plus puisqu'ils n'avaient pas les plans du constructeur. Combien de fois par la suite nous nous sommes trouvés devant des situations analogues

notamment avec le monte-charge. Le deuxième incident mémorable et apparemment « insignifiant » eut lieu lors de la mise en eau du circuit de plomberie. Imaginez un chauffe-eau à gaz dont la veilleuse envoie un jet d'eau sur la paillasse. Pas de quoi inquiéter l'homme de la SIAB : « C'est le gars qui a fait le montage qui a inversé les tuyaux de gaz et d'eau! ». De quoi être rassuré pour le reste de l'installation et nous en resterons là!

Etat initial des lieux :

Comment était donc conçu le labo dans lequel nous entrions et qui furent les premiers et principaux utilisateurs des locaux ? Allons du bas vers le haut. Au sous-sol, il n'y avait rien que nous puissions *a priori* utiliser. Il y avait une grande analogie avec le sous-sol de la nouvelle aile actuelle (en 2001) puisqu'au départ, il avait été conçu comme un vide sanitaire. Souche médiane en béton avec éclairage discret. De part et d'autre, de la terre battue. Au fond, à l'opposé de l'escalier, des salles techniques : deux inaccessibles comme aujourd'hui, le local Gaz et la salle du transformateur électrique; deux autres partiellement accessibles et colonisées depuis : le local des batteries, « immense » salle qui ne comportait qu'un rayonnage sur lequel des batteries au plomb étaient censées nous produire un courant de secours en cas de panne d'électricité générale (les anciens apprécieront) et dans laquelle, après coupure en deux, nous trouvons aujourd'hui une réserve de produits chimiques et une réserve de verrerie et le local eau où se trouve le compteur général (qui a débité jusqu'à 25.000 m3/an, nous mettant en situation de plus gros consommateur du campus) et la fameuse cuve d'eau de pluie aujourd'hui ouverte après découpage du béton pour augmenter nos capacités de rangement.

Le rez-de-chaussée était officiellement consacré à l'enseignement, ce qui fut effectivement vrai pour partie pendant deux décennies. Pour situer les lieux, entrons côté passage couvert entre C1 et C5. Vous avez deux portes : celle de gauche ouvre sur un petit hall qui introduisait dans la salle de TP, celle de droite est l'accès classique vers la recherche. Dans le hall côté TP, sur la gauche, il y avait trois portes, une au centre qui subsiste qui donnait sur un petit local technique (qui abritait en autre un vide-ordures raccordé à une colonne censée récupérer les déchets à tous les étages et les collecter au sous-sol, dispositif peut-être efficace dans une HLM mais qui n'a jamais fonctionné) et des locaux toilettes Homme et Femme devenues, après des étapes intermédiaires, le bureau de Jean-Pierre Bohin avant d'échoir à Daniel Kmiecik. La salle de TP, coupée en deux venait jusqu'à la porte de la fin du couloir en baïonnette. Elle avait deux annexes : la salle de préparation, un couloir latéral en façade qui est occupée par le secteur cultures cellulaires de Steven Ball et la chambre noire coupée également en deux et occupée pour partie par les cultures d'algues. Toujours du côté cultures cellulaires avec aujourd'hui des portes qui n'existaient pas à l'origine, les deux salles de chromatographie : butanol en façade (avec occultation et isolation des fenêtres!) et pyridine. Sur le même côté, l'atelier de M. Fleck prénommé Gilbert et de M. Durand prénommé Paul, respectivement menuisier et plombier de leur état (beaucoup de choses mériteraient d'être comptées mais notons simplement que M. Fleck nous a laissé en autre, les tables et bancs de ferme de l'Espace Fournet. C'est du costaud). Au-delà, un petit couloir conduisait à une petite salle donnant directement à un quai de débarquement mal réalisé et supprimé depuis. En entrant côté Recherche, on trouvait, après l'escalier Toilettes Homme et Femme (transformées depuis peu en bureau à l'occasion de l'arrivée de Cécile Fort) puis une salle dont l'affectation initiale a été un vestiaire avec armoires individuelles et banc. Il y avait ensuite un hall avec une porte, considérée par l'architecte comme entrée principale du bâtiment, ce qui n'a jamais été le cas. Tout au plus cette porte large, située plein Ouest donc face au vent dominant, nous a-t-elle servi à faire rentrer ou sortir de gros appareils (elle a d'ailleurs était supprimée). Sur ce même côté, après la chambre froide, il y avait un grand laboratoire sans paillasse centrale (réduction budgétaire oblige) qui n'avait pas d'affectation particulière, donnant sur une salle en long et en façade dans laquelle s'est trouvée l'ultracentrifugeuse analytique. Parallèlement, du côté circulation, se trouvait une chambre noire. Tout ce secteur correspond aujourd'hui au laboratoire de Steven Ball et à son bureau. La laverie actuelle et l'animalerie constituait la salle de lyophilisation.

Au premier étage, le niveau était divisé en deux avec une partie administrative et une partie recherche. Venant de l'escalier, la partie administrative se composait à droite de la bibliothèque dédiée à M. Emilien Noël, garçon de laboratoire dévoué de la rue Gosselet mort en 1966 peu avant notre arrivée. Cette salle servait de salle de travail et de réunion. De l'autre côté, il y avait le taxiphone permettant au personnel de téléphoner à l'extérieur (la porte de ce local ouvre maintenant sur le bureau de Mme Léandri), puis le secrétariat avec une annexe dans laquelle opérait « Jo » Celen (pièce reprise dans le bureau précédent) et à côté du secrétariat, sans communication directe à l'origine, le bureau de M. Montreuil repris aujourd'hui par le secteur de Jean-Pierre Bohin. Le labo de ce côté était occupé par Michel Monsigny, André Chéron et associés. Il y avait ensuite une salle d'appareils, puis une salle de chromatographie phase gazeuse, puis une laverie qui ultérieurement devint le bureau de Bernard Fournet. De l'autre côté, après la bibliothèque, le labo de Geneviève Spik, un petit couloir en façade servant de bureau collectif et commun au labo Fournet-Grimmonprez (lui-même totalement transformé aujourd'hui en deux ateliers provenant du rez-de-chaussée). Entre le bureau et le couloir, se trouvait une chambre noire classique avec des balances dont une à la précision du microgramme.

Au second, l'étage était entièrement consacré à la recherche avec trois grands labos et de nombreuses salles spécialisées. Arrivant par l'escalier, il y avait à gauche la salle Photo (devenu le bureau de M. Montreuil), la salle d'électrophorèse (gélose, acétate, cuves en toit), les labos 206 et 210 que supervisait Emile Ségard (rejoint ultérieurement par Vélibor Krasmanovic, puis André Verbert), encadrant un couloir de bureaux communs et une chambre noire puis une laverie (devenue par la suite salle de radioactivité « chaude »). De l'autre côté, toujours en venant de l'escalier, une salle avec deux hottes qui abritaient le dosage d'azote et en façade une petite pièce avec le spectro Zeiss et le Warburg pour la respiration cellulaire, ensuite la salle des collecteurs (les LKB étaient de très gros collecteurs utilisant des tubes à essais) puis la salle de radioactivité pour les compteurs, le labo occupé par Stéphane Bouquelet et son équipe, mais qui, à l'origine, accueillait Nicole Duquesne et Jacques Descamps; au-delà les chambres froides puis la salle des centrifugeuses et la salle de distillation, aujourd'hui affectée aux besoins de la radioactivité.

Si on résume cette présentation, la recherche à la paillasse est privilégiée avec un concept où trois laboratoires sont disposés en triangle autour d'une chambre noire avec des pièces spécialisées en périphérie. De petits bureaux collectifs pour les chercheurs et enseignants-chercheurs et une grande salle de travail et de réunion : la bibliothèque. Très peu de téléphones avec seulement deux prises directes sur le réseau extérieur à la Cité (le plan Téléphone mis en route par Norbert Ségard, secrétaire d'Etat et sans relation de famille avec Emile Ségard, date de l'époque Giscard d'Estaing donc postérieur à 1974 et consistait à atteindre dix millions de lignes!) évidemment pas d'ordinateurs, une photocopieuse « artisanale ». Quant à la culture cellulaire, à notre arrivée, c'était pour beaucoup plus tard…

XII- Biographies

1- Bernard Fournet (1940-1993) par François Caner

Bernard Fournet est né à Tourcoing le 15 décembre 1940. Il était l'un des plus jeunes des quatorze enfants d'une famille très unie dont le père était un médecin de famille très disponible quelles que soient les circonstances. Les convictions religieuses profondes, le soutien des ainés aux plus jeunes ont marqué la vie de famille dans laquelle B. Fournet a vécu et explique bon nombre de ses traits de caractère : c'était un travailleur acharné et un homme de cœur. Il avait en lui un sens aigu de ses responsabilités. L'altruisme était sa vertu foncière qui en faisait un être en permanence disponible et d'un dévouement sans limites pour quiconque avait besoin de lui. Chacun trouvait auprès de lui un accueil chaleureux et ouvert. Il était habité par l'enthousiasme, par un optimisme indestructible et une extraordinaire joie de vivre. Son rire était franc et ceux qui le connaissaient pouvaient l'identifier à distance, dès lors qu'il n'était plus concentré sur son travail, habitué qu'il était à chanter ou à siffler de la musique baroque qu'il aimait. Oui, sa foi était inébranlable.

La carrière universitaire de B. Fournet commence le 1er janvier 1964, date à laquelle il entre au laboratoire de biochimie du Professeur Montreuil comme technicien du CNRS alors qu'il était encore étudiant en Licence de biochimie à la Faculté des sciences de Lille. Nommé Assistant délégué le 1er octobre 1965, il gravit tous les échelons de la carrière universitaire jusqu'à être nommé professeur dans le département de biologie appliquée de l'IUT de l'Université de Villeneuve d'Ascq, poste qu'il occupera jusqu'au 1er octobre 1989. A cette date, il est nommé, sur l'incitation du Professeur Montreuil, professeur de biochimie à l'Université des sciences et technologies de Lille. Dans l'intervalle, il avait assuré, de 1980 à 1986, la direction du département de biologie appliquée. Dans ces fonctions, il s'est dépensé sans compter pour faire de ce département l'un des plus réputés de France et y développer une recherche technologique de haut niveau.

Pédagogue éclairé, il avait en matière d'enseignement, atteint le sommet de son art tant était large sa culture et tant était grande sa faculté d'adaptation à l'auditoire qu'il avait devant lui, quelques soient les enseignements, qu'ils soient de licence, maîtrise ou doctorat. D'ailleurs les étudiants le lui rendaient bien.

Malgré tout cette activité pédagogique, B. Fournet a su, au prix d'un travail acharné, maintenir une production scientifique abondante et de haut niveau. Au plan de la recherche, il a été un merveilleux analyste car aucune structure d'oligosaccharides ou de polysaccharides ne lui résistait. Le laboratoire de biochimie et la communauté scientifique lui sont redevables de la mise au point de bien des méthodes

physico-chimiques de détermination de la structure des molécules que sont les glucides, libres ou associés à des protéines ou à des lipides. Mais c'est avec l'implantation dans notre Université des spectromètres de masse, dont il avait la responsabilité, qu'il a pu donner toute la mesure de ses qualités d'analyste et il fut, à cet égard, reconnu, au plan international, comme l'un des meilleurs spécialistes de la spectrométrie de masse des glucides. Bien évidemment, ses activités de recherche ne se limitaient pas à la mise au point des méthodes analytiques. Il était réputé, avec son groupe, pour ses travaux sur les glycoprotéines, les lipopolysaccharides bactériens et les polysaccharides végétaux. Esprit très ouvert, il avait établi de nombreuses collaborations, non seulement avec bien des laboratoires universitaires français et étrangers, mais aussi avec les industries agro-alimentaires et pharmaceutiques, principalement dans le domaine des immunostimulants et des polymères antitumoraux. Sa grande compétence et son savoir-faire, alliés à ses qualités d'orateur, en ont fait un conférencier hors pair que bon nombre de collègues français et étrangers ont invité.

Hélas, le 6 janvier 1993, l'avion en provenance de Brême en Allemagne, s'écrasait en atterrissant à Roissy. B. Fournet était au nombre des passagers tués dans l'accident et Yves Leroy, un de ses plus proches collaborateurs était grièvement blessé. Il revenait d'une mission dans le cadre de sa responsabilité du développement de la spectrométrie de masse dans la région Nord / Pas de Calais. Mort à 52 ans, sa disparition a été lourdement ressentie par tous. Il avait encore tant à nous apporter.

2- Geneviève Spik (1939-2009) d'après Jean Montreuil

(publié dans Regard sur la Biochimie de Septembre 2009)

Geneviève Spik est née en 1939 à Libercourt, un village du Pas-de-Calais implanté dans le bassin minier et peuplé majoritairement de polonais qui, par milliers, avaient, dans les années 30, quitté leur pays natal où sévissaient le chômage et la pauvreté pour apporter leur aide à l'exploitation de nos mines de charbon alors en pleine expansion. Ses parents, Jean Spik et Marianna Kuzniça étaient originaires de Baranow, un village du nord de la Pologne où leurs familles exploitaient de petites fermes. Ils étaient fiancés quand, en 1936 Jean Spik décida d'émigrer vers la France et promettait de revenir en Pologne pour épouser Marianna une fois leur avenir assuré. Il tint parole et ils se marièrent en 1938. De cette union naquirent Geneviève en 1939 et Janine en 1946. Malheureusement Jean Spik connut le sort de milliers de mineurs de fond et décéda en 1953. Geneviève devint alors chef de famille et prit en main la destinée de sa mère et celle de sa jeune sœur qu'elle mena jusqu'à la carrière de professeur dans l'enseignement technique.

Ainsi s'expliquent quelques-uns des traits de caractère de G. Spik. Elle avait un sens aigu du dévouement et des responsabilités et fut une travailleuse acharnée, habitée par une volonté et un enthousiasme inébranlables.

G. Spik fit ses études primaires à l'école communale de Libercourt, puis au collège de Carvin. Elle les poursuivit au lycée Jean Macé de Lille, pour choisir, finalement, après le baccalauréat de préparer une licence à la Faculté des sciences de Lille dans un domaine qui la passionnait : la biologie.

Dès l'obtention de sa licence-ès-sciences, G. Spik s'intègra en septembre 1960, dans le laboratoire de chimie biologique que Jean Montreuil venait de créer à la Faculté des sciences de Lille. Un an plus tard elle entra au CNRS comme « Stagiaire de recherches ». Elle avait 22 ans.

Promue attachée de recherches en 1961, G. Spik présenta en 1963 un diplôme d'études supérieures (DES), puis soutint en 1968 sa thèse de doctorat-ès-sciences intitulée *: La transferrine et la lactotransferrine humaine. Etude comparée des propriétés physicochimique et de la structure* qui lui vaut d'être chargée de recherches la même année. A l'époque, un second mémoire de thèse était exigé. Celui de G. Spik rassemblait les résultats de ses travaux sur les glucides et s'intitulait : *Procédés chromatographiques et électrophorétiques de dosage des monosaccharides*. Ce mémoire fit partie des monographies du laboratoire

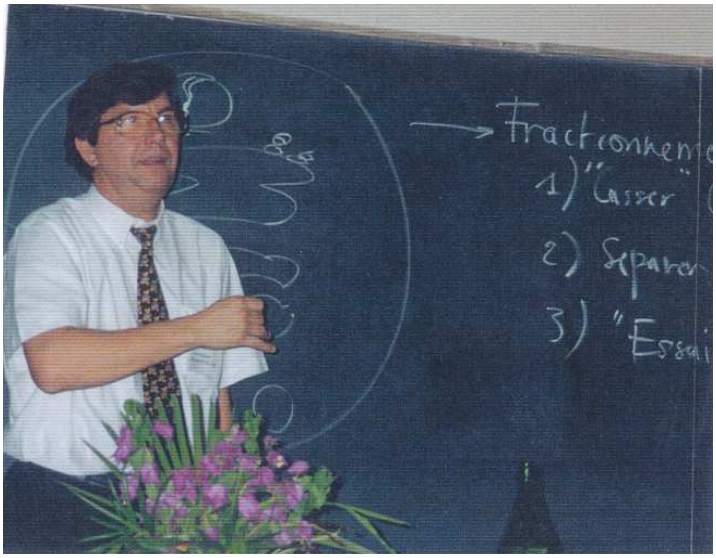
qui furent largement diffusées. Ces ouvrages rassemblaient les techniques d'identification et de dosage des monosaccharides constituants les glycoconjugués à une époque où commençait à se développer la chimie de ces composés.

A sa demande, G. Spik fut maître de conférences en 1971 et termina sa carrière universitaire en 1992 promue à la classe exceptionnelle des professeurs.

Sa carrière scientifique s'est déroulée en trois vagues successives. Ses travaux ont d'abord porté sur la mise au point de procédés de détermination de la structure des glycannes de glycoprotéines qu'elle a appliqués, d'abord à l'étude des glycannes des transferrines, puis à celles d'autres glycoprotéines. A partir de 1970, une seconde thématique fut abordée : celle de la structure des transferrines et de leur site de fixation du fer, pour déboucher, vers 1975, sur une troisième orientation qui concerne la biologie et la pathologie moléculaires des transferrines.

Au terme de plus de 40 années d'activités de recherches, G. Spik a accompli une œuvre scientifique importante qui s'est concrétisée par la soutenance de 60 DEA et thèses et par la publication de plus de 180 mémoires couronnés, en 1993, par le Prix Labbé de biochimie décerné par l'académie des sciences de Paris. Elle était considérée, au plan international, comme l'une des meilleures spécialistes de la biochimie et de la biologie moléculaire des transferrines, elle que ses amis de l'étranger appelaient affectueusement la « French Iron Lady » et qui lui confièrent l'organisation de deux congrès internationaux, le premier à Lille en 1985 sous l'égide du Groupe international de métabolisme du fer et, le second au Touquet en 1997 qui fut le septième des *International Congress on Proteins of Iron Metabolism*.

3- André Verbert (1942-2000) d'après J. Montreuil



Natif de Roubaix, André Verbert se destinait à l'enseignement secondaire. Après ses études secondaires, il fut reçu comme étudiant à l'Institut Préparatoire à l'Enseignement Secondaire (IPES). Mais très tôt il avait pris conscience que sa véritable vocation était la recherche. Il prit contact en 1963 avec J. Montreuil installé à l'époque dans les locaux de la rue Gosselet. Une véritable connivence s'installa alors entre eux et J. Montreuil le conseilla pour lui assurer une solide formation de base en physique, chimie et biochimie. C'est ainsi que 4 ans durant, chaque année, et une fois par an, J. Montreuil voyait réapparaître A. Verbert venu lui annoncer ses succès et lui demandant conseil pour l'année universitaire suivante. Il en fut ainsi jusqu'à son entrée au laboratoire, en 1967, où il prépara son diplôme d'études approfondies de biochimie qui le conduisit à la soutenance de sa thèse de troisième cycle en 1971 et, en 1974, à celle de sa thèse de doctorat d'Etat qui s'intitulait : *Etude de la transcription dans les cellules eucaryotes*. Dans l'intervalle, il avait été nommé assistant en 1968, pour devenir maître-assistant en 1972 et professeur en 1980. Il avait été promu à la classe exceptionnelle peu avant son décès en 2000.

Ses premiers travaux de recherche ont porté sur l'étude de la transcription chez les eucaryotes. En effet, J. Montreuil s'était vu confié par son Maître, le Professeur Paul Boulanger deux sujets de recherche : le premier concernait la structure et le métabolisme des acides nucléiques et, le second les glucides (les glucides du lait en particulier). En 1958 en s'installant rue Gosselet pour une question de moyens, seul fut développé le thème : glucides et glycoconjugués. Mais dès l'installation dans les nouveaux locaux de la Cité Scientifique de Villeneuve d'Ascq était réintroduite la recherche sur les acides nucléiques. C'est ainsi qu'A. Verbert commença ses travaux sur la transcription sous la direction d'un chercheur d'origine croate, venu de l'Université Libre de Bruxelles : Vélibor Krasmanovic.

Puis vint pour A. Verbert, l'épisode de son séjour dans l'unité INSERM de virologie que dirigeait le Professeur Jean Samaille . En cela A. Verbert suivait V. Krasmanovic que l'évolution de ses recherches amenait à étudier les outils de la virologie. Quelques années passèrent et en 1974, A. Verbert fit équipe avec René Cacan avec comme thématique, les glycosyltransférases. Cette collaboration efficace se poursuivit alors qu'A. Verbert prenait la succession de J. Montreuil à la direction du laboratoire en 1990 et cela jusqu'à son décès (en 2000).

Les recherches A. Verbert dans le nouveau domaine des glycosyltransférases aboutirent à la création d'un pôle qui ne cessa de se développer avec la participation de R. Cacan et de Ph. Delannoy, centre qui a acquis une renommée internationale comme en témoignent les nominations suivantes d'A. Verbert : membre de l'Editorial Advisory Board de l'European Journal of Biochemistry (1987), « Executive Editor » pour l'Europe de la revue Glycobiology, responsable du secteur « Biosynthèse des Glycoprotéines » du réseau CARENET (Carbohydrate Recognition Network), coordonnateur du réseau français « G-Trec » sur les glycoprotéines

recombinantes, organisateur des « FEBS-Advanced Courses on Glycobiology » tous les deux ans à partir de 1990, chargé de mission en 1995 par le Ministère des Affaires Etrangères pour l'étude de la glycotechnologie au Japon.

Les recherches du groupe dirigé par A. Verbert seul puis en collaboration avec R.Cacan évoluèrent au fil des ans, marquées par les étapes suivantes :

- **Activités glycosyltransférasiques portées par la face externe des membranes plasmiques : les ecto-glycosyltransférases (1974-1981).**

- **Transport transmembranaire des glycosylnucléotides vers les sîtes de glycosylation (1982-1989).**

- **Régulation métabolique du cycle des dolichols (1989-2000).**

- **Régulation génique des glycosylations terminales (des sialyltransférases en particulier) et clônage de ses enzymes, en collaboration avec Ph. Delannoy.**

- **Remodelage des glycannes des glycoprotéines recombinantes, en collaboration avec Ph. Delannoy.**

A. Verbert aimait l'enseignement et, il le dispensait avec fougue, enthousiasme et fantaisie. Il parlait couramment l'anglais et saisissait toutes les nuances de cette langue, héritage d'un séjour de deux ans à Indianapolis (USA) au cours duquel, le soir, à la manière des étudiants américains, il travaillait dans des bars ou des restaurants. Ceci a été pour lui un véritable atout qui lui a permis, pendant la direction du laboratoire, de multiplier les collaborations avec des laboratoires étrangers, d'organiser des congrès internationaux, donnant au laboratoire de biochimie une stature internationale.

4- Jean Krembel* (1929 - 2015)

C'est avec tristesse que nous ajoutons à cet ouvrage sur l'Histoire de la Biochimie lilloise cette biographie de Jean Krembel. Né le 24 décembre 1929 à Mulhouse, il est décédé le 4 août 2015 à l'Hôpital cardiologique du CHRU de Lille.

Le texte qui suit reprend les grandes lignes de l'intervention de François Caner lors de la messe de funérailles célébrée le 11 août, dans l'Eglise de Vendeville, commune où il résidait et devant la foule de ses nombreux amis entourant sa famille.

Sa disparition nous affecte tout particulièrement.

Le comité de rédaction

Alsacien de souche, Jean Krembel a fait la première partie de sa carrière au CNRS à Strasbourg. Après un séjour à Saint-Louis aux USA où il avait collaboré avec le professeur Apirion, il était devenu spécialiste des acides nucléiques et des polysomes libres et liés, abordant ainsi la biologie moléculaire. Il était donc parfaitement adapté pour renforcer dans ce domaine, la jeune équipe lilloise en pleine expansion. C'est à 42 ans qu'il a candidaté sur le poste disponible au laboratoire de biochimie de l'Université de Lille I.

Il s'installe, dès lors, au 2ème étage du C9 rejoint rapidement par François Caner. Très vite, il a montré son esprit d'indépendance en entreprenant des travaux pour installer son bureau dans une chambre de mesure, ce qui allait à l'encontre du « dogme » ayant présidé à la construction du bâtiment ! Il disposait aussi d'une aide individuelle du CNRS pour développer son potentiel. Très rapidement, il a recruté ses premiers élèves

parmi lesquels on peut citer Claude Dissous, Colette Lempereur, Claudie Verwaerde et Didier Dubruille. Se sont joints aussi ensuite des enseignants-chercheurs chevronnés comme Claude Cardon, Michel Bataille et André Chéron.

Le thème des recherches porta sur l'étude comparée des ribosomes libres et liés au *reticulum endoplasmique.* On savait déjà à l'époque que la N-glycosylation était un phénomène co-traductionnel et l'étude des ribosomes liés s'inscrivait bien dans le thème général d'étude du laboratoire. Après une mise au point longue et minutieuse des techniques d'isolement des deux catégories de polysomes, le choix s'est porté sur la synthèse d'une glycoprotéine du lysosome. Ces travaux ont précisé le rôle des polysomes liés dans la synthèse de l'alpha-L-fucosidase exportée, confirmant l'hypothèse de la "séquence signal" mais n'excluant pas d'autres interactions membranes-ribosomes.

En dehors de la recherche, Jean Krembel s'engagea activement dans l'enseignement de la biochimie en 2ème année du DEUG B à l'UFR de Calais, future composante de l'Université du Littoral. Une longue période de 20 ans a suivi pendant laquelle ses responsabilités à l'Université n'ont cessé de croître, responsabilité de la maîtrise de Biochimie, collaboration avec l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille (ENSCL) et l'Institut Agricole et Alimentaire de Lille (IAAL), équipe de direction de l'Université, et plus tard direction du SCAS (Service commun d'action sociale) , présidence locale de l'ABG en charge de l'insertion professionnelle des jeunes docteurs dans l'industrie, avec Alain Carette.

Très affable, les portes du bâtiment A3 lui étaient largement ouvertes quand il passait et il suffisait de le suivre pour entrer aux portes à tous les étages. Il connaissait tout le monde. Lui l'Alsacien venu d'ailleurs s'était admirablement intégré au Nord, non sans garder des attaches profondes à son pays. Combien de fois parlait-il du « Schiessroth », son chalet des Vosges ! Bref, c'était un homme de contact, de projets et de dossiers, humain, discret et efficace, mais aussi un homme de conviction.

En tant que président du jury de la maîtrise de Biochimie, Jean Krembel a dû braver la tempête de la montée vertigineuse des effectifs qui a atteint à Lille jusqu'à 160 étudiants, là où celle de Marseille plafonnait à 50 ! Très engagé dans le suivi des étudiants, il veillait en particulier sur les étudiants reçus en maîtrise mais qui n'avaient intégré ni DEA, ni DESS. Il se pencha aussi, avec les services universitaires, sur le cas des étudiants éliminés des concours de médecine, pharmacie, prépa Véto, plus les recalés des DUT, BTS pour les intégrer dans le DEUG B.

Après son départ à la retraite où il a été président de l'ASA (Association des Anciens de l'Université) et pris en charge la direction de l'IRCL (Institut de Recherches sur le Cancer de Lille), histoire de ne pas être « désœuvré », les choses ont un peu changé. Son dernier défi a été de prendre la responsabilité, avec quelques collègues, de la rédaction de l'histoire du laboratoire de biochimie depuis sa création par Jean Montreuil jusqu'à l'an 2000. Longtemps nous avons pensé que le père fondateur répondrait à l'invitation de l'ASA de rédiger l'extraordinaire montée en puissance de cette discipline. Or, au décès de Jean Montreuil en 2010, ce dernier n'avait laissé qu'une brillante conférence qui avait été enregistrée dans le cadre d'une réunion de l'ASA, mais qui n'incluait que très partiellement le développement du laboratoire à la Faculté des Sciences, puis à l'Université de Lille I. C'est donc Jean Krembel qui a hérité de cette mission sous la pression amicale de ses amis de l'ASA.

Jean Krembel est à l'origine et a été le coordinateur de cet ouvrage. C'est Jean Krembel qui a signé, à la fin, les remerciements qu'il a adressés à l'ensemble des personnels administratif, technique et de service dont il était si proche. Son souhait d'en voir l'aboutissement par la sortie imprimée de l'ultime version était au centre de ses dernières préoccupations.

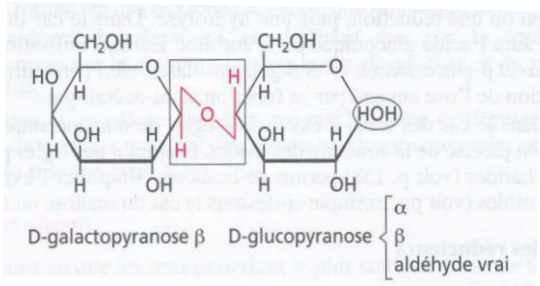
Figure 13. Quelques membres du laboratoire qui ont été recrutés par Jean Montreuil et qui sont cités dans le texte: A:S. Bouquelet, B: R.Cacan, C: F.Caner, D: A.Chéron, E: H.Debray, F: Ph.Delannoy, G: J. Descamps, H: B. Fournet, I: J. Krembel, J: G. Spik, K: G. Strecker, L: A. Verbert

XIII- B.A.-BA de glycobiologie

La glycobiologie est l'étude de la structure et de la fonction des glucides libres ou conjugués à des protéines (glycoprotéines) ou à des lipides (glycolipides). A cela s'ajoutent l'étude de leur synthèse par les êtres vivants (biosynthèse) et celle de leur dégradation (catabolisme) ainsi que les pathologies associées.

Les glucides sont formés de briques élémentaires que l'on appelle des oses ou monosaccharides. Le glucose est l'exemple le plus connu. Il en existe des centaines d'autres.

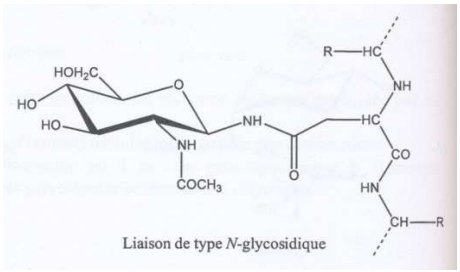
Les oses s'associent entre eux pour former des osides (di, tri, tétra …, holosides ou oligosaccharides selon le nombre d'oses qui sont associés entre eux) jusque plusieurs dizaines. Si le nombre d'oses liés entre eux est de plusieurs centaines, on parle de polysaccharide (l'amidon en est un exemple). La figure suivante montre un disaccharide caractéristique du lait des mammifères : le lactose.



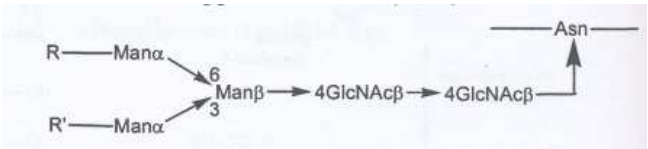
Le laboratoire de biochimie a isolé plusieurs centaines de ces oligosaccharides du lait et de l'urine humaine. Les structures de ces oligosaccharides varient en fonction des pathologies portées par les sujets.

Les glycoprotéines sont des protéines contenant (une ou) plusieurs chaines oligosaccharidiques (chaînes glycanniques ou glycannes). On en distingue 2 types principaux selon la nature de la liaison entre la protéine et la partie glucidique.

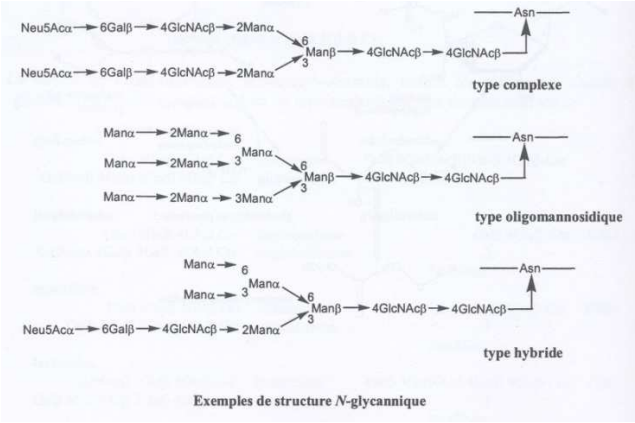
a- Glycoprotéine avec N-glycanne (liaison N-glycosidique). La liaison est réalisée entre la fonction réductrice d'une N-acétylglucosamine (GlcNAc) et l'amide de la chaine latérale d'une asparagine.



Le laboratoire a largement contribué à montrer que les N-glycannes possèdent tous le même schéma structural : lié au point d'attache, une structure pentasaccharidique de base ou noyau, composé de GlcNAc et de mannose (Man) sur lequel viennent se greffer divers résidus appelés antennes (R, R').

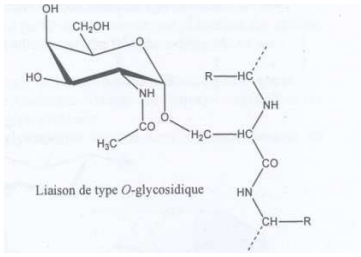


En fonction de la structure de ces antennes (la nature des monosaccharides constituant ces éléments), on distingue 3 principales familles :

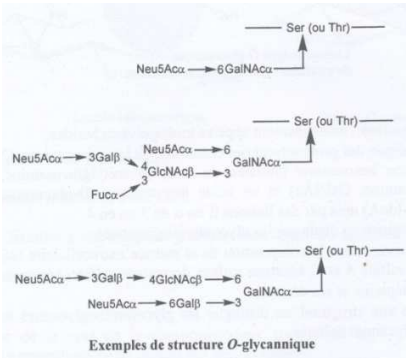


On trouve des N-glycannes sur les protéines sériques (la transferrine largement étudiée au laboratoire de Biochimie), certaines hormones ou des récepteurs membranaires. Ces N-glycannes contribuent à la fonction biologique des protéines qui les portent.

b- Glycoprotéine avec O-glycanne (liaison O-glycosidique). La liaison est réalisée entre la fonction réductrice d'une N-acétylgalactosamine (GalNAc) et l'hydroxyle de la chaine latérale d'une sérine (ou d'une thréonine).



Ces glycoprotéines sont particulièrement abondantes dans les sécrétions et les muqueuses, où elles constituent le premier rempart contre les agressions extérieures. Dans ce cas également, la diversité structurale est extrême.



Le lecteur intéressé pourra approfondir ses connaissances en glycobiologie, en consultant au laboratoire de glycobiologie structurale et fonctionnelle (USTL, bâtiment C9), l'ouvrage « Methods in Glycoconjugates », publié par le laboratoire en 1995, éditeur en chef André Verbert, Harwood Academics Publishers, ou en ligne, « Essentials of Glycobiology » accessible sur le site www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1908/

Auteurs et remerciements

Sous l'autorité de Jean Krembel

Coordinateur : René Cacan (rene.cacan@wanadoo.fr)

Ont participé à la rédaction : Stéphane Bouquelet, François Caner, Henri Debray, Philippe Delannoy

et Gérard Strecker avec le concours des Anciens : Emile Ségard, Michel Monsigny et Louis Grimmonprez

Tout ce travail de recherche n'aurait pas pu avoir lieu sans la participation des personnels administratif, technique et de service.

Parmi ceux-ci, sans être exhaustif, signalons les « précurseurs » de la rue Gosselet. Tout particulièrement Emilien Noël, Paul Durand, Lucien Fleck, Joselyne Celen, Renée Vandersyppe (épouse d'Henri Debray) et Jean-Pierre Decottignies qui ont poursuivi, pour la plupart, leur carrière au C9 de l'Université.

En ce qui concerne les personnels arrivés après l'installation au C9, notons des « figures » qui ont marqué leur temps : Annie-France Boulanger (épouse de Stéphane Bouquelet) qui a « sévi » aux travaux pratiques, Yves Leroy, le bras droit de Bernard Fournet, grièvement blessé lors de l'accident mortel de ce dernier, et sans nous attarder, nous conduisant à un trio constitué de Jacqueline Dondeyne, Janine Moerman et Frédéric Demol, le « réparateur universel ».

Impossible de citer la totalité des secrétaires, mais une mention spéciale pour France Barbry-Guermonprez qui a assuré la transition rue Gosselet-C9 et Madame de la Fourchadière dont le « règne » auprès de Monsieur Montreuil a laissé quelques souvenirs.

Un grand merci à tous.

Enfin un remerciement particulier à Gaëlle Vanstaevel pour son accueil et sa gentillesse lors de chacune de nos réunions de rédaction au C9.

Jean Krembel

au nom du comité de rédaction