

## André Lwoff, un novateur (1902-1994)

Marc Girard

**A**ndré Lwoff, l'un des pères de la génétique moléculaire moderne, s'est éteint le 30 septembre dernier à l'âge de 92 ans. Prix Nobel de médecine en 1965, tour à tour protistologiste, biochimiste, bactériologiste, généticien et virologue, il laissa derrière lui, dans chacun des sujets qu'il étudia au cours de ses cinquante années de carrière scientifique, la marque de sa créativité et de son génie. On lui doit plusieurs concepts fondamentaux, comme celui de l'évolution physiologique régressive et des pertes de fonction liées au parasitisme, celui de la continuité génétique des organites, celui de la spécificité et du rôle physiologique des facteurs de croissance et des vitamines, les concepts de lysogénie et de provirus, la première définition moderne des virus, enfin la notion de relation entre virulence et facteurs non spécifiques de résistance à l'infection virale (facteurs dans lesquels il rangeait notamment l'hyperthermie et l'inflammation).

André Lwoff exerça une influence considérable sur l'évolution des idées au tout début de la biologie moléculaire. Ses découvertes, ses intuitions brillantes, son éclectisme, sa curiosité intellectuelle lui valaient une réputation et un rayonnement qui dépassaient de très loin les frontières. Son laboratoire, situé dans le fameux grenier de l'Institut Pasteur, voyait défiler chaque année un contingent nouveau d'étudiants et de chercheurs venus du monde entier. On trouva ainsi autour de lui, simultanément ou successivement, de 1945 à 1960,



Georges Cohen, François Jacob, Jacques Monod, Pierre Schaeffer, et Elie Wollman, ainsi que Seymour Benzer, Ernest Borek, Seymour Cohen, Melvin Cohn, Dale Kaiser, Niels Kjelgaard, Alvin Pappenheimer, Martin Pollock, Louis Siminovitch, Roger Stanier, et Gunter Stent, pour ne citer que les plus célèbres. André Lwoff exerça le même rayonnement auprès de ses étudiants au Grand Cours de l'Institut Pasteur, puis, plus tard, à l'Université, où il fut le premier titulaire de la chaire de Microbiologie d'une université française. Mais il n'existe pas de concept nouveau sans terminologie appropriée. André Lwoff fut non seulement un créateur de concepts nouveaux, mais aussi, avec François Jacob, l'inventeur de toute une terminologie qu'il nous a léguée et qui appartient aujourd'hui au vocabulaire usuel des virologistes,

comme prophage, provirus, virion, capsid, nucléocapsid, enveloppe virale, et tant d'autres... On dénonce périodiquement l'invasion du français en science et en médecine. André Lwoff fut plus qu'un puriste en la matière ; il exigeait l'emploi du terme juste, pourchassait l'à-peu-près, les termes anglais et le jargon de laboratoire. « Il existe toujours un mot en français pour tout dire », avait-il coutume de nous répéter, « et, s'il n'y en a pas, inventez-le ! ». Le malheureux biochimiste qui venait d'exposer pendant quinze minutes, lors d'une réunion de la Société française de microbiologie, les caractéristiques des *templates* que copiait la polymérase du virus qu'il étudiait, se vit poser une seule question par André Lwoff, debout dans l'amphithéâtre : « Qu'appellez-vous *template*, Monsieur ? » « Matrice, Monsieur. » « Merci, Monsieur ! », et André de se rasseoir. Le mot *template* est resté totalement banni en français depuis ce jour !

André Lwoff fut, toute sa vie, animé d'un grand sens de la justice qui le poussa à s'engager dans de nombreux combats. Il fit de son laboratoire un centre actif de la Résistance, pendant la guerre. Il fut le premier président du Mouvement français pour le planning familial. Il n'hésita pas à mettre le prestige de son prix Nobel au service de grandes causes, comme la lutte contre la torture, contre le développement de l'arme nucléaire et la guerre froide, contre la restriction des libertés dans les pays de l'Est, contre l'antisémitisme et le racisme, pour la paix. En politique, comme en science, il fut un homme de liberté.

Dès 1920, et alors qu'il n'était encore que jeune étudiant, André Lwoff débute sa carrière scientifique par des stages d'été au laboratoire d'océanographie de Roscoff (puis, quelques années plus tard, à celui de Banyuls). Il fut pris en amitié par l'un des plus célèbres zoologistes de l'époque, Edouard Chatton, dont il devint rapidement le collaborateur. Ensemble, ils devaient découvrir un sous-ordre des Ciliés, celui des Thigmotriches, dérivés des ciliés libres par une série de dégradations morphologiques qui les ont rendus glabres et les ont conduits à se fixer sur leur hôte par un long suçoir ; puis un nouveau groupe de Ciliés, les Apostomes, parasites de deux hôtes successifs, ce qui n'avait jamais été observé jusque-là. Les cycles compliqués des Apostomes posaient le problème de leur évolution à partir des Ciliés libres. Comme devait le faire remarquer plus tard Jacques Monod : « Dès son initiation à la recherche, André devait donc apprendre à penser en termes d'évolution, à ne considérer la forme actuelle que comme le produit d'une histoire, hors quoi elle demeure incompréhensible. » (J. Monod, *Du microbe à l'homme*, 1971).

L'observation de l'appareil ciliaire des infusoires, grâce à des techniques de colorations nouvelles, conduisit ensuite Chatton et Lwoff à se poser la question des mécanismes assurant la duplication de cet appareil au cours de la division cellulaire. Leurs observations leur permirent de conclure que chaque kinétosome était le descendant d'un kinétosome précédent. Ce fut là, en 1929, la première démonstration de la continuité génétique des organites cytoplasmiques, laquelle devait fort récemment recevoir une ample confirmation dans le domaine des chloroplastes et des mitochondries.

Entre-temps, André Lwoff était entré – à 19 ans ! – au laboratoire de Félix Mesnil. Il y réussit la première culture pure d'un Cilié, *Tetrahymena pyriformis*. C'était un grand succès technique. Ce fut aussi le point de départ d'une fructueuse réflexion philosophique. La composition des milieux synthétiques des cultures pures de protistes permettait de déterminer leurs besoins nutritionnels. Ce fut le

mérite de Lwoff de comprendre que ces besoins traduisaient la perte de fonctions biosynthétiques. Mais l'idée selon laquelle l'évolution pouvait entraîner la perte de certaines fonctions biochimiques se heurta à une grande hostilité due au préjugé que l'évolution ne devait, ne pouvait être qu'amélioration et enrichissement. Le récit qu'André Lwoff fit de ses démêlés avec les sommités de l'époque vaut la peine d'être cité :

« La doctrine de l'évolution physiologique régressive... fut en général mal accueillie en France. Nous nous aperçûmes... que l'idée d'une dégradation physiologique évolutive heurtait profondément les esprits. L'un d'eux nous fit comprendre que nous ignorions tout de l'évolution : nous ne partagions pas ses idées. Un autre nous demanda de reconnaître qu'il était susceptible de réaliser des actions dont un *Chlamydomonas* était totalement incapable. Sans doute. Cependant, que serait devenu cet excellent – et par ailleurs éminent – collègue si on l'avait exposé tout le jour au soleil dans une solution de nitrate de potassium ? » (A. Lwoff, *L'Évolution physiologique : étude des pertes de fonction chez les micro-organismes*, 1944.)

On savait depuis assez longtemps que certains micro-organismes, dont les protistes, ont besoin de « facteurs de croissance », mais on n'avait aucune notion de ce que cela pouvait signifier. La plupart des vitamines avaient, de leur côté, été découvertes chez l'animal et on ignorait presque tout de leur rôle métabolique. André Lwoff et Marguerite, son épouse, contribuèrent largement à démontrer que les vitamines étaient des facteurs de croissance pour de nombreux micro-organismes. Les trypanosomes, qui sont des flagellés parasites hématophages, ne sont, par exemple, cultivables *in vitro* que si le milieu de culture contient du sang. Aux yeux d'André Lwoff, il ne pouvait s'agir que d'une perte de fonction biochimique. Les Lwoff s'attachèrent à identifier le facteur exigé par un de ces trypanosomes et réussirent à démontrer, en 1934, qu'il s'agissait de l'hématine, établissant ainsi, pour la première fois, la spécificité et le rôle physiologique d'un facteur de croissance. Ils entreprirent

ensuite d'identifier le « facteur V » exigé par la bactérie *Haemophilus influenzae* et montrèrent, en 1936, qu'il s'agissait du « coenzyme » identifié cinq ans auparavant par Warburg, Christian et Griese, lequel prit ensuite le nom de DPN avant de devenir le NAD. C'était la première démonstration du rôle d'un coenzyme comme facteur de croissance. Cette découverte était fondamentale. Elle débouchait sur la notion d'une relation directe entre vitamines et coenzymes qui permettait de concevoir le rôle qu'étaient susceptibles de jouer certaines vitamines dans le métabolisme cellulaire. Ces travaux le renforcèrent dans la conviction que si certains organismes n'avaient pas besoin d'une vitamine, c'est qu'ils étaient capables d'en assurer la biosynthèse. Voici ce qu'il en écrivit quelques années plus tard : « Les facteurs de croissance sont des métabolites essentiels... La plupart d'entre eux sont des coenzymes ou des parties constitutives de coenzymes. Ils jouent à ce titre un rôle fondamental dans un ou plusieurs processus indispensables... Si les coenzymes sont synthétisés par la cellule, un apport exogène n'est pas nécessaire. Si cette synthèse n'est pas réalisée, le coenzyme en cause devient un facteur de croissance... Les facteurs de croissance sont donc des métabolites essentiels que l'organisme est incapable de synthétiser. » (A. Lwoff, *L'Évolution physiologique*, 1944.)

Il était clair pour André Lwoff que les besoins nutritionnels des micro-organismes en facteurs de croissance traduisaient leur adaptation biochimique à la condition de parasite. Après la guerre, en 1946, André Lwoff se rendit au *Cold Spring Harbor Symposium*. Cette réunion est restée particulièrement célèbre car c'était la première fois que les scientifiques européens et américains se retrouvaient ensemble. Ce colloque coïncidait aussi avec le début de l'âge d'or du bactériophage. Jacques Monod, qui était du voyage, en a laissé le récit suivant :

« Les membres de l'église du phage... étaient au complet, avec leurs trois évêques : Max Delbrück, Al Hershey et Salvador Luria. Max en était bien le pape... Était de foi ce que Max ac-

ceptait, hérésie ce qu'il niait. Or, il niait volontiers, souvent, en fait systématiquement. Entre autres, tous les résultats des écoles antérieures à la fondation de l'église ou extérieures à elles. Par exemple, Max comptait pour rien les travaux... sur les bactéries lysogènes. Il refusait de croire au phénomène, qu'il attribuait à des contaminations...» (J. Monod, *Les Microbes et la vie*, 1971.)

De retour à Paris, André Lwoff se piqua au jeu, persuadé au contraire de l'authenticité des résultats obtenus avant guerre sur le bactériophage, notamment à Pasteur par Eugène Wollman, le père d'Elie Wollman, et il se fixa pour objectif de convaincre Max Delbrück de la réalité de la lysogénie. Il commença, pour cela, par isoler au micromanipulateur une bactérie d'une culture lysogène de *Bacillus megaterium* qu'il déposa dans une goutte de milieu, sur une lame de microscope. Dès que la bactérie se divisa, il isola l'une des bactéries filles à l'aide d'une micropipette et la transféra sur milieu solide afin de déterminer si sa descendance serait ou non lysogène. Retournant à l'autre fille, qui était restée sous le microscope, il la surveilla jusqu'à ce qu'elle se divise à nouveau et, à nouveau, transféra l'une des deux filles sur milieu solide, tout en maintenant l'autre dans la goutte de milieu.... et ainsi de suite jusqu'à la 19<sup>e</sup> génération. Cette expérience, qui fut répétée à plusieurs reprises, lui permit trois observations : (1) il n'y avait jamais de phage libre dans la goutte de milieu tant que les bactéries se multipliaient; (2) toutes les bactéries de la descendance repêchées sur milieu solide étaient lysogènes; et (3) de temps en temps, la bactérie restée dans la goutte de milieu se lysait brutalement, et la goutte fourmillait alors de phages. La démonstration était limpide, la conclusion sans ambiguïté : les bactéries lysogènes contenaient le phage à l'état latent, sous forme d'une entité non infectieuse que Lwoff baptisa «prophage». De temps à autre, accidentellement, on assistait à l'induction spontanée de la multiplication végétative du phage et à la lyse de la bactérie. La lysogénie existait bien; Max Delbrück fut enfin convaincu. Mais comment reproduire l'induc-

tion ? André Lwoff s'appliqua à recréer les conditions physiologiques dont il imaginait qu'elles pouvaient être tenues pour responsables. Mais avec peu de succès. Jusqu'au jour où il eut l'idée d'exposer une culture de bactéries lysogènes pendant quelques secondes sous la lampe à UV que Jacques Monod utilisait pour induire des mutations dans ses colibacilles. Le résultat ne se fit pas attendre : la culture lysa dans l'heure suivante.

André Lwoff raconta lui-même la scène en 1966, dans un recueil d'articles dédié à Max Delbrück à l'occasion de son soixantième anniversaire : «*Our experiments consisted in inoculating exponentially growing bacteria into a given medium and following bacterial growth by measuring optical density. Samples were taken every 15 minutes, and the technicians reported the results. The technicians were so involved (in their work) that they had identified themselves with the bacteria and used to say, for example: "I am exponential"; or: "I am slightly flattened"... A suspension of lysogenic bacilli was put under the UV lamp for a few seconds... After the irradiation, I collapsed in an armchair in sweat, despair, and hope. Fifteen minutes later, Evelyne Ritz, my technician, entered the room and said: "Sir, I am growing normally..." After fifteen more minutes, she was still growing. I was very hot... Now sixty minutes had elapsed since irradiation. Evelyne entered the room again and said very quietly, in her soft voice: "Sir, I am entirely lysed..." As far as I can remember, this was the greatest thrill – molecular thrill – of my scientific career.*» (A. Lwoff, cité dans H.F. Judson, *The Eighth Day of Creation*, 1979.)

André Lwoff avait découvert comment provoquer de manière reproductible l'induction du prophage. Du même coup, cela lui permettait de montrer que toutes les bactéries de la culture, toutes les bactéries issues d'un clone, étaient porteuses du prophage. Parmi les inducteurs chimiques du prophage, il découvrit ensuite que nombre d'entre eux sont des cancérrogènes. Cela le conduisit à émettre l'idée que certains cancers pourraient être provoqués par des provirus.

Comme toute notion nouvelle, celle du prophage ne fut cependant pas acceptée d'emblée par tous. Il fallut

les travaux de Hershey, puis la découverte de l'induction zygotique et la localisation génétique du prophage par François Jacob et Elie Wollman pour qu'elle finisse par s'imposer. Les virus n'avaient été considérés jusque-là que comme des parasites intracellulaires plus petits que des bactéries. Voilà que certains d'entre eux devenaient capables de se transformer en provirus latents dont la présence se manifestait par une immunité de la bactérie hôte vis-à-vis de la surinfection par des phages apparentés, et par des propriétés phénotypiques nouvelles de l'hôte. En d'autres termes, l'essence du prophage se confondait avec celle des gènes bactériens. La découverte du prophage et de l'induction ouvrit la voie au concept d'intégration des éléments épisomiques et des virus dans les chromosomes des cellules qui les portent et les transmettent de manière héréditaire à leur descendance. Cette notion fut à l'origine des découvertes de la décennie suivante, sur la transformation maligne des cellules animales par des virus oncogènes.

C'est à l'occasion de la *Third Marjory Stephenson Memorial Lecture*, donnée en 1957 par André Lwoff, qu'il essaya de rassembler toutes ces idées nouvelles dans une description d'ensemble des virus et des diverses formes qu'ils pouvaient adopter : virus lytique cytopathogène, provirus intégré, particule virale inerte (le virion). Mais, pour conclure, il n'hésita pas à terminer par l'aphorisme qui est resté justement célèbre : «*Viruses are viruses*» (A. Lwoff, 1957).

D'autres travaux sur la définition des virus et leur classification, notamment avec Paul Tournier, sont venus plus tard compléter cet aspect de son œuvre.

En 1953, il publia dans *Bacteriological Reviews* une longue revue intitulée «Lysogeny» qui fit longtemps autorité. Pourtant, dès l'année suivante, il abandonnait le bactériophage pour se tourner vers l'étude de la multiplication du poliovirus. Il ressentit le besoin d'un équipement particulier pour pouvoir travailler de manière stérile avec les cultures de cellules animales. Il se fit donc construire sur mesure des batteries de bains-marie

en cuivre munis de systèmes d'agitation ingénieux qui maintenaient les cellules en suspension à la température désirée, des caissons étanches dans lesquels on incubait à l'étuve les cultures de cellules en atmosphère de gaz carbonique à 5% (les étuves à CO<sub>2</sub> n'existaient pas), des boîtes à gants transformées en hottes à culture de cellules (le flux laminaire n'existait pas non plus), et tout un ensemble de pipettes à deux traits de divers calibres montées avec des poires en caoutchouc de volume approprié, dont le maniement requérait du novice un long et difficile apprentissage, mais que, lui, maniait avec des gestes précis et efficaces à 60 ans passés.

Son intérêt se porta alors sur le problème des facteurs non spécifiques de l'infection virale et, plus particulièrement, sur l'action de la température. Il démontra que la thermosensibilité du développement viral du poliovirus était une caractéristique de chaque souche et qu'elle variait avec le pouvoir pathogène. Il définit un marqueur de virulence, le  $\pi$ , qui était la température supra-optimale à laquelle le rendement de l'infection virale chutait de 90% ; les souches neurovirulentes du poliovirus avaient toutes un  $\pi$  élevé ; les souches atténuées un  $\pi$  faible. Il en conclut que la fièvre devait être un moyen de défense de l'organisme contre la maladie virale, et que si certaines souches de virus s'avéraient virulentes, c'est parce qu'elles étaient aptes à se multiplier dans l'organisme en dépit de l'hyperthermie qui en résultait, alors que les souches dites atténuées voyaient leur développement arrêté par cette réaction de l'hôte. La baisse du pH au point d'inflammation local provoqué par le développement viral jouait un rôle analogue. A partir de l'étude de ces « effecteurs » du développement viral, il établissait ainsi, pour la première fois, avec des arguments rationnels et des paramètres quantifiables, la notion que la virulence est une grandeur relative qui dépend de l'équilibre entre le virus et son hôte.

A la fin des années 1960, la biologie moléculaire avait définitivement acquis droit de cité. Ce fut l'occasion pour André Lwoff d'entamer ce que

Jacques Monod appella sa « cinquième carrière » : la direction de l'Institut de Recherche sur le Cancer (l'IRSC) à Villejuif, qu'il assura jusqu'en 1972. Après quoi, il décida de se consacrer entièrement à sa « sixième carrière » : la peinture.

Personnage tout d'une pièce, André Lwoff ne se prêtait pas au compromis. Son absence de conformisme, son engagement sans réserve dans les combats scientifiques ou humanistes, son ironie moqueuse qu'il tempérait de bienveillance amusée pour ses élèves mais qu'il pouvait rendre cinglante pour ses adversaires, lui valurent de nombreux ennemis (et même une provocation en duel !). L'intrigue lui répugnait, tout autant que la flatterie, mais il ne craignait pas les conflits. Pourtant, sous son apparence parfois hautaine, souvent narquoise, il cachait une très grande générosité que n'ont pas oubliée ceux qui l'ont approché. Il accueillit pendant la guerre et cacha, à plusieurs reprises, des aviateurs américains dans son appartement. C'est dans son laboratoire, à l'Institut Pasteur, que Jacques Monod trouva refuge quand il dut passer dans la clandestinité en 1944 pour échapper à la Gestapo qui poursuivait les membres du réseau de résistance de l'École Normale Supérieure. La solidarité d'André Lwoff avec toutes les victimes d'oppressions injustes ne s'est jamais démentie et il l'a toujours manifestée avec courage et même provocation.

Au laboratoire, l'étonnante jeunesse d'esprit d'André Lwoff le portait toujours à accueillir avec intérêt les résultats qu'on lui apportait, même les plus étranges. Prompt à s'enthousiasmer pour les idées nouvelles, et servi par une grande intuition, il excellait à échafauder de nouvelles théories et mettait ensuite tout en œuvre pour prouver la justesse de ses vues. Il aimait citer ce mot, dont il attribuait la paternité à Eddington : « Les seules expériences valables sont celles qui confirment la théorie. » J'ai récemment retrouvé la citation complète de Sir Arthur Eddington : « *It is a good rule not to put too much confidence in observational results... until they are confirmed by theory.* » La transformation lwoffienne qu'André avait faite

de cette phrase illustre bien sa personnalité.

Il est très rare qu'une carrière scientifique soit l'occasion d'une telle suite de grandes découvertes dans tant de domaines différents, et encore plus rare que chaque découverte donne naissance à de si nombreux concepts. C'est peut-être que rien, pour lui, n'était détail. Tout devait trouver sa place dans un concept universel de la vie. Ennemi des philosophies réductionnistes, pourfendeur de la médiocrité, il a su faire de sa vie même une œuvre. Toute brillante et fructueuse qu'ait été sa carrière scientifique, elle n'était qu'une part de son existence, et peut-être même pas, de son point de vue, toujours la principale. Sa personnalité était riche de sensibilité artistique, de rigueur morale et d'humanisme. Ce n'est pas seulement un grand scientifique qui nous a quittés, c'est un grand homme ■

#### Marc Girard

Institut Pasteur, unité de virologie moléculaire, 25, rue du Docteur-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.