

Professeur Paul PUTZEYS
Biochimiste des Protéines
1897-1982

Paul Putzeys, qui sans aucun doute est à considérer comme le premier maître de la recherche sur les protéines à Louvain, est né le 18 octobre 1897 à Tirlemont. Il y effectue des études secondaires au Collège Notre-Dame. A la fin des humanités c'est la guerre 1914-1918 et l'occupation. L'Université de Louvain étant fermée il doit attendre, et ce pendant deux ans, avant d'y entreprendre des études. Le jeune Putzeys ne perd cependant pas son temps. Il étudie la chimie à l'Ecole



Industrielle locale et est tellement captivé par cette branche qu'il opte pour des études de pharmacie, orientation qui à l'époque comportait apparemment le plus grand nombre d'heures de cours de chimie. Il emprunte les cours de candidature à des amis et les assimile consciencieusement.

La guerre terminée Paul Putzeys vient à Louvain et y acquiert à un rythme accéléré le diplôme de Pharmacien. Il passe ensuite au laboratoire du Professeur Pierre Bruylants où il prépare une thèse de doctorat sur la masse atomique du sélénium.

Dès l'obtention de son diplôme le jeune Docteur en Sciences part pour l'Université de Harvard, en tant que Fellow de la CRB (Commission for Relief in Belgium), et y travaille chez le Professeur Th. W. Richards, prix Nobel 1914, analyste réputé, fêré de la précision des méthodes. Ces qualités deviendront également celles de Paul Putzeys et il en restera empreint tout au long de sa carrière. Il y détermine la masse atomique du plomb en provenance du Katanga et constate que la valeur diffère de

celle du plomb ordinaire, ce qui devait trouver son explication par les isotopes.

A son retour en Belgique en 1925 Paul Putzeys est nommé chargé de cours à l'Université de Louvain et très rapidement rendu responsable d'un bien lourd enseignement: dès 1925 la Chimie Analytique dans les deux régimes linguistiques à l'École de Pharmacie, puis en 1927, lors de sa nomination comme professeur ordinaire, également la Chimie Physiologique dans les deux candidatures de médecine du rôle néerlandophone et en 1932 la Chimie Médicale à l'École de Pharmacie aux deux régimes linguistiques.

Encore avant les années trente le Professeur Putzeys effectue deux autres séjours à l'étranger, l'un au Laboratoire Carlsberg à Copenhague, l'autre à l'Institut Physico-chimique à Upsala en Suède. Ces séjours, quoique beaucoup plus brefs que celui aux Etats-Unis, sont des plus déterminants pour ses recherches futures. Il quittera la chimie inorganique pour la chimie des protéines.

Pour comprendre le changement d'orientation du domaine d'intérêt du Professeur Putzeys il est bon de se remettre dans l'atmosphère des deux laboratoires nordiques à ce moment. Au Laboratoire Carlsberg à Copenhague c'est l'époque de Søren P. L. Sørensen, successeur de Johan Kjeldahl. Tout comme le Professeur Richards à Harvard, c'est un analyste de premier plan. Il est bien connu pour le symbole pH qu'il introduit et pour les substances étalons qu'il préconise pour la mise en titre des solutions. Il a commencé l'étude des protéines et montre que les lois physico-chimiques connues pour les cristalloïdes s'y appliquent. Ainsi, dix ans avant les résultats sur l'hémoglobine de G. S. Adair à Cambridge en Angleterre, S. P. L. Sørensen a déjà montré, avec l'ovalbumine notamment, qu'une protéine pouvait mener à une pression osmotique définie. Cette observation ouvrait en même temps la période moléculaire de la chimie des protéines. En plus d'avec les protéines, la méthode Kjeldahl, la pression osmotique, les substances étalons, Paul Putzeys y entre également en contact avec les mélanges tampons et la mesure du pH avec l'électrode à hydrogène, bref tout ce qui est nécessaire pour étudier les protéines. Il y fait égale-

ment la connaissance de Kaj U. Linderstrøm-Lang, futur successeur de Sørensen et physico-chimiste des protéines. Une grande amitié naît, qui devait se poursuivre jusqu'au décès prématuré de Linderstrøm-Lang en 1957. Une amitié sincère devait plus tard également le lier à Adair de Cambridge. Au laboratoire d'Upsala en Suède, le Professeur The Svedberg, futur prix Nobel, et Kai O. Pedersen ont développé l'ultracentrifugation analytique, qui devait mener à la découverte, assez révolutionnaire pour l'époque, que les protéines possèdent une masse moléculaire bien définie et différente pour la plupart d'entre elles, les valeurs pouvant aller de 20 000 à 6 000 000. Leurs solutions sont donc monodispersées. En plus du Professeur The Svedberg Paul Putzeys y rencontre également Arne Tiselius, qui a développé et amélioré l'électrophorèse en veine liquide, actuellement plus couramment connue sous le nom d'électrophorèse Tiselius, et ce également pour l'appliquer à l'étude des protéines. Cette méthode révèle que ces macromolécules s'y différencient par leur mobilité électrophorétique et que cette dernière est fonction du pH.

L'ère moléculaire des protéines est donc définitivement née avec comme perspective un domaine d'étude immense. Il n'est donc pas surprenant qu'à son retour Paul Putzeys, fort de ces expériences et de l'information acquise dans ces deux laboratoires nordiques, choisisse d'abandonner définitivement le domaine de la chimie inorganique pour la chimie des protéines.

Paul Putzeys est attiré par la photométrie - suivant en cela sans doute la tradition des laboratoires de chimie analytique - et par les phénomènes de diffusion de la lumière qui se produisent dans les solutions de protéines. En transformant la formule de Lord Rayleigh pour la lumière diffusée par de très petites particules ($\ll \lambda/20$) montrant une relation entre I l'intensité de la lumière diffusée et n le nombre de particules, V leur volume, I_0 l'intensité de la lumière incidente et λ la longueur d'onde:

$$I \sim n V^2 I_0 / \lambda^4$$

Paul Putzeys voit qu'il peut obtenir une relation directe entre

l'intensité de la lumière diffusée et M la masse moléculaire et c' la concentration en protéine (en g/l):

$$\text{car } n v^2 = N c' M^2 \bar{v}^2 / M N^2 = c' M \bar{v}^2 / N \sim c' M$$

étant donné que

$$V = M \bar{v} / N \quad \text{où } N \text{ égale le nombre d'Avogadro}$$

$$\text{et } \bar{v} \text{ le volume partiel spécifique}$$

$$\text{et } c' / n = M / N, \text{ d'où } n = c' N / M$$

Il montre ainsi que la diffusion de la lumière est une méthode adéquate pour déterminer la masse moléculaire relative des protéines, pour autant que les autres paramètres soient maintenus constants. Avec des étudiants en pharmacie il teste sa méthode avec des protéines, soigneusement isolées et purifiées, et montre qu'effectivement les valeurs d'intensité de la lumière diffusée par les différentes protéines sont entre elles comme les masses moléculaires déterminées à Upsala par ultracentrifugation analytique. En attribuant à l'une d'entre elles une masse moléculaire on peut déduire celle de toutes les autres. L'amandine, une protéine de réserve végétale, est choisie comme référence avec une masse moléculaire de $330\,000 \pm 6000$. Ces résultats mènent à sa publication célèbre de 1935 [1].

Sa méthode connaît un grand succès, car elle est extrêmement rapide. Cependant, comme elle donne une moyenne en masse pour la masse moléculaire, elle présente des inconvénients, ce dont Paul Putzeys est parfaitement conscient: il faut ainsi éviter les agrégats et les poussières; de plus, pour les solutions colorées l'absorption élevée pose également un problème. L'aspect théorique des corrections à effectuer dans ce dernier cas il l'aborde avec le Professeur E. Dory [2]. Pour réduire les effets dus à la réflexion et la réfraction il utilise des cellules en croix.

En 1936, lors du décès en pleine activité du Professeur Louis Michiels, titulaire de la Chaire de Chimie Analytique à l'Institut de Chimie, Paul Putzeys est appelé à lui succéder pour quelques mois.

Parallèlement à l'étude de la diffusion de la lumière le Professeur Putzeys est également intéressé à la charge électri-

que des protéines et à la variation de celle-ci avec le pH, la concentration et la nature des ions. Il fait appel pour cette étude à l'électrophorèse Tiselius. Il constate que la force ionique a un effet pratiquement aussi important que le pH sur la mobilité électrophorétique. Cette dernière diminue lorsque la force ionique augmente. Cette constatation mène en 1940 à une seconde publication dans les Trans. Faraday Soc. [3]. Ce même effet est constaté indépendamment par Edwin J. Cohn aux Etats-Unis. Il entame également une étude théorique de l'ionisation des protéines, qui mènera à des publications avec le Professeur Louis Bouckaert [4]. Ceux qui étaient au laboratoire à l'époque se rappelleront les tableaux noirs du 6 rue des Doyens, tout chargés de formules.

Pendant la guerre quarante le Professeur Putzeys se trouve à la tête d'un laboratoire formidable, très bien équipé pour l'époque, et pourvu d'une installation électrique, qui faisait plus d'un jaloux, mais qui était paraît-il le résultat d'une erreur d'un zéro lors d'un devis établi par une firme importante qui, ayant signé le contrat, l'a honoré.

En 1942 il accueille en son laboratoire l'un des auteurs de cet article (R. L.), Dr. Sc., Aspirant du Fonds National, venant de chez le Professeur J. C. Jungers.

En 1947 l'Institut de Chimie charge le Professeur Putzeys de créer une Section de Biochimie à la Faculté des Sciences. Il cède ses cours de Chimie Analytique à l'École de Pharmacie à l'un de nous (R. L.) et devient lui-même titulaire du cours de Biochimie dans les deux régimes linguistiques. Ce cours est donné exclusivement aux étudiants de deuxième licence ayant choisi de préparer une thèse dans ce domaine. A cette époque il n'y avait ni cours pratique en Biochimie, ni assistant, ce qui devait perdurer jusqu'à son éméritat en 1968.

Comme les protéines ne se manipulent pas comme des composés organiques ordinaires, les étudiants commençant un mémoire de licence, voire même une thèse de doctorat, tout inexpérimentés des méthodes, devaient attendre la venue du Maître avant d'effectuer la moindre manipulation. Il s'agissait d'abord de bien percevoir le secret de chaque étape et ce aussi simple soit-elle comme p. ex. la précipitation au sulfate d'ammonium ou la cen-

trifugation pour séparer un précipité.

Les étudiants s'intéressant à la nouvelle orientation étant nombreux, Monsieur Putzeys en cède une partie à l'un de nous (R. L.). Avec ses propres étudiants il poursuit plus particulièrement le développement de la méthode de diffusion de la lumière. C'est aussi la période où il acquiert un mécanicien de tout premier plan, Jan Rijkenberg. Avec son aide il construit sans cesse des appareillages de plus en plus améliorés et farcis de systèmes subtils permettant d'arriver à une précision plus grande, à un meilleur contrôle de la température, à des manipulations de plus en plus aisées (Fig. 1) et de faciliter la mesure de la correction pour l'absorption (Fig. 2), ce qui devait lui permettre d'élargir la méthode aux protéines très colorées, comme l'hémoglobine, étude qu'il confie pour une première approche à sa fille Monique.

A la fin des années soixante il étend de plus la méthode de la diffusion de la lumière à l'étude sous haute pression, paramètre qui venait ainsi s'ajouter au pH, à la force ionique et à la température pour étudier l'association et la dissociation des protéines.

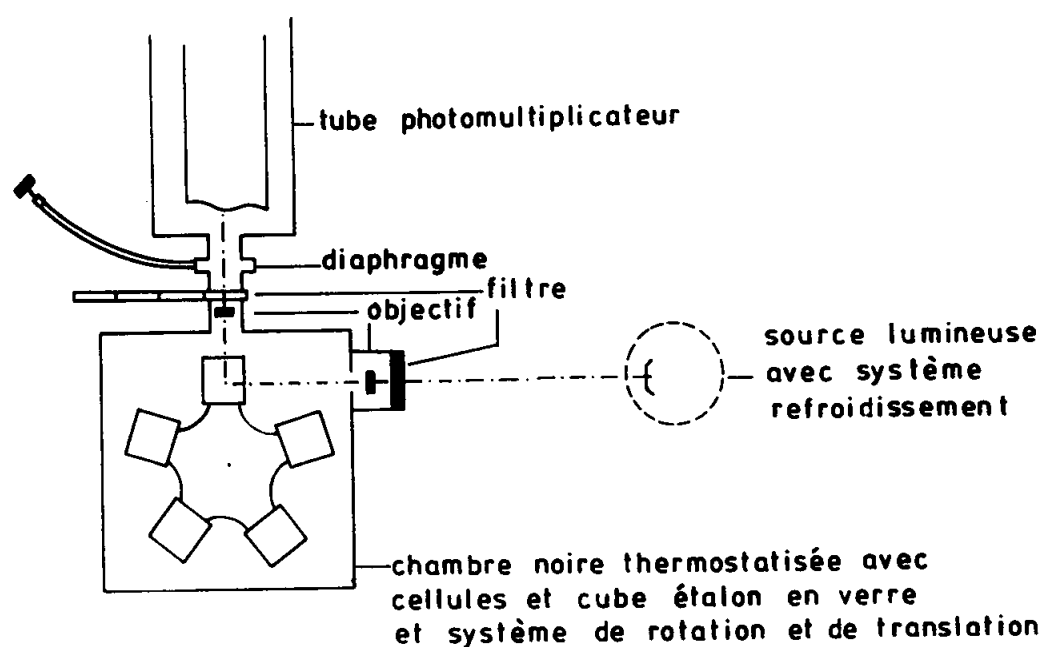


Fig. 1. Modèle amélioré de l'appareil de diffusion de la lumière

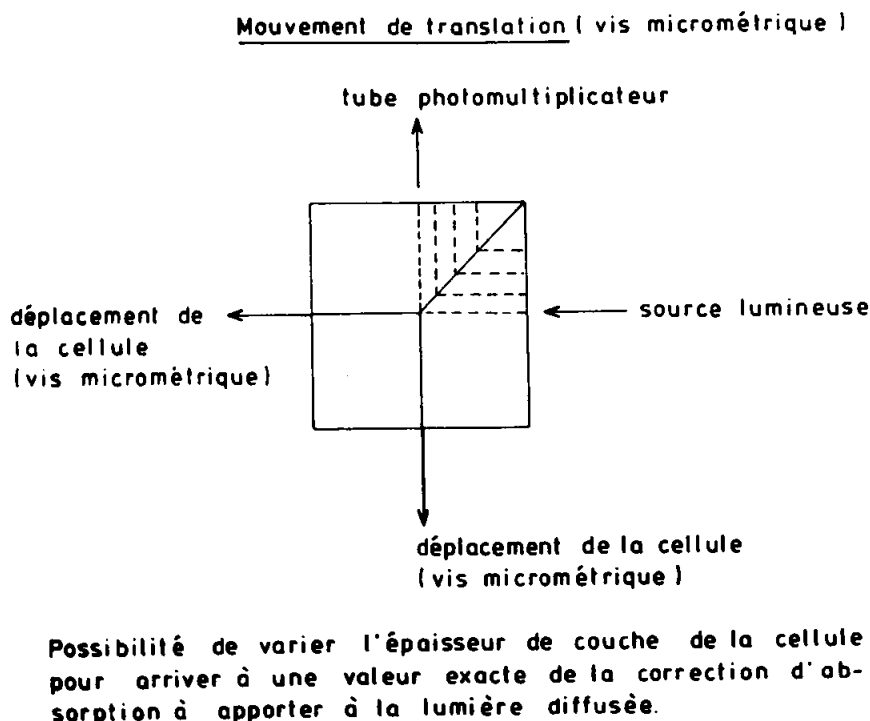


Fig. 2. Principe de la correction expérimentale de l'absorption pour la mesure de la diffusion de la lumière.

Les protéines, qu'il a le plus étudiées au cours de sa carrière, sont les protéines de réserve végétales, les hémocyanines, les hémoglobines, l'ovalbumine, l'avidine, la conalbumine.

Un très grand nombre de ses étudiants ont fait une carrière académique, et nous tenons à citer plus particulièrement Francis G. Elliott, feu Jean-François Pechère et Harry Reynaers, issus de son laboratoire.

Le Professeur Putzeys aimait la lecture scientifique et savait difficilement résister à l'achat de livres nouvellement parus. Il avait également une passion pour l'égyptologie et les papillons. De toutes ses lectures il savait faire profiter ses étudiants et tous ceux qui sont passés par son laboratoire se rappelleront sans doute encore longtemps des conversations qui se prolongeaient souvent bien tard dans la soirée. Dans ses cours il en allait fréquemment de même, aussi avait-il, surtout durant les dernières années de son enseignement où les digressions devenaient de plus en plus nombreuses, souvent difficile de sortir de son introduction.

Le Professeur Putzeys a été particulièrement affecté par les événements de 1968, qui ont coïncidé avec son éméritat. Une

joie, qui lui est certainement cependant restée, est le Colloque, qui à l'occasion de ses septante ans a été organisé cette même année par le Laboratoire de Biochimie. Il y a retrouvé ses amis Adair de Cambridge et Pedersen d'Upsala, deux pionniers qui comme lui ont fort contribué à la détermination des masses moléculaires des protéines, le Professeur J. T. G. Overbeek d'Utrecht, qui s'intéressait également aux calculs sur l'ionisation des macromolécules, et son ami le Professeur Marcel Florkin de l'Université de Liège, célèbre par ses livres sur la biochimie, qui comme lui s'intéressait à l'origine de la vie et donc à l'évolution des protéines.

Cette note biographique serait par trop incomplète si on n'y ajoutait que Monsieur Putzeys, qui malgré qu'il soit toujours resté empreint d'une extrême modestie, a cependant beaucoup apprécié d'avoir été fait Président d'Honneur des Chemici Lovanienses. Il était membre fondateur de la Koninklijke Vlaamse Academie voor Geneeskunde van België, mais en 1941 opté de passer à la Koninklijke Vlaamse Academie voor Wetenschappen, Letteren en Schone Kunsten van België. Il était également membre fondateur de la Société Belge de Biochimie, dont il devint président de 1956 à 1958. En 1970 il est fait membre d'honneur de la Vlaamse Chemische Vereniging.

Il décéda à Heverlee le 20 mars 1983. Tous ceux qui ont connu le Professeur Putzeys garderont de lui le souvenir d'un scientifique aimant la précision et toujours à l'affût des derniers progrès et des plus récentes découvertes.

Gisèle Préaux et René Lontie
Laboratorium voor Biochemie
K.U. Leuven
Dekenstraat 6
3000 Louvain

Références

1. P. Putzeys & J. Brosteaux
The scattering of light in protein solutions.
Trans. Faraday Soc. 31, 1314-1325 (1935)
2. P. Putzeys & E. Dory
Sur le calcul de la correction d'absorption dans les mesures de la diffusion moléculaire de la lumière.
Ann. Soc. Scient. Bruxelles Sér. I, 60, 37-44 (1940)

3. P. Putzeys & P. Van de Walle
The influence of electrolytes on the electrophoretic mobility
of serum albumin and hæmocyanin.
Trans. Faraday Soc. 36, 32-38 (1940)
4. P. Putzeys & L. Bouckaert
The ionization of proteins. I.
Med. Koninkl. Vl. Acad. Wetensch. België 4, N° 3, 1-28
(1942)