

secondes environ, au terme de laquelle il subit une désintégration alpha et donne l'élément 112, avec 171 neutrons. Ce dernier se désintègre par fission spontanée en trois minutes.

Par ces expériences, nous avons confirmé l'existence de l'îlot de stabilité et nous commençons à apprécier ses effets. La période de notre isotope de l'élément 114 à 175 neutrons est plus de 1 000 fois supérieure à la période de son isotope à 171 neutrons, qui est produit au cours de la chaîne de désintégrations de l'élément 118, et qui a été découvert au printemps 1999, au Laboratoire Lawrence Livermore, à Berkeley. Notre isotope de l'élément 112 à 173 neutrons est un million de fois plus stable que son isotope à 165 neutrons, découvert à Darmstadt en 1996. Ces périodes relativement longues de nos produits de synthèse par fusion facilitent leur étude, ce qui pourrait modifier notre vision des propriétés fondamentales de la matière.

Entre juin et octobre 1999, nous avons aussi obtenu l'isotope de l'élément 114 à 174 neutrons (nous avons réussi à synthétiser deux atomes). L'observation de la désintégration de cet isotope laisse penser que les éléments superlourds pourraient être encore plus stables que ne le prévoit la théorie. L'étude des limites de la stabilité nucléaire est promise à un grand avenir. En conjuguant leurs efforts, les chercheurs parviendront peut-être même à résoudre, pour l'élément 114, le problème considéré comme le plus délicat du processus de synthèse d'un nouvel élément : lui trouver un nom qui convienne à tous ceux qui ont contribué à sa découverte.

Iouri OGANESSION et Vladimir UTYONKOV sont chercheurs au Laboratoire Flerov des réactions nucléaires à l'Institut de recherche nucléaire de Dubna. KENTON Moody travaille au département de chimie analytique et nucléaire du Laboratoire Lawrence Livermore.

Glenn T. SEABORG et Walter LOVELAND, *Search for the Missing Elements*, in *New Scientist*, vol. 131, n° 1784, p. 29, août 1991.

Transuranium Elements : A Half Century, sous la direction de Lester R. Morss et J. Fuger, American Chemical Society, 1992.

Peter ARMBRUSTER et Fritz Peter HESSBERGER, *La création de nouveaux éléments*, in *Pour la Science*, novembre 1998.

SOS génome : réparation et évolution

TAMARA (FRANÇOIS TADDEI • IVAN MATIC • MIROSLAV RADMAN)

La vie repose sur un équilibre fragile entre stabilité et modification des gènes : conservatisme et mutations excessives nuisent. Des systèmes de mutations activés «à la demande» semblent être la clé de la réussite adaptative des bactéries, qui disposent d'une boîte à outils moléculaires sans cesse plus perfectionnée.

L'évolution, la stratégie première de la vie, est fruit de deux mécanismes indépendants, la mutagenèse, qui produit les mutations sources de variabilité, et la sélection naturelle des individus les mieux adaptés. La théorie néo-darwinienne stipule qu'au sein d'une population il existe une variabilité génétique et que sont sélectionnés les gènes qui ont la plus grande valeur adaptative, c'est-à-dire qui optimisent les chances d'un individu d'avoir une descendance nombreuse.

Avant Darwin, le grand évolutionniste était Lamarck. Selon les propositions de ce dernier, reformulées en termes modernes, la mutagenèse serait dirigée par la pression de sélection de façon à ne créer que des mutations «utiles», concept rejeté par la quasi-totalité des évolutionnistes d'aujourd'hui. Toutefois, en 1988, John Cairns et ses collègues de l'Université Harvard ont ébranlé cette conviction par des expériences qui semblaient montrer que la bactérie *Escherichia coli* était capable de «diriger» les mutations adaptatives qui permettaient sa croissance.

Cette hypothèse lamarckienne, selon laquelle les bactéries seraient capables de transmettre à leur descendance des caractères utiles acquis sous l'effet d'une pression de sélection, a agité la communauté des généticiens. Depuis, l'hypothèse a été invalidée : on a montré que ce que l'on pensait être un événement lamarckien macroscopique n'était en fait que la somme de plusieurs effets darwiniens microscopiques. Quoi qu'il en soit, cette controverse a eu le mérite

incontestable de stimuler les recherches dans le domaine de l'évolution des mécanismes adaptatifs.

Que savons-nous des interactions de l'environnement et de la mutagenèse ? D'une part, les bactéries disposent de nombreux mécanismes de prévention et de réparation des erreurs produites lors de leur reproduction, lorsque l'ADN est recopié par la machinerie cellulaire, et, d'autre part, la plupart des erreurs qui se produisent dans un génome sont neutres ou délétères. On a donc longtemps pensé que le taux de mutation était nécessairement minimal, car tout mécanisme qui engendre des mutations semblait avoir un coût trop élevé face au bénéfice que confèrent les rares mutations favorables. Toutefois, ce taux n'est pas nul, parce que les systèmes qui assurent l'intégrité du génome ont un «coût biologique».

Or, cette assertion d'un taux nécessairement minimal est aujourd'hui rejete-

tée : on a montré que un pour cent des bactéries ont naturellement des taux de mutation élevés et que la fréquence des bactéries mutatrices est ainsi 100 fois supérieure à ce qu'elle serait si les bactéries étaient parfaitement adaptées. On a récemment observé qu'un taux de mutation élevé semble favoriser l'évolution, l'adaptation et, par conséquent, la survie des populations de bactéries soumises à un stress ou à une carence (par exemple, à un manque de nutriments). Au début des années 1970, l'un d'entre nous (Miroslav Radman) a montré que les bactéries «décident» de muter, c'est-à-dire qu'un mécanisme génétiquement contrôlé est déclenché quand elles sont soumises à un stress endommageant l'ADN, par exemple les rayonnements.

Nous montrerons, ici, que la mutagenèse n'est plus le mal nécessaire qu'il faut à tout prix minimiser, nous décrivons la boîte à outils des bactéries qui

1. LA BACTÉRIE MUTATRICE, PREMIÈRE DE CORDÉE : dans ce paysage adaptatif, le degré d'adaptabilité des bactéries a été schématisé. Dans la nature, les bactéries naturellement mutatrices (*en rouge*) sont plus abondantes que si toutes les mutations produites étaient délétères. Une bactérie non mutatrice sauvage (*en bleu*) dans un environnement favorable évolue peu : ses systèmes de réparation de l'ADN sont efficaces, et son génome est scrupuleusement recopié. Au contraire, chez les bactéries mutatrices, les mutations s'accumulent rapidement. Parfois apparaît un mutant favorable, qui est mieux adapté aux conditions environnantes et qui prolifère : il réussit à gravir les différents obstacles (la terre, les cailloux, les parois rocheuses), parce qu'il acquiert de nouvelles fonctions qui l'aident à survivre. Au contraire, très peu de bactéries non mutatrices réussissent l'ascension. La bactérie mutatrice la mieux adaptée, la «première de cordée», parvient la première au col le plus élevé. Péniblement, une bactérie non mutatrice y parvient également. Lorsque les conditions sont stabilisées, la bactérie mutatrice continue à accumuler les mutations qui finissent par être fatales : beaucoup d'entre elles meurent. La bactérie non mutatrice mal adaptée aux conditions difficiles de l'ascension retrouve des conditions stables et elle redevient prédominante. Parfois s'échappe une mutatrice encore mieux adaptée : elle s'attaque à une paroi encore plus difficile.

leur sert à réparer les génomes endommagés, et nous verrons que, si l'environnement ne dirige pas les mutations (comme le voudrait la théorie néo-lamarckienne), il peut en augmenter la fréquence, et que les mutations conférant une meilleure adaptation sont alors sélectionnées.

Conservation de l'intégrité du génome

Quelque trois milliards d'années d'évolution sont gravées, généralement sous forme d'ADN (ou d'ARN pour certains virus), dans les séquences d'acides nucléiques (les briques constitutives du génome). La fonction biologique des protéines est sous le contrôle de l'«ADN-mémoire» : la molécule d'ADN est la mémoire moléculaire la plus fiable que l'on connaisse. Au contraire, les protéines sont trop instables pour être le support de l'information génétique. Ainsi, le taux d'erreur dans la synthèse de l'ADN est d'environ un nucléotide sur un milliard (10^{-9}), ce qui est notablement inférieur au taux d'erreur lors de la synthèse des ARN (10^{-5}), laquelle est dix fois plus précise que celle des protéines (10^{-4}).

D'où vient cette stabilité remarquable de l'ADN ? Cette molécule n'est pas une entité chimique particulièrement robuste, et subit sans cesse l'attaque des radicaux libres oxydants, des réactions d'hydrolyse (la molécule perd des bases entières ou des groupes présents sur ces bases, laissant la place à des vides ou à des appariements de bases erronés), ou encore l'assaut d'agents physiques et chimiques de

l'environnement. Toutefois, toute une panoplie de protéines a été sélectionnée parce qu'elle garantit la stabilité de l'ADN et, par conséquent, de l'information génétique. Certaines protéines assurent la protection et d'autres la réparation, maintenant la structure de l'ADN contre vents et marées moléculaires. Examinons ces stratégies de prévention et de réparation.

Certains mécanismes interviennent lorsque le brin d'ADN est recopié, d'autres après. L'ADN peut être réparé par élimination des nucléotides qui portent des altérations : le brin d'ADN est alors dégradé, puis resynthétisé. Un autre mécanisme possible est celui de la réparation par recombinaison. Au cours de ce mécanisme, des fragments de chromosomes s'échangent, de sorte que ces appariements et réarrangements réintroduisent parfois dans un chromosome une séquence génique manquante qui aurait été dégradée lors d'un stress environnemental.

Les conditions préparatoires étant remplies, l'ADN doit être recopié. La

copie fidèle n'est possible que si les ingrédients pour la synthèse de l'ADN ont été purifiés. La machine de copie est un dispositif haute fidélité : lors de la division des cellules, l'ADN se dédouble, et chaque brin sert de modèle pour la fabrication d'un brin complémentaire ; l'enzyme ADN polymérase synthétise le nouveau brin en enchaînant les uns aux autres les nucléotides complémentaires de ceux qu'elle rencontre sur le brin modèle (face à un nucléotide qui contient une base adénine, elle en ajoute un qui contient une thymine et, à une guanine, elle adjoint une cytosine, et réciproquement). L'enzyme ADN polymérase recopie les brins d'ADN en fabriquant un «collier» d'oligonucléotides complémentaires de ceux qui constituent les brins simples.

Une autre enzyme, l'exonucléase, s'assure que la copie ne contient pas d'erreurs. Quand elle en détecte, les nucléotides erronés sont retirés. Le taux d'erreur global de la machinerie de copie de l'ADN est de l'ordre de 10^{-7} . Ce taux d'erreur est notablement réduit par les



dispositifs de corrections d'erreurs qui entrent en scène après la réplication.

La copie terminée, un dernier contrôle de qualité est effectué par le système de réparation des mésappariements. Quand la protéine MutS détecte une erreur d'appariement (par exemple, une guanine a été placée en face d'une thymine au lieu d'une cytosine, ou bien une base est restée non appariée), les protéines MutH et MutL viennent à la rescousse (voir la figure 3). Le brin nouvellement synthétisé, que la machinerie de réparation distingue du brin modèle, parce que le degré de méthylation de ce dernier (le nombre de groupes méthyle, $-CH_3$, qu'il contient) est supérieur, est découpé à proximité de l'erreur ; une séquence d'environ 1 000 bases, qui contient l'erreur, est retirée, et la construction d'une nouvelle séquence correcte recommence. Ces étapes successives de surveillance assurent une fiabilité telle qu'un seul nucléotide sur un milliard est mal apparié, ce qui correspond, chez les micro-organismes à ADN, à une mutation pour 300 génomes répliqués.

Pourtant, malgré tous ces mécanismes de prévention des erreurs de copie et de réparation, des fautes se produisent. Or, la survie à long terme des populations naturelles, encore nommées populations sauvages, repose sur leur capacité à s'adapter aux changements imprévisibles de l'environnement, grâce à la variabilité génétique, fondée sur les mutations et les recombinaisons. Comme nous l'avons souligné, on a longtemps admis que les taux de mutation sont aussi faibles que possible ; s'ils ne sont pas nuls c'est en raison du «coût» de tous les mécanismes qui éviteraient ou répareraient totalement les mutations. Or on peut trouver, en laboratoire, des bactéries dont la précision dans la construction de l'ADN est supérieure à 10^{-9} : on en déduit que la nature ne recherche pas la fiabilité maximale.

Ces considérations sur la fiabilité et l'efficacité de la réplication de l'ADN prennent une tout autre dimension quand on relie cette fiabilité aux capacités adaptatives des bactéries. Nous allons montrer que les bactéries favorisées par la sélection naturelle, celles qui réussissent le mieux à s'adapter à des conditions de stress métabolique ou génotoxique (toxique pour le génome), sont celles qui produisent davantage de mutations, celles dont les systèmes de réparation des mutations sont inactifs : le «fatras» géné-

tique qui tend à augmenter le taux de mutation peut alors améliorer l'adaptation au milieu. Dans certaines conditions, l'efficacité serait sélectionnée au détriment de la fidélité génétique. Chez les bactéries, il vaut mieux être approximatif et rapide que précis et lent.

Les mutations aléatoires créent de nouveaux allèles (un allèle est l'une des variantes d'un gène présentes dans une population), tandis que les recombinaisons donnent de nouvelles combinaisons des allèles existants (la recombinaison peut aussi se produire au sein d'un même gène). La plupart des mutations ponctuelles sont délétères ou neutres, très peu sont avantageuses, c'est-à-dire favorables d'un point de vue adaptatif. Chez les bactéries, les mutations délétères sont environ 10 000 fois plus fréquentes que les favorables. Ainsi, pour produire de nouvelles mutations favorables, sans que les mutations délétères soient trop nombreuses dans la même cellule, on peut envisager deux scénarios : un taux de mutation faible dans une large population (le taux de mutation est faible, mais, la population étant nombreuse, les chances de voir apparaître une mutation favorable sont élevées) ou un taux élevé de mutation dans une population plus restreinte : dans ces conditions, les mutations délétères sont nombreuses, mais une mutation favorable a aussi des chances de se produire.

Toutefois, quand le taux de mutation est trop élevé, les quelques mutations intéressantes risquent d'être portées par les organismes qui ont aussi des mutations délétères. Ainsi, pour qu'un mutant adapté (c'est-à-dire ne portant que la mutation favorable) apparaisse, il faut soit que le taux de mutation soit inférieur à une mutation par génome, soit qu'il y ait une recombinaison des génomes mutés : les quelques mutations intéressantes ont ainsi des chances d'être séparées des mutations délétères.

Pour relier l'évolution des taux de mutation chez les bactéries à leur degré d'adaptation, plusieurs expériences ont été réalisées sur l'entérobactérie *Escherichia coli*. Ce sont des bactéries fréquentes et anodines qui résident dans l'intestin des animaux à sang chaud, notamment des mammifères, mais qui deviennent parfois pathogènes. Chez l'homme, elles sont menacées par le système immunitaire et par les antibiotiques, mais aussi, lorsqu'elles sont rejetées dans l'environnement, par les conditions drastiques

auxquelles elles sont exposées. Comme tous les autres parasites, elles satisfont au principe de la Reine rouge : elles ne survivent qu'à condition de «courir» génétiquement plus vite que le système immunitaire de leur hôte, d'une part, et que l'arsenal thérapeutique humain, de l'autre. Or les maladies «émergentes» se multiplient, et les bactéries résistant aux antibiotiques également : les bactéries semblent gagner sur les deux fronts.

Évolution en laboratoire

C'est l'équipe de Richard Lenski, à l'Université du Michigan, qui, depuis plus de dix ans, a commencé l'une des expériences fondatrices de l'«évolution expérimentale» des bactéries, expérience qui a révélé l'amélioration de l'adaptation des bactéries à leur milieu. Ils ont réalisé des cultures de bactéries : la colonie fondatrice a été placée dans 12 tubes dont le contenu a été dilué, tous les jours, depuis dix ans. Les 20 000 générations (voire même davantage) obtenues dans chaque tube ont évolué dans les mêmes conditions de laboratoire, un milieu stable et «non stressant». Cette expérience répond en partie à une question que se posent tous les biologistes de



2. LA REINE ROUGE du roman de Lewis Carroll, *De l'autre côté du miroir*, court sans cesse tout en restant sur place, car le paysage qui l'entoure avance aussi vite qu'elle. Une bactérie

l'évolution : si l'on «rembobinait la cassette de l'évolution», c'est-à-dire si l'on se replaçait dans les conditions de l'apparition de la vie, l'évolution reprendrait-elle le même chemin ?

L'équipe de R. Lenski a constaté qu'une grande partie de l'évolution est reproductible : dans les 12 tubes, les bactéries sont mieux adaptées que leurs ancêtres, c'est-à-dire qu'elles utilisent mieux les ressources. En revanche, l'adaptation n'a pas toujours été la même, certaines voies métaboliques ayant été favorisées dans certaines populations, d'autres dans les autres. On en conclut que l'adaptation au milieu ne cesse de croître, mais que les chemins adaptatifs diffèrent.

Le fait le plus étonnant de cette expérience est que, sur les 12 populations, quatre sont devenues des mutatrices : elles mutent 100 fois plus vite que la population initiale, car elles ont un défaut de leur système de réparation de l'ADN. Cette découverte est contraire aux prévisions de R. Lenski et de ses collègues, qui attendaient un taux de mutation minimal : ils supposaient qu'une fois les bactéries adaptées à leur milieu, le taux de mutation diminue pour se stabiliser à un niveau faible. Cette expérience montre que, malgré

les innombrables mutations délétères qui se produisent, l'infime proportion de mutations favorables confère un tel avantage au mutateur qu'il prend le dessus sur le reste de la population.

Nous avons fait une simulation informatique de l'expérience de R. Lenski en introduisant tous les paramètres de l'expérience : nous avons trouvé la même proportion de mutateur que notre collègue (25 à 30 pour cent), et montré qu'un mutateur est sélectionné à condition d'avoir accumulé au moins quatre mutations favorables. Dans ce travail effectué en collaboration avec Bernard Godelle, de l'Université de Montpellier, Pierre-Henri Gouyon, à la faculté d'Orsay, Bruno Toupance et John Maynard-Smith, nous avons montré que les taux de mutation augmentent quand les bactéries doivent s'adapter à de nouvelles conditions et qu'ils restent élevés tant que leur adaptation n'est pas achevée.

Par ailleurs, divers mécanismes moléculaires qui assurent une telle augmentation du taux de mutation ont été décrits. On distingue des systèmes mutateurs constitutifs, qui fonctionnent en permanence, des systèmes mutateurs inductibles, qui ne sont activés que dans certaines conditions drastiques, et des sites de contingence, des

«points chauds» dans le génome, qui sont très souvent le siège d'erreurs de réplication. Ces trois dispositifs font partie de la boîte à outils moléculaire des bactéries, où l'on trouve également des mécanismes de transfert et de capture de gènes sur lesquels nous reviendrons.

Les mutateurs chanceux

Dans la nature, les mutateurs constitutifs représentent quelques pour-cent des souches bactériennes. Ils sont dépourvus du mécanisme de contrôle de qualité qui corrige les erreurs de réplication de l'ADN, ce qui a pour conséquence une augmentation des taux de mutation et de recombinaison dans tout le génome. C'est précisément le cas dans l'expérience de R. Lenski. Les gènes responsables de cet effet sont les gènes *mut*. Normalement, ces gènes ont un rôle antimutateur ; quand ils sont mutés, le taux de mutation augmente. Les mutateurs constitutifs ont généralement perdu un allèle fonctionnel de leur système de réparation des mésappariements, par inactivation d'un des gènes *mutS*, *mutL*, *mutU* ou *mutH*.

Lorsque l'on met en compétition, dans le même milieu de culture, deux populations de taille équivalente, l'une de type sauvage et l'autre d'un mutateur *mut*, les mutateurs gagnent inévitablement ; en revanche, le plus souvent, les mutateurs perdent lorsqu'ils sont minoritaires. Néanmoins, des mutateurs apparaissent inévitablement dans les cultures bactériennes, et, parmi eux, certaines bactéries acquièrent une mutation adaptative favorable (elles se développent plus rapidement que les autres) avant d'être elles-mêmes handicapées par des mutations délétères plus fréquentes que chez les bactéries qui se reproduisent plus fidèlement. Les mutateurs «chanceux» se multiplient et deviennent suffisamment nombreux pour qu'il soit de plus en plus improbable que tous dégénèrent en même temps à cause des mutations délétères. Les mutateurs «chanceux», qui portent à la fois les gènes mutateurs et les allèles conférant un meilleur pouvoir d'adaptation, dépassent bientôt en nombre le type sauvage plus lent à s'adapter et finissent par coloniser tout le milieu de culture.

Quand la mutation qui inactive les gènes *mut* est une délétion irréversible, la culture, isolée dans un tube à essai, reste un mutateur durant des années,



Reine rouge (à droite) court également pour échapper aux antibiotiques créés par l'homme et aux agents du système immunitaire. Chacun des acteurs de ce surprenant marathon tente de dépasser les autres, et court aussi vite que possible pour rester immobile. Aujourd'hui, certaines bactéries, par exemple celles qui résistent aux antibiotiques, semblent prendre l'avantage.

quasi indéfiniment. Si ces bactéries se développaient dans la nature, l'une d'elles pourrait acquérir un système de réparation des mésappariements fonctionnel, par échange d'ADN avec des bactéries d'une souche sauvage.

Ce type adapté redeviendrait alors non mutateur et il dépasserait rapidement en nombre le mutateur adapté, car ce dernier continuerait à accumuler des mutations potentiellement dangereuses. Le génotype adapté redevenu non mutateur dépasserait également le type sauvage non mutateur, dont le degré d'adaptation est inférieur à celui du type adapté resté mutateur. Le système de réparation des mésappariements d'un mutateur constitutif peut ainsi être restauré par un transfert horizontal de gènes. Les biologistes de l'évolution ont acquis la certitude que ce phénomène s'est produit plusieurs fois au cours de l'évolution.

Les barrières génétiques entre des espèces bactériennes apparentées disparaissent chez les mutateurs dont le système de réparation des erreurs de réplication est défectueux, car les erreurs de recombinaison génétique ne sont ni repérées ni corrigées ; c'est ce que l'on nomme le phénotype *hyper-rec* des bactéries dont le système de réparation des mésappariements est déficient. Chez les bactéries, les gènes homologues de différentes espèces se recombinent avec une facilité étonnante – on constate même des échanges de larges fractions de génomes entre microbes appa-

rentés –, notamment dans les bactéries dont les gènes *mutS* et *mutL* ont été inactivés. Par ailleurs, en l'absence de ces gènes, le polymorphisme (ou variabilité génétique) augmente, en raison de l'accumulation de mutations. Quand les systèmes de réparation des mésappariements sont restaurés, si la divergence des gènes (le polymorphisme) est trop marquée, les gènes, trop différents, ne s'échangent plus entre espèces bactériennes. Dès lors, on s'interroge : le système de réparation des mésappariements est-il l'un des instruments de l'évolution divergente des bactéries ? Quoi qu'il en soit, le phénotype *hyper-rec* des bactéries mutatrices permet l'apparition de nouveaux génomes mosaïques et, même, de nouveaux gènes mosaïques, sources potentielles de nouvelles activités enzymatiques et de nouveaux métabolites.

Mutateurs inducibles : le système sos

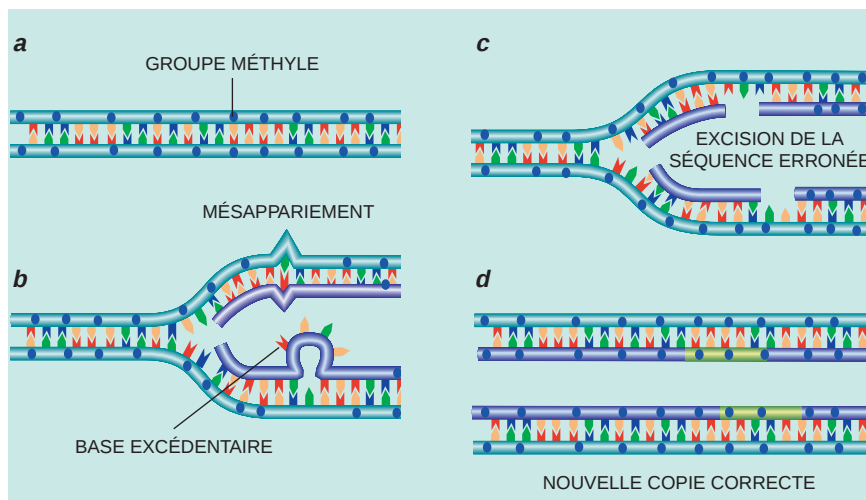
Mutagenèse et degré d'adaptation (également nommée valeur sélective) d'une population sont parfois antinomiques, surtout quand un taux de mutation élevé persiste après l'apparition d'une mutation favorable. Les mutateurs inducibles, c'est-à-dire les bactéries sauvages où les activités mutatrices temporaires sont génétiquement programmées, sont une façon de réduire le coût de la mutagenèse adaptative. Chez ces bactéries, les gènes mutateurs ne sont activés qu'en

réaction à une forte pression de sélection, et ils sont réprimés lorsque cesse le stress ou la carence.

Le système SOS des bactéries est l'exemple type d'un système mutateur inductible : contrairement au système de réparation des mésappariements, il n'intervient qu'en cas de stress notable. Chez ces bactéries, dès que l'ADN est lésé, l'ADN polymérase s'arrête de recopier le génome ; la protéine RecA facilite le clivage la protéine LexA, qui est le frein du système SOS (voir la figure 4). Dès que LexA est clivée (découpée), le système SOS, qui code une vingtaine de protéines, est activé. Les protéines de réparation assure la restauration du génome. Le système SOS contrôle divers gènes de recombinaison (*recA*, *recN*, *recQ*, *ruvA*, *ruvB*) et des enzymes mutases (*UmuC*, *UmuD* et *DinB*) qui favorisent l'accumulation des mutations : quand les bactéries subissent un stress génotoxique ou une carence, des gènes mutateurs normalement inhibés (*umuC*, *umuD* et *dinB*) sont activés. Lorsque le stress disparaît et que les conditions normales sont restaurées, en raison d'une adaptation génétique ou d'une modification favorable de l'environnement, les activités des gènes mutateurs et des gènes de recombinaison sont réduites.

Ces mutases sont des ADN polymérases très particulières : elles assurent la réplication de l'ADN, mais font beaucoup d'erreurs d'appariements des bases. Elles autorisent que des brins qui portent des lésions soient recopiés, permettant ainsi la survie de la bactérie (une ADN polymérase « normale » s'arrête dès qu'elle rencontre un brin endommagé). Cependant, comme elles augmentent le taux d'erreur, même en l'absence de lésions exogènes, le taux de mutation croît. Ces polymérases peu fiables ont vraisemblablement été sélectionnées pour permettre aux bactéries, d'une part, de faire face aux lésions, mais aussi, d'autre part, de produire, en cas de stress ou de carence, de nombreuses mutations, dont certaines ont une chance d'être adaptatives.

Ainsi, la sélection naturelle favoriserait une augmentation du taux de mutation lorsque les conditions ne sont plus favorables à la croissance. Si l'environnement ne semble pas diriger les mutations, il peut en augmenter la fréquence dans des situations de stress, même en l'absence de lésions exogènes de l'ADN : plus d'une souche bactérienne sur deux, isolée dans la nature, serait un mutateur inductible.



3. LE SYSTÈME DE RÉPARATION DES MÉSAPPARIEMENTS garantit que les brins d'ADN recopiés par la machinerie cellulaire des bactéries ne comporte pas d'erreurs. Lorsque les brins d'ADN modèles, caractérisés par les groupes méthyle qu'ils portent (a), sont recopiés, il se produit parfois des erreurs d'appariement : par exemple une adénine est placée face à une cytosine, ou des bases excédentaires sont introduites dans la séquence (b). La protéine de réparation MutS détecte l'erreur, active les protéines MutL et MutH et des enzymes qui découpent les zones lésées (c). La copie des brins erronés reprend et l'on obtient deux doubles brins corrects qui sont progressivement méthylés, comme les brins d'origine.

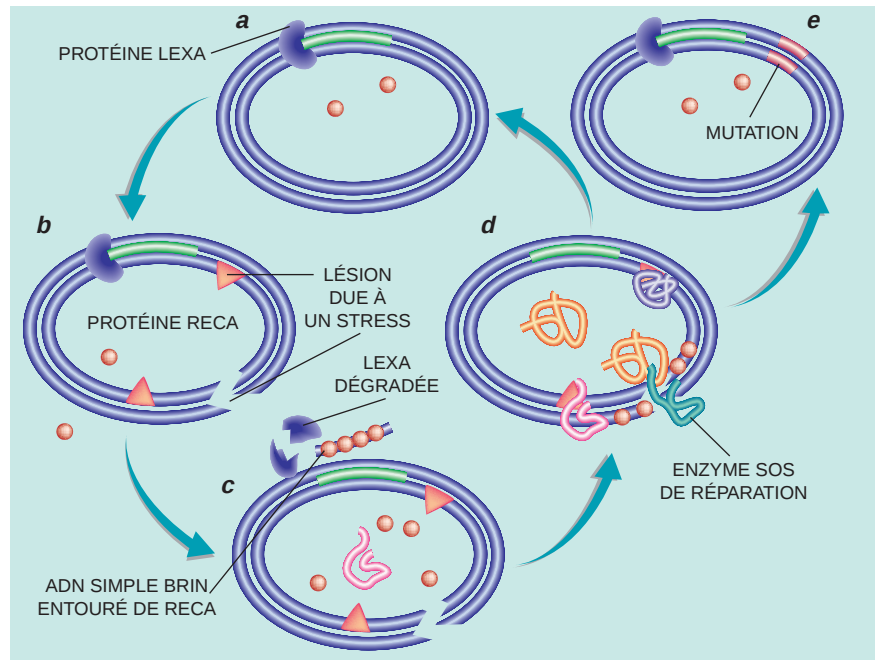
Les sites de contingence

Les événements de mutation sont particulièrement nombreux dans certaines régions du génome nommées locus ou sites de contingence. Certains pathogènes, tels les parasites et les bactéries, ont des groupes de gènes hypermutables qui, généralement, codent des molécules de surface que reconnaît le système immunitaire. Ces séquences hypermutables, les sites de contingence, permettent aux agents pathogènes de tirer parti de l'environnement tout en augmentant leur degré d'adaptation. La recombinaison, au sein d'un même génome ou entre génomes différents, augmente encore la probabilité qu'apparaissent des variants dont les antigènes de surface diffèrent.

Ces stratégies qui produisent de la variabilité génétique ont été adoptées par de nombreux parasites et par les bactéries, qui augmentent ainsi la diversité de leurs antigènes de surface : de cette façon, ces micro-organismes échappent au système immunitaire de l'hôte. Pour rendre leurs gènes hypermutables lorsque la pression de sélection est élevée, ils utilisent un stratagème qui a probablement été sélectionné par une alternance de pressions de sélection qui favorisaient l'expression des protéines de surface ou qui s'y opposaient. Dans les gènes codant ces protéines ou dans les régions situées en amont (dites promotrices) des motifs simples sont répétés ; ils sont constitués de séquences d'ADN courtes (de une à cinq paires de bases). Lorsque ces séquences courtes répétées sont recopiées, les ADN polymérases piétinent devant cette accumulation de motifs identiques, et se trompent.

Ces erreurs dues au glissement de la polymérase sont jusqu'à 10 000 fois plus probables qu'une substitution de bases, mais elles sont très bien corrigées par le système de réparation des mésappariements. Dans les souches sauvages, mais surtout dans les mutateurs dépourvus de système de réparation des mésappariements, ces séquences répétées augmentent les risques d'une mutation qui décale le cadre de lecture des gènes codant les antigènes de surface, de sorte que les protéines produites sont tronquées, ou qui modifie l'expression des gènes (voir la figure 5).

La longueur des motifs qui sont répétés dans les sites de contingence diffère d'une espèce de bactéries à une autre : courts chez *Helicobacter pilori* et *Mycobacterium*



4. LE SYSTÈME SOS aide les bactéries à survivre aux lésions de l'ADN. Normalement, ce système est inhibé par la protéine LexA (a). En cas de stress (b), l'ADN est lésé, la protéine RecA est activée et forme un filament autour des brins simples d'ADN libérés lors de la dégradation ; cet ensemble dégrade la protéine LexA dont le rôle répresseur cesse (c). L'inhibition du système SOS est levée, et des enzymes de réparation commencent à être synthétisées. Certaines lésions (en orange) sont réparées : les délétions sont comblées et les bases endommagées remplacées (d). Quand la réparation est complète, la bactérie est identique à la bactérie d'origine et le système SOS est à nouveau mis au repos par la protéine LexA. Certaines lésions (en rouge, e) peuvent être transformées en mutations ; elles donnent alors naissance à de nouvelles protéines potentiellement avantageuses. Le système SOS confère temporairement une aptitude supérieure à la normale à réparer l'ADN endommagé, mais aussi à muter. Parce qu'il ne répare pas toutes les lésions fidèlement, et qu'il active des polymérases peu fidèles, il augmente la variabilité génétique.

plasma genitalium, ils sont plus longs chez *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus influenzae*. Notons qu'*Helicobacter* et *Mycoplasma* sont dépourvues d'un système de réparation des mésappariements classique. Étant donné la spécificité des systèmes de réparation des mésappariements chez les bactéries (réparation très efficace d'une ou de deux bases mal appariées, mais peu ou pas de réparation de plus de trois paires mal appariées) et étant donné le fait que l'ADN polymérase est d'autant plus infidèle que la séquence répétée est courte, on peut se demander si le taux de mutation des séquences répétées dans les sites de contingence n'a pas été optimisé.

Ces sites de contingence sont des «points chauds» de mutation et ils permettent de passer rapidement d'une population de bactéries qui expriment une protéine de surface particulière, ce qui peut être avantageux dans un environnement donné, à un variant qui ne l'exprime pas, ce qui serait intéressant pour la bactérie si les anticorps de l'hôte reconnaissent ses antigènes. Ces points chauds de muta-

tion agissent donc comme des «interrupteurs génétiques».

Ainsi, en plus des mutateurs qui modifient le taux de mutation de l'ensemble du génome et qui sont des mutateurs généralisés à tout le génome, tels le système de réparation des mésappariements – constitutif et généralisé – et le système SOS – inductible et généralisé –, des mutateurs localisés ne touchent qu'une partie du génome : les sites de contingence sont des mutateurs constitutifs localisés ; certains types de recombinaison qui permettent l'intégration ou la transposition de séquences d'ADN, grâce à des enzymes spécifiques, sont des mutateurs inductibles localisés. Ce type de mutations ciblées sur des gènes spécifiques ou sur certaines séquences représente encore un progrès vers l'optimisation du prix à payer pour la production de mutations favorables dans les gènes de contingence. Ces mécanismes moléculaires permettent l'émergence d'agents pathogènes qui présentent des antigènes modifiés que les anticorps ne reconnaissent pas.

Ces agents pathogènes, qui exploitent les failles du système immunitaire, sélectionnent alors des mécanismes moléculaires qui engendrent, chez l'hôte, un nouveau répertoire d'anticorps. Citons à nouveau la Reine rouge, «pour rester au même endroit, il faut courir aussi vite que possible». Et la course continue, sans interruption : les pressions de sélection varient avec le temps, obligeant micro-organismes et systèmes immunitaires à évoluer en permanence. Le devenir d'un système qui engendre de la variabilité génétique est vraisemblablement lié à l'intensité des pressions de sélection qu'il subit. Si les points chauds de mutation jouent un rôle notable dans la genèse de mutations, lorsque la pression de sélection est récurrente, ils ne sont pas associés aux mécanismes d'acquisition d'une résistance aux antibiotiques, laquelle ne peut survenir qu'en raison d'une mutation ponctuelle ou du transfert horizontal d'un gène de résistance.

Une autre façon d'accélérer la vitesse d'évolution consiste à augmenter les échanges génétiques, ce qui permet le transfert de fonctions préalablement sélectionnées. Ainsi, les bactéries peu-

vent acquérir des séquences chromosomiques portant un gène de résistance d'une autre souche d'autant plus facilement que le système de réparation des mésappariements est inactivé, de façon transitoire ou permanente. Toutefois, les gènes de résistance sont souvent portés par des plasmides (des «minichromosomes» circulaires qui peuvent se propager d'une bactérie à une autre) et des transposons (des éléments mobiles qui «sautent» d'un génome à un autre).

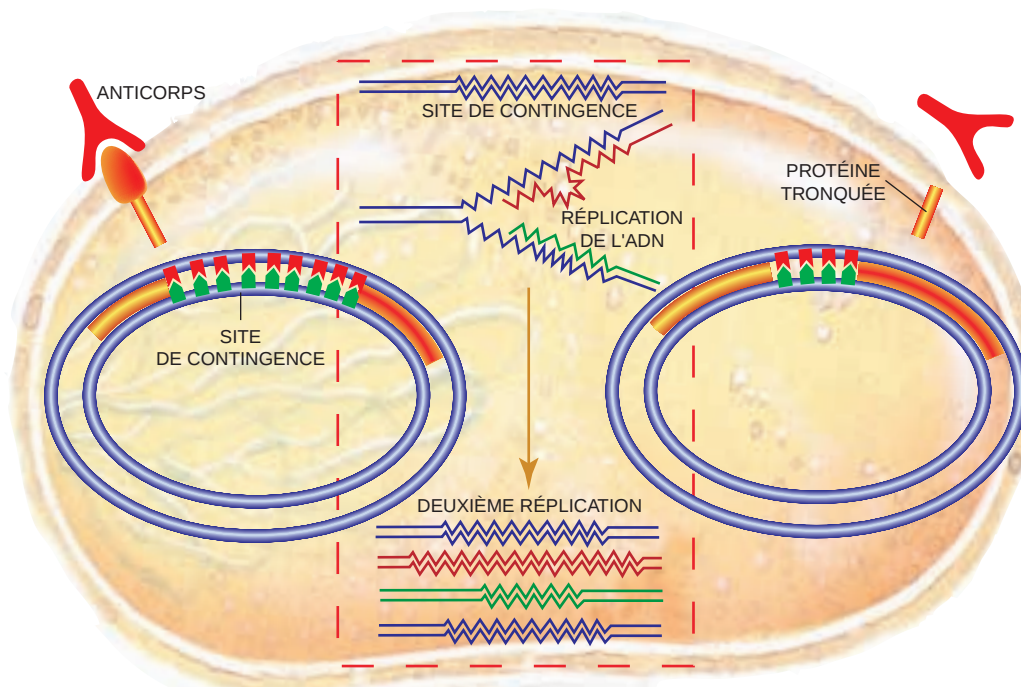
Évolution et résistance aux antibiotiques

Ces éléments mobiles que l'on qualifie souvent d'égoïstes ou de parasites, cherchent à optimiser leur survie, même au détriment du reste du génome. Ainsi, un prophage (un ADN de virus intégré à un chromosome bactérien) peut quitter une bactérie hôte dont la survie est menacée ; il entraîne la lyse. Ce type de comportement égoïste est fréquent, surtout pour les gènes portés par les plasmides et les transposons. Lors d'un stress, un plasmide peut survivre à son hôte en

quittant le navire bactérien ; il est alors transféré à d'autres bactéries, qui expriment les gènes qu'il contient. De plus, au cours d'un stress, on constate une augmentation de la mobilité des éléments transposables et une augmentation du transfert des plasmides. Ces mécanismes ne semblent pas dirigés par la pression de sélection que subit la bactérie, mais correspondraient à une réaction sélectionnée par l'évolution pour augmenter la survie des ADN parasites. Or ces éléments transférables portent souvent des gènes qui permettent aux bactéries de résister aux antibiotiques.

Normalement les antibiotiques agissent en inhibant la transcription de l'ADN bactérien en ARN, ou en empêchant la fabrication des protéines bactériennes, ou encore celle de la paroi des nouvelles bactéries, qui se vident alors de leur contenu. Toutefois, les bactéries ont acquis divers moyens de contrecarrer ces actions : certaines produisent des usines à protéines (les ribosomes) que les antibiotiques ne reconnaissent pas et, par conséquent, n'inactivent pas ; certaines enzymes bactériennes inactivent les antibiotiques ; certains canaux qui permettent normalement aux antibiotiques de pénétrer dans les bactéries restent obturés ; enfin, des «pompes» refoulent vers l'extérieur tout antibiotique qui aurait réussi à pénétrer dans la bactérie (voir la figure 6).

Ces résistances sont acquises par des mutations qui se transmettent ensuite «verticalement» d'une génération à la suivante, tandis que les plasmides peuvent non seulement se transmettre «verticalement» comme les chromosomes, mais aussi «horizontalement», en passant d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. Les plasmides se multiplient au même rythme que le chromosome bactérien et sont transférés à toute la descendance des bactéries qui les portent. Quand une bactérie est résistante en raison d'un gène plasmidique, toute sa descendance est résistante. De surcroît, les plasmides de résistance peuvent être transférés horizontalement à d'autres espèces de bactéries. Ainsi, les plasmides favorisent la dissémination de la résistance. Ces transmissions de gènes sont d'autant plus redoutables que les plasmides portent souvent plusieurs gènes de résistance, notamment des gènes codant des enzymes qui inactivent les antibiotiques. La multirésistance portée par les plasmides est



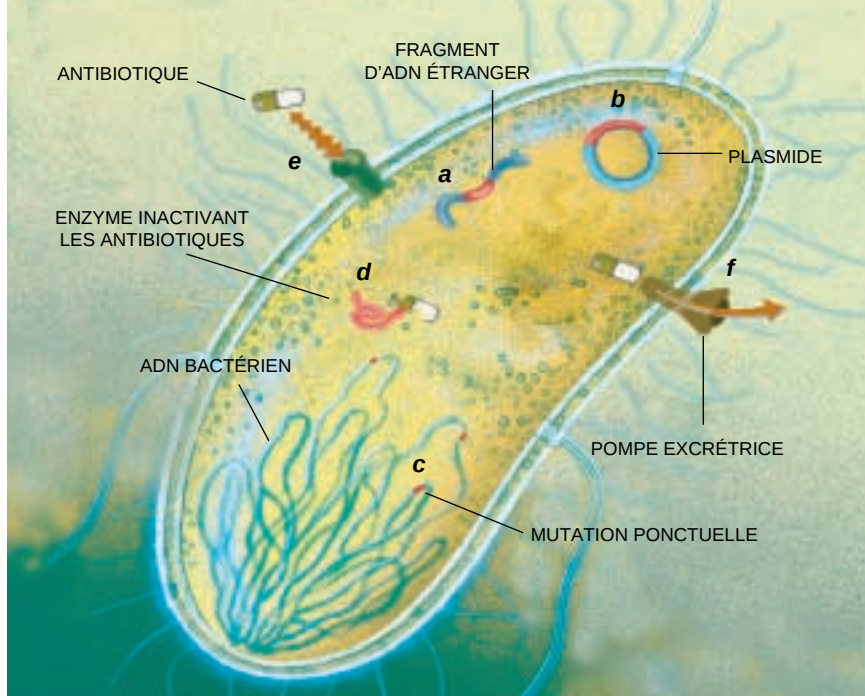
5. LES SITES DE CONTINGENCE sont constitués de séquences répétées, par exemple de paires adénine-thymine (en vert et rouge). Quand l'ADN polymérase recopie les gènes qui contiennent de telles séquences, elle trébuche et se trompe (au centre) : les séquences répétées (le zigzag vert et le rouge dans le cadre en pointillés) sont soit trop longues (en rouge), soit trop courtes (en vert). Après une deuxième réplication de l'ADN, les bactéries qui héritent de l'ADN identique à l'ADN initial produisent des protéines fonctionnelles. Au contraire, les bactéries qui ont des séquences répétées trop longues ou trop courtes codent des protéines tronquées. Ces protéines sont souvent des antigènes de surface : quand elles sont tronquées, le système immunitaire de la personne infectée ne les reconnaît pas. Les sites de contingence sont une des ruses utilisées par les bactéries pour déjouer les défenses immunitaires.

souvent due à des éléments génétiques nommés intégrons qui permettent l'intégration de plusieurs gènes de résistance (ou cassettes) sous le contrôle d'un même promoteur.

À nouveau, les bactéries ont «bricolé» avec les outils dont elles disposaient ou qu'elles ont acquis. Didier Mazel, de l'Institut Pasteur, et Julian Davies, de l'Université de Vancouver, ont montré que des bactéries *Vibrio* conservées depuis l'«ère pré-antibiotique» étaient déjà pourvues d'un système d'intégrons. En revanche, *Escherichia coli* en était dépourvue et l'a donc acquis par transfert horizontal en raison de la pression de sélection imposée par l'homme (par l'intermédiaire des antibiotiques). Les bactéries acquièrent et amplifient certaines fonctions, et leur boîte à outils moléculaires évolue ; les intégrons et les plasmides se sont propagés avec les gènes de résistance aux antibiotiques qu'ils ont contribué à rassembler et à disséminer.

L'évolution de cette boîte à outils a des conséquences graves en termes de santé publique : on peut craindre qu'en raison de cet arsenal, les bactéries soient de mieux en mieux préparées pour échapper aux antibiotiques, et que les nouveaux antibiotiques aient une «espérance de vie» (le temps que mettraient des bactéries résistantes à apparaître et à se propager) notablement inférieure à celle des premiers antibiotiques.

Les bactéries ne sont pas les seules cellules à subir une mutagenèse qui leur est favorable, mais qui est défavorable pour l'homme. Ainsi, des mutations favorisent l'adaptation des cellules tumorales au détriment de l'homme, même si, contrairement aux bactéries, elles sont vouées à l'extinction. Ces cellules égoïstes se multiplient aux dépens des autres cellules, s'adaptant aux conditions environnantes tout en diminuant la valeur adaptative de l'individu. Étant donné que bactéries pathogènes et cellules cancéreuses sont soumises à des pressions de sélection qui se ressemblent, on s'interroge : utilisent-elles les mêmes stratégies ? Quasi toutes les cellules tumorales sont instables génétiquement ; on observe soit des instabilités chromosomiques, soit des taux de mutation élevés. Dans de nombreux cancers (notamment dans les cas familiaux de cancer du colon), on observe une instabilité des séquences microsatellites ; on a montré que cette prédispo-



6. LA RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES s'acquiert de diverses façons. Les bactéries peuvent «absorber» de l'ADN libre qui contient éventuellement des gènes de résistance (a). Les plasmides (de l'ADN circulaire) contiennent très souvent de tels gènes ; ils sont transférables d'une bactérie à une autre (b). Des mutations ponctuelles (c) sont parfois favorables aux bactéries. Les mutations ou les gènes acquis par transfert ont diverses conséquences : de nouvelles enzymes qui inactivent les antibiotiques sont synthétisées (d) ; les pores qui laissent pénétrer les antibiotiques sont obturés (e), de sorte que la substance pharmacologique ne pénètre plus dans la bactérie ; ou encore des «pompes» membranaires (f) expulsent les antibiotiques dès qu'ils pénètrent dans la bactérie.

sition familiale au cancer était due à un défaut du système de réparation des mésappariements. Ce sont les gènes humains homologues des gènes *mutS* et *mutL* bactériens qui sont responsables de ces cancers. Une fois encore, l'étude des mécanismes moléculaires fondamentaux a des conséquences inattendues et cruciales pour la compréhension des pathologies humaines.

Les bactéries sont-elles des «bricoleurs malades» qui font d'innombrables erreurs et qui ne les réparent pas, car cela leur «coûterait» trop cher, ou des ingénieurs en génie génétique qui ont «décidé» de faire des erreurs, et acquis au cours de l'évolution des stratégies de survie et d'adaptation dont on n'a pas encore mesuré

tout le degré d'élaboration ? À chaque fois qu'une stratégie adaptative est sélectionnée, la boîte à outils moléculaires des bactéries est encore améliorée. Les mutateurs, loin d'être des bactéries représentant des culs-de-sac de l'évolution, en sont au contraire des éléments clés. En combinant les différents outils de la boîte, les bactéries acquièrent des compétences nouvelles, qui leur permettent de «courir» toujours plus vite et de s'adapter à de nouveaux environnements. La Reine rouge affirme que, pour avancer, il faut courir au moins deux fois plus vite que les autres. La médecine rattrapera-t-elle les pathogènes dont on avait espéré qu'ils seraient définitivement distancés par les antibiotiques et les vaccins ?

François TADDEI, ingénieur du génie rural des eaux et forêts, détaché à l'INSERM, et Ivan MATIC, chercheur au CNRS, mènent leurs recherches dans le Laboratoire de génétique moléculaire évolutive et médicale dirigé par Miroslav RADMAN, à la Faculté de médecine Necker-Enfants malades - Université Paris V.

M. RADMAN et R. WAGNER, *La réplication de l'ADN : un mécanisme «haute fidélité»*, in *Pour la Science*, n° 132, octobre 1988.

F. TADDEI et al., *Mutagenèse et adaptation*, in *Médecine/Sciences*, n° 3, vol. 13, mars 1997.

I. MATIC et al., *Highly Variable Mutation Rates in Comensal and Pathogenic E. coli*, in *Science*, n° 277, pp. 1833-1834, 1997.

R. MOXON et al., *ADN et évolution*, in *Pour la Science*, n° 255, pp. 84-89, mars 1999.

M. VULIC et al., *Mutation, Recombination, and Incipient Speciation of Bacteria in the Laboratory*, in *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 96, pp. 7348-7351, 1999.

M. RADMAN et al., *Evolution of Evolvability*, in *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, vol. n° 870, pp. 146-155, 1999.

