

> Il faut aussi tenir compte de la diffraction de la lumière, qui produit sur le capteur des taches un peu plus grandes qu'un pixel. *In fine*, Daniel Fletcher et ses collègues ont obtenu une résolution de l'ordre de 5 micromètres sur un champ de vision de 10 millimètres carrés.

BIEN ÉCLAIRER L'ÉCHANTILLON

Utiliser un objectif supplémentaire identique à celui du téléphone ne suffit pas, cependant. Il faut aussi placer et éclairer l'échantillon correctement! Pour le positionnement, le développement des techniques d'impression 3D a changé la donne, car on peut produire en série et pour un coût modique des coques où s'insèrent, par un simple clip, l'objectif, la lame porte-échantillon et le téléphone. Reste le problème de l'illumination.

En microscopie optique, l'éclairage le plus souvent utilisé est en transmission (la lumière traverse l'échantillon). Les raisons sont multiples et liées à la nécessité d'avoir assez de lumière au niveau de l'œil malgré le fort grossissement, à l'encombrement du système d'éclairage, au fait qu'on s'intéresse à l'intérieur de l'échantillon (des cellules biologiques par exemple) plutôt qu'à sa surface...

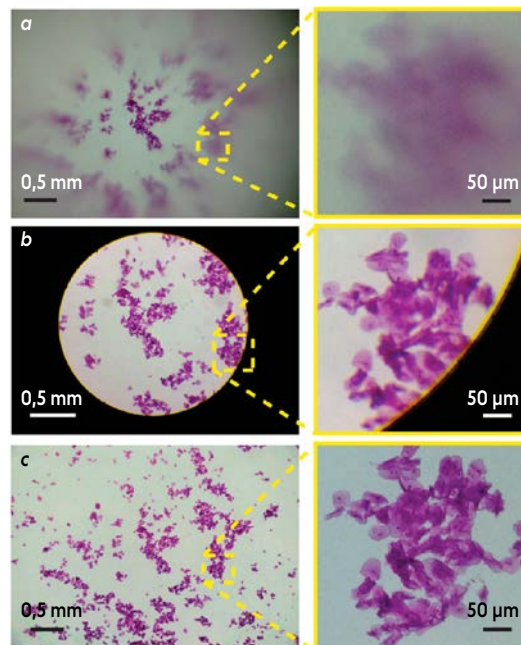
Dans les microscopes à base de smartphone, on faisait appel jusqu'à tout récemment à une source externe, par exemple une simple LED dont l'éclairage est rendu à peu près uniforme en intercalant un filtre diffuseur sur le trajet optique. Cet ajout était-il nécessaire? Jeremy Thompson, Brant Gibson et deux collègues, aux universités RMIT et d'Adélaïde, en Australie, ont tout récemment montré que non.

Cette équipe a eu l'idée d'utiliser le puissant flash qu'intègrent la plupart des smartphones et de créer dans la coque support des tunnels qui guident la lumière du flash vers une paroi de la coque, puis acheminent la lumière ainsi diffusée jusqu'au capteur photo en passant à travers l'échantillon (voir l'encadré page précédente). Ainsi, nul besoin d'ajouter un quelconque miroir ou écran dans le dispositif, que l'on peut donc toujours fabriquer en monobloc.

La résine noire dont est faite la coque absorbe certes de la lumière, mais elle en diffuse suffisamment pour éclairer convenablement l'échantillon. Des 45 milliwatts nominaux du flash ne subsistent que 2 microwatts au niveau de l'échantillon. L'atténuation est forte, mais cet éclairage correspond à la puissance que l'échantillon recevrait à environ 2 mètres

DES IMAGES DE BONNE QUALITÉ

En associant un objectif supplémentaire identique (mais en position inversée) à celui du téléphone portable, on obtient des images microscopiques de bonne qualité (c), meilleures que celles obtenues en associant au téléphone une petite bille de verre (a) ou un dispositif constitué d'un oculaire et d'un objectif (b). Il s'agit ici d'images de cellules épithéliales colorées. On constate notamment qu'avec le dispositif à deux objectifs, le champ de vision est plus vaste et sans distorsions, comparé au champ de vision des deux autres dispositifs.



du flash. Cette illumination suffit, tout en évitant de saturer le capteur de l'appareil photographique.

Par ailleurs, grâce à la diffusion de la lumière, les rayons qui éclairent l'échantillon sont d'inclinaisons très variées, ce qui permet de bien profiter de l'ouverture de l'objectif. La taille de la surface diffuse et sa distance à l'échantillon sont choisies en conséquence.

Mieux encore, ce microscope ambulancier peut fonctionner même quand le flash est éteint. En effet, en l'absence d'éclairage direct, on obtient quand même, sous certaines conditions, une image: la lumière ambiante peut se réfléchir plusieurs fois sur les faces de la lame porte-échantillon, qui sert alors de guide de lumière, jusqu'à être diffusée par l'échantillon lui-même. Grâce aux tunnels au sein de la coque de résine, seule cette lumière diffusée traverse les objectifs et atteint le capteur photographique.

L'image ainsi obtenue est donc sur fond noir. C'est particulièrement utile pour observer des objets presque transparents, comme le sont notamment certains organismes aquatiques.

L'équipe australienne a ainsi démontré que leur microscope mobile permet d'observer des noyaux cellulaires, du zooplancton, des spermatozoïdes... sur fond noir ou sur fond clair, selon les cas. ■

BIBLIOGRAPHIE

A. Orth et al., **A dual-mode mobile phone microscope using the onboard camera flash and ambient light**, *Scientific Reports*, vol. 8, article 3298, 2018.

N. A. Switz et al., **Low-cost mobile phone microscopy with a reversed mobile phone camera lens**, *PLoS One*, vol. 9(5), article e95330, 2014.

J.-M. Courty et É. Kierlik, **Un microscope pour moins d'un euro**, *Pour la Science* n° 443, pp. 86-88, septembre 2014.

POUR LA SCIENCE

Édition française de Scientific American

**COMPLÉTEZ VOTRE COLLECTION
DÈS MAINTENANT !**



N° 490 (août 18)
réf. PL490



N° 489 (juillet 18)
réf. PL489



N° 488 (juin 18)
réf. PL488



N° 487 (mai 18)
réf. PL487



N° 486 (avril 18)
réf. PL486



N° 485 (mars 18)
réf. PL485



N° 484 (févr. 18)
réf. PL484



N° 483 (janv. 18)
réf. PL483



N° 482 (déc. 17)
réf. PL482



N° 481 (nov. 17)
réf. PL481



N° 480 (oct. 17)
réf. PL480



N° 479 (sept. 17)
réf. PL479

À retourner accompagné de votre règlement à :

Pour la Science – Service VPC – 19 rue de l'Industrie – BP 90053 – 67402 Illkirch Cedex – email : pourlascience@abopress.fr



OUI, je commande des numéros de Pour la Science,
au tarif unitaire de 9,90 €.

1 / JE REPORTE CI-DESSOUS LES RÉFÉRENCES à 5 chiffres
correspondant aux numéros commandés :

1^{re} réf. _____ x 9,90 € = _____ €
2^e réf. _____ x 9,90 € = _____ €
3^e réf. _____ x 9,90 € = _____ €
4^e réf. _____ x 9,90 € = _____ €
5^e réf. _____ x 9,90 € = _____ €
6^e réf. _____ x 9,90 € = _____ €

TOTAL À RÉGLER _____ €

Groupe Pour la Science – Siège social : 170 bis, boulevard du Montparnasse, CS20012, 75680 Paris
Cedex 14 – Sarl au capital de 32000 € – RCS Paris B 311 797 393 – Siret : 311 797 393 000 23 – APE 5814 Z

Offre valable jusqu'au 31/12/2019 en France Métropolitaine uniquement. Pour l'export, rendez-vous sur notre site internet boutique.pourlascience.fr. Les prix affichés incluent les frais de port et les frais logistiques.
Les informations que nous collectons dans ce bulletin d'abonnement nous aident à personnaliser et à améliorer les services que nous vous proposons. Nous les utiliserons pour gérer votre accès à l'intégralité de nos services, traiter vos commandes et paiements, et vous faire part notamment par newsletters de nos offres commerciales moyennant le respect de vos choix en la matière. Le responsable du traitement est la société Pour la Science. Vos données personnelles ne seront pas conservées au-delà de la durée nécessaire à la finalité de leur traitement. Pour la Science ne commercialise ni ne loue vos données à caractère personnel à des tiers. Les données collectées sont exclusivement destinées à Pour la Science. Nous vous invitons à prendre connaissance de notre charte de protection des données personnelles à l'adresse suivante : <https://rebrand.ly/charte-donnees-pls>. Conformément à la réglementation applicable (et notamment au Règlement 2016/679/UE dit « RGPD ») vous disposez des droits d'accès, de rectification, d'opposition, d'effacement, à la portabilité et à la limitation de vos données personnelles. Pour exercer ces droits (ou nous poser toute question concernant le traitement de vos données personnelles), vous pouvez nous contacter par courriel à l'adresse protection-donnees@pourlascience.fr.

2 / J'INDIQUE MES COORDONNÉES

☐ M. ☐ Mme

Nom : _____

Prénom : _____

Adresse : _____

Code postal _____ Ville : _____

Téléphone _____

J'accepte de recevoir les offres de Pour la Science ☐ OUI ☐ NON

3 / JE CHOISIS MON MODE DE RÈGLEMENT

☐ Par chèque à l'ordre de Pour la Science

☐ Carte bancaire

N° _____

Date d'expiration _____

Clé (les 3 chiffres au dos de votre CB) _____

Signature obligatoire :



RETROUVEZ TOUS LES ANCIENS NUMÉROS SUR
BOUTIQUE.POURLASCIENCE.FR

L'AUTEUR



HERVÉ LE GUYADER
professeur émérite de biologie
évolutive à Sorbonne
Université, à Paris

LA LEVURE DE BOULANGER VIENT DE CHINE

En étudiant la diversité des lignées de la levure *Saccharomyces cerevisiae*, des généticiens sont remontés aux sources de cette espèce.

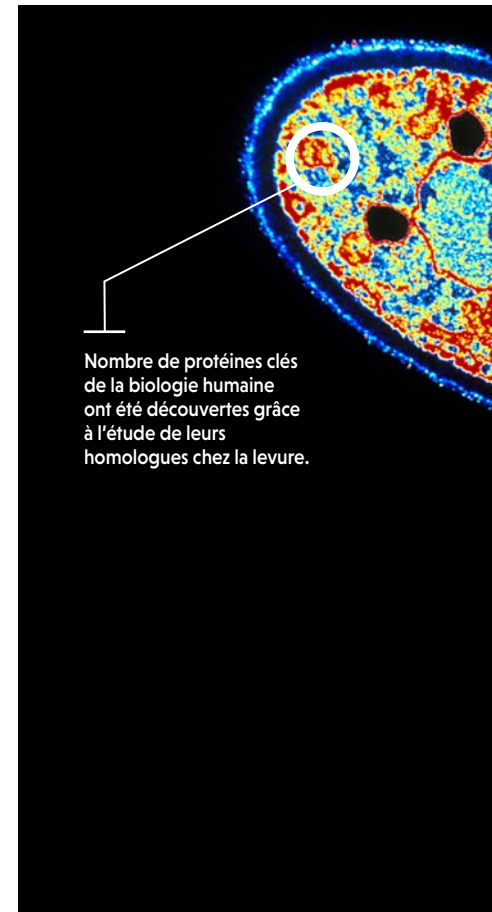
Pain, vin, bière... toutes les civilisations ont fait fermenter des aliments à l'aide de *Saccharomyces cerevisiae*, la levure de bière ou levure de boulanger. Mais qui a commencé? Très probablement les Chinois. C'est ce qu'a récemment révélé une vaste étude de l'évolution de son génome. En séquençant plus d'un millier de génomes complets de souches de levure prélevées dans le monde entier, Joseph Schacherer, à l'université de Strasbourg, Gianni Liti, à l'université de Nice, et Patrick Wincker, au Genoscope, à Évry, ont montré que si ce champignon unicellulaire a été domestiqué à maintes reprises de façon indépendante, il n'a qu'une seule origine: une souche ancestrale qui prospérait en Chine.

Dès l'aube de la microbiologie moderne, *S. cerevisiae* est devenue un organisme modèle sous l'impulsion de Louis Pasteur. Dans les années 1870, en étudiant la fermentation du vin et de la bière, ce dernier a mis en évidence que la levure est capable de respirer en présence

d'oxygène et de fermenter (et donc produire de l'alcool) en son absence. Et si, dans les années 1960, l'étude de bactéries et de leurs virus a entraîné l'essor de la biologie moléculaire, à partir des années 1990, la levure, une cellule eucaryote (c'est-à-dire à noyau) facile à cultiver en laboratoire, a été essentielle pour, par exemple, comprendre le rôle et la génétique des mitochondries, ces petits compartiments qui fournissent de l'énergie aux cellules à noyau. En 1996, le génome de *S. cerevisiae* fut le premier génome eucaryote à être entièrement séquencé. Or, depuis quelques années, les coûts ont tellement chuté qu'il est possible de séquencer le génome de multiples souches de levure et de les comparer – en d'autres termes d'effectuer une génomique des populations de la levure.

UNE PHYLOGÉNIE DE 1 011 LEVURES!

Un premier projet, le 1000 Fungal Genomes Project, lancé en 2011, a pris pour objectif le séquençage de génomes



Nombre de protéines clés de la biologie humaine ont été découvertes grâce à l'étude de leurs homologues chez la levure.

Sur cette photo prise en microscopie électronique à transmission, de fausses couleurs soulignent l'anatomie de la levure.

EN CHIFFRES

12 millions

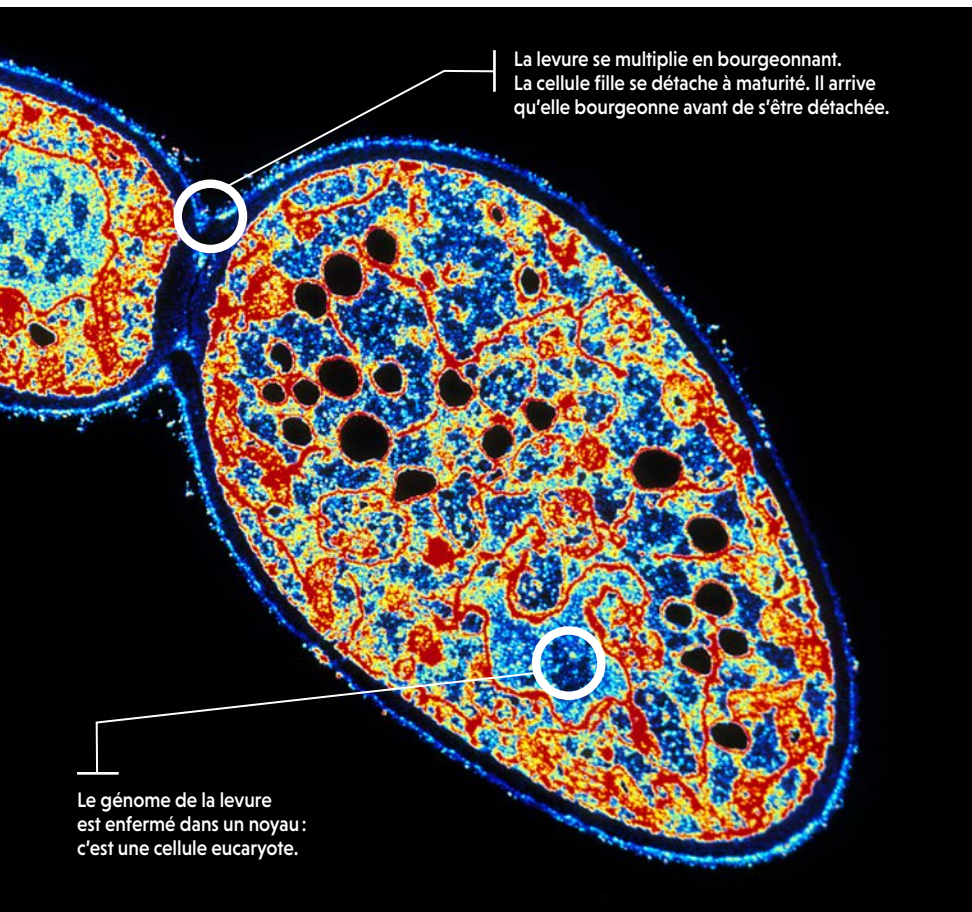
Les 16 chromosomes de la levure *S. cerevisiae* constituent un génome de 12 millions de paires de bases, soit presque trois fois la taille de celui de la bactérie *Escherichia coli*.

2 920

C'est le nombre moyen de générations qu'une levure produit par an, soit environ 8 par jour.

15 000

La levure *S. cerevisiae* serait sortie de Chine il y a environ 15 000 ans. C'est ce qu'ont estimé les chercheurs en testant un modèle d'évolution moléculaire avec leurs données.



La levure se multiplie en bourgeonnant. La cellule fille se détache à maturité. Il arrive qu'elle bourgeonne avant de s'être détachée.

Le génome de la levure est enfermé dans un noyau : c'est une cellule eucaryote.



Levure de boulanger
(*Saccharomyces cerevisiae*)
Taille : 5 à 10 μm

d'espèces proches de la levure et d'autres champignons plus éloignés. Et déjà 800 génomes sont décryptés. Puis en 2013, Joseph Schacherer a décidé de se consacrer à la seule espèce *S. cerevisiae* afin d'en étudier la diversité génétique. Celle-ci se révèle bien plus importante que celle de l'espèce humaine ! Elle est corrélée à la géographie, aux niches environnementales de la levure et à son exploitation comme ferment.

Plusieurs types de modifications génétiques contribuent à créer cette diversité : des variations (polymorphismes) sur des nucléotides isolés (les constituants de l'ADN), des insertions ou pertes (délétions) de séquences, un nombre variable de copies de gènes, des variations

structurelles telles que des déplacements de séquences (translocations) ou le changement du nombre de chromosomes. Autant d'indices pour construire une phylogénie. Devant l'ampleur du travail, l'équipe de Joseph Schacherer s'est associée à celles de Gianni Liti et de Patrick Wincker afin de séquencer 1 011 génomes de levures de toutes origines et de traiter *in silico* une telle base de données.

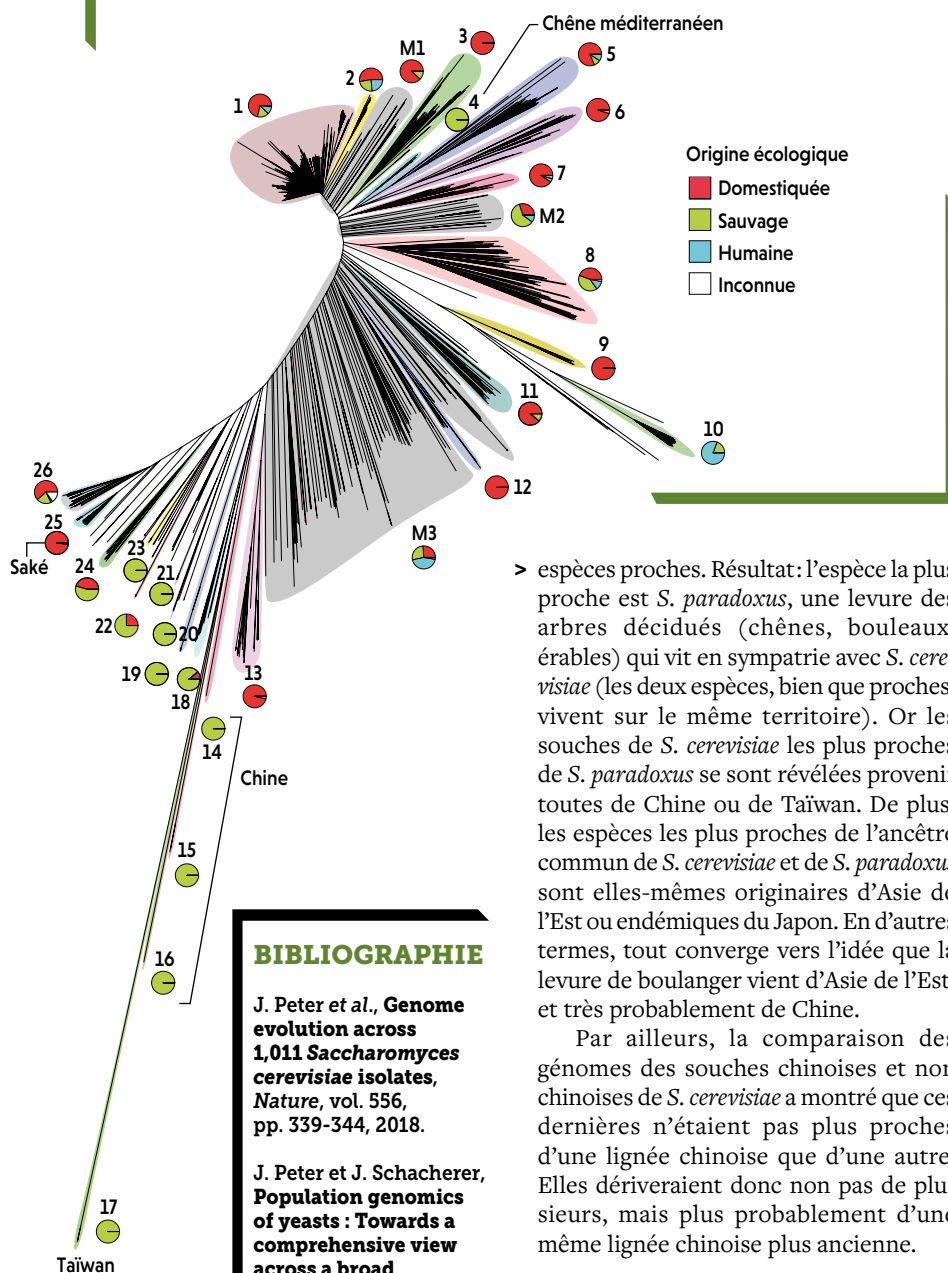
DES COUSINES EN ASIE

La plupart des souches (813) se regroupent en 26 lignées (voir l'encadré page 96). Parmi elles, les souches sauvages et domestiquées sont en général bien séparées, hormis quelques exceptions actuellement incompréhensibles. Ainsi, des levures sauvages vivant sur les chênes méditerranéens se retrouvent parmi les lignées domestiquées, tandis que les souches de la fermentation du saké, toutes issues d'une souche isolée au Japon à la fin du XIX^e siècle, rejoignent les levures sauvages.

Mais le résultat phare apparaît lorsque l'on recherche l'origine de l'espèce *S. cerevisiae*. Pour ce faire, les chercheurs ont construit, en s'appuyant sur un modèle moléculaire décrivant la dynamique temporelle d'évolution de l'ADN, un arbre probabiliste rassemblant toutes les souches de *S. cerevisiae*, ainsi que des ➤

L'ARBRE DE LA LEVURE

Pour que l'arbre phylogénétique de la levure *S. cerevisiae* soit représentatif de la diversité de l'espèce, les chercheurs ont collecté des souches sur l'ensemble des continents, dans les différentes activités humaines associées (fermentation de produits laitiers, de pain, de vin, de saké, de bière...) et dans les diverses niches écologiques sauvages de la levure (insectes, arbres, fleurs). Dans l'arbre ci-dessous, chaque trait désigne une souche. Plus deux souches sont génétiquement proches, plus leurs traits le sont. On distingue ainsi 26 lignées (numérotées de 1 à 26) et 3 groupes mosaïques inclassables (en gris).



> espèces proches. Résultat : l'espèce la plus proche est *S. paradoxus*, une levure des arbres décidus (chênes, bouleaux, érables) qui vit en sympatrie avec *S. cerevisiae* (les deux espèces, bien que proches, vivent sur le même territoire). Or les souches de *S. cerevisiae* les plus proches de *S. paradoxus* se sont révélées provenir toutes de Chine ou de Taïwan. De plus, les espèces les plus proches de l'ancêtre commun de *S. cerevisiae* et de *S. paradoxus* sont elles-mêmes originaires d'Asie de l'Est ou endémiques du Japon. En d'autres termes, tout converge vers l'idée que la levure de boulanger vient d'Asie de l'Est, et très probablement de Chine.

Par ailleurs, la comparaison des génomes des souches chinoises et non chinoises de *S. cerevisiae* a montré que ces dernières n'étaient pas plus proches d'une lignée chinoise que d'une autre. Elles dériveraient donc non pas de plusieurs, mais plus probablement d'une même lignée chinoise plus ancienne.

UNE FORTE EMPREINTE DE LA DOMESTICATION

L'origine de la levure est loin d'être la seule information que fournit cette base de données. Ainsi structurée en arbre phylogénétique, elle permettra de suivre pas à pas les diverses domestications, les duplications de gènes et les transferts

horizontaux – en d'autres termes les dynamiques des génomes au sein de l'arbre. On s'aperçoit déjà, par exemple, que la domestication a un effet crucial sur la structure de l'arbre. Des lignées correspondent ainsi aux levures inféodées à des substrats précis : vins européens, bioéthanol brésilien, laiterie française, bière africaine, agave mexicain, cacao africain, vin de palme africain, saké japonais...

La réunion de ces 1011 génomes permet aussi d'établir le pangénome, c'est-à-dire l'ensemble des gènes trouvés chez la levure : on en compte 7796, séparés en 4940 gènes majeurs, dont il n'existe qu'une copie dans le génome et qui régissent les grandes fonctions de la cellule, et 2856 gènes variables, présents souvent en plusieurs copies, jouant un rôle dans les métabolismes secondaires et les réactions aux stress. Les gènes majeurs sont situés au centre des chromosomes, près du centromère, tandis que les gènes variables sont aux extrémités des chromosomes, les télomères. On comprend donc que les échanges se font surtout à ces extrémités.

UNE LEVURE SYNTHÉTIQUE ÉVOLUTIVE

On pourrait aller plus loin encore. Depuis 2011, un projet international, le *Sc2.0 Project*, cherche à synthétiser un génome eucaryote complet, celui de la levure *S. cerevisiae*. Les premiers génomes de synthèse, comme celui du virus de la poliomyélite en 2003 ou celui, près de mille fois plus gros, de la bactérie *Mycobacterium mycoides*, en 2010, étaient déjà des prouesses techniques. Mais dans le projet *Sc2.0*, les chercheurs ont trouvé le moyen de rendre le génome de synthèse capable d'évoluer. Après insertion de sites particuliers près des gènes non essentiels, l'induction du système utilisé, nommé *Scramble*, favorise les translocations, insertions et suppressions de ces gènes. L'objectif ? Trouver le génome minimum autonome.

Mais au-delà de ce génome minimum, la configuration scientifique actuelle est inédite et profondément novatrice. D'un côté, une base de données contenant la variabilité de 1011 génomes de levure, résultat d'histoires évolutives naturelles ou de domestications. De l'autre, un outil moléculaire offrant des génomes synthétiques évolutifs. De là à combiner les deux approches pour imiter en accéléré les longues dynamiques de l'évolution et en décoder les processus, il n'y a qu'un pas. ■

BIBLIOGRAPHIE

J. Peter et al., **Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates**, *Nature*, vol. 556, pp. 339-344, 2018.

J. Peter et J. Schacherer, **Population genomics of yeasts : Towards a comprehensive view across a broad evolutionary scale**, *Yeast*, vol. 33, pp. 73-81, 2016.

J. Dymond, J. Boeke, **The *Saccharomyces cerevisiae* SCRaMbLe system and genome minimization**, *Bioeng. Bugs*, vol. 3, pp. 168-171, 2012.

L'AUTEUR



HERVÉ THIS
physicochimiste,
directeur du Centre
international de
gastronomie moléculaire
AgroParisTech-Inra, à Paris

POUPÉES RUSSES DE LIQUIDES ET DE SOLIDES

En s'aidant de la congélation,
on peut confectionner des systèmes
composés de couches concentriques
alternativement solides et liquides.



Quand les contrastes sont forts, la perception est stimulée. C'est quand on met du noir sur du blanc que l'on a le plus de contraste visuel, et la musique sait combien le silence est important pour accentuer certaines notes: «Le vase donne sa forme au vide, et la musique au silence», disait Georges Braque.

En cuisine? Pour ce qui est de la consistance, le solide et le liquide font le maximum de contraste. Comment réunir les deux éléments dans une même bouchée? Précédemment, dans le numéro de juillet, nous avons considéré une généralisation des bonbons de chocolat sous le nom de cryptand; mais on peut faire bien mieux. Ce que nous proposons aujourd'hui, c'est de jouer avec du froid pour réaliser un système de sphères emboîtées: du liquide dans du solide, ce solide étant lui-même dans du liquide, etc. Comment y parvenir? Il existe de nombreuses méthodes, mais je vous propose la suivante.

Partons d'un bâtonnet de vanille mis au grand froid, tel celui du congélateur. Quand le bâtonnet est bien refroidi, plongeons-en l'extrémité dans du jus d'orange à la limite de la congélation (on l'aura mis également au congélateur, mais moins longtemps). L'extrémité du bâtonnet se charge de jus d'orange, qui forme alors une mince couche congelée.

Nous remplaçons ensuite le bâtonnet au congélateur pour que cette couche soit non seulement solidifiée, mais aussi très froide. Puis nous ressortirons le bâtonnet et nous le plongerons une deuxième fois dans le jus d'orange à la limite de la congélation, de sorte que, après une

Il est possible de réaliser des «pommes d'amour» qui ressemblent à celles-ci, mais dont l'intérieur est liquide.

succession de tels trempages et de remises au froid, nous obtenions, au bout du bâtonnet, une boule de jus d'orange congelé aussi grosse que souhaité. Quand le système sera finalement terminé et qu'il sera porté à la température ambiante, cette boule redeviendra liquide, formant la sphère interne.

Pour faire une première coque solide, les possibilités sont nombreuses. On utilise souvent le chocolat ou le beurre de cacao fondus pour enrober les glaces. Trempions donc brièvement notre boule de jus d'orange glacée dans du beurre de cacao à la limite de la solidification, c'est-à-dire vers 34°C: le beurre de cacao se solidifie autour du jus d'orange.

Reste à faire la seconde couche sphérique liquide: nous procéderons comme précédemment, avec une alternance de remises au froid et de trempages dans un liquide, jusqu'à obtenir l'épaisseur souhaitée. Il faudra enfin envelopper tout cela dans une couche solide et, là encore, on pourra utiliser le trempage dans le beurre de cacao.

Ce type de manipulations permet de réaliser plus de deux alternances liquide-solide, mais l'utilisation du congélateur est fastidieuse et la production de systèmes emboîtés est longue. On pourrait avec profit se servir d'azote liquide, qui permet des congélations immédiates puisque, au lieu de refroidir à -20°C, on atteint immédiatement la température de -196°C.

Le beurre de cacao n'est pas la seule matière qui forme un solide en refroidissant: les pâtisseries ont ainsi l'habitude d'utiliser des sirops concentrés et, là, on se souviendra utilement que la température de 127,4°C est celle à partir de laquelle un sirop soudainement refroidi fait un système «vitreux», solide et amorphe comme le verre à vitre. ■



LA RECETTE

- 1 Par une alternance de trempages de l'extrémité d'un bâtonnet dans du jus d'orange et de passages au congélateur, former une boule de jus d'orange glacée (on peut aussi aller plus vite en plongeant un bâtonnet dans un compartiment de glaçon où l'on a placé du jus d'orange, et en mettant l'ensemble au congélateur).
- 2 Fondre du chocolat ou du beurre de cacao à la température la plus basse à laquelle la préparation devient liquide.
- 3 Plonger la boule de jus d'orange glacée dans la matière grasse fondue. Alternier des remises au froid et des trempages dans la matière grasse fondue jusqu'à obtenir l'épaisseur de matière grasse fondue souhaitée.
- 4 Plonger l'ensemble dans du jus de mangue refroidi à la limite de la congélation, et alternier des trempages et des passages au congélateur, jusqu'à obtenir une sphère de jus de mangue congelée autour de la première boule.
- 5 Couvrir de beurre de cacao par trempage, comme aux étapes 2 et 3.