

auraient été transférés des bactéries aux eucaryotes, des bactéries aux archéobactéries et, surtout, des eucaryotes aux bactéries. Ainsi, l'échange horizontal de gènes aurait participé à l'évolution de nombreuses espèces.

Une partie de pêche décisive

J'ai commencé à m'intéresser au transfert horizontal de gènes au printemps 1976, alors que j'étais assistant à l'Université de Knoxville. Généticien, je m'intéressais au fonctionnement des

cellules vivantes. Je savais que certaines souches de bactéries transmettent naturellement des gènes à d'autres bactéries, et le transfert horizontal de gènes me semblait un moyen pratique d'introduire de nouveaux gènes, et par conséquent de nouvelles caractéristiques, dans les cellules étudiées au laboratoire. Une partie de pêche en compagnie de Gary Sayler, un collègue spécialiste de l'écologie microbienne, élargit mon champ de recherches : «Les bactéries présentes dans ce lac échangent-elles des gènes?», me demandait-il. Je répondis, sans conviction, que les bactéries étaient trop dispersées dans l'eau pour avoir des contacts et échanger des gènes. De retour au laboratoire, je consultai les articles scientifiques sur ce sujet, et constatai que l'on ignorait à peu près tout du transfert horizontal de gènes.

G. Sayler avait construit un dispositif pour étudier les organismes vivants en

eau douce : un tube de plastique transparent, fermé aux deux extrémités par des filtres, permet le passage de l'eau et des nutriments, mais empêche que les bactéries ne s'échappent. Après avoir testé ce dispositif, nous avons fait des expériences et mesuré la fréquence de transfert de gènes se produisant dans notre coin de pêche. C'est ainsi que nous avons montré que ce transfert se produit en eau douce.

Nous avons publié nos résultats en 1978, persuadés qu'ils intéresseraient d'autres biologistes, au point qu'ils étudieraient le sujet. Nous avions tort : aucun article ne vint enrichir notre connaissance rudimentaire des échanges de gènes, aucune institution ne voulut même financer nos projets de recherche. L'attitude des autorités et des scientifiques ne changea qu'en 1985, quand on s'inquiéta de la libération dans l'environnement de bactéries génétiquement modifiées. Quelques équipes commencèrent à étudier le transfert horizontal de gènes dans diverses conditions.

La conjugaison

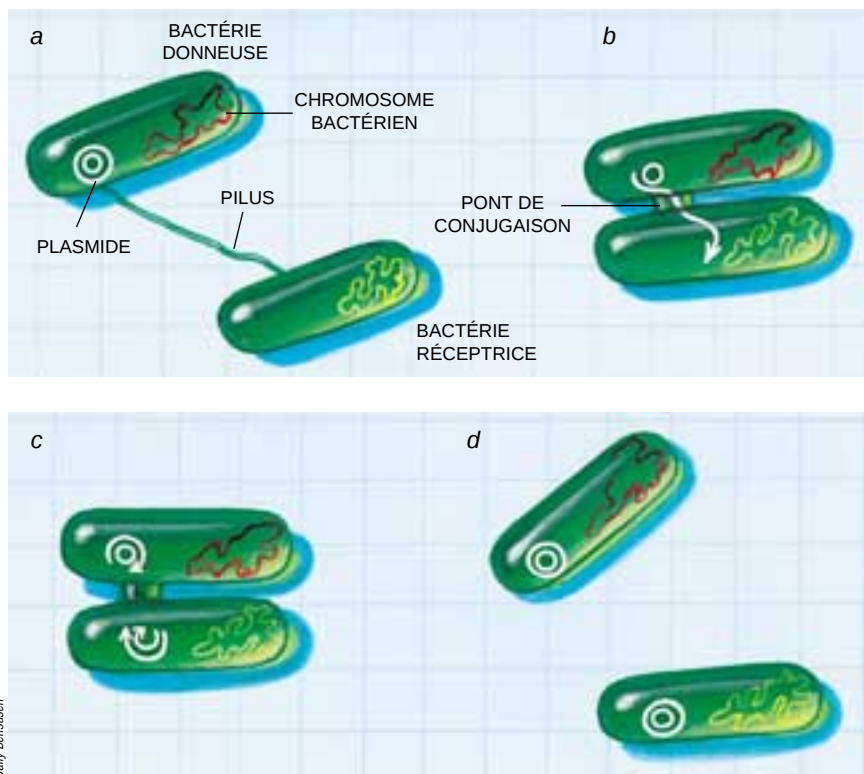
Des gènes se dissémineraient-ils par le mécanisme de conjugaison ? En 1946, à l'Université Yale, Joshua Lederberg et Edward Tatum avaient découvert que la bactérie *Escherichia coli*, qui colonise l'intestin humain, échange des boucles d'ADN que l'on nomme des plasmides, par un mécanisme qui ressemble à la reproduction sexuée (les chromosomes eux-mêmes sont parfois échangés par conjugaison, mais dans des circonstances exceptionnelles).

Les plasmides contiennent des gènes, mais sont séparés du chromosome bactérien, qui est plus long et contient les gènes nécessaires à la reproduction de la bactérie. Souvent les gènes des plasmides augmentent les chances de survie dans des conditions défavorables. Ainsi, en plus des gènes nécessaires à leur propre répllication et à leur transfert, ils portent souvent des gènes «salvateurs» : les protéines qu'ils codent permettent aux bactéries d'inactiver les antibiotiques, de dégrader des composés toxiques, tels les diphényles polychlorés (les PCB) ou de former des complexes avec le mercure ou d'autres métaux lourds, ce qui les rend toxiques.

Les microbiologistes séparent les bactéries en deux types – à Gram négatif et à Gram positif –, selon qu'elles se colorent ou non en présence d'un colo-



Dr. L. Caro, SPL/Photo Researchers, Inc.



Sally Berssen

2. DES PLASMIDES, ou boucles d'ADN, sont transférés entre bactéries par un mécanisme de conjugaison. Une bactérie à Gram négatif donneuse émet des projections, des pili, qui s'attachent à une bactérie réceptrice et qui rapprochent les deux bactéries (photographie et a). Ensuite un pont (presque réduit à un pore) relie les deux bactéries ; un brin de l'ADN plasmidique passe dans la bactérie réceptrice (b), et chaque brin simple est dupliqué pour redonner un plasmide à double brin (c). Le transfert achevé, les bactéries se séparent (d). La conjugaison chez les bactéries à Gram positif (non représentée) se déroule de la même façon, mais l'attraction des partenaires est assurée par un signal chimique et non plus par des pili.

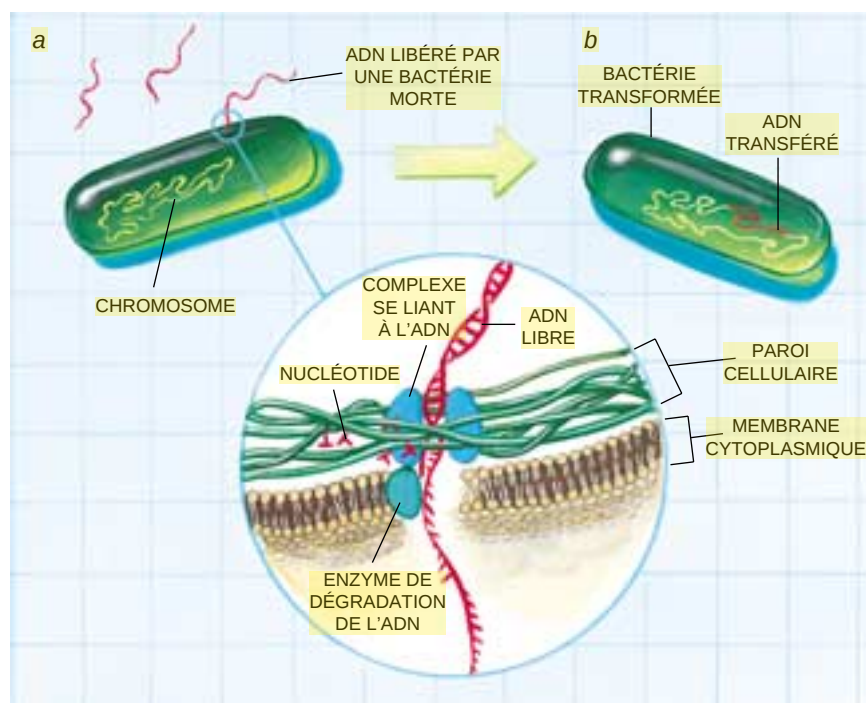
rant de référence. Chez les bactéries à Gram négatif, la conjugaison commence quand le micro-organisme donneur s'arrime à un micro-organisme receveur par l'intermédiaire d'un appendice, nommé pilus ; puis le pilus se rétracte, mettant le donneur et le receveur en contact. Souvent, plusieurs donneurs émettent des pili simultanément et convergent vers la même cellule réceptrice : les bactéries s'agglutinent. Dans ces agrégats, des ponts ou des pores se forment entre donneurs et receveurs, et des plasmides s'échangent.

Certains pili stimulent l'aggrégation des bactéries en milieu liquide ou sur des surfaces solides ; d'autres ne sont efficaces que sur des solides. Par conséquent, si l'on veut introduire des bactéries à Gram négatif génétiquement modifiées dans un environnement aquatique, on doit sélectionner des espèces dont les pili déclenchent l'aggrégation uniquement sur des solides.

Chez les bactéries à Gram positif, la conjugaison s'effectue sans pili. Ces bactéries, prêtes à recevoir du matériel génétique, sécrètent des substances qui stimulent des congénères donneurs : ces derniers sont alors incités à produire des protéines, souvent nommées facteurs d'aggrégation, qui assurent l'agglutination ; ensuite, les pores nécessaires au transfert d'ADN se forment à la jonction. Ainsi, si l'on introduisait une bactérie recombinée à Gram positif dans une zone où sont présentes d'autres bactéries à Gram positif, on devrait d'abord la rendre incapable de fabriquer des facteurs d'aggrégation, afin de minimiser les risques de transfert de gènes.

En général, les bactéries à Gram négatif et à Gram positif n'échangent des plasmides qu'avec des bactéries de leur propre espèce. Toutefois, certains plasmides transfèrent l'ADN entre espèces non apparentées : entre bactéries à Gram négatif et à Gram positif, voire même entre bactéries et levures, ou entre bactéries et plantes. Les bactéries qui portent de tels plasmides ne doivent pas quitter le laboratoire.

La conjugaison est-elle suffisamment fréquente dans la nature pour que des précautions s'imposent ? Depuis l'avènement du génie génétique, dans les années 1980, les biologistes ont montré qu'elle se produit effectivement dans de nombreux environnements naturels, notamment dans l'eau, sur terre et chez diverses espèces végétales et animales.



3. AU COURS D'UN MÉCANISME DE TRANSFORMATION (a), une bactérie récupère de l'ADN libéré dans son environnement par une bactérie morte. Des complexes présents à la surface de la bactérie fixent l'ADN (cartouche inférieure), et des enzymes découpent un des deux brins en nucléotides ; simultanément, l'autre brin est intégré au chromosome de la bactérie et le brin complémentaire est synthétisé *in situ* (b). Bien que la transformation (illustrée ici pour une bactérie à Gram positif) se produise aussi dans les bactéries à Gram négatif, ce mécanisme reste rare.

Transfert en eau douce

Ainsi une équipe de l'Université du Pays de Galles a montré que le transfert de gènes par conjugaison se produit entre bactéries dans l'eau douce : une souche de laboratoire de *Pseudomonas aeruginosa* capte par conjugaison un plasmide qui confère une résistance au mercure aux bactéries de la Taft, une rivière polluée près de Cardiff. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie commune des sols et des eaux douces, susceptible de provoquer des infections respiratoires et urinaires chez les personnes dont les défenses immunitaires sont affaiblies. Les biologistes britanniques ont d'abord muté un gène de la bactérie afin qu'il produise une version anormale de la protéine codée par le gène sain : la protéine modifiée servirait de marqueur pour repérer les bactéries introduites dans la rivière. Puis, l'équipe a introduit les bactéries marquées dans la vase, riche en nutriments, qui recouvre les pierres, au fond de la rivière ; un filtre très fin empêchait les bactéries de s'échapper.

Le lendemain, les pierres ont été récupérées et la vase analysée, à la recherche de bactéries *Pseudomonas aeruginosa* ayant à la fois le gène modi-

fié et le plasmide de résistance au mercure. La proportion des bactéries ayant reçu le plasmide était faible (entre une sur 10 000 et une sur un milliard), mais le transfert avait bien eu lieu. Ces expériences montrèrent également que divers facteurs, tels que la température, l'acidité du milieu et sa concentration en nutriments, modifient la fréquence de la conjugaison.

D'autres études ont exploré l'importance variable de tels facteurs, selon que la conjugaison a lieu dans la nature ou en laboratoire. Ainsi, la conjugaison se produit dans la nature entre 6 et 18 °C, tandis qu'en laboratoire la température doit être supérieure. Aussi les biologistes n'identifieront-ils des moyens fiables de minimiser le mécanisme que s'ils l'étudient en milieu naturel.

C'est ainsi que l'on a établi que les bactéries transfèrent de l'information génétique par conjugaison dans divers environnements, mais que les plasmides génétiquement modifiés ne semblent pas dangereux pour autant : ils ralentissent la croissance des bactéries et sont généralement éliminés quand ils ne confèrent aucun avantage. Si un plasmide génétiquement modifié de résistance au mercure était transmis à un micro-organisme en

Quelques environnements où l'on a observé un transfert horizontal de gènes bactériens

	TRANSDUCTION	CONJUGAISON	TRANSFORMATION
ENVIRONNEMENTS TERRESTRES	Sol, surface des plantes	Sol, surface des plantes	Sol
ENVIRONNEMENTS AQUEUX	Lacs, océans, rivières, eaux usées dans les stations d'épuration	Lacs, océans, sédiments marins, rivières, vase au fond des rivières, eaux usées dans les stations d'épuration	Sédiments marins, rivières, vase au fond des rivières
DANS LES ORGANISMES	Crustacés, souris	Plantes, insectes, poulet, souris, homme	Plantes, insectes, souris

Jennifer C. Christiansen

dehors d'une zone polluée par le mercure, le nouvel hôte s'en débarrasse rapidement.

De surcroît, les plasmides sont rarement intégrés dans les chromosomes bactériens, de sorte que, même s'ils se propageaient, ils ne s'intégreraient pas dans le génome de nouvelles bactéries ; les chromosomes sont invariablement copiés et transmis aux nouvelles générations de bactéries quand une cellule mère se reproduit, tandis que la transmission des plasmides n'est pas systématique. Pourtant, afin que les plasmides ne propagent pas dans la nature de gènes modifiés, les biologistes insèrent ces gènes dans les chromosomes et non dans des plasmides.

La conjugaison, qui fut le premier mécanisme de transfert de gènes bactériens étudié dans la nature, n'a pas été le premier identifié. En 1928, le bactériologiste anglais Frederick Griffith observa que des pneumocoques non virulents devenaient pathogènes lorsqu'on les injectait à des souris en même temps que des pneumocoques virulents morts. Il en conclut que les bactéries initialement non virulentes prélevaient un «agent de transformation» aux bactéries virulentes mortes, qui les rendait capables de tuer des souris. On sait aujourd'hui que l'agent de transformation est de l'ADN libéré quand les bactéries mortes se décompo-

sent. Un gène est échangé par transformation quand le plasmide qui le porte est tout entier incorporé dans la bactérie, ou quand un fragment d'ADN est intégré dans le chromosome de la bactérie réceptrice.

Des risques infimes de transformation

Pour qu'une transformation ait lieu dans des bactéries à Gram négatif ou dans des bactéries à Gram positif, l'ADN libéré par les bactéries en décomposition doit être stable, et les bactéries réceptrices doivent le récupérer : les bactéries réceptrices doivent porter des protéines de surface qui se lient à l'ADN et le font pénétrer dans les cellules.

Les biologistes ont longtemps pensé que les mécanismes de transformation ne se produisaient pas partout, car l'ADN n'est stable ni dans le sol ni dans l'eau. Toutefois, Michael Lorenz et Wilfried Wackernagel, de l'Université d'Oldenburg, en Allemagne, et Guenther Stotzky, de l'Université de New York, ont montré que l'ADN libre est stabilisé par liaison à divers composés du sol, de sorte qu'il est ensuite récupéré par des bactéries adaptées. Des plasmides, également, sont parfois transférés par transformation dans l'eau douce et dans la vase du fond des rivières. En revanche, le transfert de gènes de chromosomes par le mécanisme de trans-

formation ne semble se produire ni dans la terre ni dans l'eau.

Au total, la libération de bactéries génétiquement modifiées dans l'environnement semble faire courir un faible risque d'échange de gènes par transformation. Seules des bactéries de la même espèce semblent s'échanger naturellement des gènes par les mécanismes de transformation, et peu d'espèces de bactéries semblent susceptibles de se transformer par ces mécanismes. Les biologistes éviteront d'employer les micro-organismes qui le pourraient.

En outre, même si les bactéries mortes libèrent de grandes quantités d'ADN que d'autres bactéries ingèrent, les gènes absorbés sont rarement fonctionnels. John Paul et ses collègues de l'Université de Floride du Sud ont montré que de grandes quantités d'ADN bactérien sont libérées dans les eaux des estuaires après le lever du jour, lorsque de nombreuses bactéries meurent. Toutefois, ils ont aussi montré en laboratoire que la plus grande part de l'ADN libéré et absorbé par les bactéries vivantes est rapidement dégradée en ses constituants élémentaires, lesquels servent à la synthèse de nouveaux brins d'ADN ; les gènes contenus dans l'ADN libre sont rarement intacts.

Contrairement à la transformation, la troisième forme de transfert horizontal de gènes, la transduction, a