

EN CHIFFRES

20

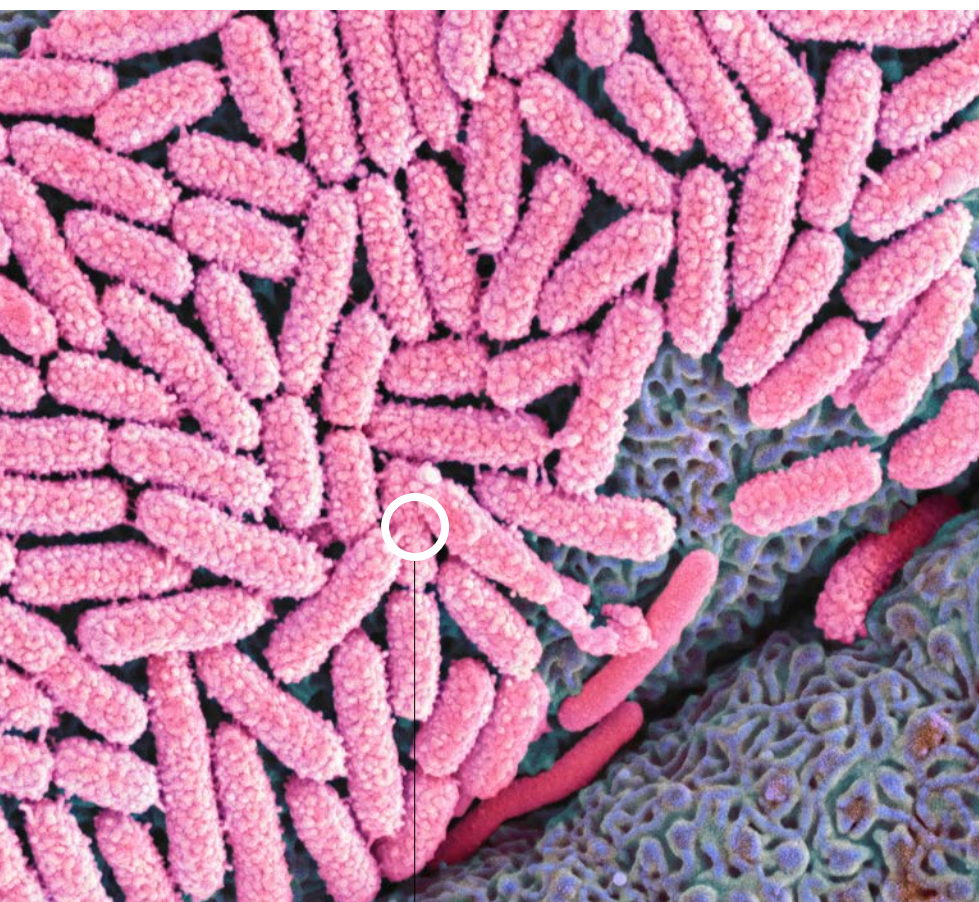
Une bactérie *Escherichia coli* se divise toutes les 20 minutes à 37 °C dans un milieu riche en nutriments.

4,6 millions

Le génome d'une bactérie *E. coli* mesure quelques millimètres et compte environ 4,6 millions de paires de bases – les constituants de l'ADN –, contre 2 mètres et 3,2 milliards de paires de bases chez les humains. *E. coli* comporte environ 4 200 gènes, un humain environ 23 000.

8 espèces

On connaît 8 espèces du genre *Escherichia*, dont la plus récente, *E. marmotae*, a été décrite en 2015. La plupart de leurs souches sont commensales : elles vivent associées à des animaux à sang chaud, dans leur tube digestif.



Elle se propulse à l'aide de plusieurs flagelles qui hérissent sa surface.



Escherichia coli
Taille : environ 2 µm

mutation? À l'époque, on ignorait que l'ADN était le support du matériel héréditaire, mais on savait que les gènes étaient localisés sur les chromosomes. On ne détectait la mutation d'un gène (un changement brusque d'un caractère héréditaire) que par son effet sur l'organisme.

Luria et Delbrück mettent au point une méthode leur permettant d'observer, chez *E. coli*, l'apparition des mutations qui confèrent une résistance au bactériophage α. Dans des tubes de culture, Luria inocule un petit nombre de bactéries sensibles au virus. Après leur multiplication, il les étale dans des boîtes de Petri sur un gel

nutritif contenant des bactériophages en excès qui devraient tuer toutes les bactéries. Mais si une bactérie est devenue résistante, elle se multiplie et donne une colonie circulaire sur le gel. Or très peu de bactéries survivent, et compter les colonies revient à compter les occurrences de telles résistances.

DES MUTATIONS ALÉATOIRES?

Pour expliquer l'apparition de mutations qui confèrent ces résistances, Luria et Delbrück veulent tester deux hypothèses. Selon la première, chaque bactérie a une faible probabilité, indépendante de la présence du virus, de muter et de devenir résistante; chaque descendant du mutant sera résistant – sauf mutation inverse. Selon la seconde, chaque bactérie a une faible probabilité d'acquérir une immunité en présence du virus et de survivre à son attaque, immunité elle aussi conférée à sa descendance.

En substance, dans le premier cas, on s'attend que, dans une culture en croissance, la proportion des colonies résistantes augmente avec le temps puisque de nouveaux mutants apparaissent constamment. Dans le second cas, au contraire, on obtiendrait une proportion constante de colonies résistantes puisque cette résistance apparaît au contact du virus. Il suffit donc de déterminer la proportion de bactéries résistantes dans la culture et ses sous-cultures. Mais si la première hypothèse est la bonne, les résultats ne seront pas reproductibles d'un jour à l'autre. C'est pourquoi Delbrück quantifie et interprète

> ces fluctuations à l'aide d'un outil statistique performant issu de la mécanique quantique. Le test, dit de fluctuation, fournit un résultat en faveur de la première hypothèse: les mutations surviennent de manière aléatoire, indépendamment de la présence du virus.

Dans leur expérience, Luria et Delbrück étudient la mutation, certes, mais de façon très indirecte. Ils n'ont pas accès à la cellule qui a muté, mais à la colonie qui en résulte des générations plus tard. Ils ne suivent pas non plus la mutation elle-même, mais déduisent son occurrence de la résistance qu'elle confère. Enfin, la mutation recherchée est sous forte sélection, puisque la survie de la bactérie en dépend. C'est donc une prouesse qu'ont réalisée Marina Elez, Lydia Robert et leurs collègues.

DES ERREURS LUMINEUSES

Le système expérimental permet de suivre en temps réel, sur cellules isolées d'*E. coli*, la dynamique des mutations et leurs effets sur le succès reproducteur des bactéries, caractérisé ici par leur vitesse de division. Il a nécessité la mise au point d'une structure microfluidique élaborée où il est possible de suivre les générations bactériennes pendant plusieurs jours (voir l'encadré ci-contre). On y visualise par ailleurs les mutations à l'aide d'une technique biologique inventive.

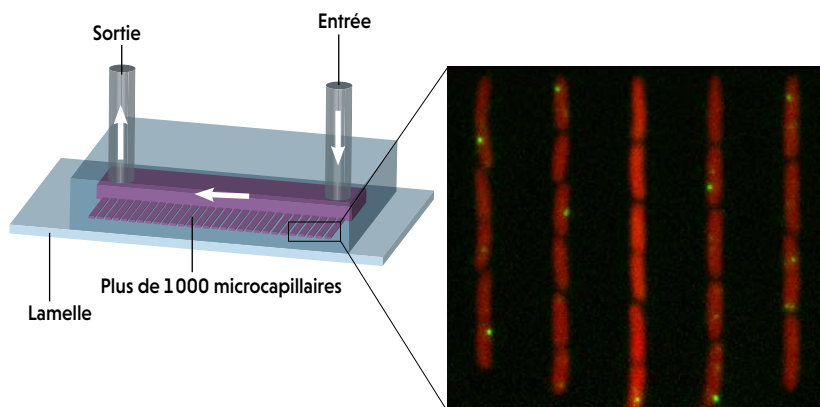
La majorité des mutations sont dues à des erreurs de lecture lors de la réplication – la duplication du chromosome bactérien. Or un système moléculaire reconnaît ces erreurs et les répare. Il est constitué de plusieurs protéines qui agissent séquentiellement. La protéine MutS reconnaît une erreur sur un brin d'ADN, ce qui recrute la protéine MutL, laquelle confirme l'erreur. Puis l'enzyme MutH interagit avec MutL et coupe le brin, qui est ensuite réparé.

Toutefois, si on inactive le gène *mutH*, la réparation n'a pas lieu, bien que tout le jeu des protéines en amont se déroule normalement. La protéine MutL s'accumule alors transitoirement à l'endroit de l'erreur, le temps de la synthèse locale de l'ADN qui, comme la réparation n'a pu se produire, présentera une mutation ponctuelle. Les biologistes ont utilisé cette accumulation pour visualiser les mutations à venir en fusionnant le gène *mutL* avec celui d'une protéine fluorescente, visible quand on l'éclaire à une certaine longueur d'onde.

En suivant des bactéries ainsi modifiées sur 200 générations (trois jours), ils ont détecté 3000 points fluorescents, survenant à une vitesse de 0,32 mutation par

UNE POUPONNIÈRE DE BACTÉRIES

Pour suivre pendant plusieurs jours l'évolution de bactéries isolées, les chercheurs ont cultivé ces cellules dans plus d'un millier de microcapillaires si étroits que les cellules en division y restent alignées. Une cellule mère a été placée au fond de chaque capillaire. À chaque fois qu'elle se divise, elle donne une nouvelle génération : deux cellules filles dont une reste au fond. Ce sont ces cellules « du fond » qui sont observées toutes les 4 minutes pendant 3 jours, ce qui correspond à 200 générations. Les mutations apparaissent sous la forme de points fluorescents.



heure. En revanche, la bactérie non modifiée, capable de réparer son ADN, ne subit que 0,0022 mutation par heure (le spot lumineux y dure plus longtemps quand l'ADN n'est pas réparé, ce qui distingue les erreurs conduisant à des mutations). Ainsi, en 60 heures, une lignée issue d'une cellule mère unique incapable de réparer ses mutations en a accumulé 20, tandis qu'une lignée issue d'une cellule normale n'en a acquis que 0,1 – ce qui montre la performance du système de réparation.

Mais comment vivent des cellules qui ont accumulé 20 mutations en 60 heures? En analysant la vitesse de croissance de chaque lignée, les chercheurs ont estimé leur succès reproducteur. Résultat : 1% seulement des mutations étaient létales. Les mutations non létales, quant à elles, ne modifiaient la vitesse de croissance des lignées que de 0,32%, ce qui est insignifiant. Ainsi, les mutations, dans leur grande majorité, sont neutres ou quasi neutres, c'est-à-dire qu'étant ni favorables ni défavorables à la bactérie, elles ne portent pas à sélection.

Il y a un demi-siècle, le généticien japonais Motoo Kimura proposait sa théorie neutraliste de l'évolution, alors controversée. Si celle-ci est aujourd'hui communément admise, Marina Elez, Lydia Robert et leurs collègues en ont désormais apporté une preuve expérimentale éclatante. On attend avec impatience le suivi des mutations dans un environnement changeant, plus drastique... ■

BIBLIOGRAPHIE

L. Robert et al., **Mutation dynamics and fitness effects followed in single cells**, *Science*, vol. 359, pp. 1283-1286, 2018.

M. Elez et al., **Seeing mutations in living cells**, *Curr. Biol.*, vol. 20, pp. 1432-1437, 2010.

S. Luria et M. Delbrück, **Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance**, *Genetics*, vol. 28, pp. 491-511, 1943.