

L'étude de ces trois gènes a révélé qu'ils étaient contigus, formant un « opéron » – un ensemble de gènes regroupés et soumis à une même régulation: après mutation de *LacI*, les trois enzymes inductibles devenaient constitutives en même temps. Enfin, en 1960, Monod et Jacob comprirent que le gène *LacI* synthétisait une protéine, le répresseur, qui venait se fixer sur une séquence en amont, l'« opérateur ».

En 1961, l'article majeur de Jacob et Monod donna l'explication de l'ensemble du contrôle de l'opéron. En l'absence de lactose, le répresseur se lie à l'opérateur et empêche la synthèse des

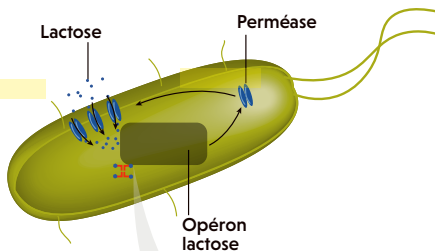
trois enzymes. En présence de lactose – « l'inducteur » –, le répresseur se détache de l'ADN et autorise ainsi la production des trois enzymes. La  $\beta$ -galactosidase hydrolyse le lactose, tandis que la perméase en permet une entrée massive dans la cellule (voir l'encadré ci-dessous).

Pour la première fois, on comprenait comment l'expression des gènes est régulée. Ou presque. Car dès 1957, deux biologistes de l'université de Chicago, Aaron Novick et Milton Weiner, avaient soulevé une question cruciale pour avoir une compréhension totale de cette régulation: comment, concrètement, l'induction était-elle déclenchée? Cette question en portait une autre, celle du rôle de l'aléatoire dans la régulation de l'expression des gènes.

## UN PHÉNOMÈNE DE TOUT OU RIEN

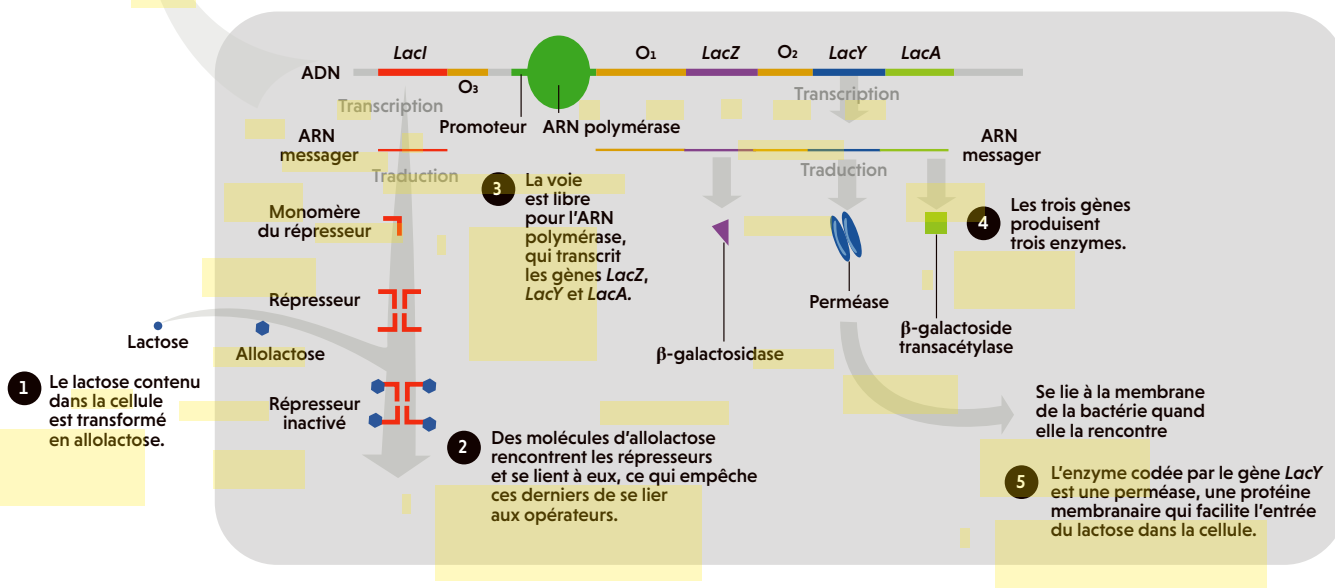
Lors d'expériences pour étudier la cinétique de l'induction, l'équipe de Monod avait utilisé comme inducteur non pas le lactose, mais le thio-méthyl- $\beta$ -galactoside (TMG), un sucre de la même famille qui a l'avantage de ne pas être coupé par la  $\beta$ -galactosidase. C'est ce que Monod a appelé l'induction gratuite, car la molécule ne peut fournir d'énergie à la cellule. Ces >

# Pour la première fois, on comprenait comment l'expression des gènes est régulée



## AVEC LACTOSE

En présence de lactose, le répresseur se détache de l'ADN, autorisant la transcription de l'opéron, c'est-à-dire la synthèse d'un ARN messager par une enzyme – l'« ARN polymérase » – qui lit la séquence d'ADN à partir d'une séquence en amont, le « promoteur ». La traduction de l'ARN messager synthétisé donne naissance à trois enzymes. Parmi elles, la  $\beta$ -galactosidase hydrolyse le lactose, tandis que la perméase en permet une entrée massive dans la cellule.



> expériences avaient montré que si l'inducteur était donné à haute concentration, les bactéries synthétisaient vite la  $\beta$ -galactosidase à son taux maximal. Elles avaient aussi révélé que deux processus indépendants étaient impliqués dans l'induction de la synthèse de l'enzyme. D'une part, la concentration de l'inducteur dans les bactéries déterminait la vitesse de production de l'enzyme. D'autre part, la synthèse de la perméase, elle aussi induite par le TMG, augmentait considérablement la concentration de l'inducteur dans les bactéries.

Toutefois, que se passait-il quand l'inducteur était donné à faible concentration? C'est à cette question que Novick et Weiner ont cherché à répondre. On pourrait penser que la production de  $\beta$ -galactosidase croît avec le temps, parce que la concentration interne de l'inducteur augmente au fur et à mesure de la synthèse de la perméase. Or, par des expériences de dilution et de dosage, Novick et Weiner ont constaté qu'une population de bactéries croissant avec une forte concentration d'inducteur est composée de cellules qui soit synthétisent la  $\beta$ -galactosidase à son taux maximum, soit ne synthétisent rien du tout. En d'autres termes, les bactéries sont induites ou non, sans intermédiaire.

## LE RÔLE CLÉ DE LA PERMÉASE

Leur explication est la suivante: quand l'inducteur est ajouté au milieu de culture, une bactérie a une probabilité donnée de produire une première molécule de perméase, probabilité peut-être dépendante de la concentration de l'inducteur. Cette perméase entraîne l'augmentation de la concentration interne de l'inducteur. La probabilité de synthèse de la deuxième molécule de perméase devient donc plus élevée. L'induction de la perméase adopte alors un comportement autocatalytique (elle s'autoaccélère) et, peu de temps après la synthèse de la première perméase, la bactérie devient ainsi complètement induite. La transition est si rapide qu'on ne peut trouver de bactéries intermédiaires.

Par ailleurs, la perméase est une protéine membranaire. Ainsi, quand une bactérie induite se divise, les deux cellules filles se partagent les molécules de perméase avec la membrane et restent donc induites. Si l'inducteur disparaît du milieu de culture, l'autocatalyse s'arrête. Comme les bactéries induites croissent plus lentement que celles non induites, elles se diluent dans la culture. De plus, à chaque génération, les perméases membranaires diminuent en nombre jusqu'à disparaître.

L'induction de la  $\beta$ -galactosidase apparaît donc comme un phénomène en tout ou rien, déclenché par un processus aléatoire. La formation de la première molécule de perméase serait l'étape critique: le passage à l'état induit

# Un unique événement moléculaire aléatoire détermine le phénotype d'une cellule

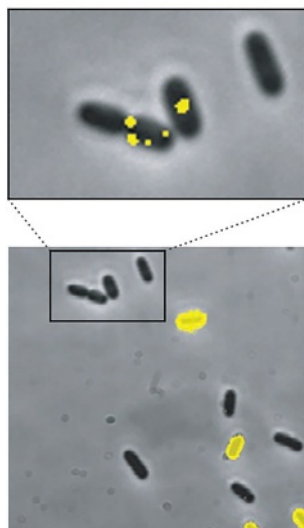
serait la conséquence d'un unique événement aléatoire. Une fois la bactérie induite, toute sa descendance le reste si la concentration de l'inducteur reste à son taux de maintien.

## UNE SEULE PERMÉASE SUFFIT-ELLE ?

Cependant, il restait une difficulté de taille pour valider le modèle de Novick et Weiner. Toute cette connaissance sur l'expression du gène reposait sur des études de génétique et de biochimie conduites sur de grandes populations de cellules et de molécules purifiées, qui cachaient la nature de l'expression génique d'une seule molécule. Or celle-ci dépend de l'action de macromolécules qui transcrivent l'ADN en ARN messager, lesquelles sont elles-mêmes soumises aux lois du hasard, ce qui signifie que les cellules ne sont pas synchrones. Il est donc indispensable de faire des observations en temps réel dans des cellules isolées.

Pour ce faire, il a fallu attendre la mise au point d'une technique de microscopie offrant la possibilité de détecter une seule protéine dans une cellule unique. Ainsi, ce n'est qu'en 2006 que Sunney Xie, de l'université Harvard, et ses collègues ont repris les études préliminaires de Novick et Weiner. Chez *E. coli*, l'équipe a rendu fluorescente la perméase en fusionnant le gène *LacY* avec celui d'une protéine fluorescente jaune et utilisé une technique lui permettant de détecter et localiser une seule perméase fluorescente. Comme prévu, les chercheurs ont détecté deux phénotypes chez les cellules cultivées avec une concentration élevée d'inducteur. Des cellules – les cellules induites – présentaient des membranes complètement fluorescentes, c'est-à-dire avec un grand nombre de perméases. Les autres étaient celles non induites. Or au lieu de ne porter aucune perméase, plusieurs en présentaient un petit nombre!

Les cellules non induites avaient de zéro à dix molécules, avec une probabilité indépendante de la concentration de l'inducteur. L'hypothèse de Novick et Weiner était-elle



Les techniques actuelles de microscopie permettent de détecter une seule molécule fluorescente dans une cellule. L'équipe de Sunney Xie, à l'université Harvard, a ainsi montré qu'en présence de lactose même des bactéries non induites, c'est-à-dire où l'opéron lactose ne s'est pas exprimé pleinement, portent quelques molécules de l'enzyme perméase (les points jaunes sur le zoom), alors que celles induites en ont produit massivement (cellules toutes jaunes).