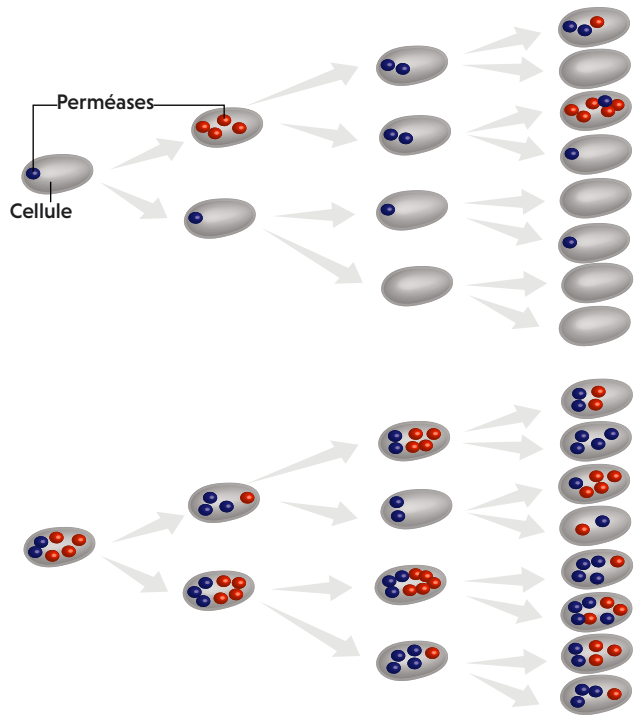


UN ÉVÉNEMENT ALÉATOIRE, DEUX RÉGIMES

Le modèle de Sunney Xie et ses collègues pour décrire l'expression aléatoire du gène de la perméase et son effet de seuil sur l'induction des bactéries (*ci-contre*) est très similaire au « test de fluctuation », un outil théorique issu de la mécanique quantique où l'aléatoire est important : de nouvelles molécules de perméase (*en rouge*) sont produites par sèves et s'ajoutent à celles déjà présentes (*en bleu*), tandis que chaque division cellulaire dilue leur nombre total. Quand l'opéron lactose est réprimé, la probabilité de production de nouvelle perméase est faible et les bactéries restent globalement non induites (*en haut*), et inversement (*en bas*). En 1943, le biophysicien Max Delbrück avait utilisé un test de fluctuation similaire pour modéliser des expériences du microbiologiste Salvador Luria visant à trancher entre deux hypothèses sur l'origine des mutations chez les bactéries *E. coli* : étaient-elles induites par le milieu de culture ou spontanées ?

Ce n'est pas le seul parallèle entre les phénomènes d'induction enzymatique et de mutation. Comme Aaron Novick et Milton Weiner l'ont constaté dès 1957, chaque cellule a seulement deux états possibles (induit ou non induit/muté ou non muté). De plus, dans les deux cas, la descendance d'une cellule est dans le même état qu'elle ; enfin, la transition vers l'état induit comme muté est le résultat d'un événement unique aléatoire. Avec une différence majeure, cependant : au contraire de la mutation, l'induction est réversible, car elle nécessite la présence continue de l'inducteur dans le milieu de culture.



mauvaise ? Pour le savoir, l'équipe de Sunney Xie a repris l'ensemble de leur raisonnement, mais en élevant le seuil, c'est-à-dire le nombre de molécules de perméase nécessaires pour passer de l'état non induit à l'état induit. Toutefois, comment déterminer ce seuil, tant il est difficile de saisir les rares événements de passage d'un état à un autre ? L'astuce a consisté à partir d'une population de cellules couvrant un large éventail du nombre de perméases. Pour ce faire, l'équipe a induit des bactéries en culture, puis éliminé l'inducteur du milieu. Elle a ensuite attendu six générations, pendant lesquelles les perméases se sont réparties entre les cellules filles au fil des divisions. Puis elle a introduit à nouveau l'inducteur dans le milieu de culture. Résultat : la fluorescence des cellules comportant peu de perméases a continué à décroître. En revanche, celle des bactéries dotées de plus de trois cents molécules s'est mise à augmenter, signe que ces cellules étaient à nouveau induites. Le véritable seuil était donc de trois cents molécules.

LE MYSTÈRE DES VAGUELETTES

Avec un tel seuil, cependant, un autre problème émergeait. Comment expliquer à la fois une importante vague d'expression du gène *LacY* pour atteindre le seuil de l'induction, mais aussi des vaguelettes d'une petite dizaine de molécules chez les bactéries non induites ? Pour cela, il a fallu faire appel à toutes les connaissances sur le fonctionnement de l'opéron lactose. Notamment au fait que le

répresseur se fixe non pas à un, mais à deux opérateurs parmi trois, formant une boucle d'ADN (*voir l'encadré pages 52-53*).

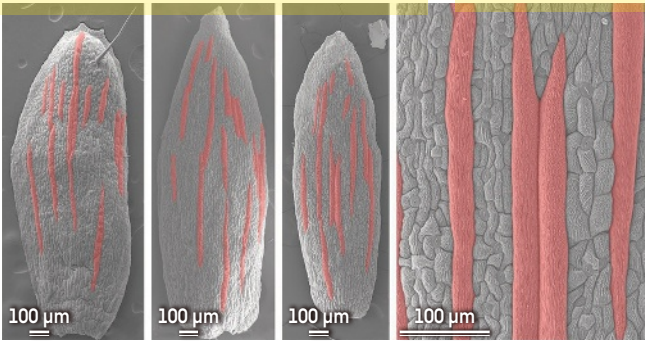
Le raisonnement est alors le suivant. Les vaguelettes seraient le résultat de la dissociation partielle du répresseur et de l'ADN : le répresseur se serait dissocié d'un seul des deux opérateurs. Étant toujours lié à l'autre, le répresseur rétablit rapidement un lien avec celui qu'il a quitté. Par conséquent, la durée de la transcription de l'opéron est brève et peu de perméases sont synthétisées. Au contraire, la dissociation complète du répresseur et de l'ADN serait un événement rare qui déclencherait une importante vague d'expression du gène *LacY*. Le seuil serait alors atteint et la bactérie induite. En effet, un répresseur ayant complètement quitté la molécule d'ADN met beaucoup de temps à rencontrer de nouveau les sites des opérateurs au gré de sa diffusion aléatoire dans la cellule – son « mouvement brownien », puis son glissement le long de l'ADN –, ce qui augmente considérablement la durée de transcription.

Ainsi, un unique événement moléculaire aléatoire détermine le phénotype d'une cellule. La dissociation partielle du répresseur conduit à de petites vagues d'expression de protéines, tandis que de rares dissociations complètes conduisent à de grandes vagues d'expression de l'opéron. Dans ce modèle, la complète dissociation du répresseur serait l'événement moléculaire aléatoire entraînant le changement de phénotype.

> L'équipe de Sunney Xie a testé ce modèle en 2008. Il lui a suffi d'enlever les séquences des deux opérateurs secondaires. Dans ces conditions, le répresseur ne peut pas organiser de boucle d'ADN et toute dissociation du répresseur et de l'ADN est complète. Comme prévu par le modèle, l'induction a été rapide, même si le nombre de molécules de perméase était inférieur au seuil : enlever la possibilité de boucle d'ADN élimine donc la bistabilité du système.

Dans une deuxième expérience, l'équipe a remplacé le gène *LacY* de la perméase par un gène *Tsr* codant une protéine qui se niche dans la membrane bactérienne, comme la perméase, mais sans en remplir la fonction. De cette même manière, on élimine le rétrocontrôle de la perméase tout en conservant un moyen de

L'épiderme des sépales de la plante *Arabidopsis thaliana* (en bas) présente de petites cellules (en haut, en gris) et d'autres géantes (en rouge) avec plusieurs noyaux, réparties aléatoirement. L'apparition des cellules géantes dépend de la fluctuation de l'expression d'un seul gène, *ATML1*. Lorsque la production de la protéine qu'il code dépasse un seuil dans une cellule, si celle-ci a engagé une mitose, seul son noyau se divise. Elle devient donc plurinucléée et, corrélativement, géante.



visualiser les vagues d'expression de l'opéron (en fusionnant le gène avec celui d'une protéine fluorescente). Comme attendu, l'équipe a détecté de nombreuses petites vagues de protéines membranaires fluorescentes et de rares grandes vagues.

Enfin, elle a observé le comportement du répresseur – rendu fluorescent lui aussi – quand il rejoint la molécule d'ADN. En revanche, quand il est libre, son mouvement brownien dans la cellule est tel qu'il est impossible de suivre le point de fluorescence. Toutes ces observations lui ont permis de quantifier nombre de paramètres. Par exemple, le temps de recherche de l'opérateur par le répresseur est de l'ordre de 270 secondes, proche des 250 secondes calculées. Chaque petite vague produit un seul ARN messager dont la traduction donne en moyenne entre 16 et 20 monomères de β -galactosidase, soit 4 à 5 enzymes matures (la β -galactosidase est un tétramère).

En 2018, Sunney Xie et ses collègues ont par ailleurs suivi les variations de comportement d'une cellule à l'autre. Ils ont ainsi montré que deux paramètres suffisent pour décrire la dynamique d'un gène : la fréquence des vagues – leur nombre par cycle cellulaire – et la taille de la vague – la moyenne du nombre de molécules produites. Sans oublier bien sûr l'autocatalyse due aux perméases. Ainsi, finalement, leur modèle décrit comment le jeu entre ce rétrocontrôle positif et l'expression aléatoire de l'opéron fait émerger deux états stables, avec une possibilité de transition de l'un à l'autre. La basse fréquence des expressions aléatoires de l'opéron stabilise l'état non induit, tandis que le rétrocontrôle positif stabilise l'état induit.

DE LA CELLULE À L'INDIVIDU

La place et le rôle biologique de l'aléatoire dans la dynamique de l'opéron lactose sont donc désormais parfaitement décryptés. Pour cela, il a fallu en avoir la description moléculaire complète. C'est pourquoi l'opéron lactose joue toujours un rôle fondamental. Jacob et Monod concluaient leur article de 1961 par une généralisation de leur modèle au développement et à la différenciation cellulaire des organismes eucaryotes comme les animaux et les plantes. Sunney Xie et ses collègues ont fait de même en postulant que le jeu des régulateurs de transcription lors de l'embryogenèse devait être du même ordre, à savoir des événements aléatoires et des processus de maintien, analogues à l'autocatalyse pour l'opéron lactose. Mais chez les organismes pluricellulaires, les processus au cours du développement sont plus complexes, puisque les régulations y sont spatiotemporelles, alors que pour l'opéron lactose, elles ne sont que temporelles. Or bien peu de systèmes eucaryotes sont décrits avec le niveau de précision atteint avec l'opéron !