



## Bistabilité et opéron lactose : un cas d'école

L'idée consensuelle selon laquelle la physiologie devra se reconstruire à partir des connaissances apportées par la biologie moléculaire semble ressortir du débat renouvelé entre molécularistes [1, 2] et partisans d'une approche intégrée des processus biologiques [3, 4]. Cette dernière peut cependant conduire, de manière réciproque, à une réinterprétation des données moléculaires les mieux établies, comme le montre l'exemple de l'opéron lactose dont le décryptage, à l'orée des années 1960, a constitué une étape clé dans l'essor de la biologie moléculaire.

### La conception classique

La *figure 1* résume la conception actuelle du fonctionnement de l'opéron lactose. Brièvement (et en laissant de côté le rôle de la protéine CAP qui ne change rien à la logique du processus), une protéine appelée « répresseur » se fixe sur l'ADN, empêchant la fixation de l'ARN polymérase et la traduction subséquente des gènes dépendant du promoteur impliqué. Ces gènes (trois dans le cas de l'opéron lactose) codent pour des protéines intervenant dans le transport et le catabolisme du lactose. Ils sont adjacents et ont une expression coordonnée : ils appartiennent au même opéron. La transcription ne peut commencer qu'après qu'une petite molécule (l'« inducteur »), l'allolactose, s'est liée au répresseur, provoquant un changement de conformation de ce dernier et sa désorption concomitante de l'ADN.

En dehors du concept même d'opéron, deux notions essentielles ont été retenues de ce mécanisme : celle de régulation négative (le répresseur non ligandé « empêche » la transcription, l'inducteur « empêchant » le répresseur d'« empêcher » la transcription) et celle de commutateur génétique [5], les gènes étant ou non transcrits selon la combinatoire de leurs régulations. La pratique moderne de la biologie moléculaire a considérablement étendu cette logique binaire. Paradoxalement, elle s'applique parfaitement au cas de l'opéron lactose mais pour d'autres raisons (et avec d'autres conséquences) que celles habituellement invoquées et dont ne peut rendre compte le mécanisme exposé plus haut.

### Un temps de latence n'est pas un seuil

L'un des trois gènes de l'opéron est une perméase, qui permet l'entrée dans la bactérie du lactose (substrat de la  $\beta$ -galactosidase, dont le gène est le premier transcrit de l'opéron) et de l'inducteur, l'allolactose. En facilitant l'entrée de l'allolactose, la perméase va ainsi accélérer sa propre biosynthèse. Même si la liaison de l'allolactose au répresseur ne présente en elle-même aucun seuil, un tel phénomène semble apparaître lorsque l'on examine la variation temporelle du taux de transcription de l'opéron (*figure 2*), donc aussi celle du catabolisme du lactose. D'où la conclusion selon laquelle une infime

quantité d'allolactose provoquerait la transition entre un état non induit dans lequel les gènes de l'opéron ne seraient pas transcrits et le lactose non métabolisé, et un état induit où, suite à la transcription, les bactéries cataboliseraient le lactose.

Ce raisonnement comporte une faille soulignée par l'expérience elle-même [6-9]. Celle-ci consiste à repiquer une culture bactérienne induite avec une culture non induite dans un milieu contenant une faible concentration en inducteur\*, ces conditions étant maintenues suffisamment longtemps pour permettre aux bactéries de se diviser (les expériences sont réalisées en milieu succinate, ce qui procure à toutes les cellules une source de carbone et d'énergie). Le résultat est éloquent : les bactéries issues des souches induites demeurent induites tandis que celles provenant des souches non induites restent non induites. En quoi cette observation pose-t-elle problème ? L'entrée d'allolactose étant un processus qui s'auto-amplifie, il ne peut exister de concentration intracellulaire seuil en allolactose au-delà de laquelle le mécanisme de dépression serait initié : la quantité initiale d'allolactose

\* L'inducteur utilisé dans les expériences originales était le méthyl  $\beta$ -D-thiogalactoside. On sait aujourd'hui que l'inducteur naturel est un dérivé du lactose, l'allolactose. Il n'y a aucune différence, dans la logique du mécanisme, à considérer que la perméase facilite à la fois l'entrée du lactose et de l'inducteur se trouvant dans le milieu extracellulaire ou, alternativement, que la perméase facilite l'entrée de lactose, ce qui active la formation intracellulaire de l'inducteur.

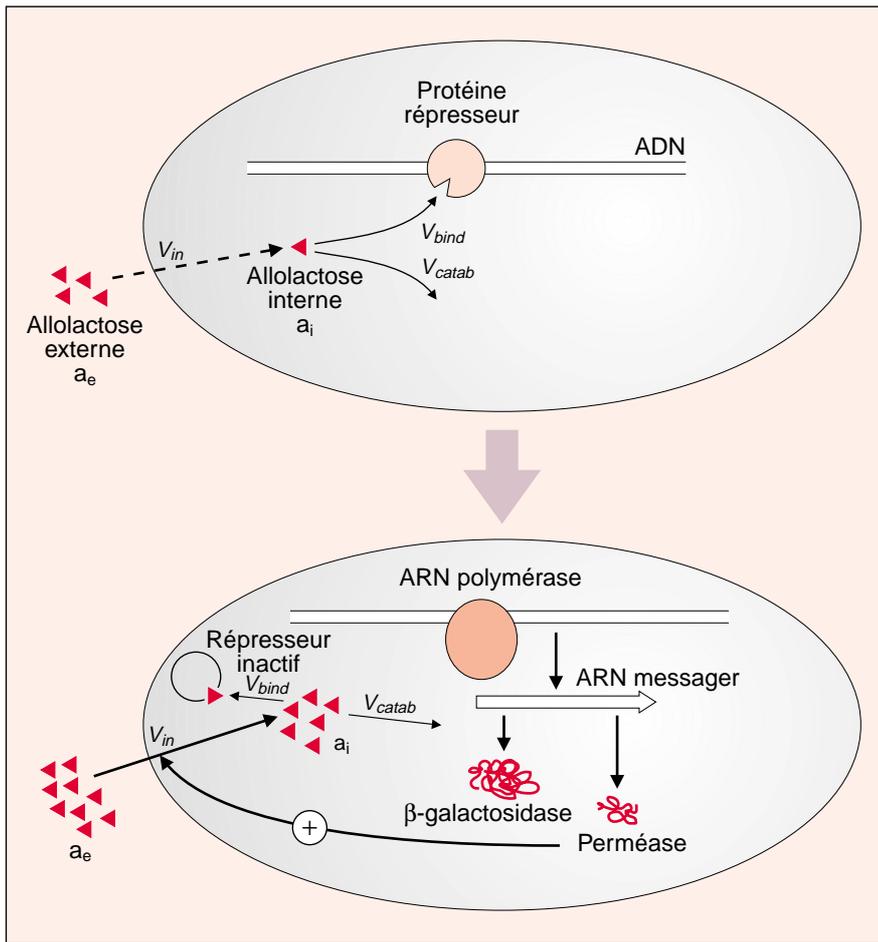


Figure 1. **Fonctionnement de l'opéron lactose.** Tant qu'il n'a pas fixé l'inducteur (l'allolactose), le répresseur est lié à l'ADN, empêchant ainsi sa transcription. La fixation de l'allolactose provoque un changement de conformation du répresseur et son détachement concomitant de l'ADN. L'ARN polymérase peut alors déclencher la transcription puis la traduction de la  $\beta$ -galactosidase et de la perméase, dont les expressions sont coordonnées. La perméase facilite (flèche +) l'entrée d'allolactose (ainsi que celle du lactose) dans la cellule (vitesse  $v_{in}$ ). L'allolactose libre intracellulaire  $a_i$  peut se lier au répresseur (vitesse  $v_{bind}$ ) où être métabolisé (vitesse  $v_{catab}$ ). La somme de ces deux processus élémentaires correspond à une fuite du premier ordre (vitesse  $v_{out}$ ). Dans beaucoup d'ouvrages de référence (tel [5] par exemple), le rôle de la perméase, pourtant essentiel, n'est pas même évoqué.

intracellulaire ne joue que sur le délai d'apparition de la transition illustrée par la figure 2 et non sur son occurrence éventuelle. Celle-ci est inéluctable une fois la première molécule d'allolactose présente dans la bactérie. Dans ce raisonnement, on confond donc temps de latence et seuil de concentration. Celui-ci n'existant pas dans le mécanisme inféré, l'expérience devrait se traduire *in fine* par l'acquisition, par toutes

les cellules, de l'état induit, ce qui est contraire aux observations expérimentales. Cette difficulté avait été perçue dès l'origine par Novick et Weiner [6] : « Dès qu'une bactérie contient une seule molécule de perméase, sa concentration intracellulaire en inducteur augmente, ce qui augmente la probabilité qu'une deuxième molécule de perméase soit formée dans cette bactérie... Le seuil correspond à une seule et unique molécule de perméase. »

### Où est donc le seuil?

Entre les phénomènes observés et les lois qui les engendrent, il y a un fossé que l'esprit humain ne peut bien souvent franchir que grâce aux mathématiques. Comme Newton le fit à propos des lois du mouvement, il nous faut identifier la ou les constantes cachées parmi les variables dynamiques qui règlent le fonctionnement de l'opéron lactose. Si l'on cherche à mesurer, en fonction du temps, la distance au sol d'un boulet lâché du 6<sup>e</sup> étage (afin d'éviter toute polémique, nous supposons être dans le vide !), la suite de valeurs obtenues paraîtra assez énigmatique. Mais si l'on calcule le taux de variation de cette distance (la vitesse) ou mieux encore, le taux de variation de ce taux de variation (l'accélération), alors les lois de la gravité apparaissent clairement. Parce qu'un taux de variation est relatif à la différence entre une grandeur à un instant donné et la même grandeur un instant plus tard, les équations décrivant ces lois du changement sont des équations différentielles.

Quel est le taux de variation temporel de la concentration intracellulaire  $[a_i]$  en allolactose ? Il s'agit d'une vitesse et celle-ci est égale à la différence algébrique entre la vitesse des processus concourant à former ce composé et celle des processus qui tendent à l'éliminer (ou à le séquestrer\*) :

$$\frac{d[a_i]}{dt} = v_{in} - v_{out}$$

Nous avons montré [13] que dans le cas de l'opéron lactose, les vitesses individuelles  $v_{out}$  et  $v_{in}$  pouvaient se mettre sous la forme suivante :

$$v_{out} = k [a_i]$$

$$v_{in} = [a_e] \left( k_0 + \frac{[a_i]^n}{K + [a_i]^n} \right)$$

où  $k$ ,  $k_0$ ,  $K$  et  $n$  sont des constantes et  $[a_e]$  la concentration extracellulaire en allolactose. Les profils cinétiques correspondants sont illustrés par la figure 3A. La formulation donnée à

\* Les équations de vitesses en question font intervenir la concentration en espèces chimiques libres (c'est-à-dire ici l'allolactose non lié au répresseur).

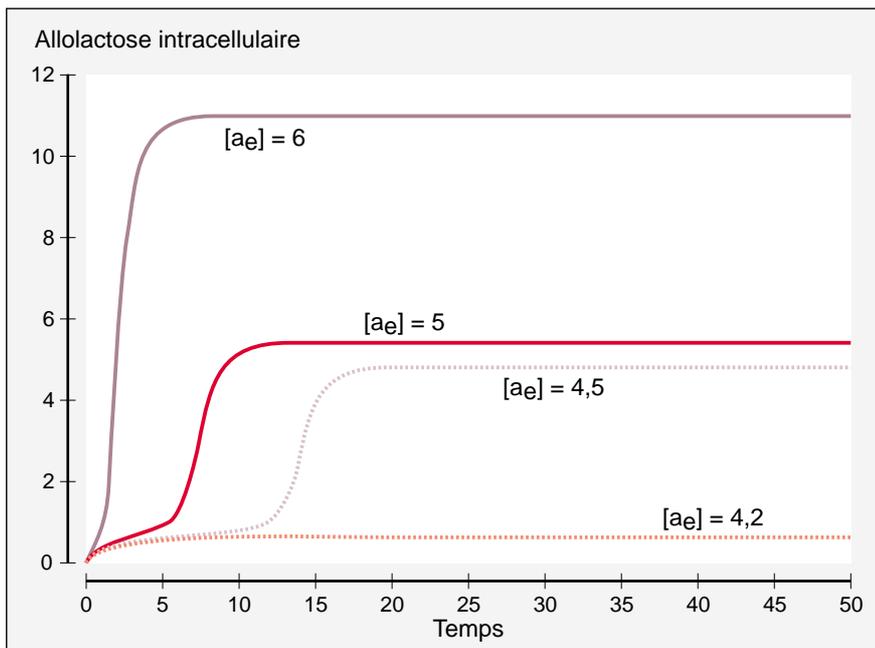


Figure 2. **Seuil et temps de latence.** Le taux de transcription de l'opéron est proportionnel à la concentration intracellulaire en allolactose  $[a_i]$  qui dépend elle-même de la concentration en allolactose extracellulaire  $[a_e]$  et, si l'état stationnaire n'est pas atteint, du temps pendant lequel les cultures sont maintenues dans ce milieu. Pour les concentrations  $[a_e]$  supérieures à 4,5, le temps de latence qui précède la transition entre états à faible et à forte concentrations  $[a_i]$ , est d'autant plus court que  $[a_e]$  est élevée. Le caractère très brusque de cette transition pourrait laisser croire à un seuil temporel. Pourtant, lorsque  $[a_e]$  est égale (ou inférieure) à 4,2, l'allolactose interne atteint rapidement une concentration stationnaire très faible et aucune transition n'est observée. Aussi existe-t-il bien une concentration seuil  $[a_e]$  (à laquelle est associée une concentration seuil  $[a_i]$ ) en deçà de laquelle l'opéron n'est pas transcrit. Dans le mécanisme conventionnel ignorant la dynamique des régulations, ce seuil devrait « correspondre à une seule et unique molécule de perméase » [6]. (Les courbes ont été calculées à partir des équations données dans le texte et les paramètres de la figure 3.) Même si l'activité  $\beta$ -galactosidase et non la concentration intracellulaire en inducteur étaient mesurées dans ces expériences, les données du Tableau I de l'article original de Novick et Weiner [6] illustrent bien la dépendance du temps de latence avec la concentration extracellulaire en inducteur.

l'expression de  $v_{in}$  (proche de celle de l'équation de Hill\*) intègre l'existence de la boucle de régulation constituée par le couple allolactose/perméase. La rétroaction positive exercée par la perméase sur l'entrée d'allolactose est l'élément-clé à l'origine du phénomène de bistabilité décrit ci-dessous.

Pour une valeur donnée  $[a_e]$ , il est possible de calculer, pour chaque concentration  $[a_i]$ , la vitesse nette d'apparition (c'est-à-dire la différence entre ses vitesses de production et

d'élimination) de l'inducteur dans le milieu intracellulaire (figure 3B). Les « constantes cachées » qui règlent le comportement de l'opéron lactose apparaissent alors de manière évidente: il existe en effet 3 valeurs de la concentration intracellulaire en allolactose pour lesquelles  $v_{in}$  est égale à  $v_{out}$ . Ces trois valeurs correspondent à trois états particuliers – trois états stationnaires – du système. La figure 3C montre que les états stationnaires extrêmes sont des attracteurs (ils sont donc stables) alors que l'état stationnaire intermédiaire est un répulseur (il est instable).

Le taux de transcription de l'opéron lactose dépend directement de la concentration  $[a_i]$ . Aussi les deux états stationnaires stables correspondent-ils à deux régimes qualitativement distincts de la consommation de lactose. Dans l'état  $SS_1$ , la concentration intracellulaire en inducteur  $a_i$  est faible: le répresseur est lié à l'ADN et l'opéron est réprimé. Au contraire, la forte concentration stationnaire correspondant à  $SS_2$  autorise la liaison de l'inducteur au répresseur et sa désorption de l'ADN: les gènes sont alors transcrits.

Le comportement de l'opéron lactose est ainsi celui d'un système bistable. Une fois que la variable pertinente (ici la concentration intracellulaire en allolactose) a atteint une valeur seuil, le système bifurque vers l'état stationnaire stable alternatif et y demeure, même lorsque la fluctuation a disparu (figure 3). Cette propriété est illustrée par les expériences de Novick et Wiener [6] et de Cohn et Horibata [7-9]. Lorsque les bactéries non induites sont transférées dans un milieu contenant de l'allolactose, la concentration intracellulaire en inducteur va dépendre à la fois de sa concentration extracellulaire et, avant que l'état stationnaire ne soit atteint, du temps de résidence de la culture dans ce milieu. Une combinaison adéquate de ces deux paramètres permet de franchir la concentration intracellulaire seuil. Comme l'a souligné Thomas [10], une donnée expérimentale essentielle interprétée par la seule approche dynamique est que dans une large zone de concentrations extracellulaires en allolactose (ce que l'on appelait dans les expériences originales la « concentration de maintien »), l'inducteur est incapable de provoquer la transition vers l'état induit tout en permettant aux cellules déjà induites de se maintenir dans cet état. Ce comportement est une conséquence directe d'une propriété majeure des systèmes bistables, l'hystérèse.

### L'hystérèse comme source de différenciation phénotypique

Imaginons que des cellules induites en croissance soient successivement repiquées dans un milieu contenant une faible concentration en allolactose. Pro-

\* Équation empirique de l'enzymologie décrivant les processus coopératifs.

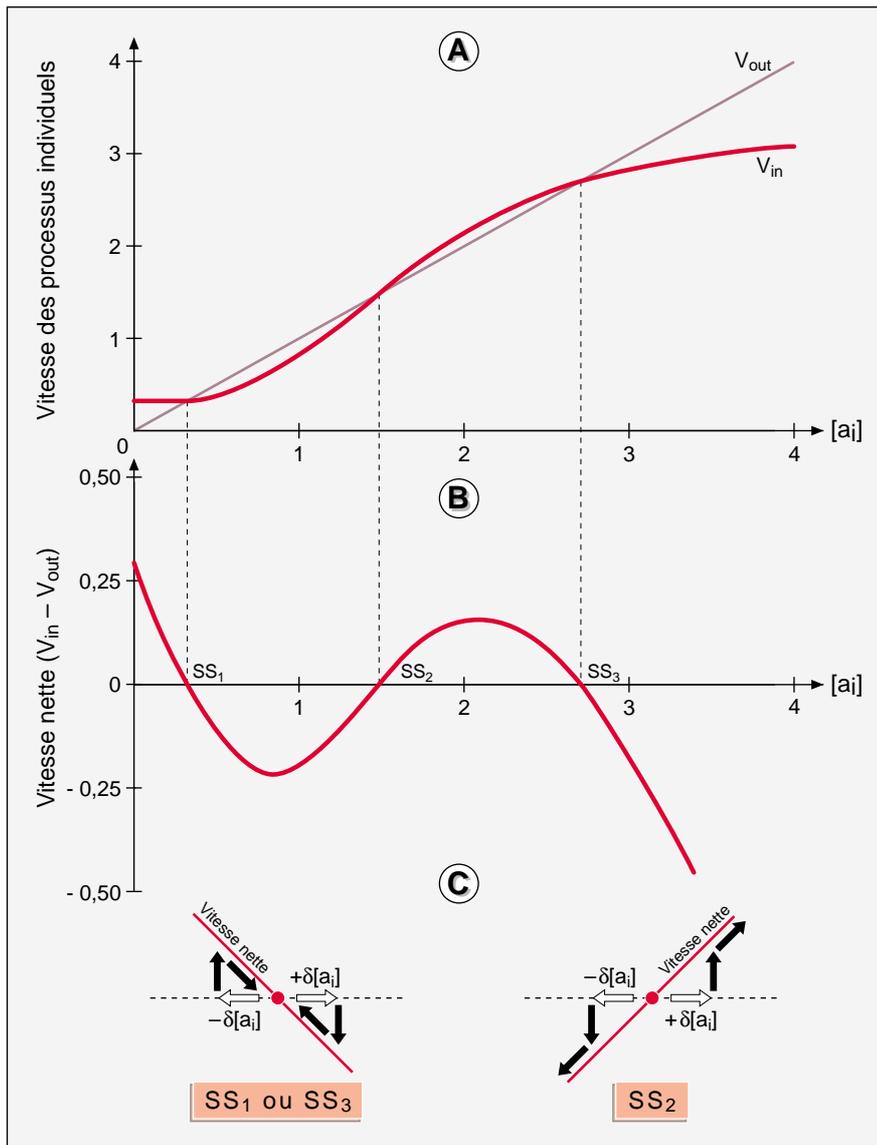


Figure 3. **Dynamique de l'opéron lactose.** **A. Vitesses individuelles de production ( $v_{in}$ ) et d'élimination ( $v_{out}$ ) de l'allolactose intracellulaire  $a_i$ .** Les courbes ont été calculées à partir des équations données dans le texte et des valeurs suivantes des paramètres:  $k = 1$ ,  $n = 3$ ,  $K = 5$ ,  $k_0 = 0,1$ ,  $[a_0] = 3$  (unités arbitraires). **B. Vitesse nette de production d'allolactose intracellulaire.** Les états stationnaires  $SS_1$ ,  $SS_2$  et  $SS_3$  correspondent aux concentrations  $a_i$  pour lesquelles la vitesse nette est nulle. **C. Analyse de la stabilité locale des états stationnaires.** La stabilité de chaque état est testée en effectuant des petites perturbations  $\delta[a_i]$  au voisinage d'entre eux. Deux situations distinctes peuvent se présenter. La première concerne le cas où la vitesse nette a une pente négative (états  $SS_1$  et  $SS_3$ ). L'addition de  $\delta[a_i]$  se traduit par une situation dans laquelle la vitesse nette est négative, c'est-à-dire qu'il est détruit, par unité de temps, plus d'allolactose qu'il n'en est produit. La fluctuation  $+\delta[a_i]$  va ainsi être éliminée et le système revenir vers l'état stationnaire. La même conclusion serait déduite de l'analyse d'une perturbation négative  $-\delta[a_i]$ . En  $SS_1$  et  $SS_3$ , les petites perturbations sont éliminées: ces états stationnaires sont stables. Le deuxième cas concerne la situation où la vitesse nette a une pente positive (état  $SS_2$ ). Dans ce cas, les petites perturbations  $\delta[a_i]$  sont amplifiées et le système s'écarte de cet état stationnaire (qui, pour cette raison, est dit instable).

gessivement, la concentration intracellulaire en inducteur va diminuer. Brusquement, au-delà d'une concentration seuil, le système va basculer dans le bassin de l'attracteur correspondant à l'état « non induit » (figure 4). Les cellules et leurs descendantes réacquerront le phénotype non induit. Le point important est que la valeur seuil en allolactose extracellulaire permettant le retour à l'état « non induit » sera plus faible que celle observée lors de la transition du phénotype « non induit » vers le phénotype « induit » (figure 5). Cette propriété (nommée hystérèse et typique des systèmes multistables) a déjà été décrite par ailleurs [11-13]. C'est elle – et elle seule – qui permet de comprendre les résultats de l'expérience rappelée plus haut. Dans la zone de concentration intracellulaire en allolactose pour laquelle coexistent les deux états stationnaires, l'état adopté par toute cellule dépend de ce qu'il était avant que la concentration intracellulaire en inducteur ne soit modifiée. Si la cellule était induite (c'est-à-dire si elle se trouvait sur la branche haute de stabilité), elle et sa descendance resteront induites. Si elle était non induite, elle et sa descendance demeureront dans cet état. Ainsi, des bactéries ayant le même patrimoine génétique et ne différant que par leur adaptation (leur induction ou non-induction) à la croissance en milieu lactose, auront acquis une différence phénotypique qu'elles seront capables de conserver et de transmettre bien que placées, une fois la différenciation effectuée, dans les mêmes conditions de milieu.

Cette analyse montre en quoi l'approche purement moléculaire, isolée de son contexte dynamique, peut être trompeuse: ce n'est pas parce que la transcription de l'opéron lactose est un processus de type ouvert/fermé que la réponse du système est binaire. Ce comportement est la manifestation d'une discontinuité, liée à la dynamique des régulations, dans l'évolution de la concentration intracellulaire en inducteur. En d'autres termes, la différence entre les états induit et non induit correspond à une modification de l'environnement cellulaire et non à une altération moléculaire de l'opéron lui-même. Dans les conditions dans lesquelles les deux états peuvent

coexister, le choix entre l'un et l'autre états n'a aucun déterminisme génétique: il ne dépend que de l'histoire du système, cette histoire étant mémorisée par le sens de variation d'une variable liée à l'environnement.

### Perspective historique

Le concept de multistationnarité (issu de la thermodynamique des phénomènes irréversibles) fournit une explication rationnelle et complète du comportement de l'opéron lactose. Il paraît vraisemblable qu'une analyse du même type pourrait enrichir notre perception d'autres phénomènes de la dynamique cellulaire (dans le domaine des procaryotes, pensons par exemple au choix entre cycles lytique et lysogénique dans le mécanisme qui préside à l'infection d'*E. coli* par le bactériophage  $\lambda$ , comme des travaux convergents le suggèrent [14, 15]). En s'appuyant sur la connaissance moléculaire mais aussi sur la physique moderne, la physiologie en reconstruction pourrait ainsi affirmer son caractère véritablement intégratif. Elle réintroduirait en particulier les notions de temps et d'événement dans notre explication du vivant, notions que la biologie moléculaire avait cru pouvoir effacer en fondant l'essentiel de son explication sur l'étude « anatomique » des seules structures du matériel biologique.

Il est particulièrement instructif de se reporter aux expériences originales et à leur interprétation de l'époque. Dans le premier de leur série de trois articles consécutifs [7-9] publiés en 1959, Cohn et Horibata écrivaient: « Il semble clair que deux états stationnaires stables par rapport à la synthèse de  $\beta$ -galactosidase peuvent être maintenus par une population génétiquement homogène croissant dans un milieu donné. » Dix ans auparavant, le généticien Max Delbrück postulait [16]: « Une cellule peut exister sous deux états fonctionnellement différents d'équilibre de flux\*, sans que cela implique un changement quelconque dans la propriété des

\* Comme l'a montré récemment Thieffry [17], cette expression est une traduction malheureuse, dans le texte français publié, de l'expression steady state. Dans leur analyse du modèle de Delbrück, Thomas et D'Ari [18] avaient très tôt soupçonné l'existence de cette erreur de traduction.

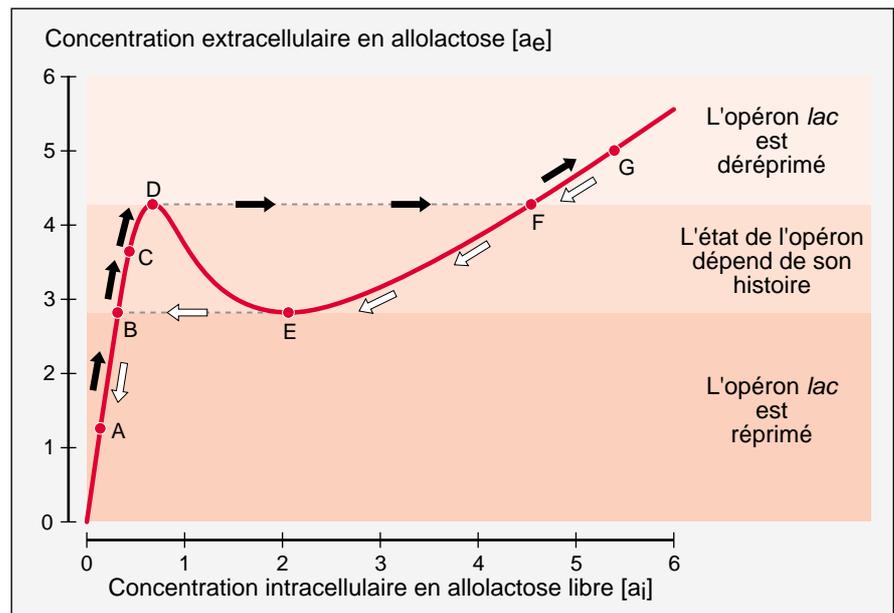


Figure 4. **Seuils de concentration et comportement hystérétique de l'opéron lactose.** Dans le plan  $([a_i], [a_e])$ , les états stationnaires possibles du système forment une trajectoire calculable en recherchant, pour chaque valeur de  $[a_e]$ , les racines  $[a_i]$  de l'équation  $v_{in} - v_{out} = 0$ . Les états stationnaires stables correspondent aux deux branches de cette trajectoire dont la pente est positive (entre l'origine des axes et le point D d'une part, et au-delà du point E d'autre part). Les états stationnaires instables sont au contraire localisés sur la branche de pente négative (entre D et E). Lorsque partant de la branche stable à faible  $[a_i]$  (où l'opéron est réprimé), on augmente la concentration extracellulaire  $[a_e]$  en allolactose (flèches noires), le système bascule brusquement, au-delà du point D (pointillés), sur la branche stable correspondant à l'état déréprimé. La transition inverse entre les états déréprimé et réprimé (de E à B, flèches blanches) se produit pour une valeur seuil des concentrations différentes de celle qui préside à la transition aller. La trajectoire a été calculée à partir des équations données dans le texte et avec les valeurs des paramètres de la figure 3. Notons que le plan  $([a_i], [a_e])$  correspond à un espace variable-paramètre. La lecture de ce diagramme impose donc que l'on observe la valeur prise par la variable  $([a_i])$  lorsque l'on modifie celle du paramètre  $([a_e])$  et non l'inverse.

gènes, plasmagènes, enzymes, ou de toutes autres unités structurales; les passages d'un état à un autre peuvent être provoqués par des modifications transitoires des conditions de milieu. [...] » Se rapportant à cet article, Cohn et Horibata concluaient [7]: « Le système [métabolique] des  $\beta$ -galactosides constitue un exemple expérimental du modèle de Delbrück. » En l'absence de cadre conceptuel fondant ces « états stationnaires multiples », cette interprétation n'eut que peu d'écho. Ce cadre conceptuel a été fourni une vingtaine d'années plus tard par la thermodynamique des phénomènes irréversibles [19, 20]. Pour autant, commentant les divergences ayant opposé Delbrück et Monod autour des années 1950, Michel Morange écrivait en 1994

dans son « Histoire de la Biologie Moléculaire » [21]: « Le développement de la biologie moléculaire semble être une victoire pour les partisans du réductionnisme biologique. C'est l'étude des molécules, de leur structure, qui a révélé les mécanismes intimes de fonctionnement du vivant. Les nouveaux principes physiques dont Max Delbrück avait imaginé l'existence ne se sont jamais manifestés. » Même si les nouvelles lois que Delbrück espérait découvrir dépassaient le cadre restreint du modèle évoqué [22], sa conception visionnaire lui a permis de comprendre très tôt que la notion de propriété émergente, loin de se réduire à la seule expression des structures, nécessitait aussi la prise en compte de leurs correspondances dynamiques ■

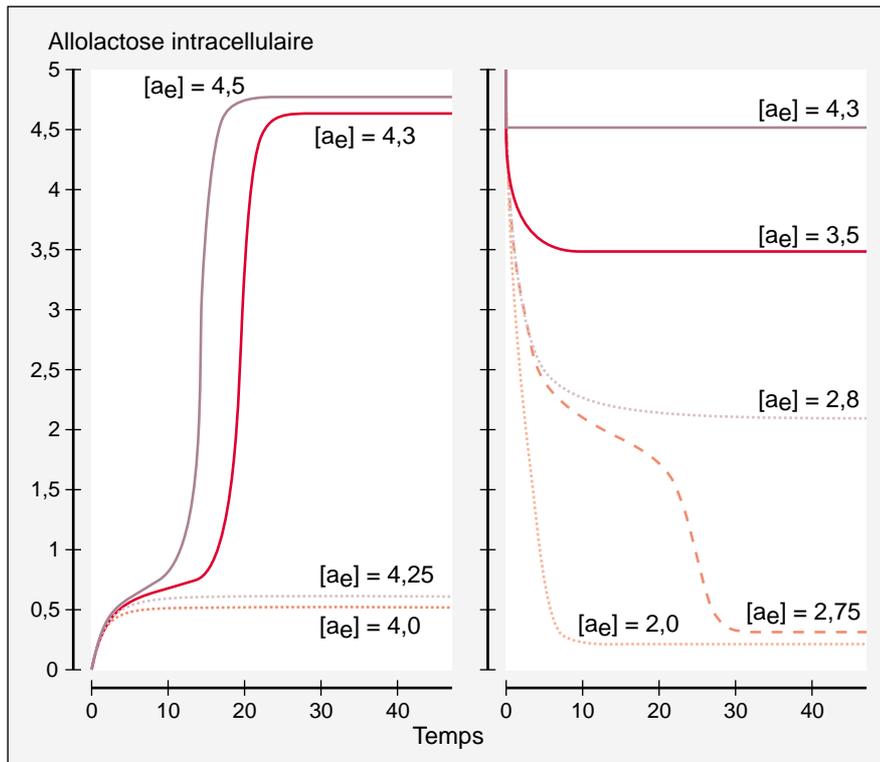


Figure 5. **Propriétés d'hystérèse et comportement temporel.** Sur la partie gauche de la figure, la concentration intracellulaire en allolactose est initialement nulle. Les bactéries sont donc non induites. Au temps 0, elles sont placées dans un milieu contenant l'une des concentrations en allolactose indiquées  $[a_e]$ . En deçà d'une valeur de  $a_e$  égale à 4,3, la concentration en allolactose intracellulaire stationnaire reste inférieure au seuil de la transition non induit/induit. Au-delà de cette valeur seuil, la transition se produit. Sur la partie droite de la figure, la concentration initiale en allolactose à l'intérieur des cellules est égale à 4,5. Les bactéries sont donc induites. Au temps 0, elles sont placées dans un milieu contenant la concentration indiquée  $[a_e]$  en allolactose. Jusqu'à une concentration extracellulaire  $[a_e]$  égale à 2,8, les bactéries restent dans l'état induit. En deçà de ce seuil, la transition réverse induit/non induit se produit, la concentration intracellulaire en allolactose chutant brusquement à une très faible valeur. Entre les deux seuils  $[a_e]$  aller et retour (par exemple pour une valeur de 3,5), l'état que va adopter le système dépendra de la concentration initiale en allolactose intracellulaire, c'est-à-dire de ce qu'était l'état du système avant ce temps 0. Les courbes ont été calculées par intégration numérique de l'équation différentielle  $d[a_i]/dt = v_{in} - v_{out}$  avec les valeurs des paramètres données dans la figure 3.

## RÉFÉRENCES

1. Prochiantz A. Biologie des mauvaises humeurs. *Med Sci* 1998; 14: 1155-6.
2. Danchin A. *Une aurore de pierres*. Paris: Seuil, 1990.
3. Zajac JM. Réponse à Alain Prochiantz et à sa biologie des mauvaises humeurs. *Med Sci* 1999; 15: 133-4.
4. Laurent M. *La puissance du vivant. Dynamique des systèmes biologiques*. Paris: Hermann, 1999.

5. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. *Biologie moléculaire de la cellule*, 3<sup>e</sup> éd. Paris: Flammarion Médecine Sciences, 1995.
6. Nowick A, Weiner M. Enzyme induction as an all-or-none phenomenon. *Proc Natl Acad Sci USA* 1957; 43: 553-66.
7. Cohn M, Horibata K. Inhibition by glucose of the induced synthesis of the  $\beta$ -galactoside enzyme system of *Escherichia coli*. Analysis of maintenance. *J Bacteriol* 1959; 78: 601-12.
8. Cohn M, Horibata K. Analysis of the differentiation and of the heterogeneity within

a population of *Escherichia coli* undergoing induced  $\beta$ -galactosidase synthesis. *J Bacteriol* 1959; 78: 613-23.

9. Cohn M, Horibata K. Physiology of the inhibition by glucose of the induced synthesis of the  $\beta$ -galactoside enzyme system of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1959; 78: 624-35.

10. Thomas R. Laws for the dynamics of regulatory networks. *Int J Dev Biol* 1998; 42: 479-85.

11. Laurent M. Les maladies à prions: l'hypothèse de la protéine seule et ses conséquences dynamiques. *Med Sci* 1996; 12: 774-85.

12. Laurent M, Kellershohn N, Hervagault JF. Multistabilité, oscillations et chaos dans les systèmes biologiques. *Med Sci* 1998; 14: 1240-51.

13. Laurent M, Kellershohn N. Multistability: a major means of differentiation and evolution in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1999 (sous presse).

14. Reintz J, Vaisnys JR. Theoretical and experimental analysis of phage lambda genetic switch implies missing levels of cooperativity. *J Theor Biol* 1990; 145: 295-318.

15. Thieffry D, Thomas R. Dynamical behaviour of biological regulatory networks. II. Immunity control in bacteriophage lambda. *Bull Math Biol* 1995; 57: 277-95.

16. Delbrück M. *Unités biologiques douées de continuité génétique*. Paris: Editions du CNRS, 1949: 33-4.

17. Thieffry D. *E. coli* as a model system with which to study cell-differentiation. *Hist Philos Life Sci* 1996; 18: 163-93.

18. Thomas R, D'Ari R. *Biological feedback*. Boca Raton (Florida): CRC Press, 1990.

19. Glansdorff P, Prigogine I. *Thermodynamics of structure, stability and fluctuations*. New York: Wiley, 1971.

20. Nicolis G, Prigogine I. *Self-organization in nonequilibrium systems. From dissipative structures to order through fluctuations*. New York: Wiley, 1977.

21. Morange M. *Histoire de la biologie moléculaire*. Paris: La Découverte, 1994.

22. Fischer EP, Lipson C. *Thinking about science: Max Delbrück and the origins of molecular biology*. New York-London: Norton, 1988.

## Michel Laurent

*IFR Structure et Dynamique des Signaux Cellulaires, Dynamique et Imagerie Cellulaires, UPRESA 8080, Bâtiment 440, Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex, France.*

## TIRÉS À PART

M. Laurent.