

Les barrières interspécifiques vaincues par l'inactivation du système de réparation des erreurs de réplication de l'ADN ?

Les mécanismes généraux de l'évolution sont loin d'avoir encore livré tous leurs secrets. Des mutations ponctuelles successives, étalées dans le temps, rendent difficilement compte des variations rapides de spéciation. Des remaniements profonds ou des changements de nombre de chromosomes, ne permettant plus la fécondité qu'entre ceux qui ont subi le changement (le modèle « Adam et Ève »), n'ont pas reçu confirmation. En revanche, des recherches récentes sont parvenues à étayer la théorie de recombinaisons homologues, sources de transferts ou d'échanges d'informations génétiques, à l'intérieur d'une espèce, mais aussi entre espèces voisines. On sait que des barrières puissantes s'opposent aux recombinaisons interspécies ; l'analyse précise des mécanismes qui sous-tendent ces barrières vient de montrer dans quelles conditions on peut les abaisser. C'est chez des bactéries que des résultats spectaculaires viennent d'être obtenus par une équipe franco-américaine (institut Jacques Monod, Paris, et Salt Lake City, UT, USA). C. Rayssiguier, D.S. Thaler et M. Radman [1] sont parvenus en effet à tromper la vigilance du système complexe destiné à empêcher ou à redresser les erreurs au cours de la réplication de l'ADN.

La fidélité de la réplication est contrôlée par trois mécanismes successifs : la sélection des bases par une ADN polymérase, la « relecture d'épreuves » par des enzymes associées à la machinerie de la réplication, la correction post-réplivative des non-appariements (*mismatch repair*). C'est ce dernier mécanisme dont l'analyse a révélé qu'il pouvait être à l'origine du maintien ou de la disparition des barrières interspécifiques.

1. Le système de correction « méthyl-dirigé » de l'ADN [2-5]. Les

expériences de C. Rayssiguier *et al.* ont été effectuées sur deux bactéries, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*. Ces espèces voisines, qui ont divergé il y a 150 millions d'années, ont des séquences qui diffèrent de 20 % environ. Ces différences conduisent à des erreurs d'appariement lorsqu'on essaye de les conjuguer. Il existe chez ces espèces, ainsi que chez quelques autres bactéries, un système particulier de correction de ces erreurs. Il a comme support des séquences GATC, spécifiquement reconnues, et qui se rencontrent, sta-

tistiquement, tous les 200 à 300 nucléotides. De telles séquences sont méthylées au niveau de l'adénine. Au cours de la réplication, dans un premier temps le brin néoformé n'est pas méthylé, la séquence est donc hémiméthylée. La correction éventuelle s'exerce sur le brin non méthylé, qui vient d'être synthétisé et qui peut donc porter des erreurs, épargnant ainsi la matrice. L'efficacité de la réparation varie selon les erreurs, les transitions G-T et A-C étant les mieux reconnues, alors que la transversion C-C ne l'est pas du

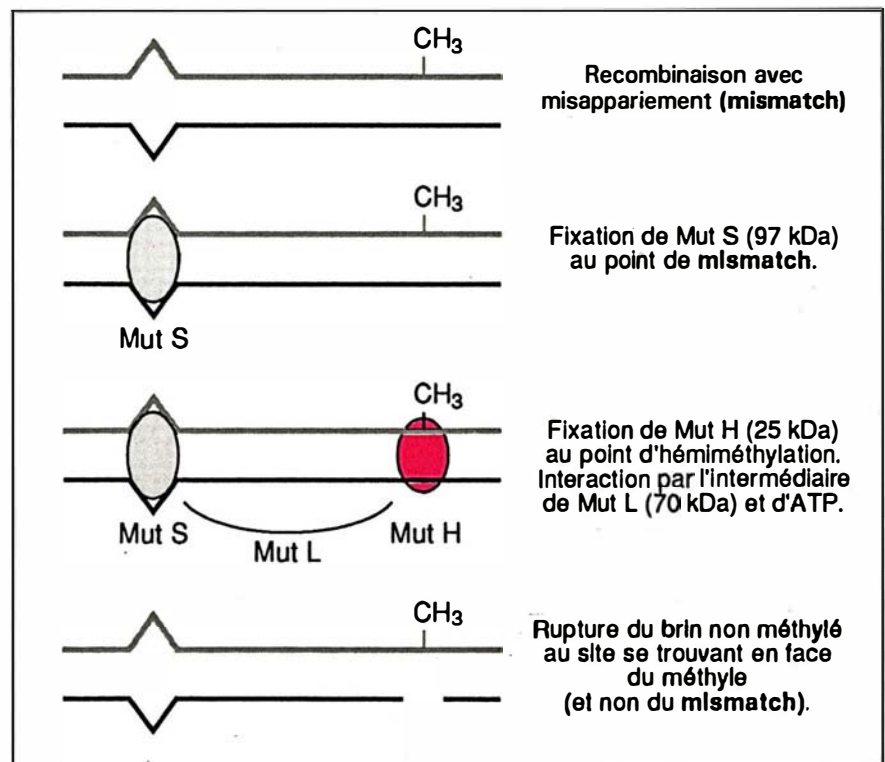


Figure 1. Mécanisme proposé de l'excision des erreurs d'appariement. (D'après [5])

tout. La rupture du brin incorrect ne siège pas au niveau du non-appariement, mais à celui de l'hémiméthylation (figure 1). Une observation importante est que la correction « méthyl-dirigée » n'intervient pas seulement dans la fidélité de la répliation, mais qu'elle s'oppose aussi à la recombinaison entre deux portions du génome, lorsque leurs différences sont trop grandes pour être corrigées par le processus décrit ci-dessus ; c'est cette remarque qui est à la base des découvertes récentes.

Le système de correction a pu être disséqué et reconstitué *in vitro*. Il met en jeu des gènes dits mutateurs parce que leur non-fonctionnement entraîne une multiplication des mutations dans l'organisme. Ils sont appelés mutH, mutL, mutS, mutU, et sont inactivés eux-mêmes par des mutations spécifiques. Les principales protéines ont été purifiées et leur mode d'action plausible est représenté sur la figure 1. L'absence de l'une d'entre elles provoque l'inactivation de l'ensemble du système réparateur.

2. Le modèle de recombinaison *E. Coli-S. typhimurium*. Depuis plusieurs années, l'hypothèse avait été émise de l'intervention du système de correction des erreurs dans les phénomènes de recombinaison homologue. Restait à trouver un modèle expérimental permettant de la tester. L'équipe de M. Radman y est parvenue en s'adressant à des recombinants entre deux bactéries voisines. Deux types d'expériences ont été mises en œuvre.

La conjugaison. Elle s'effectue entre colibacilles « mâles », donneurs dits Hfr (à haute fréquence de recombinaison), et bacilles typhiques receveurs. Elle est interrompue au bout de 40 minutes, puis on sélectionne les *S. typhimurium* qui ont incorporé les marqueurs xyl, met ou les deux, qui sont séparés par 13 % du génome, dans un milieu qui empêche la pousse de *E. coli*. L'observation fondamentale est que toute mutation du receveur, inactivant un des gènes mut, entraîne une augmentation du nombre de recombinants par un facteur de l'ordre de 1 000. Le cohéritage de xyl et de met dans

certains cas montre que de longs fragments du génome peuvent être transmis. Des expériences de *transduction* ont donné des résultats analogues : l'opéron histidine peut, dans certaines conditions expérimentales, être transféré d'une souche de *S. typhimurium* à une autre, ou même un opéron his de *E. coli* à *S. typhimurium*. Là encore, un déficit en mutL ou en mutS facilite grandement le transfert.

Les expériences que nous venons de relater ouvrent plusieurs avenues nouvelles. La première concerne naturellement l'évolution. Des hybrides ont pu être formés entre deux espèces voisines mais non interfertiles. Ces hybrides sont en fait des espèces nouvelles — M. Radman emploie le terme de *Saemorichia eschenella* — dont la fertilité est faible et pourrait même être nulle si on les croise avec chacune des espèces parentales. Cette source potentielle d'apparition d'espèces bactériennes nouvelles justifiera peut-être un jour les hypothèses proposées par S. Sonea dans *m/s* [6] sur « un champ commun génétique de tous les procaryotes ». Un mécanisme possible de ces formations d'hybrides est schématisé sur la figure 2. Ces perspectives ne sont peut-être pas limitées aux êtres unicellulaires, puisque des arguments montrent

l'existence de processus de réparation analogues — et donc de leur défaillance possible — chez des champignons [7], des amphibiens [8] et des mammifères [9]. Il faudra cependant découvrir des mécanismes différents, puisque la méthylation de l'adénine n'existe pas chez les eucaryotes ; la méthylation des cytosines a, chez les mammifères, essentiellement un rôle régulateur ; mais on peut remarquer que la fréquence de la désamination de la méthylcytosine en thymine rend un processus de réparation nécessaire.

L'interprétation de ces résultats offre [10] des aperçus tout à fait nouveaux sur le rôle des familles de séquences répétées (Alu, Kpn) chez les animaux. Elles comportent une forte homologie mais leur diversité suffit à provoquer de nombreux non-appariements lors des recombinaisons. On pourrait ainsi prendre à rebours les propositions avancées sur l'ADN « déchet » ou « égoïste », et suggérer que cet ADN, pas complètement répétitif, pourrait protéger contre les recombinaisons illégitimes, et contribuer ainsi à la stabilité chromosomique. Des exemples pathologiques pourraient venir à l'appui de cette hypothèse, si certains déficits de la réparation accroissaient la fréquence des recombinaisons, dans le syndrome de Bloom par exemple.

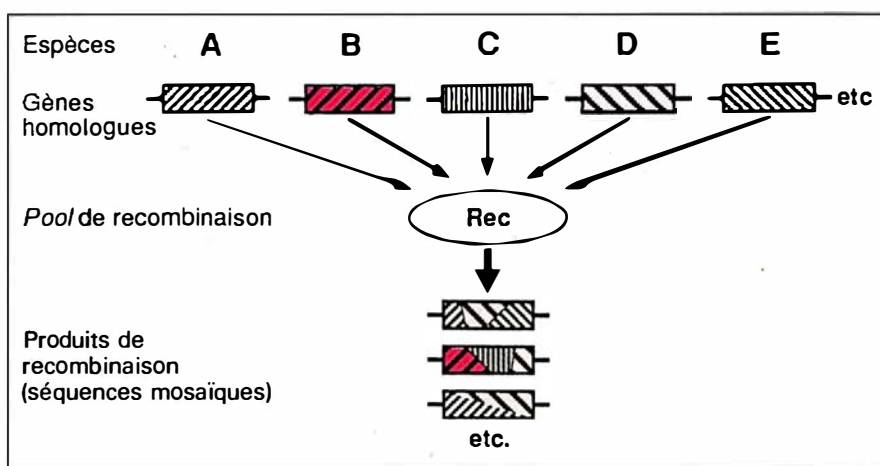


Figure 2. **Schéma de recombinaisons conduisant à la formation d'espèces nouvelles ou de séquences hybrides.** (D'après M. Radman, communication personnelle.)

Enfin, l'évolution n'est pas le seul domaine où des recombinaisons facilitées puissent être envisagées. On peut citer la préparation de vaccins dans lesquels les séquences toxiques d'une bactérie seraient remplacées par celles d'un germe non pathogène; la préparation d'opérons hybrides, conservant leurs motifs de base, mais dont les propriétés auraient été modifiées, jusqu'à faire concurrence à certains parasites capables de modifier leurs antigènes à volonté. Cette liste est loin d'être close, et les auteurs ne fixent aucune limite aux potentialités de la méthode qu'ils proposent ■

Jean-Claude Dreyfus

Remerciements

Nous remercions le docteur Miroslav Radman pour les discussions qu'il a bien voulu avoir avec nous au sujet de son travail.

RÉFÉRENCES

1. Rayssiguier C, Thaler DS, Radman M. The barrier to recombination between *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* is disrupted in mismatch-repair mutants. *Nature* 1989; 342: 396-401.
2. Radman M, Wagner R. Mismatch repair in *Escherichia coli*. *Ann Rev Genet* 1986; 20: 523-38.
3. Radman R, Wagner R. The high fidelity of DNA duplication. *Scient Amer* 1988; 259: 40-6.
4. Lahue RS, Au KG, Modrich P. DNA mismatch correction in a defined system. *Science* 1989; 245: 160-4.
5. Modrich P. Methyl-directed DNA mismatch correction. *J Biol Chem* 1989; 264: 6597-600.
6. Sonea S. Les synthèses dynamiques, mode de vie bactérien. *médecine/sciences* 1988; 4: 578-82.
7. Bishop DK, Andersen J, Koledner RD. Specificity of mismatch repair following transformation of *Saccharomyces cerevisiae* with heteroduplex plasmid DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3713-7.
8. Brooks P, Dohet C, Almouzni G, Mechali M, Radman M. Mismatch repair involving localized DNA synthesis in extracts of *Xenopus* eggs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 4425-9.
9. Brown TC, Jiricny J. Different base/base mismatches are corrected with different efficiencies and specificities in monkey kidney cells. *Cell* 1988; 54: 705-11.
10. Radman M. Mismatch repair and the fidelity of genetic recombination. *Genome* 1989; 31: 68-73.

■■■ BRÈVES ■■■

■■■ Localisation d'un gène de cardiomyopathie hypertrophique familiale. La cardiomyopathie hypertrophique familiale est une maladie à transmission dominante autosomique, entraînant une mortalité de 2 à 4% par an par mort subite. Une équipe internationale (dix auteurs) en a entrepris la localisation chromosomique en s'appuyant sur une famille franco-canadienne; une centaine de membres de cette famille, dont 44 sujets atteints, ont été analysés à l'aide de 41 sondes polymorphes. Une sonde correspondant au chromosome 14 a donné un *lod score* de +9,37, ce qui représente théoriquement une chance de plus de un milliard contre un pour une localisation voisine de cette sonde en 14q1. Cette identification peut-elle être le point de départ de l'isolement du gène? Le chromosome 14 porte, en particulier, le gène de la protéine du choc thermique HSP70 mais sa position en 14q22-24 paraît l'exclure comme candidat; en revanche, les gènes des chaînes lourdes α et β de la myosine cardiaque sont situés en 14q11-q13 et leur relation éventuelle avec la maladie est à rechercher de façon prioritaire. [Jarcho JA, et al. *N Engl J Med* 1989; 321: 1372-8.]

■■■ Le facteur de croissance épidermique (EGF) accélère la récupération de la fonction rénale après ischémie. Le clampage des deux artères rénales pendant 30 minutes chez le rat est suivi d'une insuffisance rénale aiguë (IRA) transitoire. La régénération des cellules tubulaires rénales (appréciée par l'incorporation de thymidine tritiée) commence 24 à 48 heures et culmine 72 heures après l'ischémie. L'administration sous-cutanée d'EGF (20 μ g) après 1 à 1,5 h de reperfusion accélère la régénéra-

tion et raccourcit la durée de l'IRA. C'est la première démonstration expérimentale que l'EGF exogène accélère *in vivo* le processus de réparation cellulaire succédant à une lésion aiguë. On doit également remarquer que le rein est l'un des sites principaux de synthèse du précurseur de l'EGF; cette synthèse a été localisée dans les cellules de la branche ascendante large de l'anse de Henle et du tube distal [1].

[1. Humes HD, et al. *J Clin Invest* 1989; 84: 1757-61.]

■■■ Efficacité d'un alcaloïde inhibiteur de la topo-isomérase I sur des xénogreffes de cancer colique chez la souris *nude*. La 20(S)-camptothécine est un alcaloïde de plante qui interfère avec la réaction de rupture du double brin d'ADN/resoudure catalysée par la topo-isomérase I. Cette enzyme est nécessaire pour lever les contraintes topologiques associées à la réplication de l'ADN et à la transcription. Des dérivés de la camptothécine ont été synthétisés par des chercheurs américains de Houston (TX), Baltimore (MD) et New York, et testés sur des souris *nude* auxquelles avaient été greffés des fragments de cancers coliques humains. L'un de ces dérivés, la 20(RS)-9-amino-camptothécine, s'est révélé très actif et peu toxique; il a été capable d'entraîner des rémissions complètes et des survies prolongées sans rechute chez la presque totalité de plusieurs dizaines de souris greffées avec quatre types différents de cellules cancéreuses. Cette action des dérivés de la camptothécine est probablement reliée à l'activité topo-isomérase qui est 14 à 16 fois plus forte dans les tumeurs coliques que dans les tissus sains. [1. Giovanella BC, et al. *Science* 1989; 246: 1046-8.]