

Vers une génétique moléculaire de l'évolution des espèces

Ivan Matic
François Taddei
Miroslav Radman

L'étude des barrières génétiques entre différentes espèces équivaut à demander comment ces espèces deviennent génétiquement isolées. La barrière génétique entre *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* est essentiellement une barrière à la recombinaison. La composante structurale de cette barrière est la divergence de leur ADN génomique. Le système de réparation des mésappariements (SRM) agit comme un inhibiteur de la recombinaison interspécifique alors que le système SOS agit comme un régulateur positif inductible. Ces deux systèmes génétiques contrôlent également la stabilité génomique. En général, le SRM maintient la stabilité du génome alors que la réponse SOS augmente la variabilité génétique. Ces activités opposées permettent au SRM et au SOS de contrôler à la fois la vitesse d'accumulation du polymorphisme de l'ADN et le degré d'isolement génétique qui sont deux composantes clés de la spéciation. Des résultats récents suggèrent que ces paradigmes bactériens peuvent s'étendre à certains eucaryotes.

Les différentes espèces sont des entités génétiques distinctes parce que les divers individus d'une espèce, par la reproduction sexuée, peuvent partager les caractères génétiques qui existent ou apparaissent au sein d'une espèce, tandis que les représentants des autres espèces ne participent pas à ces échanges [1]. Une telle définition d'espèce équivaut à l'isolement génétique plutôt qu'à l'isolement reproductif, parce que c'est le partage des gènes *via* diverses formes de sexualité qui définit une espèce.

Chez les bactéries, le sexe facultatif produit une descendance dotée des

gènes de deux parents, remplissant le rôle d'échange génétique. La fréquence d'échange de matériel génétique chez les bactéries (pour revues voir [2, 3]) varie suivant les espèces et les mécanismes de transfert du matériel génétique d'une cellule à l'autre qui sont :

1. La conjugaison ou transfert d'ADN plasmidique (et chromosomique) lors d'un accouplement entre deux bactéries. La conjugaison semble être le mécanisme de transfert du matériel génétique entre différentes espèces le plus répandu [4].

2. La transduction ou transfert d'ADN par l'intermédiaire d'un bactériophage.

ADRESSES

I. Matic : chargé de recherche au Cnrs. Institut Jacques-Monod, Cnrs/Université Paris 7, 2, place Jussieu, Tour 43, 75251 Paris Cedex 05, France. F. Taddei : ingénieur du génie rural, des eaux et des forêts. École Nationale du Génie Rural des Eaux et des Forêts, Paris, France. M. Radman : directeur de recherche au Cnrs. Institut Jacques-Monod, Cnrs/Université Paris 7, 2, place Jussieu, Tour 43, 75251 Paris Cedex 05, France.

RÉFÉRENCES

1. Mayr E. The growth of biological thought. Diversity, evolution and inheritance. Cambridge: Harvard University Press, 1982.
2. Dreiseikelmann B. Translocation of DNA across bacterial membranes. *Microbiol Rev* 1994; 58: 293-316.
3. Porter RD. Modes of gene transfer in bacteria. In: Kucherlapati R, Smith GR, eds. *Genetic recombination*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1988: 1-41.
4. Amabile-Cuevas CF, Chicurel ME. Bacterial plasmids and gene flux. *Cell* 1992; 70: 189-99.
5. Guttman DS, Dykhuizen DE. Clonal divergence in *Escherichia coli* as a result of recombination, not mutation. *Science* 1994; 266: 1380-3.
6. Whittam TS, Ake SE. Genetic polymorphisms and recombination in natural populations of *Escherichia coli*. In: Takahata N, Clark AG, eds. *Mechanisms of molecular evolution*. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1993: 223-45.
7. Arber W. Evolution of prokaryotic genomes. *Gene* 1993; 135: 49-56.
8. Heinemann JA. Genetics of gene transfer between species. *Trends Genet* 1991; 7: 181-5.
9. Hirsch PR. Factors limiting gene transfer in bacteria. In: Fry JC, Day MJ, eds. *Bacterial genetics in natural environments*. London: Chapman and Hall, 1990: 31-40.
10. Mazodier P, Davies J. Gene transfer between distantly related bacteria. *Annu Rev Genet* 1991; 25: 147-71.
11. Radman M, Wagner R. Mismatch recognition in chromosomal interactions and speciation. *Chromosoma* 1993; 102: 369-73.
12. Ochman H, Wilson AC. Evolutionary history of enteric bacteria. In: Neidhardt FC, Ingraham JL, Low KB, Schaechter M, Umberger HE, eds. *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: cellular and molecular biology*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1987: 1649-54.
13. Riley M, Krawiec S. Genome organization. In: Neidhardt FC, Ingraham JL, Low KB, Schaechter M, Umberger HE, eds. *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: cellular and molecular biology*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1987: 967-81.
14. Sharp PM. Determinants of DNA sequence divergence between *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: codon usage, map position, and concerted evolution. *J Mol Evol* 1991; 33: 23-33.
3. La transformation ou pénétration d'ADN libre dans une bactérie, incorporé par recombinaison dans le génome de la réceptrice. La recombinaison contribue à la divergence des génomes dans les populations naturelles d'*E. coli* avec une fréquence qui est 50 fois plus élevée que celle de la mutagenèse [5]. Chez *E. coli*, l'analyse des séquences d'ADN a suggéré que trois types de recombinaison sont importants dans l'évolution du génome bactérien [6]:
 1. La recombinaison chromosomique qui modifie les génomes par combinaisons nouvelles des allèles qui existent au sein de la population.
 2. La recombinaison intragénique qui crée de nouveaux allèles par recombinaison des fragments des allèles existantes.
 3. La recombinaison additive qui insère des gènes provenant d'autres espèces.On évalue à 6% les gènes d'*E. coli* transférés horizontalement, démontrant ainsi l'importance des transferts interspécifiques dans l'évolution du génome. La comparaison des taux de modification du génome par la mutagenèse ponctuelle, la transposition, les réarrangements chromosomiques et les échanges interspécifiques, montre que celui des échanges interspécifiques est le plus faible. Cependant, si on compare la valeur évolutive d'un seul événement de modification du génotype qui n'est pas éliminé par la sélection, celui des échanges interspécifiques est le plus élevé [7]. La probabilité d'acquérir une nouvelle fonction par une mutation ou un réarrangement chromosomique est très faible. L'échange interspécifique permet l'acquisition de fonctions déjà développées et raffinées chez une autre espèce, ce qui présente un avantage sélectif considérable. Dans cet article nous aborderons les différents mécanismes qui influencent la fréquence de ces échanges interspécifiques. Nous soulignerons en particulier le rôle du système de réparation des mésappariements (SRM) et du SOS qui, respectivement, réprime et facilite les échanges entre espèces bactériennes proches. Nous aborderons ensuite l'influence de l'environnement sur ces mécanismes moléculaires. Enfin, nous passerons en revue les résultats récents obtenus chez la levure et la souris qui suggèrent que le paradigme bactérien est, au moins en partie, valide chez les eucaryotes.

Mécanisme de l'isolement génétique interspécifique

L'échange génétique intraspécifique est fréquent, alors que l'échange génétique interspécifique (transfert horizontal des gènes) est très rare. De nombreux mécanismes permettent de limiter ce type d'échanges, même entre bactéries phylogénétiquement très proches (pour revues voir [8-10]). Les barrières qui limitent les échanges horizontaux des gènes chromosomiques peuvent être divisées en deux groupes.

1. Les barrières qui préviennent le transfert d'ADN. Elles peuvent empêcher les contacts entre bactéries (ou entre bactéries et phages) donatrices et bactéries réceptrices (par exemple, incompatibilité de surfaces cellulaires ou absence de récepteurs spécifiques).

2. Les barrières qui empêchent l'établissement de l'information génétique venant d'autres espèces. Le matériel génétique transféré peut être dégradé par des nucléases. Différentes barrières peuvent empêcher l'intégration de l'ADN transféré, par exemple la divergence entre l'ADN étranger et l'ADN de l'hôte. La recombinaison entre séquences divergentes est contrôlée par les enzymes de recombinaison et par le système de réparation des mésappariements de bases [11]. Finalement, la fonction génétique transférée horizontalement ne doit pas perturber l'équilibre fonctionnel de la cellule réceptrice [7].

Pour étudier au laboratoire ces différents mécanismes nous avons choisi deux espèces bactériennes apparentées *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*, qui appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. La divergence génomique suggère que ces deux espèces ont divergé de leur ancêtre commun il y a environ 120 à 160 millions d'années [12]. Les chromosomes de ces deux espèces ont globalement conservé une même taille, ainsi que l'ordre, l'orientation et les distances entre leurs gènes homologues [13]. L'analyse des séquences de gènes homologues d'*E. coli* et de *S. typhimurium* a démontré qu'il y a

eu peu d'échange récent de gènes chromosomiques entre ces deux espèces [14, 15].

En laboratoire, dans des conditions qui ont été optimisées, la fréquence de recombinaison lors de la conjugaison entre *S. typhimurium* et *E. coli*, est 10^5 fois plus basse que la recombinaison intraspécifique [16] ce qui confirme l'existence de la barrière à l'échange génétique entre ces deux espèces.

Génétique de la recombinaison interspécifique

La première étape dans l'échange génétique entre différentes espèces bactériennes est le transfert d'ADN. L'efficacité du transfert d'ADN chromosomique pendant la conjugaison entre *S. typhimurium* et *E. coli* n'est pas significativement différente de l'efficacité du transfert intraspécifique [17]. Donc, le croisement entre *S. typhimurium* et *E. coli* s'effectue mais il est génétiquement « stérile ». Pour que le croisement soit génétiquement « fertile », l'ADN chromosomique une fois transféré, doit être intégré par recombinaison dans le chromosome de la réceptrice afin d'être hérité de manière stable. Comme les séquences d'ADN génomique de deux espèces ne sont pas identiques, les enzymes qui contrôlent la fidélité de la recombinaison limitent les échanges génétiques. Lorsque ces séquences ont divergé elles constituent la composante structurale de la barrière à la recombinaison interspécifique. Les enzymes de recombinaison et les enzymes du système de réparation des mésappariements sont les composantes enzymatiques de cette barrière [17].

Les étapes critiques de la recombinaison, notamment l'appariement des séquences homologues et l'échange de brins, sont catalysées par la protéine RecA [18]. La recombinaison exige une taille minimale de l'ADN homologue appelé MEPS (*minimum efficient processing segment**), en dessous

de laquelle la recombinaison devient inefficace [19]. La fréquence de la recombinaison est linéairement proportionnelle à la taille de l'ADN homologue quand la région d'homologie est plus grande que le MEPS. Chez *E. coli*, la taille du MEPS est entre 23 et 27 paires de base [19]. Pendant la recherche de l'homologie, le nombre de MEPS est limité par la divergence des séquences d'ADN [20].

La distribution de la divergence entre les molécules d'ADN peut rendre impossible le début de la recombinaison par la protéine RecA, du fait de l'absence du MEPS dans certaines régions du chromosome. Dans d'autres régions, la réduction du nombre de MEPS ralentit probablement l'étape de la recherche d'homologie. Une fois le MEPS trouvé, l'étape d'échange des brins peut commencer. Suite à cette étape initiale de recombinaison, la protéine RecA ne contrôle plus la fidélité de la recombinaison [11]. L'ADN hétéroduplex avec les mésappariements des bases ainsi formés est le substrat pour le système de réparation des mésappariements [17, 21].

Le système de réparation des mésappariements de bases est la composante majeure de la barrière génétique entre deux espèces de bactéries proches [16, 22]. Ce système, qui reconnaît différents types de non-complémentarité des brins de l'ADN, contrôle la fidélité de la réplication (en ouvrant les structures secondaires et en excisant les mésappariements dans le brin néosynthétisé) et celle de la recombinaison en empêchant la recombinaison entre séquences non identiques [23].

Dans les croisements entre *S. typhimurium* et *E. coli*, l'inactivation du gène *mutS* ou *mutL* (codant pour les protéines qui se lient aux mésappariements de base) augmente la fréquence de recombinaison interspécifique 1000 fois. Bien que fortement stimulée, la fréquence de recombinaison interspécifique dans le contexte mutant *mutS* ou *mutL* demeure 100 fois plus basse que la fréquence de la recombinaison intraspécifique (*E. coli* x *E. coli*) [16]. Le système de réparation de mésappariements n'est donc pas la seule composante de la barrière génétique entre *S. typhimurium* et *E. coli*.

Le système SOS, régulateur positif des échanges génétiques entre *S. typhimurium* et *E. coli*

Le système de réparation des mésappariements contrôle la recombinaison entre séquences divergentes, diminuant ainsi les réarrangements chromosomiques [24]. Ces mêmes événements sont augmentés lors d'une induction de la réponse SOS [25]. Chez *E. coli*, la réponse SOS est induite par différents stress (carence [26], exposition à des agents physiques, chimiques génotoxiques ou à d'autres conditions qui endommagent et/ou interfèrent avec la réplication de l'ADN) (pour revues voir [27, 28]). Le système SOS a deux caractéristiques principales qui aident les bactéries à survivre aux lésions de l'ADN: une capacité augmentée de réparer l'ADN endommagé et une augmentation de la variabilité génétique.

La régulation de la réponse SOS est assurée par les protéines RecA et LexA. La protéine LexA est le répresseur du régulon SOS, tandis que RecA est un régulateur positif de l'induction. Les traitements qui induisent les fonctions SOS, produisent un signal inducteur (ADN simple-brin) qui active la fonction coprotéasique de la protéine RecA. La protéine RecA activée (RecA*) sert de cofacteur essentiel à la réaction d'autoclivage du répresseur LexA induisant ainsi les fonctions SOS. L'induction du SOS augmente la recombinaison en augmentant l'expression de différents gènes, dont *recA*, qui codent pour des protéines de recombinaison. La conjugaison interspécifique induit la réponse SOS fortement dans les cellules réceptrices, tandis que la réponse SOS est faible pendant la conjugaison intraspécifique [17]. Nous avons analysé l'induction du système SOS lors de la conjugaison interspécifique dans différents contextes génétiques. L'induction pendant la conjugaison interspécifique est indépendante de la restriction, ce qui suggère que ce n'est pas la dégradation des fragments d'ADN transférés et coupés par les enzymes de restriction qui produit le signal inducteur [17].

Pendant la conjugaison, l'ADN de la cellule donatrice est transféré dans la cellule réceptrice sous forme simple

* Longueur minimale d'identité de l'ADN entre molécules qui recombinent, taille en dessous de laquelle la recombinaison devient inefficace.

RÉFÉRENCES

15. Sharp PM, Kelleher JE, Daniel AS, Cowan GM, Murray NE. Roles of selection and recombination in the evolution of type I restriction-modification systems in enterobacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9836-40.
16. 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.
17. Matic I, Rayssiguier C, Radman M. Interspecies gene exchange in bacteria: the role of SOS and mismatch repair systems in evolution of species. *Cell* 1995; 80: 507-15.
18. Kowalczykowski SC, Dixon DA, Eggleston AK, Launder SD, Rehrauer WM. Biochemistry of homologous recombination in *Escherichia coli*. *Microbiol Rev* 1994; 58: 401-65.
19. Shen P, Huang HV. Homologous recombination in *Escherichia coli*: dependence on substrate length and homology. *Genetics* 1986; 112: 441-57.
20. Shen P, Huang H. Effect of base pair mismatches on recombination via the RecBCD pathway. *Mol Gen Genet* 1989; 218: 358-60.
21. Modrich P. Mechanisms and biological effects of mismatch repair. *Annu Rev Genet* 1991; 25: 229-53.
22. Zahrt TC, Mora GC, Maloy S. Inactivation of mismatch repair overcomes the barrier to transduction between *Salmonella typhimurium* and *Salmonella typhi*. *J Bacteriol* 1994; 176: 1527-9.
23. Radman M, Taddei F, Halliday J. Correction des erreurs dans l'ADN: de la génétique bactérienne aux mécanismes de la prédisposition héréditaire aux cancers chez l'homme. *médecine/sciences* 1994; 10: 1024-30.
24. Petit MA, Dimpfl J, Radman M, Echols H. Control of chromosomal rearrangements in *E. coli* by the mismatch repair system. *Genetics* 1991; 129: 327-32.
25. Dimpfl J, Echols H. Duplication mutation as an SOS response in *Escherichia coli*: enhanced duplication formation by a constitutively activated RecA. *Genetics* 1989; 123: 255-60.
26. Taddei F, Matic I, Radman M. Cyclic AMP-dependent SOS induction and mutagenesis in resting bacterial populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 11736-40.
27. Devoret R. Mécanismes de la mutagenèse SOS chez les bactéries. *médecine/sciences* 1993; 9 (suppl 3) : I-VII.
28. Friedberg EC, Walker GC, Siede W. *DNA repair and mutagenesis*. Washington DC : ASM Press, 1995.

brin et il est ensuite répliqué de façon discontinue. La présence transitoire d'ADN simple brin, peut servir comme substrat pour l'activation de la protéine RecA et peut expliquer l'induction faible du système SOS pendant les conjugaisons intraspécifiques et interspécifiques [17].

Une fois l'ADN de la cellule donatrice répliqué, il devient substrat pour l'activité hélicase de RecBC qui nécessite une extrémité double brin d'ADN. La fonction essentielle du complexe RecBC pour la recombinaison (comme pour l'induction du SOS) est la production d'ADN simple brin utilisable par RecA. Quand les cellules réceptrices sont des mutants *recB*, le niveau d'induction lors de la conjugaison interspécifique diminue au niveau de celui observé lors de la conjugaison intraspécifique (niveau qui n'est pas affecté par *recB*) [17]. L'induction du SOS spécifique de la conjugaison interspécifique est indépendante de la protéine MutS [17]. Ces résultats suggèrent que l'activation de la protéine RecA doit se passer pendant les phases précoces de recombinaison: lors de la recherche d'homologie et/ou lors de l'appariement des séquences homologues, après l'action du complexe RecBC et avant l'action de la protéine MutS (voir figure 1).

L'efficacité du système de réparation des mésappariements dans la recombinaison interspécifique n'est pas diminuée par l'induction du SOS [17]. L'inhibition de la recombinaison par le SRM est même plus forte lors de l'induction du SOS, probablement parce qu'avec beaucoup de RecA les filaments nucléoprotéiques sont plus longs, créant des hétéroduplex plus longs.

La recherche d'homologie et la formation des intermédiaires catalysées *in vitro* par la protéine RecA sont plus lentes quand les substrats sont divergents [29], probablement à cause des limitations en sites de début de la recombinaison (MEPS) [20]. La protéine RecA reste ainsi plus longtemps en contact avec l'ADN simple brin avant de s'engager dans le processus d'échange de brins lors du croisement interspécifique que lors du croisement intraspécifique. Les expériences faites *in vitro*, montrent que la protéine RecA dans le complexe RecA-ADN simple brin perd son activité coprotéasique

dès qu'elle est impliquée dans les événements de recombinaison [30]. Il est donc logique que l'induction du SOS soit plus forte lors du croisement interspécifique (peu efficace) que lors du croisement intraspécifique (très efficace) (figure 1).

Pendant le croisement interspécifique, le niveau d'induction du système SOS n'est pas homogène dans la population des cellules réceptrices. Environ 1,5% de cellules réceptrices subissent une induction très forte du SOS (mesurée par le clivage du répresseur du phage λ). Dans le reste de la population (de cellules *mutS*) la fréquence de recombinaison est plus basse, vraisemblablement parce que l'induction du SOS est plus faible. Quand les cellules réceptrices sont *mutS*, la fréquence de la recombinaison interspécifique dans la petite sous-population induite pour le système SOS est environ 20 fois plus élevée que parmi les cellules femelles chez lesquelles le niveau d'induction est plus faible. Dans la sous-population induite de cellules réceptrices *mutS*, la fréquence de recombinaison interspécifique est la même que la fréquence de recombinaison intraspécifique dans le contexte *mutS*. Cela indique que dans ce contexte, quand le système SOS est induit fortement, la barrière à la recombinaison entre *S. typhimurium* et *E. coli* n'existe plus.

L'influence de l'environnement sur la variabilité génétique et l'échange génétique interspécifique

La diversité génétique et l'efficacité d'isolement génétique sont finement modulées par le couple antagoniste, le système SOS et le système de réparation des mésappariements de bases [23]. Les systèmes de réparation des mésappariements et de SOS, par leurs activités opposées, contrôlent à la fois la vitesse d'accumulation du polymorphisme génomique et l'efficacité de la barrière génétique fondée sur ce polymorphisme.

Les connaissances acquises pendant les deux décennies d'étude de ces systèmes génétiques, ainsi que nos résultats, suggèrent que leur influence sur la variabilité génétique et le contrôle des échanges génétiques doit varier en fonction des conditions d'environnement.

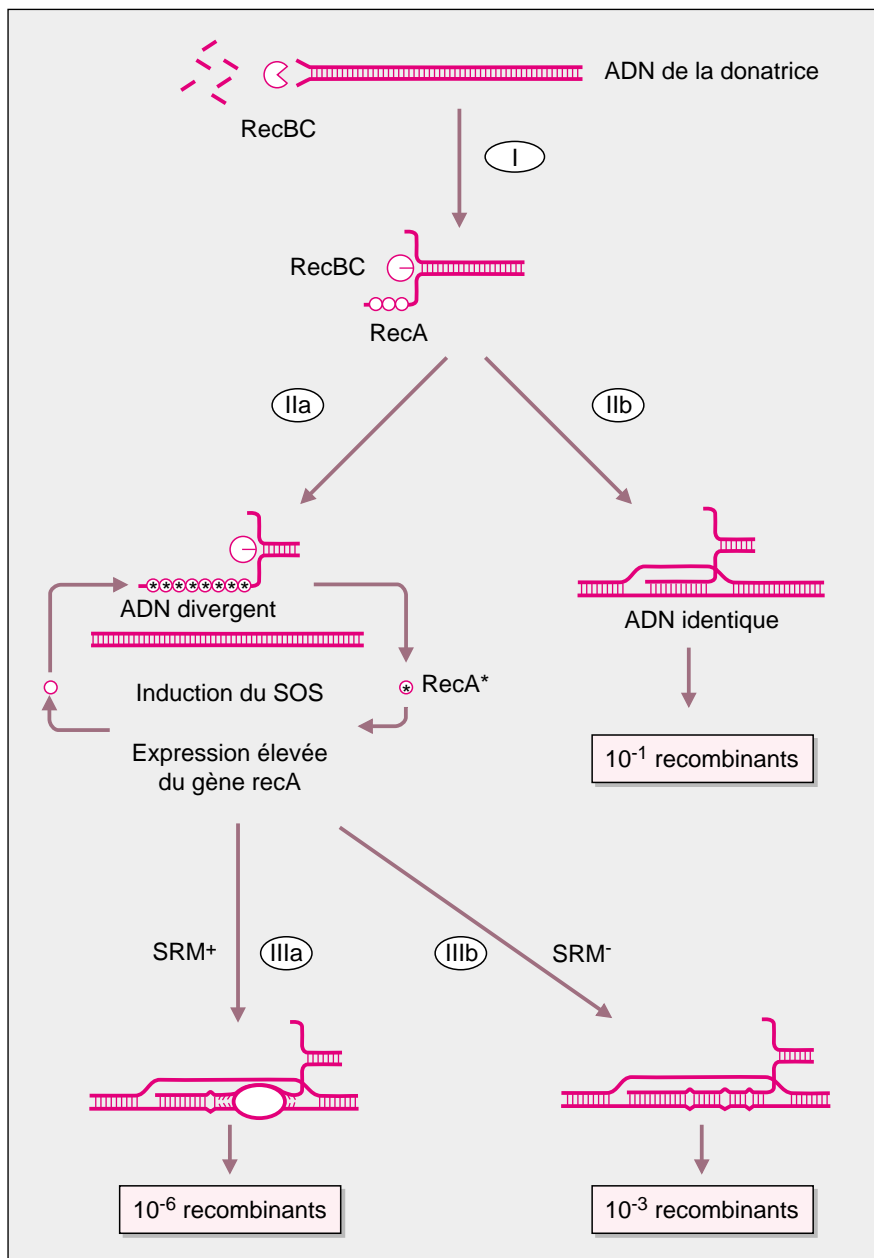


Figure 1. **Mécanisme moléculaire du contrôle de la barrière génétique bactérienne.** L'ADN simple brin du donneur une fois répliqué sert de substrat à l'activité hélicase du complexe RecBC (I). L'ADN simple brin ainsi produit est couvert par un filament de protéines RecA. Le filament nucléoprotéique ainsi formé peut alors: (1) soit s'engager dans le processus de recombinaison (IIb, cas de la recombinaison intraspécifique avec des ADN homologues* quasi identiques) qui aboutira à la production de recombinants; (2) soit faciliter le clivage du répresseur de la réponse SOS, LexA (IIa, cas de la recombinaison interspécifique avec des ADN homéologues*, c'est-à-dire ayant divergé de 15%). L'induction du SOS va en retour induire une augmentation de la concentration de la protéine RecA ce qui va faciliter la formation d'intermédiaires de recombinaison comportant des régions mésappariées (III). Ces derniers seront alors reconnus par les protéines du SRM (système de réparation des mésappariements) qui reconnaissent les mésappariements de base, provoquant l'avortement de la recombinaison (IIIa). En l'absence d'un SRM fonctionnel des recombinants interspécifiques sont obtenus (IIIb).

Les conditions adverses à la croissance des bactéries demande une variabilité génétique accrue au sein des populations bactériennes pour augmenter la chance de survie par l'adaptation génétique. Le système SOS est un système inductible de création de variabilité génétique (la mutagenèse, la transposition, les réarrangements chromosomiques, les échanges interspécifiques). Un système inductible présente de nombreux avantages: dans un environnement favorable, le taux des altérations génétiques est très faible. En revanche, en situation de stress, le système est induit augmentant le taux de la variabilité génétique et par conséquent l'adaptabilité.

Le système de réparation des mésappariements est un des éléments essentiels du contrôle négatif des mêmes altérations génétiques que celles que l'induction du SOS augmente: la mutagenèse [28, 31], la transposition [32], les réarrangements chromosomiques [25], les échanges interspécifiques [17]. Il ralentit la diversification du matériel génétique et ainsi la spéciation. Cependant, une fois la divergence au niveau des génomes des différentes populations devenue importante, il empêche les échanges génétiques déclenchant ainsi le processus de spéciation.

Le système de réparation des mésappariements n'est pas inductible par divers traitements lors de la phase exponentielle. En revanche, il semble qu'il soit moins efficace lors de la phase stationnaire et dans différents contextes physiologiques [33]. Par ailleurs, dans les populations naturelles d'*E. coli*, environ 1% des cellules ont un phénotype mutateur [34]. Il a été estimé que la majorité de ces cellules sont des mutants du système de réparation des mésappariements (E.C. Cox, communication personnelle). Le taux d'apparition des mutations qui inactivent les

* Dans cet article, nous disons que des molécules d'ADN dont les séquences sont similaires mais non identiques sont **homéologues**, alors que nous appelons **homologues** des molécules d'ADN possédant des séquences identiques.

RÉFÉRENCES

29. Worth Jr L, Clark S, Radman M, Modrich P. Mismatch repair proteins MutS and MutL inhibit RecA-catalyzed strand transfer between diverged DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3238-41.
30. Roberts JW, Phizicky EM, Burbee DG, Roberts CW, Moreau PL. A brief consideration of the SOS inducing signal. *Biochimie* 1982; 64: 805-7.
31. Caillet-Fauquet PG, Maenhaut-Michel and M. Radman. SOS mutator effect in *E. coli* mutants deficient in mismatch correction. *EMBO J* 1984; 3: 707-12.
32. Kuan CT, Tessman I. Further evidence that transposition of Tn5 in *Escherichia coli* is strongly enhanced by constitutively activated RecA proteins. *J Bacteriol* 1992; 174: 6872-7.
33. Taddei F. L'environnement d'*Escherichia coli* et le contrôle de la variabilité génétique. Thèse de doctorat, Université Paris XI, 1995.
34. Tröbner W, Piechocki R. Selection against hypermutability in *Escherichia coli* during long term evolution. *Mol Gen Genet* 1984; 198: 177-8.
35. Ninio J. Transient mutators: a semi-quantitative analysis of the influence of translation and transcription errors on mutation rates. *Genetics* 1991; 129: 957-62.
36. Chao L, Cox EC. Competition between high and low mutating strains of *Escherichia coli*. *Evolution* 1983; 37: 125-34.
37. Hunter N, Chambers SR, Louis EJ, Borts RH. The mismatch-repair system contributes to meiotic sterility in an interspecific yeast hybrid. *EMBO J* 1996; 15: 1726-33.
38. De Wind N, Dekker M, Berns A, Radman M, de Riele H. Inactivation of the mouse Msh2 gene results in mismatch repair deficiency, methylation tolerance, hyperrecombination, and predisposition to cancer. *Cell* 1995; 82: 321-30.
39. Kimura M. Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* 1968; 217: 624-6.
40. Ochman H, Wilson AC. Evolution in bacteria: evidence for a universal substitution rate in cellular genomes. *J Mol Evol* 1988; 26: 74-86.

gènes *mut* est d'au moins 10^{-7} par réplication du génome d'*E. coli* [35]. Cette sur-représentation des mutants *mut*⁻ dans les populations d'*E. coli* dans la nature peut s'expliquer comme étant le résultat de la pression sélective d'un environnement changeant.

Quand les conditions environnementales ne sont pas favorables aux bactéries, la probabilité d'acquisition de(s) mutation(s) adaptative(s) est plus grande pour les mutants *mut*⁻ que pour les souches sauvages [36]. L'acquisition de(s) mutation(s) adaptative(s) constituera un avantage sélectif pour ces mutants *mut*⁻ dont la proportion dans la population bactérienne va augmenter.

Dans un environnement favorable et stable, l'avantage sélectif des cellules *mut*⁻ va se détériorer progressivement, et leur nombre diminuera au sein de la population à cause du coût occasionné par l'accumulation de mutations délétères. Ainsi, on peut dire qu'au sein d'une population d'*E. coli* le rôle adaptatif du système de réparation des mésappariements varie en fonction des conditions de l'environnement.

Les études sur les eucaryotes: implications pour la thérapie génique, la cancérogenèse et le génie génétique

Les travaux très récents sur les levures et les rongeurs montrent que le paradigme « divergence génomique – recombinaison – réparation des mésappariements – évolution des espèces » élaboré sur les systèmes bactériens s'applique aussi au moins à certains eucaryotes.

Hunter *et al.* ont montré que la stérilité méiotique d'un hybride interspécifique (*Saccharomyces cerevisiae/Saccharomyces paradoxus*) est provoquée par le déficit en appariement et *crossing-over* entre les chromosomes homéologues, divergents d'environ 10%. La fertilité (viabilité des spores) et les *crossing-over* sont simultanément augmentés de dix fois en l'absence des fonctions MutS et MutL de la levure (Msh2 et Pms1) [37]. Ce résultat est d'un intérêt considérable pour le génie génétique des levures et peut-être d'autres eucaryotes.

De Wind *et al.* ont analysé la recombi-

naison mitotique chez les cellules souches embryonnaires (ES) de la souris, en mesurant la fréquence du remplacement homologue d'un gène chromosomique par un fragment d'ADN génomique exogène (« ciblage

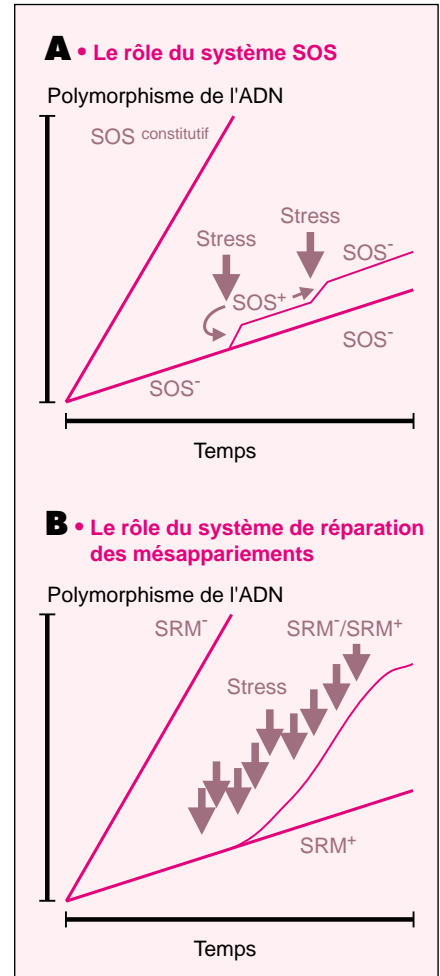


Figure 2. **Modèle d'influence de l'environnement sur la vitesse d'accumulation du polymorphisme de l'ADN.** L'accumulation du polymorphisme de l'ADN dépend du taux de mutation sélectionné; dans un environnement stable le polymorphisme de l'ADN s'accroît lentement. **A.** La présence de stress induisant une réponse de type SOS augmente de manière transitoire, la mutagenèse et donc la vitesse d'accumulation du polymorphisme. **B.** Lors de stress prolongés des allèles mutateurs (par exemple SRM⁻) seront sélectionnés, ce qui entraînera une augmentation prolongée du taux de mutation, jusqu'à ce que, les mutations favorables se faisant plus rares, des allèles anti-mutateurs soient sélectionnés.

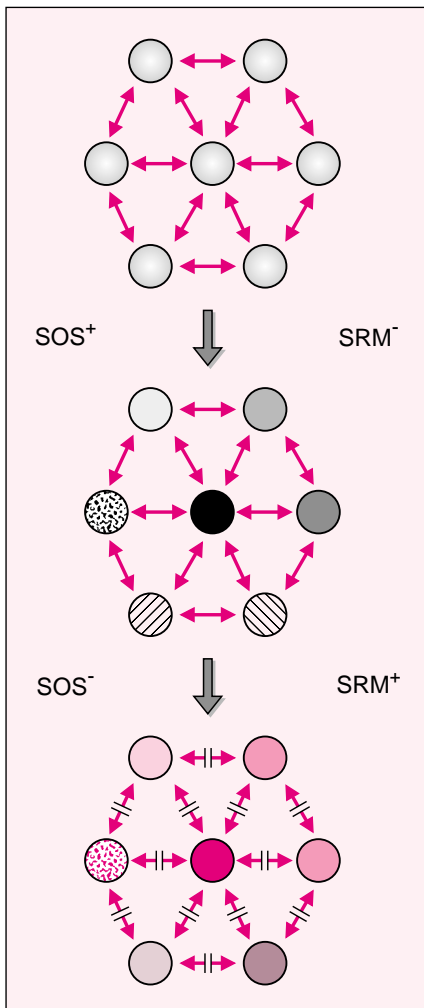


Figure 3. **Modèle moléculaire de poussée de spéciation.** Une espèce est composée de populations (représentées par des cercles) échangeant du matériel génétique (symbolisé par des flèches). Dans un nouvel habitat, les mécanismes augmentant la variabilité génétique (par exemple SRM⁻, SOS⁺) seront sélectionnés, permettant ainsi une adaptation plus rapide et un maintien des échanges génétiques tout en entraînant une accumulation du polymorphisme (voir figure 2). Une fois, le génome adapté à son nouvel habitat, les mécanismes préservant l'intégrité du génome (par exemple SRM⁺, SOS⁻) seront sélectionnés, ce qui aura également pour conséquence l'instauration d'une barrière à l'échange génétique, dont le substrat sera le polymorphisme de l'ADN qui sera reconnu par le SRM. On obtiendra ainsi des populations/ espèces différentes entre lesquels les échanges génétiques seront très rares.

m/s n° 8-9, vol. 12, août-septembre 96

de gène») [38]. Ils ont démontré l'existence de deux phénomènes :

1. l'ADN « donneur », de séquence identique à celle du locus chromosomique « receveur », le remplace par recombinaison homologue environ mille fois plus efficacement qu'un ADN « donneur » provenant d'une souche différente (avec une divergence donneur/receveur de seulement 0,6 %) et
2. l'inactivation génétique de la fonction Msh2 (homologue de MutS) de la cellule réceptrice augmente la fréquence de la recombinaison avec l'ADN divergent jusqu'au niveau de celle avec l'ADN identique (20-30 % de transformants sont « ciblés » sur le locus homologue et la transformation est 10 fois plus efficace).

La souris déficiente en fonction Msh2 est mutatrice et subit un taux élevé de cancers. Ces résultats suggèrent que :

- a. le polymorphisme génomique humain d'environ 0,3 %, bien distribué au long du génome, empêche la recombinaison mitotique impliquée dans l'expression des mutations récessives notamment dans la cancérogenèse,
- b. la divergence des séquences répétitives au sein du génome empêche leur recombinaison qui provoque des remaniements chromosomiques souvent impliqués dans la genèse des mutations germinales et somatiques (cancers),
- c. la pratique de la thérapie génique par remplacement homologue du locus portant la mutation doit tenir compte de ce résultat : soit un ADN isogénique doit être utilisé, soit le système MutS,L cellulaire doit être transitoirement inactivé.

Un scénario moléculaire de « spéciation neutre » (hommage à Motoo Kimura décédé en novembre 1994)

En 1968, M. Kimura [39] a formulé l'hypothèse selon laquelle l'évolution avance essentiellement par l'accumulation de mutations fonctionnellement neutres. Les résultats du séquençage des fragments génomiques lui ont donné raison. Les travaux de notre laboratoire offrent un scénario moléculaire de « spéciation neutre ». Il est possible d'imaginer quels mécanismes moléculaires pourraient conduire aux événements d'éclatements de spéciation rapide au sein d'une population bactérienne. Dans

un environnement défavorable, la fréquence de toutes les altérations du génome (échange génétique inclus) est très élevée en raison de l'induction du système SOS et de la proportion augmentée de cellules Mut⁻ au sein de la population totale. Le polymorphisme de l'ADN de la population augmente rapidement (figure 2). L'adaptation à des conditions d'environnement nouvelles ou un retour dans les conditions favorables, conduit à la répression du système SOS et à la réduction du nombre de cellules Mut⁻ au sein de la population. Dans ces conditions, le polymorphisme génomique, ainsi accumulé lors de la phase précédente, réduit les échanges génétiques et peut conduire à la création rapide de barrières génétiques et à la spéciation (figure 3).

Imaginons de plus que les populations ainsi obtenues divergent entre elles exclusivement par des mutations neutres. Si chaque position neutre de leurs génomes est mutée, même les séquences codantes divergeront d'environ 30 %, empêchant ainsi tout échange génétique. Or les protéines, donc les fonctions et la morphologie, de ces deux populations imaginaires seraient identiques : la seule différence biochimique étant la séquence primaire de leurs ADN génomiques.

Le cas de *Escherichia coli* et de *Salmonella typhimurium* n'est pas loin de cette exemple imaginaire. Les gènes séquencés chez ces deux espèces ont des séquences d'ADN identiques à 84 %, et les protéines codées par ces gènes sont identiques à 93 % au niveau de leurs acides aminés [14], en revanche, pour les sites neutres des codons l'identité n'est que de 58 % [40]. La neutralité de la plupart de ces mutations rend les hybrides « *Salmonella* » ou « *Escherichia* » viables. Les résultats de Hunter *et al.* sur la levure aboutissent à des conclusions équivalentes. La conclusion la plus générale qu'on peut tirer de ces expériences est qu'il n'y a pas de mutations véritablement neutres ; la stabilité génomique et la spéciation sont des phénotypes trop forts pour mériter l'adjectif « neutre ». L'ADN non codant (porteur de toute divergence dans l'expérience de de Wind *et al.*), parfois appelé « l'ADN poubelle » est probablement essentiel pour la stabili-

té génomique et pour l'accélération de la spéciation chez les eucaryotes. Les chromosomes homéologues chez les levures et plantes sont un autre exemple de l'effet de l'accumulation de polymorphisme neutre de l'ADN.

Étant donné que le polymorphisme génomique est le « substrat » de la barrière génétique, le grand excès des séquences non codantes (haute-ment polymorphes comparées aux séquences codantes) chez les euca-

ryotes complexes pourrait permettre des spéciations plus rapides que chez les bactéries ■

TIRÉS À PART

M. Radman.

Summary

Towards a molecular genetics of evolution of species

Inquiring about the genetic barriers between different species amounts to asking how populations become genetically isolated. The genetic barrier which separates *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* is primarily recombinational. The structural component of this barrier is genomic sequence divergence. The mis-

match repair enzymes act as inhibitors of interspecies recombination, whereas the SOS system acts as an inducible positive regulator. These genetic systems control also the genomic stability in bacterial populations. The mismatch repair maintains genetic stability, while the SOS system generates genetic variability.

These opposing activities allow mismatch repair and SOS systems to determine both the rate of accumulation of sequence divergence and the extent of genetic isolation, which are the key components of the speciation process. Recent results suggest that these bacterial paradigms could be extended to eukaryotes.

Collection Pathologie-Science/Formation



lors qu'il est relativement simple de donner la définition d'un vertige, il est par contre beaucoup moins aisé de **décrire la pathologie dite « labyrinthique »**.

Ce mot passe-partout recouvre en effet toute une gamme d'atteintes, des plus insignifiantes au plus préoccupantes.

Il est donc essentiel que le praticien, et en particulier le médecin généraliste, puisse **identifier le symptôme avec précision** et reconnaître celui qui relève réellement d'un pathologie vestibulaire, et, dans un second temps, de **prendre en charge son patient** ou de l'orienter vers un spécialiste.

Cet ouvrage très didactique a donc pour objet de démystifier, de simplifier, et de **rendre accessible au praticien** un domaine majeur de la pathologie sensorielle.

Bon de commande

Centre de distribution de livres
 100 rue de la République
 92000 Nanterre
 Tél. 01 47 37 40 40
 Fax 01 47 37 40 41



J'intérêt de me faire parvenir

Les vertiges et le praticien
 Michel L. Dubois

140 FF

+ 20 FF

Total

170 FF

Je désire recevoir

une lecture acquiescée pour ma déclaration de frais professionnels

NOM
 Prénoms
 Adresse

CP: _____ Ville: _____
 Pays: _____

Joint non règlement d'un mandat de: FF

carte de crédit: il faut indiquer le numéro de la carte

Carte de crédit:

VISA MasterCard American Express

Numéro: _____

Carte de débit () ()

Signature