La génétique des éléments transposables chez Zea maïs et ses conséquences biologiques

Autor(en): **Thuriaux, Pierre / Zrÿd, Jean-Pierre**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **77 (1984-1985)**

Heft 365

PDF erstellt am: **19.03.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-278499

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Bulletin de la Société vaudoise des Sciences naturelles

N° 365 1984 Vol. 77, Fasc. 1

La génétique des éléments transposables chez Zea maïs et ses conséquences biologiques

PAR

PIERRE THURIAUX ET
JEAN-PIERRE ZRŸD[1]

1. UNE CRISE DE LA GÉNÉTIQUE POST MENDÉLIENNE: LA DÉCOUVERTE DES ÉLÉMENTS TRANSPOSABLES

Le prix Nobel de Physiologie et Médecine a été attribué en 1983 à Barbara MAC CLINTOCK, pour ses travaux consacrés à l'étude de l'instabilité génétique chez le maïs. Beaucoup de commentateurs ont souligné la personnalité exceptionnelle de la lauréate, tout en traçant le portrait d'un chercheur solitaire et marginal. La carrière de MAC CLINTOCK montre en effet quelles difficultés peut rencontrer le scientifique qui sort des sentiers battus, surtout s'il est une femme. Cependant, si MAC CLINTOCK a pratiquement travaillé sans collaborateurs, elle fut loin d'être isolée, ayant appartenu à des institutions aussi prestigieuses que la Cornell University et les Laboratoires de Cold Spring Harbor. Elle fut de plus formée à l'école américaine de généticiens du maïs animée par ROY EMERSON et ses collaborateurs.

Le but de cet article est de faire le point des théories développées par MAC CLINTOCK tout en essayant de rendre accessibles les concepts formulés dans un ensemble de publications d'accès parfois difficile (MAC CLINTOCK 1956, 1978; FINCHAM et SASTRY 1974; COHEN et SHAPIRO 1980, SHAPIRO et CORDELL 1982). Pour apprécier le caractère radical et la portée des travaux que nous allons évoquer, il faut se rendre compte qu'ils ont été élaborés à une époque (1940 – 1960) qui vit l'apogée d'une conception relativement statique du génome, époque culminant avec la découverte de la structure

[1] Laboratoire de Phytogénétique Cellulaire, Faculté des Sciences, Université de Lausanne, CH-1015 LAUSANNE-DORIGNY

moléculaire du DNA par CRICK et WATSON et avec les modèles de régulation de l'expression génétique (théorie de l'opéron) développés par JACOB et MONOD. On peut, très succinctement, résumer les notions alors admises:

1. Pour une espèce donnée, chaque gène est représenté par un petit nombre d'allèles coexistants au sein d'une population.

2. Les allèles d'un gène donné se transmettent avec une extrême fidélité d'une cellule à l'autre. Ceci n'excluant pas de rares erreurs de copies conduisant à des mutations, c'est-à-dire à l'apparition d'allèles nouveaux.

3. Aux mutations près, toutes les cellules d'un organisme ont la même information génétique. La différenciation cellulaire ne résulte donc pas de différences dans le contenu informationnel, mais dans le contrôle de l'expression de certains gènes.

4. La place d'un gène donné dans le génome (sur le[s] chromosome[s]) est constante pour tous les individus d'une espèce et fait donc partie intrinsèque de l'information génétique. Cette localisation peut être importante pour l'expression d'un gène.

2. ELABORATION DE LA THÉORIE DES ÉLÉMENTS TRANSPOSABLES COMME INTERPRÉTATION DE LA VARIÉGATION CHEZ LE MAÏS

Les quatre points que nous venons de mentionner font partie d'une conception du matériel génétique qui repose sur la notion mendélienne d'allèles essentiellement invariants. Cette conception implique une théorie moléculaire de l'évolution basée sur de rares remaniements chromosomiques et mutations. L'accent mis sur l'invariance des allèles implique que la différenciation cellulaire dans l'organisme soit due à une modulation de l'expression individuelle des gènes selon les types cellulaires, et non à des différences dans la structure du contenu informationel (c'est-à-dire dans la séquence des nucléotides du DNA). Dans ces conditions, il est difficile d'admettre que des phénomènes de haute instabilité génétique (sous la forme de mutations, de remaniements chromosomiques, de déplacements de gènes sur une nouvelle position sur le chromosome ou vers un autre chromosome) puissent se produire sans conséquences graves pour l'organisme porteur.

Or, des phénomènes d'instabilité génétique sont connus depuis longtemps, en particulier chez les végétaux, sous le terme général de *variégation.* Certains ont cru pouvoir interpréter tous les cas de variégation comme un effet d'une infection virale, ou d'interactions déséquilibrées entre le génome nucléaire et les génomes cytoplasmiques (mitochondriaux et chloroplastiques). Le mérite de MAC CLINTOCK, est d'avoir, dans ses études sur le maïs [*Zea mays*], accumulé à l'aide d'une méthodologie rigoureuse un ensemble de données suggérant de façon très convaincante

que certains types d'instabilité sont dus à l'existence de gènes *instables,* qu'elle a appelé *éléments de contrôle* mais qui sont désignés aujourd'hui comme *éléments transposables.* Ces éléments (gènes) sont capables de se déplacer (transposer) à une fréquence élevée d'un point à l'autre du génome. Ces transpositions ont plusieurs conséquences génétiques:

1. La séquence nucléotidique du DNA correspondant à un allèle peut se trouver interrompue par l'insertion d'un élément transposable et le produit de l'allèle ne plus être fonctionnel.
2. Si l'insertion a lieu au niveau des séquences nucléotidiques proches du gène et qui en contrôlent l'expression, les modalités de cette expression seront altérées.
3. Des cassures et des remaniements chromosomiques importants peuvent se produire aux sites de transposition.
4. Lorsque l'élément transposable occupe une nouvelle position dans le génome, son expression propre peut être modifiée.

Ces événements se traduiront par une hétérogénéité génétique et phénotypique dans les tissus concernés, c'est-à-dire par l'apparition d'une variégation. Si de telles transpositions se produisent dans les lignées cellulaires conduisant aux gamètes, elles seront transmises à la descendance de l'individu concerné.

Le maïs se révèle être un excellent matériel pour l'étude de ce type de phénomènes. Il permet de combiner l'approche cytologique (particulièrement aisée dans cette plante) et l'approche génétique. L'observation des caryopses (grains) sur l'épis de maïs permet une étude immédiate des produits de la fécondation et le repérage de mutations éventuelles. La modification des caractères affectant la pigmentation (accumulation de pigments anthocyanidiques) et l'aspect morphologique du caryopse (nature des réserves amylacées) sont particulièrement faciles à mettre en évidence (voir fig. 1A). Par ailleurs, il existe des cartes génétiques (localisation des gènes sur les chromosomes) et cytogénétiques (correspondance entre le chromosome de la carte génétique et les structures observées au microscope) très détaillées de cette plante. Un exemple de carte génétique simplifiée est donné (fig. 2) pour le petit bras du chromosome N° 9.

Dans une première série de travaux sur l'instabilité génétique, MAC CLINTOCK a étudié des hybrides de maïs caractérisés par la présence fréquente de cassures chromosomiques localisées dans une région précise du chromosome 9, près d'un gène désigné par la lettre $\mathbf{C}_1$ (voir fig. 2) contrôlant la pigmentation des tissus externes du caryopse (couche à aleurone). De telles cassures sont accompagnées d'une instabilité génétique qui se traduit par une variégation aisément détectable et génétiquement localisable (pour autant que l'hybride étudié soit hétérozygote pour un ou plusieurs gènes situés dans cette région). Supposons que le chromosome (N° 9) de l'un des parents porte l'allèle dominant $\mathbf{C}^{\mathbf{I}}$ (inhibition de la pigmentation) et que celui de l'autre parent soit porteur de l'allèle récessif

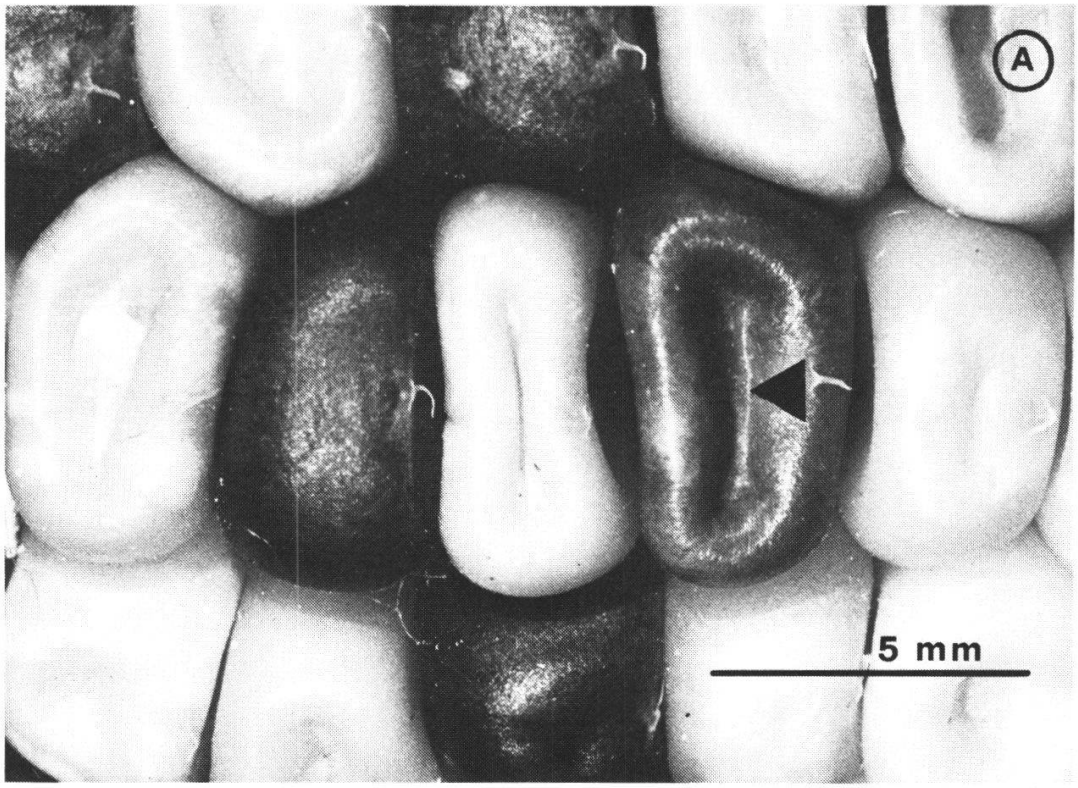


Figure 1A. – Détail d'un épi de maïs provenant du croisement entre un parent: **sh_1 C^I / Sh_1 c** et un parent: **sh_1 c / sh_1 c**. La morphologie de type « shrunken » (sous-production d'amidon) est visible sur les caryopses incolores, ceux-ci sont homozygotes pour le gène **sh_1**, les hétérozygotes (**Sh_1 / sh_1**) ont un aspect normal. Le caractère **C^I** allèle dominant détermine une absence de pigmentation (caryopses clairs), seul les caryopses **c / c** sont pigmentés. Les deux gènes sont portés par le chromosome 9, ils sont donc liés. L'application des lois de Mendel indique que l'on devrait avoir 50% de caryopses incolores-« shrunken » (**sh_1 c / sh_1 C^I**) et 50% de colorés-normaux (**sh_1 c / Sh_1 c**). La présence d'un caryopse ◀ coloré-« shrunken » indique un crossing-over entre les deux gènes.

c (caryopse rose-violacé); alors l'hybride étudié (première génération: F1) résultant du croisement entre ces deux parents présentera un génotype **c/C^I** et un phénotype non-pigmenté, correspondant à l'expression du gène dominant **C^I** (voir fig. 1A et 3A). La perte chez certaines cellules, par cassure, du fragment chromosomique porteur de cet allèle, démasquera l'allèle récessif **c** (phénotype coloré), entraînant la formation de secteurs colorés dans le caryopse. Ceci n'est possible que si le site de cassure est situé entre **C** et le centromère du chromosome N° 9. Si, par ailleurs, l'hybride étudié est hétérozygote pour les gènes: **Sh, Bz** et **Wx** (voir fig. 2) affectant l'aspect morphologique du caryopse, on pourra estimer avec une bonne précision la localisation (sur la carte génétique) du caractère induisant la cassure du chromosome N° 9. Ce caractère (appelé **Ds**: Dissociation) fut localisé entre **C** et **Sh** en utilisant la technique classique de localisation d'un caractère génétique à l'aide de mesures des fréquences de recombinaison avec des gènes de référence (en l'occurence: **Sh, Bz** et **Wx**). Une première conséquence fut d'établir que la localisation du gène res-

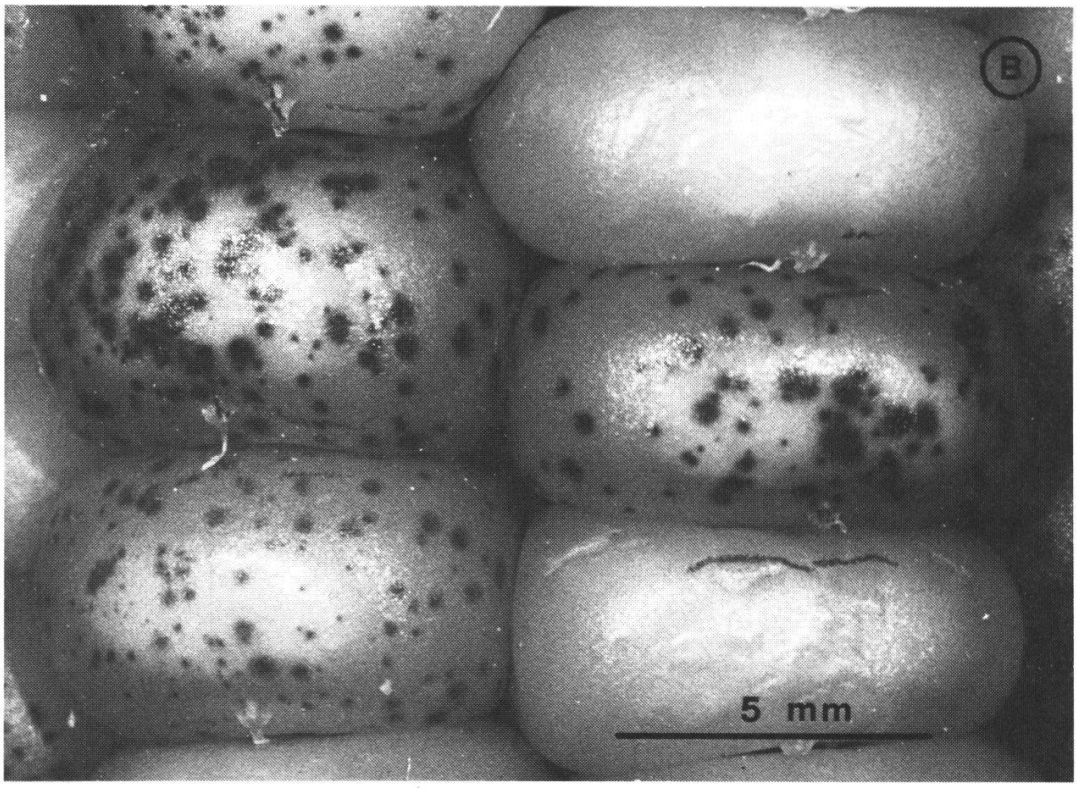


Figure 1B. – Détail d'un épi de maïs provenant du croisement entre un parent: $\mathbf{a_1}$ / $\mathbf{a_1}$ et un parent $\mathbf{A_1}$[**I**] / $\mathbf{a_1}$ portant en outre une copie active de l'élément transposable autonome **En**. En présence du gène dominant $\mathbf{A_1}$ la couche à aleurone accumule des pigments anthocyanidiques, mais si $\mathbf{a_1}$ est à l'état homozygote, il y a absence de pigmentation. Dans l'exemple ci-contre, $\mathbf{A_1}$ est inactivé par insertion de l'élément non-autonome **I**. Tous les caryopses de cet hybride sont donc non pigmentés. Certains caryopses ont cependant hérité de l'élément **En** en même temps que de l'allèle $\mathbf{A_1}$ inactivé par **I.** Ils forment donc avec une haute fréquence des clones cellulaires de génotype $\mathbf{A_1}$ / $\mathbf{a_1}$ d'où l'élément **I** a été excisé. L'allèle dominant $\mathbf{A_1}$ s'exprime dans ces clones et de petites taches colorées apparaissent à la surface du grain.

ponsable de la formation de cassures chromosomiques et le site de cassure lui-même sont génétiquement indissociables (ils coïncident sur le chromosome).

Ds pourrait être une mutation relativement banale ayant pour effet de «fragiliser» le chromosome au site correspondant. En poursuivant son étude, MAC CLINTOCK allait cependant découvrir une série de propriétés absolument inhabituelles pour une mutation au sens classique du terme. La plus remarquable de ces propriétés est que la position de **Ds** n'est pas entièrement fixe (voir fig. 2). Elle se déplace sur le chromosome N° 9 (ou même sur un autre chromosome) soit durant le développement de la plante, soit au cours de croisements successifs (générations F2, F3, etc.). L'ancien site de cassure devient silencieux (au moins dans un certain nombre de cas), le nouveau site pouvant être localisé comme nous l'avons décrit précédemment. On définit donc **Ds** comme un *élément génétique mobile.* A ce stade, l'instabilité génétique associée à **Ds** ne se traduit que par une propension aux cassures chromosomiques. Rien n'empêche cepen-

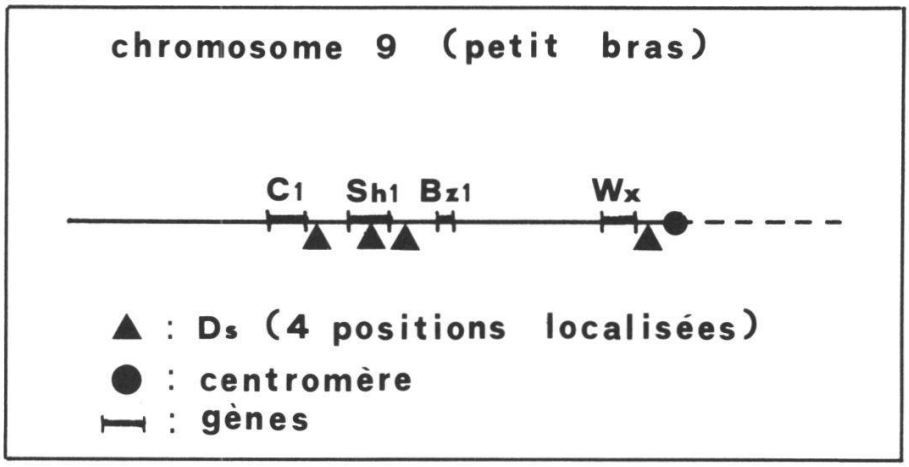


Figure 2. – Carte génétique schématique du petit bras du chromosome 9 du maïs. Sont indiquées les positions de 4 marqueurs utilisés dans l'étude de la variégation (système **Ac / Ds**). Les distances génétiques sont approximatives et la longueur des gènes est exagérée. Pour plus de détails le lecteur peut se référer à l'ouvrage: «The Mutants of Maize», cité en référence.

C_1: gène contrôlant la formation d'un inhibiteur (ou d'un répresseur) de l'accumulation de pigments anthocyanidiques (voir fig. 1A).

Sh_1: gène de l'enzyme saccharose-synthétase (EC 2.4.1.13) contrôlant la biosynthèse de l'amidon dans l'endosperme via la réaction réversible saccharose⇌fructose + UDP-glucose (voir fig. 1A).

Wx: gène d'une enzyme (amidon-synthétase, EC 2.4.1.11) intervenant dans la formation de l'amidon (accumulation d'amylopectine) dans l'endosperme.

Bz: gène de l'enzyme UDPglucose: flavonoïde 3-0 glucosyltransférase (EC 2.4.1.91), une des enzymes de la biosynthèse des anthocyanes.

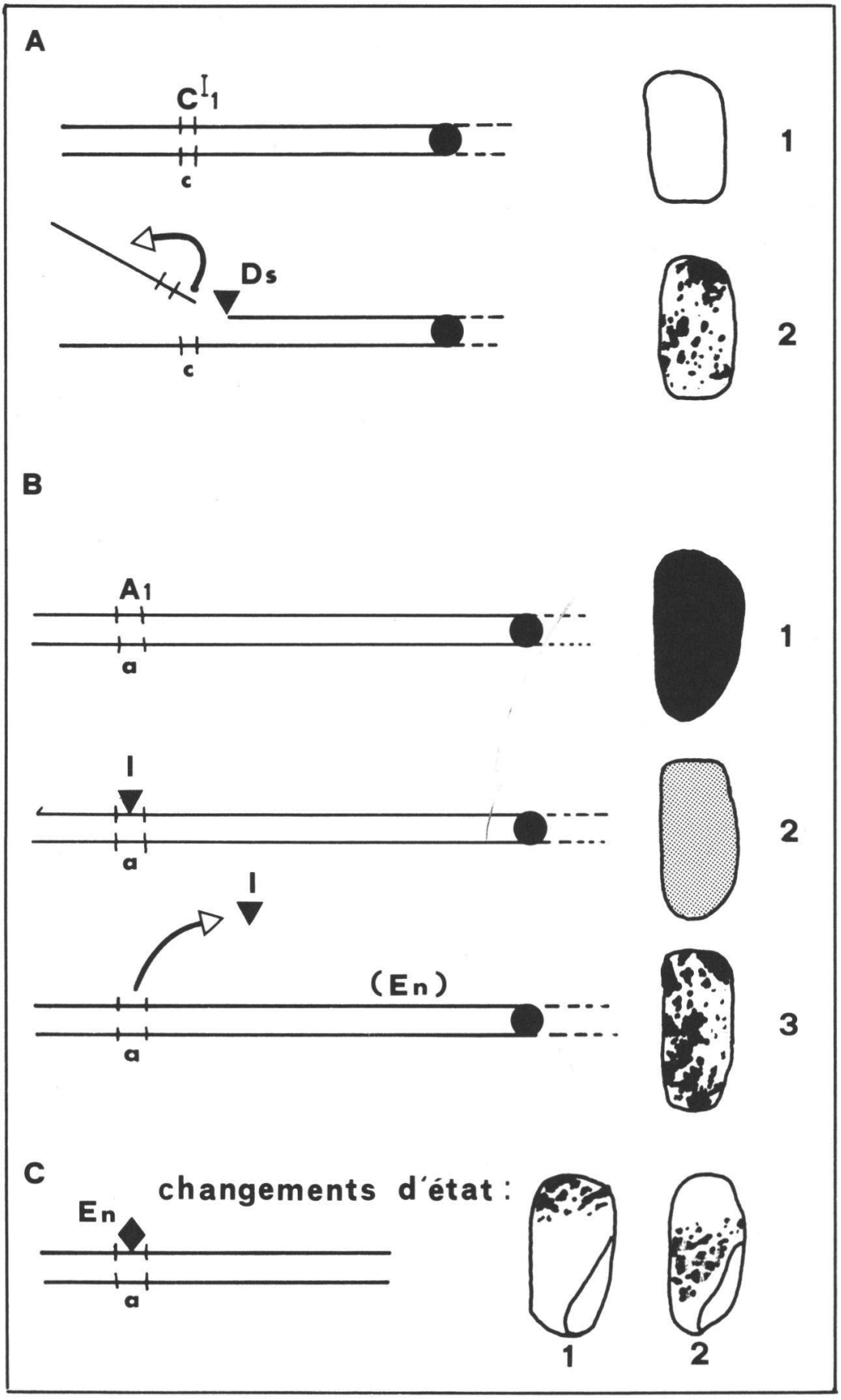
Les triangles ▲ correspondent à quelques-uns des sites attribués à l'élément **Ds** depuis sa découverte par B. MAC CLINTOCK.

Figure 3. – Trois manifestations de l'instabilité génétique associée à un élément transposable chez le maïs.

Figure 3A. – Cassure produite par l'insertion d'un élément **Ds** (▼) sur le chromosome 9. L'activité de cet élément est indicatrice de la présence d'un **Ac** quelque part dans le génome. La cassure concerne le bras de chromosome porteur de l'allèle $\mathbf{C^I_1}$ (inhibition de la synthèse des anthocyanes, voir fig. 2). Dans les lignées de cellules porteuses de cette cassure, la pigmentation réapparaît (zones foncées sur le caryopse), sur un fond incolore caractéristique de l'hybride $\mathbf{C^I_1}$ / $\mathbf{c_1}$.

Figure 3B. – Nous sommes dans le système des éléments **I / En**. Le caryopse est hétérozygote $\mathbf{A_1}$ / $\mathbf{a_1}$ et par conséquent la couche à aleurone est colorée (1). Un élément **I** (▼) est venu s'insérer dans le gène $\mathbf{A_1}$ provoquant son inactivation. Cette mutation est stable en absence de **En** et se caractérise par une coloration très faible, mais cependant réelle du caryopse (2). En présence de **En** le caryopse est non pigmenté mais **I** redevient instable. Certains clones cellulaires vont donc retrouver un allèle $\mathbf{A_1}$ actif et se manifester par la présence de zones colorées (3 et voir fig. 1B).

Figure 3C. – L'allèle $\mathbf{A_1}$ est ici bloqué par insertion d'un élément autonome **En**. Celui-ci peut évoluer (*changement d'état)* sans se déplacer. Dans certains cas ces changements d'état restaureront l'activité de $\mathbf{A_1}$ mais de manière dépendante du stade de développement. La figure illustre deux changements d'état possibles $\mathbf{a_1^{m\text{-}crown}}$ (1) et $\mathbf{a_1^{m\text{-}flow}}$ (2).


A
C I 1
c
1
Ds
c
2
B
A1
a
1
I
a
2
I
(En)
a
3
C
changements d'état :
En
a
1
2

dant **Ds,** puisqu'il est mobile, de s'insérer dans ou à proximité d'un gène causant alors une «mutation» du gène en question. **Ds** introduirait alors une variégation de manière directe (en changeant la structure du gène) et non plus indirecte (par cassure du chromosome démasquant des allèles récessifs). Des mutations de ce type ont été effectivement observées dans des hybrides porteurs de l'élément **Ds,** les plus étudiées d'entre elles affectent le gène **Sh** (**Sh** est le gène de structure de l'enzyme saccharose-synthétase) ainsi que le gène $\mathbf{A_1}$ contrôlant la biosynthèse des pigments de type anthocyanes (voir fig. 3B). Le phénotype correspondant **sh** (récessif) se caractérise par une absence de synthèse d'amidon presque complète se traduisant par des caryopses rétrécis, effondrés sur eux-mêmes: «shrunken» (voir fig. 1A). Au contraire des mutations habituelles, ce type de mutations apparaît spontanément avec une très haute fréquence. Elles sont instables, restituant avec des fréquences variables mais toujours élevées un phénotype sauvage ou presque indiscernable du sauvage. Cette instabilité est évidemment en accord avec l'hypothèse que l'élément **Ds** puisse quitter les gènes **Sh** ou $\mathbf{A_1}$ où il s'était intégré.

La complexité génétique de la variégation ne s'arrête cependant pas là. L'expression de **Ds** dépend d'un second gène appelé **Ac** (pour Activateur), toujours présent dans les hybrides analysés mais dont l'existence apparut lors de croisements avec des plantes qui en sont dépourvues. Ces dernières sont génétiquement stables, même lorsqu'elles portent **Ds.** Plus encore que **Ds, Ac** n'a pas de localisation génétique déterminée. Il migre très fréquemment vers une nouvelle localisation sur l'un ou l'autre des 10 chromosomes du maïs, inactivant le gène où il s'insère. **Ac** se manifeste donc par son caractère directement mutateur (par exemple au niveau des gènes $\mathbf{A_1}$ ou de **Wx**), et par sa capacité à activer l'élément **Ds. Ac** se comporte comme un *élément autonome,* c'est-à-dire que, contrairement à **Ds,** il n'a besoin d'aucun autre élément pour se transposer, car il possède toutes les informations nécessaires à sa propre transposition. Cela implique en particulier que **Ac** correspond à un DNA suffisamment long pour coder au moins pour une enzyme assurant la fonction de «transposase».

Outre leur capacité à se transposer, une deuxième propriété distingue **Ac** et **Ds** des gènes ordinaires: le fait qu'ils mutent fréquemment (sans pour autant changer de place dans le génome) vers de nouvelles formes alléliques correspondant à des types de variégations différents. Ces mutations anormalement fréquentes sont appelées *changements d'état.* Un cas typique de changement d'état est le passage de la forme **Ac** vers la forme **Ds,** c'est-à-dire vers un état stable, inactif, mais réactivable par l'introduction d'un nouvel **Ac** dans le génome suite à un croisement approprié. Le fait que **Ac** puisse fréquemment muter vers un état **Ds** (alors que la réciproque n'est pas observée) a conduit Mac Clintock à suggérer que les éléments **Ds** sont dus à des délétions ou d'autres remaniements structurels

importants de **Ac,** inactivant un ou des gènes hypothétiques codant pour des enzymes impliquées dans la transposition.

D'autres souches à variégation existent dans les collections de semences de maïs, certaines d'entre elles dérivant de souches «totémiques» sélectionnées et maintenues par de nombreux peuples indiens, d'autres ayant été obtenues à partir de plantes soumises à de fortes doses de rayonnements ionisants. Dans la plupart des cas, ce sont des systèmes entièrement distincts de **Ac / Ds** qui ont été découverts. Les propriétés de ces systèmes sont très semblables, encore que l'on ne signale pas toujours les fréquentes cassures chrosomiques observées pour le couple **Ac/Ds.** Il existe une demi-douzaine de systèmes différents chez le maïs, tous mettant en jeu un couple: élément autonome / élément non autonome dérivé du premier, et la liste n'est certainement pas close.

Le mieux étudié de ces systèmes a été décrit par PETERSON et ses collaborateurs sous les termes **En** (Enhancer) et **I** (Inhibitor) et par MAC CLINTOCK sous la désignation de **Spm** (Suppressor-mutator). Ce système possède deux propriétés remarquables qui suggèrent que les éléments transposables pourraient bien jouer un rôle dans la différenciation cellulaire. Premièrement, il a été observé que l'élément autonome **En** a un double effet sur les mutations qui inactivent par exemple l'allèle $\mathbf{A_1}$ à la suite de l'insertion de l'élément non-autonome **I** (voir fig. 1B). Ces mutations sont instables, ce qui n'est pas pour nous surprendre, mais en outre, **En** modifie le phénotype de ces mutants. En effet de telles mutations ne sont accompagnées d'un blocage complet de la biosynthèse des anthocyanes que dans les cas où **En** est présent; si **En** est absent, il subsiste une certaine activité résiduelle des sytèmes de biosynthèse des pigments. En d'autres termes, **En** affecte à la fois la stabilité et l'expression des mutations dues à l'élément non autonome correspondant **I** (voir fig. 3B). Deuxièmement, **En** peut subir des *changements d'état*, ce qui, à nouveau, ne peut nous surprendre. Cependant, ce qui est remarquable, est que ces changements d'état puissent être spécifiques d'un tissu et à un stade de différenciation bien précis. PETERSON (1966) a ainsi obtenu un mutant désigné par $\mathbf{a_1}^{\text{m-crown}}$ qui n'est instable que dans la partie la plus ancienne de la couche à aleurone (c'est-à-dire la partie centrale, première formée) et un autre mutant désigné par $\mathbf{a_1}^{\text{m-flow}}$ qui lui, n'est instable que dans la partie la plus jeune de la couche à aleurone (c'est-à-dire la ceinture périphérique). Ces deux mutations, dont les phénotypes sont schématisés dans la fig. 3C (respectivement 1 et 2), illustrent, de façon spectaculaire, comment l'activité d'un élément transposable peut être corrélée à certains stades de différenciation de la plante; plusieurs autres cas similaires pourraient être signalés.

3. « Redécouverte » des éléments transposables chez les bactéries et confirmation des théories de Mc Clintock par la biologie moléculaire

Les travaux de Mac Clintock ont donc démontré l'existence d'une classe de gènes mobiles et instables, ayant des propriétés radicalement différentes de celles des gènes décrits par la théorie classique. En fait, la méconnaissance de ces travaux a été moins totale qu'on veut bien le dire, mais en dehors d'un petit nombre de généticiens capables de saisir les finesses des analyses très élaborées de Mac Clintock (qui restent difficiles d'accès et partiellement non publiées) la variégation du maïs pouvait apparaître comme un phénomène secondaire et sans portée générale. Vers les années 70 cependant (15 ans après la publication de l'essentiel des résultats concernant le maïs), il devint clair que des phénomènes similaires existaient chez la bactérie *Escherichia coli* ainsi que chez la mouche *Drosophila sp.* comme l'avaient montré Golubowski en URSS et Green aux USA. Nous ne pouvons, dans le cadre de cet article, que présenter très succinctement les propriétés des éléments transposables bactériens (voir Calos et Miller 1980, Sherrat 1982, Cohen et Shapiro 1980).

Les éléments transposables bactériens comprennent notamment les *séquences d'insertion*/(**IS**) et les *transposons*/(**Tn**). Les séquences **IS** sont les plus simples de ces éléments et peuvent être présentes à une dizaine d'exemplaires dans le génome bactérien. Leur taille n'excède pas 1,5 kilobases, ils ne peuvent donc contenir qu'un petit nombre de gènes (peut-être un seul). On admet généralement que le produit de ce(s) gène(s), dont la séquence est connue, est une protéine enzymatique dont la fonction serait nécessaire à la transposition des **IS**. Les **Tn** sont, eux, beaucoup plus complexes, leur taille atteignant plusieurs kilobases. Ils contiennent deux types de gènes, les uns nécessaires à la transposition de l'élément et à la régulation de cette transposition par l'intermédiaire d'un répresseur, les autres porteurs, par exemple, de résistances à des antibiotiques. On ne comprend guère comment ces deux types de gènes se sont joints pour former un seul élément transposable, mais il est établi que le résultat de cette association confère à l'hôte du transposon (et par conséquent au transposon lui-même) un formidable avantage sélectif illustré par l'apparition de souches bactériennes multirésistantes aux antibiotiques (voir Sherrat 1982).

Les éléments transposables bactériens constituent un matériel de choix pour l'étude des mécanismes moléculaires de la transposition et l'on peut espérer qu'il puissent servir de modèle à l'étude des éléments transposables chez les eucaryotes. Ces éléments ont plusieurs propriétés en commun :

1. L'insertion en un nouveau site ne met pas en jeu de recombinaisons de type classique entre deux *séquences homologues* de DNA, l'une présente dans le génome de l'hôte, l'autre dans l'élément transposable. Par analogie

avec l'intégration de certains phages (phage lambda), on avait d'abord pensé à un tel mécanisme. En fait les éléments transposables ne semblent pas avoir préférence marquée pour tel ou tel site d'intégration.

2. Les extrémités de ces éléments sont invariablement des duplications inverses (par exemple $\frac{\text{ATGCCTA}}{\text{TACGGAT}} \quad \frac{\text{TAGGCAT}}{\text{ATCCGTA}}$) de séquences caractéristiques de l'élément considéré. Ces séquences sont indispensables à la transposition, on les désigne par l'abréviation **IR** (inverted repeat). Leur longueur est généralement de quelques dizaines de bases, mais peut être plus courte (2 paires de bases dans le cas du phage **mu,** voir plus loin) ou plus longues (dans certains transposons ces séquences inverses ne sont autres que des **IS**).

3. L'insertion s'accompagne de la duplication d'une petite séquence cible présente en un exemplaire au site d'insertion dans le génome de l'hôte et trouvée de part et d'autre de l'élément (avec une orientation identique à celle de la séquence du génome de l'hôte) une fois que celui-ci est inséré. La nature de la séquence cible dupliquée semble être arbitraire, mais sa taille, qui varie de 5 à 11 paires de bases selon le type d'élément, est constante pour tous les sites d'insertion d'un élément donné. Ce type de duplication sugggère fortement que l'une des premières étapes de la transposition consiste en l'ouverture du futur site par deux cassures (une sur chaque brin de DNA) décalées de 5 à 11 paires de bases selon l'élément transposable considéré (fig. 4).

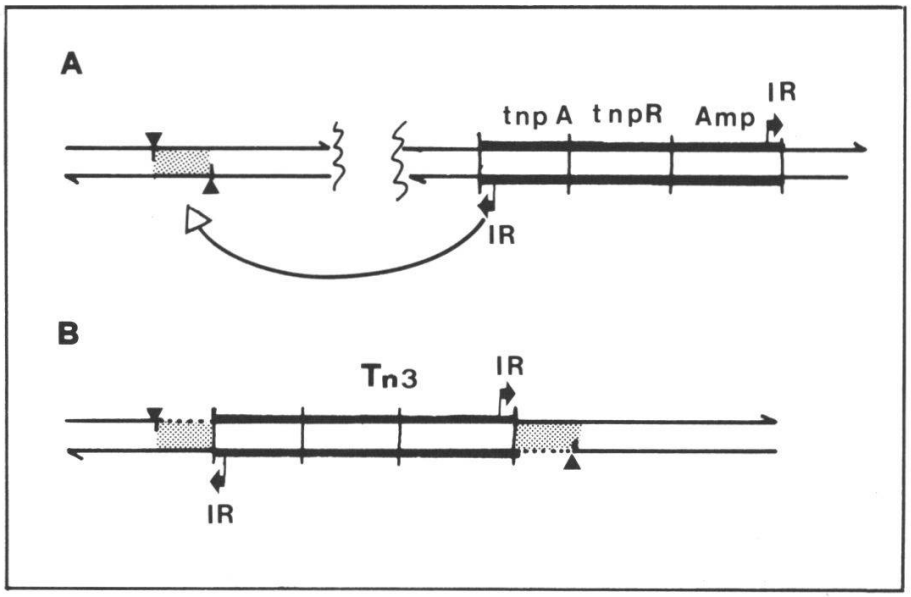


Figure 4. – Structure d'un transposon bactérien, le **Tn3** (porteur de résistance à l'antibiotique ampicilline). Les rapports de longueurs des séquences et des gènes sont exagérées.

La taille du **Tn3** est de 4957 paires de bases, avec aux extrémités deux duplications inverses de 140 paires de bases. Ces répétitions inverses (**IR**) sont une constante de tous les éléments transposables étudiés à ce jour (leur taille varie de 2 à 1400 paires de bases).

Le **Tn3** contient 3 gènes: **TnpA** définit une transposase qui exécute la double cassure de chaque brin de DNA au futur site d'insertion.
TnpR définit un répresseur contrôlant la fréquence de transposition.
amp définit l'enzyme bêta-lactamase (EC 3.5.2.6) capable d'inactiver l'antibiotique ampicilline.

Il y a plusieurs interprétations concurrentes du mécanisme de transposition bactérienne. La controverse la plus importante porte sur la nature duplicative ou non de la transposition. Dans l'hypothèse d'une transposition duplicative, l'élément apparaît en un site nouveau sans pour autant quitter le site de départ. On pourrait dire qu'il a un caractère plus ou moins infectieux et qu'à la limite il pourrait pratiquement coloniser le génome de l'hôte, à moins qu'une autorégulation (suggérée dans le cas des **Tn** par l'existence d'un gène codant pour un répresseur) ne limite son expansion. Il semble acquis que pour certains **Tn** au moins, la transposition soit de nature duplicative. Que cela soit le seul mode possible de transposition paraît peu vraisemblable: on voit mal comment les mutations induites par un élément transposable pourraient alors réverser à des fréquences relativement élevées comme c'est le cas pour les éléments **IS** bactériens, et bien plus encore pour les systèmes connus chez *Zea mays.* Il est évidemment possible d'imaginer que la transposition soit effectivement duplicative, mais que l'élément laissé « en arrière » ait en outre la capacité de s'exciser spontanément rétablissant l'information génétique présente avant son insertion. L'élément excisé pourrait alors être dégradé ou simplement dilué au cours des divisions cellulaires successives.

Chez les eucaryotes, la preuve moléculaire de l'existence des éléments transposables a été apportée d'abord par des études consacrées à la mouche *Drosophila sp.* ainsi qu'à la levure *Saccharomyces cerevisiae,* avant d'être établie chez *Zea mays.* Dans ce dernier cas, une part importante du travail (Courage-Tebb et al. 1983) a été réalisée en Allemagne par l'équipe de Peter Starlinger (qui fut l'un des premiers à découvrir les séquences **IS** chez *Escherichia coli* et à faire le rapprochement entre celles-ci et les éléments mobiles découverts par Mac Clintock) et aux USA par celle de Nina Fedoroff (Fedoroff et al. 1983). Ces deux groupes ont « cloné », c'est-à-dire purifié sur un plasmide bactérien, les gènes **Sh** et **Wx** obtenus à partir de plantes « normales », de mutants instables du système **Ac/Ds,** ainsi que de révertants spontanés dérivés de ces mutants. On trouvera dans les articles cités en référence le détail des méthodes utilisées. Les résultats obtenus confirment de manière remarquable les prédictions de Mac Clintock. Les mutations instables sont bien dues à l'insertion d'un fragment de DNA (long de 4 kilobases environ pour **Ac**). Les éléments **Ds** sont structurellement proches de **Ac** et en dérivent par des délétions plus ou moins importantes. La situation est cependant compliquée par le fait que les éléments tendent à réorganiser leurs structures, subissant en particulier des duplications et des inversions qui rendent l'analyse de la structure fondamentale de **Ac** et **Ds** difficile. Il se pourrait que ces structures variées correspondent aux *changements d'état* décrits par Mac Clintock et Peterson. La réversion des mutations qui révèle l'instabilité de ces éléments est bien due à des excisions restaurant les séquences fonctionnelles (ou presque telles) des gènes hôtes. On constate enfin, que l'insertion d'un élément

entraîne la duplication d'une séquence cible (longue de 11 paires de bases) exactement comme pour les transpositions bactériennes et pour les éléments analogues de la levure et de la mouche drosophile. L'avenir dira jusqu'à quel point la similitude des mécanismes en cause est complète. Il semble toutefois que les éléments transposables du maïs présentent des aspects originaux et spécifiques: c'est le cas en particulier du dualisme entre éléments autonomes (**As, En**) et éléments non-autonomes (**Ds, I**), et des hautes fréquences de réversion implicant apparement des transpositions non duplicatives.

4. Les éléments transposables ont-ils un rôle biologique?

Depuis leur découverte chez le maïs et singulièrement depuis ces quinze dernières années, il est devenu impossible de nier la présence très générale des éléments transposables dans l'ensemble des êtres vivants. Paradoxalement, les raisons de leur persistance au cours de l'évolution ne sont pas bien comprises. Les débats sont centrés autour de deux types d'explication.

Dans la première, les éléments transposables sont des *«gènes égoïstes»* qui, par leur capacité à se multiplier par transposition duplicative, peuvent jusqu'à un certain point prospérer aux dépens de l'hôte sans avoir à lui être bénéfique. L'intérêt de cette explication est de relativiser quelque peu le «cellulocentrisme» qui postule que toute information présente dans le génome cellulaire a nécessairement un sens pour la bonne marche de la cellule. A la limite, la notion de «gène égoïste» appliquée aux éléments transposables nous pousse à les considérer comme des formes rudimentaires et autonomes d'être vivants. On peut donc admettre que les éléments transposables évoluent vers des formes virales. Chez les bactéries, il y a au moins un exemple d'un tel élément ayant une enveloppe virale (qui lui permet d'exister hors d'une cellule) mais dont le mode de réplication est celui des transposons. Il s'agit du phage mutateur **mu.** Son caractère mutateur est bien reflété par sa capacité de s'intégrer plus ou moins au hasard sur le génome bactérien lors de sa réplication par transposition duplicative. Un second exemple d'éléments transposables ayant les propriétés d'un virus est celui des *rétrovirus* animaux (Temin 1984). Ces virus, dont le génome est constitué de RNA peuvent, lorsqu'ils infectent une cellule, induire la formation d'un DNA complémentaire de leur RNA par transcription inverse. Il a été démontré que ce DNA peut se transposer dans le génome de l'hôte induisant comme tous les éléments transposables, la duplication d'une petite séquence cible au site d'insertion. De même que les transposons bactériens, certains rétrovirus ont acquis des gènes de leurs hôtes. Ces oncogènes sont appelés ainsi car ils peuvent, sous certaines conditions, induire la transformation cancéreuse des cellules infectées.

Une autre interprétation consiste à postuler que les éléments transposables jouent un rôle dans la physiologie de l'hôte et font donc l'objet d'une

sélection positive. Cette interprétation n'est pas antinomique de l'hypothèse d'un DNA «égoïste». Un élément transposable peut très bien se maintenir sans être sélectionné, mais ses chances de survie s'accroîtront s'il est utilisable d'une façon ou d'une autre par l'organisme. Un exemple de cette dernière situation est fourni par les transposons bactériens associés aux résistances aux antibiotiques. Chez les eucaryotes cependant, il n'a pas été possible jusqu'ici de démontrer que des gènes autres que ceux nécessaires à la transposition elle-même soient associés aux éléments, à l'exception des rétrovirus porteurs d'oncogènes. On sait cependant: 1) que certains éléments transposables du maïs passent, dans des conditions encore mal définies, par des phases d'activité ou de non-activité corrélées à des phases précises du développement des tissus (endosperme, couche à aleurone) considérés, 2) que certains éléments (**En** par exemple) influencent l'intensité de l'expression phénotypique d'un caractère, 3) que les éléments eux-mêmes peuvent subir des *«changements d'état»*. On peut donc, avec Mac Clintock, imaginer qu'un élément puisse d'abord se comporter de façon «anarchique» dans ses effets sur le gène qu'il inactive, mais puisse ensuite se transformer (muter) vers des états récupérables par l'organisme dans le but, par exemple, de contrôler l'expression d'un gène au cours du développement.

Un rôle possible des éléments transposables dans les processus de *spéciation* est suggéré par l'étude du phénomène de *«dysgénèse hybride»* chez la mouche drosophile. On sait que certains sous-groupes de *Drosophila melanogaster* manifestent des phénomènes aberrants d'instabilité génétique (mutabilité, nombreux remaniements chromosomiques, infertilité partielle ou totale) lors de croisements. A l'intérieur même du sous-groupe cependant, la fertilité est normale. Ce phénomène pourrait être le point de départ de la formation d'une nouvelle espèce, dans la mesure où il isole génétiquement *(dysgénèse)* une sous-population de mouches, sans qu'il soit nécessaire d'évoquer un isolement comportemental ou géographique. Le taux de mutations de la sous-population est augmenté et l'on peut imaginer alors une divergence extrêmement rapide d'avec la population mère. Le mécanisme moléculaire de la dysgénie fait intervenir des éléments transposables (Rubin et al. 1982).

Il existe d'autres raisons de s'intéresser à ces éléments. L'une d'elles est d'ordre médical: il serait en effet surprenant que des éléments transposables soient absents du génome humain ne serait-ce que sous forme de rétrovirus. Il n'est donc pas interdit de penser que leur activation sous l'influence de stimuli externes (radiations, substances cancérigènes, etc...) ait des conséquences pathologiques. Dans cette perspective, il serait important de mieux comprendre le processus d'activation conduisant à la formation de lignées cellulaires instables, en particulier chez les plantes qui, comme *Zea mays*, constituent les systèmes les mieux étudiés à ce point de vue. Sur un autre plan, les éléments transposables peuvent être utilisés

comme «vecteurs» capables d'assurer l'intégration d'un gène étranger dans le génome d'un organisme végétal ou animal. Des résultats récents obtenus chez la mouche drosophile (RUBIN et SPRADLING 1982) montrent qu'il s'agit là d'une perspective tout à fait concrète, qui pourrait jouer un rôle important dans le développement de l'ingéniérie génétique.

RÉFÉRENCES

CALOS, M. P. & MILLER, J. H. 1980. – Transposable Elements. *Cell 20,* 579-595.

COHEN, S.N. & SHAPIRO, J.A. 1980. – Les éléments génétiques transposables. *Pour la Science 30,* 64-78.

COURAGE-TEBB, U., DOERING, H.P., FEDOROFF, N. & STARLINGER, P. 1983 – The controlling elements Ds at the shrunken locus in Zea mays: structure of the unstable sh-m5933 allele and several revertants. *Cell 34,* 383-393.

FEDOROFF, N., WESSLER, S. & SHURE, M. 1983. – Isolation of the transposable maize controlling elements Ac and Ds. *Cell 35,* 235-242.

FINCHAM, J.R.S. & SASTRY, G.R.K. 1974. – Controlling elements in maize. *Ann. Rev. Genet. 8,* 15-50.

MC CLINTOCK, B. 1956. – Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 21,* 197-216.

—. 1978. – Development of the Maize endosperm as revealed by clones. In: «Clonal basis of development», S. Subtelny & I.M. Sussex Ed., Academic Press, New York.

NEUFFER, M.G., JONES, L. & ZUBER, M.S. 1968. – The mutants of Maize, publication de la «Crop Science Society of America», Madison.

PETERSON, P. 1966 – Phase variation of regulatory elements in maize. *Genetics 54,* 249-266.

RUBIN, G.M., KIDNELL, M.G. & BINGHAM, P.M. 1982. – The molecular of P-M hybrid dysgenesis: the nature of induced mutations. *Cell. 29,* 987-994.

RUBIN, G.M. & SPRADLING A.C. 1982. – Genetic transformation of Drosophila with transposable element vectors. *Science 218,* 348-353.

SHAPIRO, J.A. & CORDELL, B. 1982. – Eukaryotic mobile and repeated genetic elements. *Biol. Cell. 43,* 31-54.

SHERRATT, D.J. 1982. – The maintenance and propagation of plasmid genes in bacterial populations. *J. Gen. Microbiol. 128,* 655-661.

TEMIN, H. M. 1984. – L'origine des rétrovirus. *La Recherche 15,* 192-203.

Manuscrit reçu le 22 février 1984