

***L* La controverse des mutations dirigées menace-t-elle réellement la validité de la théorie synthétique de l'évolution ?**

La théorie synthétique de l'évolution fait actuellement l'objet d'une sérieuse remise en question, le principal argument avancé étant l'existence de mutations dirigées. Cette notion — si elle se vérifie — est en effet de nature à remettre en cause les bases mêmes de la théorie synthétique de l'évolution : mutation au hasard et augmentation de la fréquence des allèles avantageux sous l'action de la sélection naturelle.

La théorie synthétique de l'évolution (ou néo-darwinisme) est née, vers la fin des années 1930, de la confrontation des données fournies par la génétique et l'ensemble des sciences de la nature : paléontologie, zoologie, botanique, géographie zoologique, éthologie, biologie moléculaire (voir dans *m/s* l'essai d'analyse épistémologique de cette théorie par Delsol *et al.* [1]). En résumé, selon cette théorie, les mutations au hasard créent des différences génétiques entre les organismes, et la sélection naturelle tend à augmenter la fréquence des allèles avantageux. Si cette théorie est communément admise par les spécialistes, elle n'en a pas moins été souvent critiquée, en raison notamment du rôle attribué à la sélection. Ces critiques s'expliquent probablement aussi par la grande complexité de la théorie actuelle, et par les diverses interprétations philosophiques auxquelles elle a donné lieu.

La publication de travaux visant à prouver l'existence, chez les bactéries ou la levure, de mutations dirigées constitue la dernière attaque en date contre le néo-darwinisme. La notion de mutation dirigée reste cependant très controversée — ainsi que ses répercussions sur la théorie synthétique de l'évolution — et la revue *Science* a consacré récemment un article à ce sujet

[2]. Les différents modèles proposés pour expliquer l'existence de mutations dirigées y sont exposés, ainsi que d'autres interprétations possibles permettant elles aussi de rendre compte des phénomènes observés.

Le concept de mutation dirigée suppose que certaines mutations se produiraient à des taux beaucoup plus élevés spécifiquement quand les phénotypes mutants présentent un avantage. Comme le font remarquer Lenski et Mittler [2], le concept fondamental de la biologie de l'évolution — les mutations sont des événements se produisant au hasard — ne signifie pas que les taux de mutation ne sont pas affectés par les facteurs de l'environnement, ou que toutes les régions du génome sont également sujettes aux mutations. La notion de hasard suppose en revanche que la probabilité de n'importe quel événement mutationnel est indépendante de sa valeur sélective pour l'organisme. Les paramètres gouvernant mutation et sélection sont, dans ce cas, indépendants.

A l'opposé, la notion de mutation dirigée implique une relation très spécifique entre mutation et sélection. Selon cette hypothèse, une mutation se produirait spécifiquement à un taux plus élevé quand — et même parce que — celle-ci présente un avantage pour l'organisme. Ainsi, Cairns *et al.* [3] décrivent en 1988 « certaines expériences suggérant que les cellules pourraient avoir des mécanismes leur permettant de choisir quelles mutations se produiront ». D'autres études [4-10] exposent des résultats conduisant aux mêmes conclusions. Il n'en fallait pas moins pour déclencher parmi les biologistes et philosophes des sciences une violente controverse [11-14]. La réalité

des mutations dirigées est en effet discutée, et les mécanismes qui en seraient responsables restent inconnus.

Expériences précoces sur les mutants bactériens

D'un point de vue expérimental, les travaux supposés démontrer l'existence des mutations dirigées ont été réalisés chez les bactéries et la levure. Or, pour les microbiologistes, l'observation directe des mutants a longtemps été source de bien des difficultés. En effet, si les zoologistes et les botanistes pouvaient observer des mutations affectant des phénotypes visibles, il était, en revanche, impossible pour les microbiologistes d'observer des mutants individuels ou de démontrer leur existence autrement qu'en imposant une sélection pour le phénotype mutant. Par conséquent, il était difficile de savoir si la sélection avait entraîné la conversion massive des cellules d'un état vers un autre, ou si la sélection avait augmenté la proportion de cellules mutantes dans la population.

Le test de fluctuation développé par Luria et Delbrück en 1943 [15] a permis d'obtenir des résultats très en faveur de l'extension du néo-darwinisme aux bactéries. Ces auteurs ont formulé deux hypothèses différentes permettant d'expliquer l'apparition de bactéries résistantes à l'infection virale. Selon l'hypothèse de mutation au hasard, chaque bactérie avait une probabilité de subir une mutation spontanée la rendant résistante au virus, même en l'absence de ce virus. Selon l'hypothèse de mutation dirigée, chaque bactérie avait la possibilité de survivre et de devenir résistante à l'attaque virale. Dans les deux cas, la résistance est héréditaire. La différence

entre ces deux modèles est que, dans les populations bactériennes cultivées à partir d'un faible inoculum en l'absence de virus, les cellules mutantes devraient être limitées à un sous-groupe de la population selon l'hypothèse de mutation au hasard, tandis qu'elles devraient être réparties plus uniformément dans la population selon l'hypothèse de mutation dirigée. Luria et Delbrück ont observé une variance élevée par rapport à la moyenne, résultat en faveur de l'hypothèse de mutation au hasard.

Cependant, la méthode était limitée du fait de l'impossibilité pour l'expérimentateur d'isoler un mutant sans exposer les cellules aux conditions de sélection. Cette limite a été levée par Lederberg et Lederberg [16] en 1952, grâce à la technique des répliques velours sur milieu gélosé, en présence ou en absence de virus. Ce test a permis d'observer une correspondance remarquable entre les répliques en ce qui concerne la localisation des colonies résistantes, indiquant que ces dernières étaient déjà présentes sur la boîte mère. En outre, les Lederberg ont ainsi isolé des cultures pures de cellules résistantes sans jamais exposer les cellules mères au virus [17].

Arguments récents en faveur des mutations dirigées

Cairns *et al.* [3] ont suggéré que ces expériences précoces n'ont peut-être pas permis de détecter les mutations se produisant spécifiquement quand elles sont avantageuses. Ces auteurs font remarquer que la résistance au virus n'est pas exprimée avant plusieurs générations suivant l'événement mutationnel, car les récepteurs auxquels s'adsorbent les virus, s'ils ne sont plus synthétisés — tout au moins sous leur forme active — restent présents à la surface des bactéries et doivent être dilués par la croissance bactérienne. Par conséquent, il est possible que les expériences utilisant des agents de sélection létaux ne permettent pas la détection des mutations se produisant spécifiquement en réponse aux besoins de l'organisme.

Cairns *et al.* ont appliqué le test de fluctuation à une souche d'*Escherichia coli* (Lac⁻) et observé une répartition

des mutants (Lac⁺) en accord avec un modèle intermédiaire dans lequel certaines mutations se produisent au hasard avant la sélection, et d'autres uniquement après sélection. Ces mêmes auteurs ont observé l'accumulation de mutants Lac⁺ au cours du temps lors de l'incubation de cellules Lac⁻ sur milieu contenant du lactose. En revanche, ils n'ont pas observé d'augmentation comparable des mutants à un locus quelconque, ou d'accumulation de mutants Lac⁺ sur milieu sans lactose. D'autres observations en faveur des mutations dirigées ont été publiées dans le cas d'*Escherichia coli* soumises à des conditions non létales variées [3, 4-9], et des publications récentes rapportent des phénomènes semblables chez la levure [10]. Il existe cependant d'autres interprétations possibles. Par exemple, certaines mutations pourraient se produire plus fréquemment lorsqu'elles sont avantageuses, sans que le mécanisme moléculaire sous-jacent n'implique un choix de la part de la cellule. Il s'agirait alors de mutations induites par la sélection, mais pas réellement dirigées. Selon une troisième interprétation, les mutations apparemment dirigées se produiraient en fait complètement au hasard quant à leur valeur sélective et au phénotype résultant. Cette interprétation reconnaît que les taux de mutation sont affectés par l'environnement et par l'état physiologique de la cellule [18], et varient entre différents génomes ou régions d'un même génome [19]. Cependant, selon cette opinion, les études démontrant l'existence de mutations dirigées seraient faussées par manque de témoins importants.

Mécanismes moléculaires possibles des mutations dirigées

• Mutation réellement dirigée

Cairns *et al.* [3] ont suggéré que « la cellule pourrait produire une série très variable de molécules d'ARNm et ensuite opérer la transcription inverse de la molécule codant pour la meilleure protéine ». Il est vrai que les erreurs de transcription entraînent une variabilité parmi les molécules d'ARNm, qui, après traduction, se répercutent au niveau protéique. En outre, une transcriptase inverse a été

trouvée chez certaines souches d'*Escherichia coli*, mais cependant pas chez *E. coli* K12, utilisé dans l'étude des mutations dirigées. En revanche, on ne connaît aucune structure capable d'évaluer les performances d'une protéine et de séquestrer la molécule d'ARNm ayant donné la meilleure protéine. Foster et Cairns [9] ont d'ailleurs conclu récemment que « les conditions de sélection ne jouent pas de rôle instructionnel déterminant les changements se produisant dans la séquence d'ADN ».

• Mutation induite par la sélection par l'intermédiaire de mécanismes non instructionnels

Stahl [11] a proposé le biais de la conversion d'erreurs d'appariement de l'ADN en mutations, dans des conditions permettant la survie des cellules mutantes et non des cellules parentales. Selon Stahl, il se pourrait qu'une mutation naissante codant pour un nouveau transcrit fonctionnel facilitant la croissance ne soit pas réparée avant que la cellule en croissance n'ait répliqué son ADN, tandis qu'une mutation naissante ne permettant pas la réplication finirait par être corrigée par un mécanisme de réparation des erreurs d'appariement. Ce processus pourrait par conséquent augmenter le taux de mutation quand le phénotype résultant est avantageux, même si les erreurs d'appariement de l'ADN se produisent au hasard. Certaines observations vont cependant à l'encontre de ce modèle [4, 7, 9]. Davis [20] a présenté un autre modèle moléculaire selon lequel la transcription serait elle-même mutagène. Un tel mécanisme entraînerait cependant une augmentation systématique des mutations délétères dans les génotypes fonctionnels. Enfin, selon Hall [6], une carence nutritionnelle pourrait induire chez certaines cellules un état d'hypermutabilité. Dans cet état physiologique, une cellule engendrerait de multiples mutations au hasard, semblant ainsi tenter, dans un effort désespéré, d'en trouver une qui lui permette de se répliquer. Ce dernier modèle prédit cependant une fréquence élevée de mutations secondaires à des loci non déterminés. Dans le cas de ce modèle — ainsi que dans les modèles précédents — les prédictions

n'ont pas été confirmées par l'expérience.

Explications néo-darwiniennes fondées sur les mutations au hasard

Les résultats expérimentaux tendant à prouver l'existence de mutations dirigées, ou tout au moins induites par la sélection, doivent être interprétés avec la plus grande prudence. En effet, ces résultats peuvent être faussés pour plusieurs raisons. Dans le cas des tests de fluctuation, par exemple, il peut exister des différences de taux de croissance : certains mutants favorisés en condition de sélection se multiplient moins vite que la souche parentale en conditions non sélectives. L'augmentation du taux de mutation peut être non spécifique. En effet, les conditions de sélection peuvent être elles-mêmes mutagènes (exemple de l'élévation du taux de mutation conférant la résistance aux UV lors de l'exposition à ces radiations). En outre, les traitements sélectif et témoin peuvent différer par des paramètres autres que les conditions spécifiques de sélection. Par exemple, la comparaison des taux de mutation de cellules se multipliant en l'absence d'un agent sélectif ou carencées en sa présence est biaisée, car il est possible que l'état de carence soit lui-même mutagène.

Lorsqu'une mutation sert de témoin par rapport à une autre, l'une peut être fonction du temps et la seconde de la croissance, ce qui peut introduire un biais supplémentaire dans les résultats. Par ailleurs, il peut exister des différences de compétitivité entre deux classes de mutants.

En fonction de la dynamique des populations en conditions sélectives et non sélectives, d'autres précautions doivent également être prises dans l'interprétation des observations. Par exemple, il est possible qu'une cellule mutante sur milieu témoin meure avant d'être détectée par imposition de la sélection, alors que sur milieu sélectif toute cellule mutante donnera naissance à une colonie — d'où une sous-estimation possible du nombre de mutations ayant eu lieu sur milieu témoin. Par ailleurs, le choix du moment où compter les colonies apparaissant sur les boîtes témoins après

imposition de la sélection est difficile. En effet, si le temps d'incubation est trop long, des mutations post-sélectionnelles risquent d'être prises en compte ; s'il est trop court, les mutations se produisant avant la sélection pourraient être sous-estimées.

Enfin, d'autres biais peuvent intervenir lors de la comparaison des taux de mutation entre conditions sélective et témoin. D'une part, certains agents sélectifs peuvent être contaminés par des substrats favorisant la croissance. D'autre part, de nombreuses souches considérées comme incapables de se multiplier sont en fait phénotypiquement permissives : par exemple, certaines souches Lac⁻ sont en fait capables de croître lentement en présence de lactose. En outre, la souche parentale peut utiliser des métabolites excrétés par les mutants se multipliant sur milieu sélectif, ce qui ne peut se produire sur milieu témoin en l'absence de substrat permettant la croissance des mutants.

En conséquence, dans plusieurs cas de mutations dirigées qui ont été soigneusement réexaminés, il s'est avéré que l'augmentation présumée du taux de mutation dans les conditions sélectives disparaissait lorsque des témoins supplémentaires et une comptabilité plus précise de la dynamique des populations étaient mis en œuvre [21-23].

Conclusions

L'hypothèse des mutations dirigées a été examinée très attentivement pour différentes raisons, dont deux essentielles : d'une part, cette hypothèse soutient une vue lamarckienne et même théologique de l'évolution, en contradiction avec les principes fondamentaux du néo-darwinisme ; d'autre part, des résultats expérimentaux en faveur de l'hypothèse des mutations dirigées ont été publiés dans les meilleures revues scientifiques par plusieurs biologistes respectés, et dans des systèmes expérimentaux variés. Toutefois, aucun mécanisme susceptible d'être à l'origine de mutations réellement dirigées n'a été démontré, et même les plus ardents défenseurs des mutations dirigées semblent être revenus sur leur opinion. Lenski et Mittler [2] insistent sur le fait qu'aucune revendication de muta-

tion dirigée n'a complètement exclu toutes les autres hypothèses possibles fondées seulement sur les mutations au hasard. A la lumière de l'ensemble des éléments de réflexion présentés ici, il paraît donc clair que dans cette controverse la théorie synthétique de l'évolution n'a en fait rien perdu de sa crédibilité.

Quoi qu'il en soit, ainsi que le remarquent Lenski et Mittler, la controverse au sujet des mutations dirigées a stimulé l'intérêt pour d'autres questions concernant les mutations, leurs causes et leurs conséquences sur l'évolution. Par exemple, les taux de mutation chez les bactéries et la levure subissent-ils en général une augmentation pendant le jeûne, en considérant les effets spécifiques des phénotypes en résultant ? S'il en est ainsi, quels sont les mécanismes responsables de cette réponse, est-elle adaptative, c'est-à-dire a-t-elle évolué par sélection naturelle d'allèles promouvant spécifiquement une augmentation de la variabilité génétique sous l'effet du stress ? Ou une telle réponse est-elle essentiellement une conséquence inévitable soit d'une détérioration physiologique, soit de l'induction de mécanismes de réparation de l'ADN ? Plus généralement, comment les taux de mutation affectent-ils l'équilibre évolutif entre la charge des mutations délétères et les bénéfices potentiels des mutations favorables occasionnelles ? ■

Françoise Petitjean

Éditions John Libbey Eurotext, 6, rue Blanche, 92120 Montrouge, France.

RÉFÉRENCES

1. Delsol M, Sentis Ph, Flatin J. Essai d'analyse épistémologique de la théorie synthétique de l'évolution. *médecine/sciences* 1992 ; 8 : 1079-87.
2. Lenski RE, Mittler JE. The directed mutation controversy and neo-Darwinism. *Science* 1993 ; 259 : 188-94.
3. Cairns J, Overbaugh J, Miller S. The origin of mutants. *Nature* 1988 ; 335 : 142-5.
4. Hall BG. Adaptative evolution that requires multiple spontaneous mutations. I. Mutations involving an insertion sequence. *Genetics* 1988 ; 120 : 887-97.

-
5. Benson SA. Is bacterial evolution random or selective ? *Nature* 1988 ; 336 : 21-2.
 6. Hall BG. Spontaneous point mutations that occur more often when advantageous than when neutral. *Genetics* 1990 ; 126 : 5-16.
 7. Hall BG. Adaptative evolution that requires multiple spontaneous mutations : mutations involving base substitutions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 5882-6.
 8. Cairns J, Foster PL. Adaptative reversion of a frameshift mutation in *Escherichia coli*. *Genetics* 1991 ; 128 : 695-701.
 9. Foster PL, Cairns J. Mechanism of directed mutation. *Genetics* 1992 ; 131 : 783.
 10. Hall BG. Selection-induced mutation occur in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 4300-3.
 11. Stahl FW. A unicorn in the garden. *Nature* 1988 ; 335 : 112-3.
 12. Partridge L, Morgan MJ. Is bacterial evolution random or selective ? *Nature* 1988 ; 336 : 22.
 13. Charlesworth D, Charlesworth B, Bull JJ. Origin of mutants disputed. *Nature* 1988 ; 336 : 525-8.
 14. Lenski RE, Slatkin M, Ayala FJ. Mutation and selection in bacterial populations : alternatives to the hypothesis of directed mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 2775-8.
 15. Luria SE, Delbrück M. Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. *Genetics* 1943 ; 28 : 491-511.
 16. Lederberg J, Lederberg EM. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *J Bacteriol* 1952 ; 63 : 399-406.
 17. Lederberg J. Replica plating and indirect selection of bacterial mutants : isolation of preadaptative mutants in bacteria by sib selection. *Genetics* 1989 ; 121 : 395-9.
 18. Ryan FJ. Bacterial mutation in a stationary phase and the question of cell turnover. *J Gen Microbiol* 1959 ; 21 : 530-49.
 19. Robertson BD, Meyer TF. Genetic variation in pathogenic bacteria. *Trends Genet* 1992 ; 8 : 422-7.
 20. Davis BD. Transcriptional bias : a non-Lamarckian mechanism for substrate-induced mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 5005-9.
 21. Mittler JE, Lenski RE. New data on excisions of Mu from *Escherichia coli* MCS2 cast doubt on directed mutation hypothesis. *Nature* 1990 ; 344 : 173-5.
 22. Benson SA. Mutant bias in non lethal selections results from selective recovery of mutants. *Genetics* 1991 ; 129 : 647-58.
 23. Mittler JE, Lenski RE. Experimental evidence for an alternative to directed mutation in the *bgl* operon. *Nature* 1992 ; 356 : 446-8.

TIRÉS A PART

F. Petitjean.