

# ***Les variations génétiques et leur régulation : la drosophile a beaucoup à nous apprendre***

**Anne Laurençon, Christophe de La Roche Saint-André,  
Judith Ducau, Françoise Gay, Yannick Azou,  
Jean-Claude Bregliano**

## **Société Française de Génétique**

### **Président**

Jean Générmont, Université Paris XI,  
Orsay

### **Secrétaire général**

Michel Werner, CEA Saclay,  
Gif-sur-Yvette

### **Trésorière**

Cécile Fairhead, Institut Pasteur, Paris

### **Vice-présidents**

Roland Berger, Institut de Génétique  
Moléculaire, Paris

Alain Bernheim, Institut Gustave-  
Roussy, Villejuif

Claude Chevalet, INRA, Centre de  
Recherches de Toulouse

Serge Potier, Université Louis-Pasteur,  
Strasbourg

Hervé Thiellement, INRA, DGAP,  
Versailles

### **Autres membres du bureau**

Anne Cambon-Thomsen, CNRS  
Toulouse

Lionel Larue, Institut Curie, Orsay

Marc Lipinski, Institut Gustave-  
Roussy, Villejuif

Louise Telvi, Hôpital Saint-Vincent-  
de-Paul, Paris

*Prrière d'adresser toute correspondance au  
Secrétariat général de la SFG, Michel  
Werner, Service de biochimie et de gé-  
nétique moléculaire, CEA Saclay, bâtiment  
142, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France.*

### **Comité de rédaction**

A. Bernheim

M. Bolotin-Fukuhara

M. Fellous

J. Générmont

M.C. Hors-Cayla

R. Motta

A. Nicolas

M. Solignac

S. Sommer

P. Thuriaux

D. de Vienne

### **Secrétaire**

M.-L. Prunier

Jusqu'à une période récente, l'idée de la plus largement répandue sur la genèse des variations génétiques voulait qu'elle obéisse à un processus régulier, uniforme dans le temps, échappant à toute influence du milieu environnant. Dans le cas des animaux, cette idée était confortée par l'isolement très précoce de la lignée germinale au cours de l'embryogenèse, qui, selon une idée vieille d'un siècle, la soustrayait à l'influence des facteurs liés à l'environnement pouvant affecter la lignée somatique.

Depuis le début des années 1980, une accumulation de données convergentes, aussi bien chez les procaryotes que chez les eucaryotes, montre que cette vision des choses ne correspond pas à la réalité. Il apparaît de plus en plus évident que la production de changements génétiques est soumise à régulation en fonction des conditions de l'environnement [1, 2]. Chez les bactéries, en condition de carence nutritive, on observe ce que certains ont dénommé les mutations « adaptatives », phénomène qui a fait objet d'un fructueux débat dans la dernière décennie. Il apparaît maintenant que ces mutations sont le résultat d'une hypermutagenèse, limitée à une fraction de la population, mais généralisée à l'ensemble du génome et non dirigée sur certains gènes comme cela avait été proposé [3, 4].

Chez les organismes pluricellulaires, l'analyse a été moins poussée mais de nombreuses données convergent vers la même idée. Elles émergent de travaux divers, d'une part chez les plantes, avec les variations du contenu en ADN en fonction des condi-

tions de culture [5] ou la mobilité des éléments transposables en réponse à des *stress* liés à l'environnement [6, 7], d'autre part chez diverses espèces animales. Dans ce dernier cas, les faits recueillis sur les systèmes d'hybrides dysgénésiques chez la drosophile dès les années 1970 étaient particulièrement parlants [8] ; ils sont à la base du travail présenté ici.

Quant aux signaux et aux mécanismes impliqués dans ce dialogue entre génome et environnement, les connaissances sont encore très partielles. Chez les procaryotes, le rôle de la réponse SOS dans la modulation des variations du génome est maintenant bien établi [1]. Ce système inductible accroît l'efficacité des réparations précises lorsque le nombre de lésions de l'ADN est peu important, et met en route un mécanisme de réparation fautive donc mutagène, quand leur nombre est élevé, ce qui peut faciliter l'adaptation [9]. Mais il apparaît qu'il n'est pas le seul système à être impliqué dans cette modulation. Les données les plus récentes sur la mutagenèse en condition de carence font apparaître des voies de régulation complexes dans lesquelles interviendraient la recombinaison homologue et le système de correction des mésappariements [3, 4, 10].

Chez les eucaryotes, les connaissances sont beaucoup moins avancées. Les travaux de la dernière décennie sur la régulation du cycle cellulaire mettent en évidence des mécanismes de réponse aux lésions de l'ADN, mais l'influence d'autres facteurs sur la stabilité du génome est

restée jusqu'ici très peu étudiée. De plus, la grande majorité des travaux concernant les organismes pluricellulaires sont réalisés sur des cellules en culture ou sur les premiers stades du développement embryonnaire. Une telle approche, si elle est pertinente pour l'analyse des mécanismes aux niveaux cellulaire et moléculaire, reste trop limitée pour appréhender l'ensemble des implications biologiques, incluant les niveaux de l'organisme et des populations.

Dans cet article, nous nous proposons de résumer et de discuter un ensemble de travaux réalisés ces dernières années sur une fonction biologique associée à la régulation des variations du génome nucléaire chez la drosophile. L'approche expérimentale a été menée au niveau de l'organisme entier, reproduction sexuée incluse. Si elle présente l'inconvénient de la complexité, elle donne en contrepartie une vision d'ensemble du système étudié. Elle met ainsi à jour des propriétés inattendues, insoupçonnables par des études au niveau cellulaire, et pourtant essentielles pour comprendre les implications adaptatives.

### Les acteurs du système d'hybrides dysgénésiques I-R

Une brève description des systèmes d'hybrides dysgénésiques est maintenant nécessaire car ils constituent le point de départ des travaux et des idées que nous allons présenter dans cette revue.

Le principe en est simple : pour chaque système d'hybrides dysgénésiques, l'espèce *Drosophila melanogaster* comprend deux catégories d'individus, ceux qui possèdent des copies actives d'une famille particulière d'éléments transposables et ceux qui n'en possèdent pas. Un croisement entre des individus de ces deux catégories donne des descendants chez lesquels la fréquence de transposition de l'élément mobile peut être très élevée. Trois systèmes de ce type sont maintenant connus, dénommés I-R, P-M et H-E. Le travail dont nous allons parler s'inscrit dans le cadre du système I-R qui fut le premier

découvert, au tout début des années 1970, par P. L'Héritier et G. Picard.

### L'élément transposable...

Dans le système I-R, l'élément transposable (le facteur I), appartient à la catégorie des rétrotransposons de type LINE [11]. Les souches dites inductrices (I) en possèdent 5 à 15 copies par génome haploïde, dispersées sur les chromosomes, sans que l'on puisse savoir combien d'entre elles sont réellement actives, c'est-à-dire autonomes pour la transposition. Les souches dites réactives (R) ne possèdent aucun élément I actif. Les deux catégories de souches possèdent des éléments I défectueux, très anciens, dans l'hétérochromatine péri-centromérique [12]. La biologie moléculaire de ce type de rétrotransposon est encore mal connue, mais un certain nombre de données génétiques et moléculaires permettent de donner, au moins sur les points essentiels, une vision globale du système [13].

Dans les souches inductrices, une

fonction de répression dépendante du facteur I empêche la mobilité. Le croisement de mâles I avec des femelles R (croisement dysgénésique) revient à acheminer par le spermatozoïde des copies actives de l'élément transposable dans un contexte ovocytaire où cette répression n'existe pas. Il se produit alors dans les ovocytes des femelles hybrides une vague de transposition du facteur I qui entraîne la « contamination » des chromosomes d'origine R (figure 1). Ces événements de transposition provoquent de nombreuses cassures et aberrations chromosomiques, d'où une réduction plus ou moins importante du pourcentage d'œufs aptes à éclore et l'appellation de femelles SF (pour stérilité femelle) donnée à ces hybrides. Cette transposition se poursuivra dans les deux ou trois générations suivantes jusqu'à l'établissement d'un état inducteur stable, lorsque le nombre de copies du facteur I sera suffisant pour installer un état de répression permanent. Les tissus somatiques ne sont pas concernés

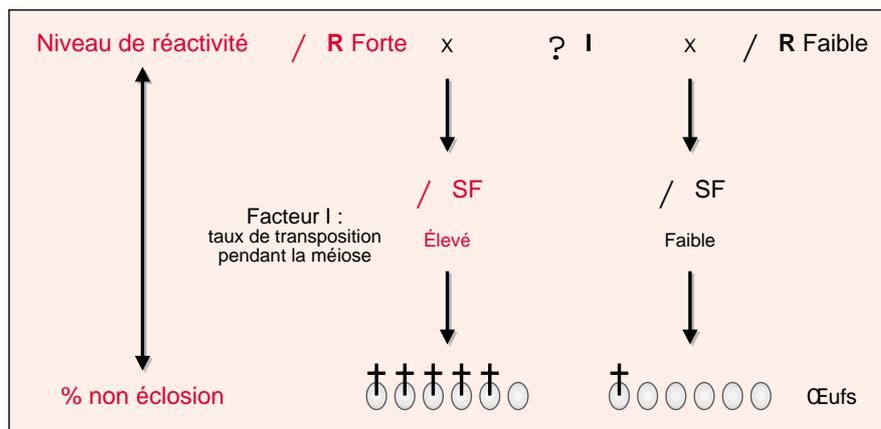


Figure 1. **Le système I-R d'hybrides dysgénésiques : le niveau de réactivité.** Les souches réactives (R) n'ont aucune copie active du facteur I, alors que les souches inductrices (I) en possèdent. Dans ces dernières, une fonction de répression, spécifique de cette famille de rétrotransposons, est présente et empêche la transposition. Lorsqu'une femelle d'une souche R est croisée avec un mâle d'une souche I (croisement dysgénésique), elle donne naissance à des femelles hybrides (femelles SF), dont les ovocytes sont le siège de nombreuses transpositions. Celles-ci provoquent des cassures et aberrations chromosomiques. Les femelles SF pondent un nombre normal d'œufs (ovales) dont une certaine proportion n'écloît pas (croix) du fait de ces anomalies. Le niveau de réactivité d'une femelle réactive correspond au pourcentage d'œufs non éclos pondus par ses filles SF. Pour une femelle R forte, ce pourcentage sera très élevé, pour une femelle R faible ce pourcentage sera réduit [8].

par cette vague de transposition, non plus que la spermatogenèse au cours de laquelle, lors de la méiose, chaque copie de l'élément transposable suit sagement la ségrégation des chromosomes. A la suite d'un croisement réciproque du croisement dysgénésique (femelles I x mâles R), la fréquence de transposition n'est pas négligeable dans l'ovogenèse des descendants mais insuffisante pour diminuer la fertilité.

Ce processus illustre le pouvoir invasif des éléments transposables à travers la reproduction sexuée. Il est maintenant bien établi que les trois familles d'éléments impliquées dans les systèmes d'hybrides dysgénésiques (I, P et Hobo) étaient absentes de l'espèce *D. melanogaster* avant les années 1940. Très vraisemblablement transférés à partir d'autres espèces du genre *Drosophila*, ils l'ont envahie totalement à l'échelle planétaire en l'espace d'une trentaine d'années [14, 15].

Le facteur I n'est cependant que l'un des deux acteurs du système I-R ; l'autre est la « réactivité », qui apparaît depuis peu comme l'expression d'un phénomène biologique fondamental, ayant jusqu'ici échappé aux généticiens comme aux biologistes moléculaires à cause de son déterminisme complexe et insolite.

### ... et son curieux système de régulation

Dans le passé, la réactivité avait été définie comme la condition permissive, propre aux souches réactives, permettant la transposition à haute fréquence du facteur I lors d'un croisement dysgénésique. Cependant, l'ensemble des données actuellement disponibles, incluant les travaux récents que nous décrivons plus loin, conduit à proposer que cette condition recouvre en fait deux propriétés très différentes. D'une part, l'absence de la fonction de répression spécifique du facteur I, qui est la condition permissive première pour que la transposition puisse avoir lieu. D'autre part, la présence d'une fonction biologique propre à l'hôte qui règle la fréquence de transposition en condition permissive. Elle n'est

donc expérimentalement décelable que dans les souches réactives mais devrait exister aussi dans les souches inductrices.

C'est cette deuxième fonction qui nous intéresse ici. Elle est responsable de la variation considérable que manifestent les souches réactives lors d'un croisement dysgénésique. Cette variation porte sur la fréquence de transposition du facteur I et, par voie de conséquence, sur la stérilité des femelles SF. Il est donc possible, par le pourcentage d'œufs non éclos pondus par les femelles SF, de mesurer ce que l'on appelle la « force » de leur mère réactive ou encore son « niveau de réactivité » (figure 1).

Dans les années 1970, notamment par les travaux de G. Picard et A. Bucheton, une analyse assez poussée du déterminisme génétique des niveaux de réactivité a été réalisée, en l'absence de toute intervention du facteur I. Des études de deux types ont été menées. D'une part, une analyse des modalités de transmission héréditaire des niveaux de réactivité lors de croisements entre souches réactives fortes et faibles ; d'autre part, une étude de l'influence de facteurs non génétiques sur les niveaux de réactivité.

Dans le premier cas, le principe du protocole utilisé a consisté à construire, par croisements, des lignées issues en ascendance maternelle d'une

souche réactive forte mais dont les chromosomes d'origine ont été remplacés par ceux d'une souche faible (figure 2). Chez la drosophile, tous les outils génétiques sont disponibles pour réaliser ce type de remplacement en trois générations. Les lignées ainsi constituées présentent un niveau de réactivité très proche de celui de la souche maternelle de départ. Cependant, au fil des générations, leur niveau de réactivité diminue progressivement et atteint, en fin de compte, celui correspondant à leur génotype chromosomique. Cette évolution est très progressive et peut demander plus de 10 générations [16]. Ce délai correspond à environ 200 générations cellulaires dans la lignée germinale femelle, ce qui exclut toute interprétation fondée sur une simple dilution d'un facteur cytoplasmique. Un protocole réciproque (ascendance maternelle réactive faible, combinée avec des chromosomes de souche réactive forte) donne le même type de résultat (F. Gay et J.C. Bregliano, données non publiées). Ce type d'expérience met en évidence un double contrôle génétique, impliquant à la fois des déterminants chromosomiques et une « composante maternelle », responsable d'une transmission héréditaire du niveau de réactivité à court et moyen termes par voie ovocytaire. Les déterminants chromosomiques

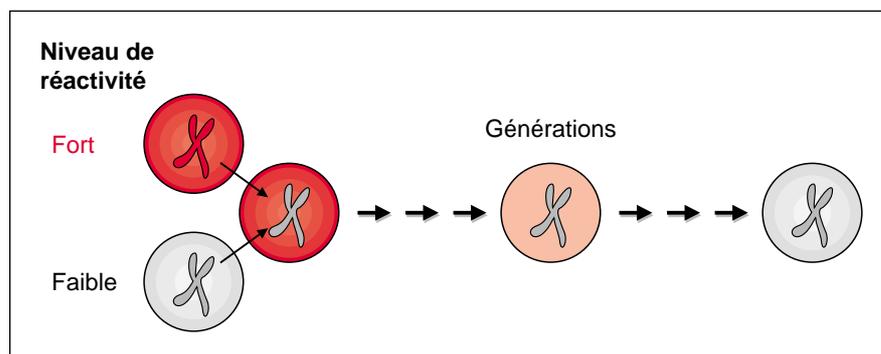


Figure 2. **Niveau de réactivité : rémanence maternelle.** Lorsque, par croisements, l'on remplace le génome d'une souche réactive forte, symbolisé par un chromosome rouge, par le génome d'une souche réactive faible (chromosome gris) en restant en contexte maternel fort (fond rouge), le niveau de réactivité est fort du fait de la rémanence maternelle. Au cours des générations suivantes (flèches) le niveau de réactivité baisse progressivement jusqu'à atteindre la valeur correspondant au nouveau génome [16].

sont, en dernier ressort, décisifs mais ne peuvent s'exprimer dans le phénotype qu'à travers la composante maternelle. Celle-ci confère un mode de transmission à la descendance qui se situe à mi-chemin entre celui observé pour un effet maternel (effet différé du génotype chromosomique d'une femelle sur le phénotype de sa descendance), et une véritable hérédité maternelle. On le désignera sous le terme de « rémanence maternelle », selon une expression qui fut proposée par P. L'Héritier.

Le deuxième type d'études met en évidence des propriétés singulières de cette composante maternelle. Sous l'effet de facteurs non génétiques, elle peut subir des variations sujettes elles aussi au phénomène de rémanence maternelle : la modification induite est transmise par voie ovocytaire mais son amplitude s'atténue progressivement au fil des générations. Une application répétée de ces facteurs, sur plusieurs générations successives, aboutit à un effet cumulatif mais qui reste toujours réversible dès que l'on cesse le traitement. Les facteurs actuellement connus capables d'induire ces variations sont : l'âge des femelles et des facteurs exogènes comme la température d'élevage [17] ou certains agents génotoxiques (*voir plus loin*). L'effet le plus étudié est celui de l'âge. Le niveau de réactivité d'une femelle diminue avec son âge et cette diminution est transmise à ses filles. Une souche réactive forte, entretenue en générations courtes, c'est-à-dire en utilisant à chaque génération des mères jeunes, se maintiendra forte. La même souche entretenue en générations longues, c'est-à-dire à partir de reproductrices âgées, subira une diminution progressive de la réactivité qui se stabilisera à un niveau faible tant que ce type d'élevage sera maintenu. Un retour en générations courtes entraînera un retour progressif vers le niveau de réactivité d'origine, même après plusieurs dizaines de générations longues (*figure 3*). Aucun effet de l'âge paternel n'a été observé.

Hormis l'intérêt fondamental que présente cet effet héréditaire de l'âge, il donne aussi un outil expérimental

irremplaçable puisqu'il permet de comparer des lignées les plus isogéniques possible, ne différant que par leur niveau de réactivité.

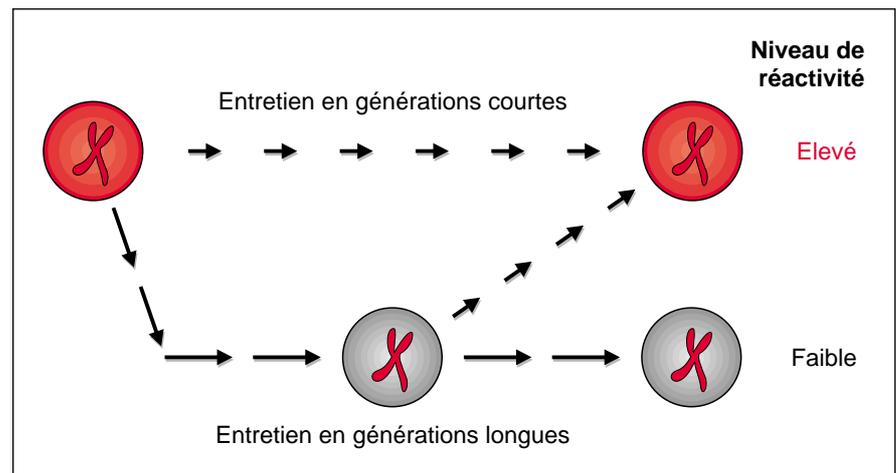
Comme nous le verrons plus loin, cet effet héréditaire, cumulatif et réversible de l'âge maternel n'est pas spécifique des niveaux de réactivité ; il a été aussi observé par d'autres auteurs pour des caractères comme la longévité, la viabilité et la fécondité. Cela indique qu'il ne s'agit pas d'une particularité du système I-R mais d'un phénomène biologique à vocation beaucoup plus générale, délaissé jusqu'à présent car trop complexe et trop insolite par rapport aux concepts génétiques en usage.

L'analyse génétique des niveaux de réactivité laissait deux questions en suspens : (1) quelle fonction biologique est à la base de ce phénomène ? (2) quel est le support moléculaire de la composante maternelle, capable de répondre à l'effet de l'âge ou à des stimulus extérieurs et de transmettre la réponse à travers l'ovogenèse ?

Nous n'avons actuellement aucune

donnée expérimentale qui nous permette de répondre à cette dernière question. Bien qu'il ne soit pas de notre propos de discuter ici des modèles moléculaires susceptibles d'expliquer la composante maternelle, on peut rapidement invoquer deux grandes catégories de mécanismes : soit l'intervention de véritables éléments extrachromosomiques (on pense alors à des variants de l'ADN mitochondrial), soit un mécanisme d'hérédité épigénétique, à transmission exclusivement ovarienne. Dans ce dernier cas, on peut penser à des modifications de l'ADN ou de la structure chromatinienne, mais aussi à un processus de conversion protéique du type de celui proposé pour les prions.

En ce qui concerne la première question, nous avons réuni, depuis 1990, des éléments de réponse suffisamment nombreux et convergents pour en tirer des informations significatives. Ces nouvelles données permettent également d'ouvrir des voies pour aborder la seconde question.



**Figure 3. Effet héréditaire, cumulatif et réversible de l'âge sur le niveau de réactivité.** Le niveau de réactivité décroît régulièrement avec l'âge. Cet effet est partiellement héréditaire, de façon cumulative, au cours des générations. Le niveau de réactivité d'une souche réactive forte se maintient tant qu'elle est entretenue en générations courtes (flèches courtes), chaque nouvelle génération étant issue de mères jeunes. Si la même souche est entretenue en générations longues (flèches longues), où chaque génération est issue de la ponte de femelles âgées, le niveau de réactivité diminue progressivement jusqu'à se stabiliser à une valeur faible (fond gris). Ce changement est réversible après retour en générations courtes [17]. C'est la composante maternelle qui est en jeu dans ces variations, le génome nucléaire reste invariant.

### **Une fonction biologique fondamentale**

L'influence des facteurs liés à l'environnement sur les niveaux de réactivité nous a conduit à penser qu'il pouvait s'agir d'une fonction d'interface entre le milieu extérieur et le génome, au rôle comparable à celui de la réponse SOS bactérienne (bien que la comparaison ne préjuge en rien du mécanisme moléculaire). Le rapprochement nous a semblé d'autant plus convaincant que des données anciennes montrent que le méthotrexate, inducteur efficace de la réponse SOS, augmente nettement le niveau de réactivité de souches moyennes. La première question qui se posait était donc de savoir s'il en était de même avec des agents mutagènes connus pour induire cette réponse.

### **L'induction par les agents génotoxiques**

Des irradiations par les rayons  $\gamma$ , appliquées au cours de l'ovogenèse, augmentent très significativement le niveau de réactivité, avec un effet de seuil (autour de 30 Gy) et un plafonnement à partir de certaines doses (45-50 Gy), deux caractéristiques que l'on retrouve avec le méthotrexate. Les cinétiques de réponse à ces deux traitements sont très semblables; en particulier, elles s'étendent sur une quinzaine de jours après l'application. Cela suggère que, comme dans le cas du système SOS, un même mécanisme cellulaire est induit par ces deux agents, très vraisemblablement en réponse à des lésions de l'ADN puisque c'est le principal effet des rayons  $\gamma$  aux doses utilisées. L'effet cumulatif et réversible des irradiations sur le niveau de réactivité a été également démontré, l'induction passe donc bien par la composante maternelle [18].

Dans la logique de l'analogie avec la réponse SOS, on est amené à se demander si les niveaux de réactivité sont corrélés à des capacités de réparation et de recombinaison. Chez la drosophile, la méthodologie génétique est tout à fait appropriée pour vérifier cette hypothèse; en outre, l'existence de souches isogéniques

possédant des niveaux de réactivité très différents constitue une excellente base expérimentale.

### **Niveaux de réactivité et efficacité de réparation de l'ADN**

Les femelles de niveaux de réactivité différents présentent la même fréquence de perte de chromosome et de mutations spontanées. En revanche, il apparaît qu'après irradiation, la fréquence de perte du chromosome X (le plus aisé à étudier) est significativement plus élevée dans l'ovogenèse des femelles réactives faibles que dans celle des femelles réactives fortes, toujours à génotype égal bien sûr [19]. Or, d'après tous les travaux effectués par divers groupes chez la drosophile dans les années 1970 et 1980, une perte de chromosome après irradiation résulte d'une cassure double brin non réparée.

La fréquence d'apparition des mutations létales récessives après irradiation est, quant à elle, significativement plus élevée chez des femelles réactives fortes [19]. Cela peut s'interpréter par le fait que, dans ce cas, la réparation a bien lieu mais qu'elle peut être erronée. D'une manière générale, nos données expérimentales laissent supposer que lors d'irradiations  $\gamma$ , la situation optimale correspondant à une bonne efficacité de réparation fidèle est un niveau de réactivité moyen plutôt qu'un niveau élevé [20]. Curieusement, cela évoque encore la réponse SOS, avec la réparation mutagène qui s'instaure lorsque le nombre de lésions est important [9]. L'avenir dira si ce rapprochement est justifié.

### **Niveaux de réactivité et recombinaison méiotique**

Le critère expérimental choisi a été la fréquence de *crossing-over* mesurée sur diverses régions chromosomiques. L'autre conséquence de la recombinaison homologue, la conversion, n'a pas été étudiée; elle n'est détectable chez la drosophile que pour quelques loci particuliers. Depuis le début du siècle, de nombreux auteurs avaient fait remarquer

que la fréquence de *crossing-over* obéissait à des règles très complexes et était soumise à l'influence de nombreux facteurs, génétiques et non génétiques. La relecture de ces travaux anciens, à la lumière des connaissances sur la réactivité, est en elle-même instructive. On y trouve notamment que la fréquence de recombinaison présente une variabilité interfemelle considérable à l'intérieur d'une même souche et qu'elle varie sous l'influence de nombreux facteurs, dont l'âge des femelles et la température d'élevage. Toutes choses qui s'appliquent parfaitement aux niveaux de réactivité. La question d'un lien éventuel entre les deux phénomènes était donc tout à fait pertinente.

Cette étude s'est avérée longue et délicate. Les précautions d'élevage, déjà peu usitées, que nous prenons de façon routinière dans notre laboratoire pour éviter des changements incontrôlés des niveaux de réactivité, n'ont pas suffi à empêcher des variations imprévues et parfois très rapides (en termes de générations) de la fréquence de *crossing-over* chez certaines souches marquées. Le déterminisme de la recombinaison méiotique s'est avéré encore plus complexe et plus difficile à contrôler que celui de la réactivité. Nous y reviendrons car cela mérite attention.

Notre travail montre que la fréquence de recombinaison, au moins dans certaines régions chromosomiques, subit effectivement un effet héritable, cumulatif et réversible de l'âge maternel, tout à fait parallèle à celui observé pour les niveaux de réactivité [19]. L'analogie ne s'arrête pas là; la corrélation entre les deux phénomènes existe indépendamment de l'effet de l'âge. Cela a pu être montré grâce à l'existence de lignées constitutivement réactives fortes et faibles, possédant le même contexte génétique car issues d'une même souche mère et maintenues exclusivement en générations courtes. Il y a donc bien un lien relativement étroit entre recombinaison méiotique et niveau de réactivité.

Dans cette série d'expériences, nous avons également montré que, chez

les femelles inductrices, la fréquence de recombinaison subit un effet héritable de l'âge, ce qui permet de penser qu'elles possèdent également la fonction responsable des niveaux de réactivité, comme nous l'avons suggéré plus haut.

Ainsi, toutes les données confirment que nous sommes en présence d'une fonction associée à la réparation et la recombinaison méiotiques, dont le niveau d'expression est modulable par l'âge et par certains facteurs du milieu. Les niveaux de réactivité du système I-R n'en constituent que l'une des manifestations. Ces données semblent donc bien valider notre hypothèse de travail et nous conduisent à proposer l'existence d'un système régulateur de la variation génomique. Afin de lever l'ambiguïté liée à l'utilisation antérieure du terme « réactivité » et de mieux désigner le rôle biologique que nous attribuons à ce système, nous avons proposé l'appellation anglaise de *variability modulation system* (VAMOS) [19]. Ses propriétés sont résumées schématiquement sur la figure 4.

### Les cartes génétiques ne sont plus ce qu'elles étaient

Au cours de ce travail, l'une des surprises a été de découvrir l'ampleur des variations en fréquence de *crossing-over* sur certains segments chromosomiques. Par exemple, sur la région péri-centromérique du chromosome 3, entre deux marqueurs séparés par 18 unités d'après la carte « officielle », nous avons trouvé des valeurs échelonnées entre 15 et 40 unités selon la souche utilisée, l'âge des femelles et leur niveau de réactivité. Même les distances relatives entre les différents marqueurs ne sont pas respectées. En effet, sur le chromosome X, par exemple, la fréquence de *crossing-over* diminue avec l'effet de l'âge dans la région proximale, augmente dans la région distale et reste stable dans la région médiane. Autrement dit, non seulement les cartes génétiques peuvent être très différentes d'un individu à l'autre comme l'ont fait remarquer récemment certains auteurs [21] mais, pour un même individu, la

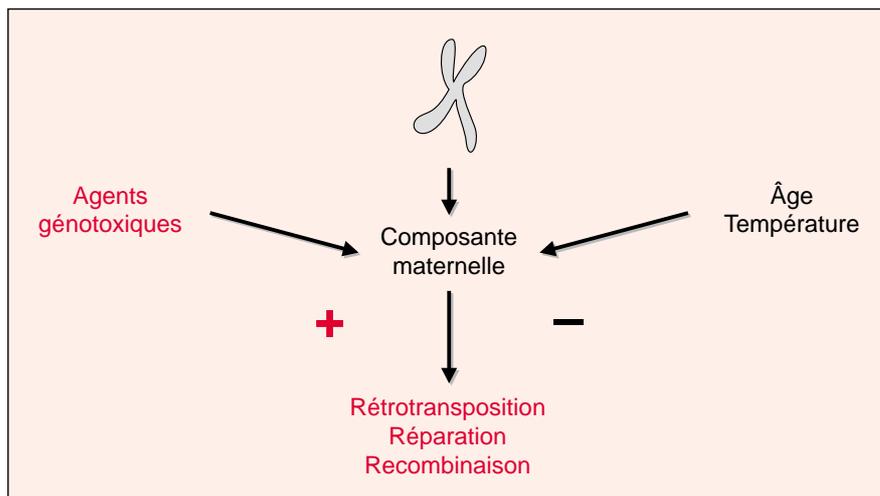


Figure 4. **Contrôle génétique et non génétique du VAMOS (variability modulation system).** Jusqu'aux années 1990, le phénotype associé aux niveaux de réactivité était uniquement la stérilité SF, provoquée par la rétrotransposition du facteur I. Les données obtenues ces dernières années ont montré que ces niveaux sont associés à l'expression d'un système de réparation-recombinaison de l'ADN, modulable en fonction de l'âge ou de conditions liées à l'environnement [18-20]. Ainsi, les agents génotoxiques augmentent le niveau de réactivité, alors que certains traitements thermiques et le vieillissement le diminuent. Dans tous les cas, c'est la composante maternelle qui entre en jeu dans l'évolution des variations induites. Les déterminants chromosomiques ne peuvent s'exprimer dans le phénotype qu'à travers cette composante.

carte varie en fonction de son âge et de celui de ses ascendantes. Tout cela doit inciter à la prudence dans la lecture des cartes publiées (sur lesquelles les distances sont souvent indiquées à la décimale près!), et contribue à donner une nouvelle vision de la régulation des variations génomiques.

### Le VAMOS est-il aussi impliqué dans la longévité ?

Toutes les données que nous venons de résumer concernent la lignée germinale femelle, c'est sur elle que nous avons focalisé nos premiers efforts car les niveaux de réactivité ne sont perceptibles que par la transposition du facteur I, qui est limitée à l'ovogénèse. Qu'en est-il des cellules somatiques ?

Comme nous l'avons déjà évoqué, un effet de l'âge parental sur la longévité a été observé par certains auteurs : dès 1947, chez des rotifères parthénogénétiques [22], puis, dans les années 1970, chez la drosophile [23]. Plus les parents sont âgés, plus

l'espérance de vie des descendants est réduite et, comme pour les niveaux de réactivité, cet effet est cumulable au fil des générations et réversible (seule lacune par rapport aux niveaux de réactivité : les travaux sur la drosophile ne posent pas la question du rôle respectif des parents mâles et femelles). Certaines publications sur la souris et l'espèce humaine permettent même de penser que cette règle pourrait être très largement répandue dans le règne animal [24, 25]. Cet effet, quelquefois décrit sous le nom d'effet Lansing, est resté très mystérieux. Nos résultats peuvent lui apporter un nouvel éclairage.

Parmi toutes les hypothèses proposées pour expliquer le vieillissement, celle impliquant l'accumulation de lésions de l'ADN dans les tissus non renouvelables semble réunir un certain consensus. Pour certains auteurs, cette accumulation serait même la cause première de la sénescence [26]. Il est donc tentant d'imaginer un lien direct entre le VAMOS et le processus de vieillissement. Celui-ci

étant affaire de tissus somatiques, un tel lien impliquerait qu'une partie au moins de ce système s'exprime aussi dans ces tissus. Un travail est en cours pour rechercher ce qu'il en est des capacités de réparation somatique en relation avec le niveau de réactivité. Contrairement à l'ovogenèse, cela est possible par des méthodes biochimiques directes.

Nous avons déjà pu vérifier que, comme la recombinaison, la longévité subit un effet héritable de l'âge parental tout à fait parallèle à celui observé pour les niveaux de réactivité. La durée de vie diminue progressivement, et de façon très significative, avec le nombre de générations longues, au point que la durée de ces générations doit être raccourcie au fil du temps pour ne pas perdre les lignées. Comme pour la réactivité, l'effet est réversible lorsqu'on retourne en générations courtes et seul l'âge de la mère semble concerné (A. Laurençon *et al.*, article en préparation). Ce parallélisme constitue un argument de poids en faveur d'une implication du VAMOS dans les tissus somatiques. Les effets héritaires de l'âge, décrits chez d'autres organismes, constituent également une bonne présomption de son ubiquité dans le règne animal.

### Quelques réflexions sur les implications évolutives possibles

#### Quels rôles pour la rémanence maternelle ?

L'implication du phénomène de rémanence maternelle dans des mécanismes biologiques aussi fondamentaux que la réparation et la recombinaison constitue une nouveauté qui devra être prise en compte pour la compréhension des mécanismes adaptatifs (figure 5). Dans l'état actuel des choses, compte tenu des questions encore en suspens, nous proposerons simplement quelques lignes de réflexion.

On peut envisager deux fonctions distinctes, mais en fait très complémentaires, du VAMOS : (1) une fonction de régulation de la variabilité génétique au sein d'une population, par le contrôle des variations du génome ovocytaire ; (2) un rôle de

protection des descendants vis-à-vis d'agents délétères, génotoxiques par exemple, en leur conférant une meilleure résistance à ces agents si leur mère y a été soumise.

On pourrait évoquer aussi un troisième rôle possible, qui serait la protection des individus irradiés eux-mêmes par induction des capacités de réparation dans leurs tissus somatiques. Cependant, outre que ce dernier point nous éloignerait de la rémanence maternelle, nous manquons actuellement de données pour

en discuter. Seule la possession d'un marqueur moléculaire nous permettra d'aborder cette question.

Actuellement, seule l'existence de la première fonction semble bien établie. Le VAMOS règle les variations du génome ovocytaire, donc influe sur la variabilité génétique de la population. Ce point est important car il montre que la lignée germinale femelle, chez les animaux, n'est pas imperméable aux influences du milieu. Il était déjà connu depuis longtemps qu'elle peut subir des

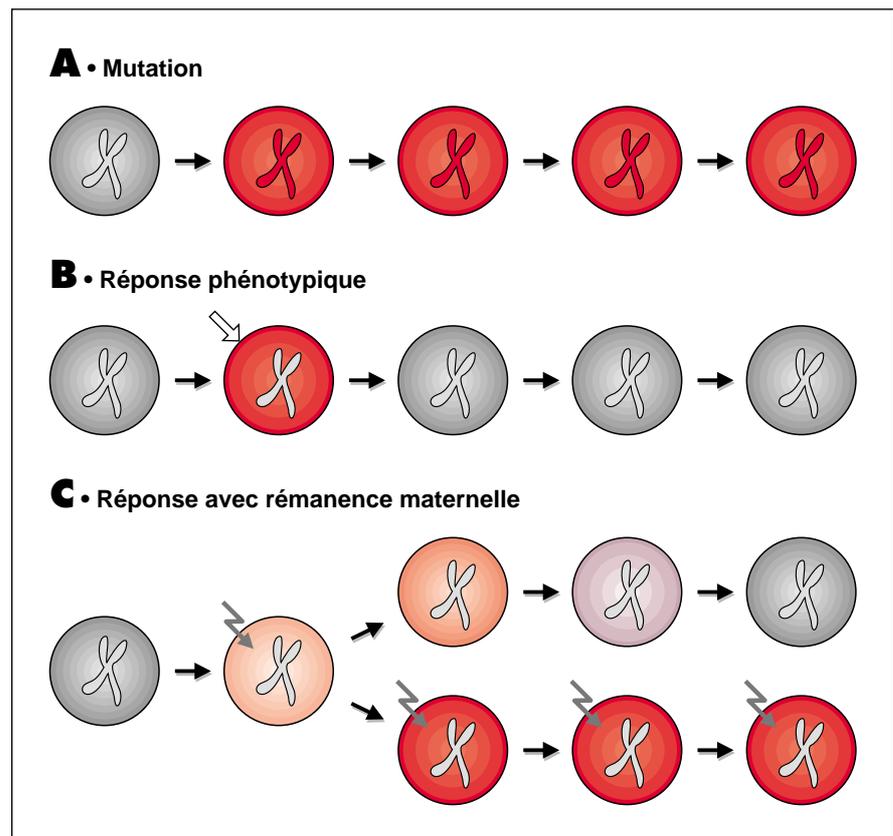


Figure 5. **Modifications du phénotype : les différents scénarios.** Sur cette figure sont représentées de façon très schématisée les alternatives conduisant à un changement de phénotype. Les cas A et B illustrent des exemples classiques. Le cas C représente la situation mettant en jeu un phénomène de rémanence maternelle. **A. Modification indéfiniment héritable.** Elle est le résultat d'un changement génétique non dirigé, mais éventuellement sélectionné, par le milieu. **B. Modification non héritable.** Suite à l'action d'un facteur de l'environnement (flèche), se déclenche une réponse purement phénotypique, non transmissible à la descendance. **C. Modification transitoirement héritable.** C'est la situation du VAMOS sous l'effet d'irradiations  $\gamma$  (flèche brisée). Le changement s'atténue progressivement ou augmente et se stabilise selon que l'irradiation est limitée à une génération ou répétée sur plusieurs générations consécutives [18].

modifications liées au développement en fonction d'influences extérieures, mais c'est à notre connaissance la première fois qu'est mise en évidence une réponse, transmissible aux descendants, dont la fonction adaptative paraît très plausible.

Pour illustrer notre propos, nous pouvons imaginer le scénario suivant, en prenant l'exemple des agents génotoxiques. Si une femelle subit l'action de l'un de ces agents présents dans son environnement, ses ovocytes transmettent à la descendance une efficacité de réparation augmentée. Les cellules germinales des filles sont donc mieux protégées contre ces agents. Si ses descendantes se déplacent vers un environnement sain, cet effet restera très transitoire et les générations ultérieures retrouveront le niveau de réparation d'origine. Mais si celles-ci continuent à être soumises aux facteurs toxiques, l'effet cumulatif dû à la rémanence maternelle aboutira à augmenter encore, de façon progressive, l'efficacité de réparation. Cet effet sera toujours réversible à partir du moment où les femelles retrouveront un environnement non agressif.

La seconde fonction évoquée plus haut, la protection des descendants contre des facteurs du milieu, suppose que le VAMOS s'exprime aussi dans les tissus somatiques. Dans ce cas, ce que nous venons de décrire pour la lignée germinale serait valable également pour le soma. L'intérêt adaptatif du système prendrait alors une nouvelle dimension car il assurerait une meilleure protection des individus de la descendance, *in toto*, et pas seulement de leur lignée germinale.

Enfin, une autre question mérite d'être posée. La rémanence maternelle est-elle spécifique du VAMOS, parce que particulièrement approprié à des fonctions d'adaptation au milieu, ou s'agit-il d'un phénomène plus général? Actuellement, cette possibilité est généralement ignorée, au moins pour ce qui concerne les fonctions biologiques fondamentales. Qu'il s'agisse par exemple des recherches sur des mutants de méiose et de réparation, ou sur des gènes impliqués dans le développement, les

seules possibilités envisagées sont: leur expression est-elle exclusivement zygotique ou manifestent-ils un effet maternel? Les protocoles expérimentaux comme les interprétations des données ne prennent jamais en compte la possibilité d'une influence maternelle pouvant franchir plusieurs générations. Lorsqu'elle a été mise en évidence, comme dans le cas de la longévité, elle a été considérée soit comme un artefact expérimental, soit, au mieux, comme une curiosité biologique.

### **Le VAMOS et la souplesse adaptative**

Ce que nous savons du déterminisme des niveaux de réactivité dans le système I-R implique que la variabilité interindividuelle des niveaux d'expression du VAMOS doit être très grande dans les populations naturelles, même en conditions optimales. Cela en raison du polymorphisme des déterminants chromosomiques, d'une part, de la variabilité propre à la composante maternelle d'autre part, enfin des fluctuations dues aux différences d'âge des femelles.

Les capacités de réparation ovocytaire et de recombinaison méiotique sont donc certainement très variables au sein d'une population. Cette variabilité peut être encore accrue s'il y a induction du VAMOS par des facteurs liés à l'environnement. En d'autres termes, les mécanismes contrôlant les variations des génomes sont eux-mêmes soumis à une grande variabilité dans leur efficacité. Il en résulte que, dans toute population, doivent coexister en permanence des individus qui maintiennent une bonne stabilité génétique dans leurs gamètes et d'autres qui engendrent une variabilité plus ou moins importante. Dans cet ordre d'idées, il sera important de confirmer si, au-delà d'un certain niveau d'expression de ce système, et en présence de nombreuses cassures, il y a effectivement apparition de réparations erronées comme nous avons des raisons de le supposer [19, 20]. Cela pourrait signifier que, dans certaines situations de *stress*, la production de variabilité génétique pourrait être fortement accrue. Une telle situation aboutirait bien sûr à augmenter tempo-

rairement le fardeau génétique de la population, mais pourrait faciliter l'adaptation en conditions particulièrement difficiles.

Cette situation est susceptible de conférer une remarquable souplesse adaptative. Une population disposant toujours à la fois d'un certain potentiel de stabilité et d'un certain potentiel de variabilité sur lesquels la sélection naturelle pourra jouer en fonction des conditions de milieu. On ne peut manquer de faire un parallèle avec les situations maintenant connues chez les bactéries: d'une part, la présence dans toute population de mutateurs à faible fréquence [27, 28], d'autre part, l'hyper-mutagenèse transitoire qui se déclenche dans une fraction de la population en condition de carence [3]. Dans les deux cas, une partie de la population maintient une certaine stabilité génétique et une autre engendre de la variabilité. On peut imaginer que ce type de stratégie, qui consiste à maintenir deux fers au feu, soit très efficace sur le plan adaptatif.

### **Conclusions**

Notre méthode d'approche a permis de dessiner les contours d'un système de régulation de la variation génomique, sans exemple jusqu'ici, chez les organismes pluricellulaires. Certaines de ses propriétés essentielles n'auraient pu être révélées par les méthodes courantes d'identification et de clonage de gènes impliqués dans la réparation, la recombinaison ou la longévité. Mais les questions qui restent posées sont nombreuses. Il faut maintenant pouvoir disposer de marqueurs moléculaires pour être en mesure d'aborder tous les aspects de ce phénomène, depuis le mécanisme intime de la rémanence maternelle, jusqu'à la dynamique des populations. L'existence de nombreux gènes de réparation ou de réponse aux *stress*, clonés ces dernières années chez *D. melanogaster*, est de nature à faciliter les choses.

La drosophile continue d'être l'organisme de prédilection pour comprendre toutes les subtilités du matériel génétique des métazoaires. Outre ses facilités d'élevage, sa durée de vie

relativement courte et sa vitesse de reproduction, elle a l'avantage de permettre des approches expérimentales à tous les niveaux d'organisation, depuis les mécanismes moléculaires jusqu'à la dynamique des populations. Elle reste donc un modèle irremplaçable pour l'analyse de phénomènes tels que celui que nous venons de décrire.

Il est compréhensible que jusqu'aux années 1980, des phénomènes comme la rémanence maternelle et l'effet héritable de l'âge aient été délibérément laissés à l'écart. A l'heure actuelle, où les méthodes d'approche moléculaires sont de plus

en plus diversifiées et performantes, une telle attitude n'est plus justifiée et pourrait conduire à oblitérer, pour longtemps, des processus biologiques essentiels ■

## RÉFÉRENCES

1. Taddei F, Matic I, Radman M. Mutagenèse et adaptation. *Med Sci* 1997; 13: I-V.
2. Shapiro JA. Genome organization, natural genetic engineering and adaptive mutation. *Trends Genet* 1997; 13: 98-104.
3. Torkelson J, Harris RS, Lombardo MJ, et al. Genome-wide hypermutation in a subpopulation of stationary-phase cells underlies recombination-dependent adaptive mutation. *EMBO J* 1997; 16: 3303-11.
4. Rosenberg SM. Mutation for survival. *Curr Opin Genet Dev* 1997; 7: 829-34.
5. Scheneberger RG, Cullis CA. Specific DNA alterations associated with the environmental induction of heritable changes in flax. *Genetics* 1997; 128: 619-30.
6. McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge. *Science* 1984; 226: 792-807.
7. Wessler SR. Plant retrotransposons: turned on by stress. *Curr Biol* 1996; 6: 959-61.
8. Bregliano JC, Kidwell MG. Hybrid dysgenesis determinants. In: Shapiro J, ed. *Mobile genetic elements*. New York: Academic Press, 1983: 363-410.
9. Devoret R. Mécanismes de la mutagenèse SOS chez les bactéries. *Med Sci* 1993; 9(n° 3): I-VII.
10. Harris RS, Feng G, Ross KJ, et al. Mismatch repair protein Mut L becomes limiting during stationary phase mutation. *Genes Dev* 1997; 11: 2426-37.
11. Bucheton A, Paro R, Sang HM, Pelisson A, Finnegan DJ. The molecular basis of I-R hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: identification, cloning and properties of the I factor. *Cell* 1984; 38: 153-63.
12. Crozatier M, Vaury C, Busseau I, Pelisson A, Bucheton A. Structure and genomic organization of I elements involved in I-R hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 9199-213.
13. Busseau I, Chaboissier MC, Pélisson A, Bucheton A. I factor in *Drosophila melanogaster*. *Genetica* 1994; 93: 101-16.
14. Pascual L, Periquet G. Distribution of *Hobo* transposable elements in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Mol Biol Evol* 1991; 8: 282-96.
15. Engels WR. Invasions of P elements. *Genetics* 1997; 145: 11-5.
16. Bucheton A, Picard G. Non-mendelian female sterility in *Drosophila melanogaster*:

hereditary transmission of reactivity levels. *Heredity* 1978; 40: 207-23.

17. Bucheton A. Non-mendelian female sterility in *Drosophila melanogaster*, influence of ageing and thermic treatment. III. Cumulative effects induced by these factors. *Genetics* 1979; 93: 131-42.

18. Bregliano JC, Laurençon A, Degroote F. Evidence for an inducible repair-recombination system in the female germ line of *Drosophila melanogaster*. I. Induction by inhibitors of nucleotide synthesis and by gamma rays. *Genetics* 1995; 141: 571-8.

19. Laurençon A, Gay F, Ducau J, Bregliano JC. Evidence for an inducible repair-recombination system in the female germ line of *Drosophila melanogaster*. III. Correlation between reactivity levels, crossover frequency and repair efficiency. *Genetics* 1997; 146: 1333-44.

20. Laurençon A, Bregliano JC. Evidence for an inducible repair-recombination system in the female germ line of *Drosophila melanogaster*. II. Differential sensitivity to gamma rays. *Genetics* 1995; 141: 579-85.

21. Säll T, Nilsson NO, Bengtsson BO. When everyone's map is different. *Curr Biol* 1993; 3: 631-3.

22. Lansing AI. A transmissible, cumulative and reversible factor in aging. *J Gerontol* 1947; 2: 228-39.

23. Lints FA, Hoste C. The Lansing effect revisited. I. Life span. *Exp Gerontol* 1974; 9: 51-69.

24. Finch CE. Developmental influences on life span and senescence. In: Finch CE, ed. *Longevity, senescence and the genome*. Chicago: the university of Chicago Press, 1990: 464-96.

25. Jalavisto E. The influence of parental age on the expectation of life. *Rev Med Liège* 1950; 719-22.

26. Bernstein C, Bernstein H. Accumulation of DNA damages in somatic cells. In: Bernstein C, Bernstein H, eds. *Aging, sex and DNA repair*. San Diego: Academic Press, 1991: 37-65.

27. Taddei F, Radman M, Maynard-Smith J, et al. Role of mutator alleles in adaptive evolution. *Nature* 1997; 387: 700-2.

28. Matic I, Taddei F, Radman M. Vers une génétique moléculaire de l'évolution des espèces. *Med Sci* 1996; 12: 891-8.

### Anne Laurençon

Docteur en biologie, postdoctorante à l'université Davis (Californie, États-Unis).

### Christophe de La Roche Saint-André

Docteur en biologie, chargé de recherche au Cnrs.

### Judith Ducau

Doctorante.

### Françoise Gay

Technicienne au Cnrs.

### Yannick Azou

Docteur en biologie, maître de conférences à l'université de la Méditerranée.

### Jean-Claude Bregliano

Docteur en biologie, professeur de génétique à l'université de la Méditerranée. Laboratoire de génétique et physiologie du développement, Institut de biologie du développement de Marseille, Cnrs/Inserm/Université de la Méditerranée, 13288 Marseille Cedex 9, France.

## TIRÉS À PART

J.C. Bregliano.

## INFORMATIONS SFG

## Summary

**The regulation of genetic changes: we can learn a lot from *Drosophila***

Two decades ago, in *Drosophila*, a peculiar cellular state with unusual hereditary properties has been shown to regulate the frequency of transposition of a LINE-like retrotransposon, called I factor. This condition takes place in oocytes of reactive stocks, which are permissive for I factor transposition. Among reactive strains, there is a wide range of capacities to mobilize I factors, called reactivity levels. Genetic studies show a complex heredity due to a mix of chromosomal and maternal inheritance. These levels undergo heritable, cumulative and reversible changes upon the effect of ageing and of some environmental factors. Reactivity level of females decreases as they get older; this decrease is transmitted to their daughters and can be cumulated over generations. This effect is always reversible if young mothers are used again to recover progeny. The recent work reviewed in this article shows that reactivity levels are enhanced by genotoxic agents, with cumulative and reversible pattern, and are tightly related to repair-recombination efficiencies in oocytes. Gametes from weakly reactive females exhibit more chromosome losses after irradiation than gametes from strong reactive mothers. Conversely, the latter exhibit a higher frequency of recessive lethal mutations. Recombination frequency is also correlated with reactivity levels although in a more complex way. Life-span of progenies undergo changes which closely parallel those of reactivity level, including cumulative and reversible effect. These data lead us to postulate the existence of a repair-recombination system which activity depends on maternal age and is modulated by environmental conditions. This system has been denoted VAMOS for variability modulation system. Some potential implications, especially for adaptation and longevity are discussed.

## Colloque Société Française de Génétique – Inra Centre de Toulouse

**GÉNOMIQUE COMPARATIVE  
Caractérisation et Valorisation  
des Homologies entre Génomes**

**Jeu­di 22 – Ven­dredi 23 avril 1999  
Amphithéâtre de la nouvelle École  
Nationale Supérieure d'Agro­nomie  
de Toulouse (ENSAT)**

Le développement des cartes génétiques chez les mammifères comme chez les plantes, et le séquençage complet de génomes modèles (Levure, *B. subtilis*) et d'un nombre relativement croissant de génomes bactériens, ont confirmé, ou révélé, une très profonde unité du vivant, à différentes échelles (séquences, synténies) et aussi bien au niveau fonctionnel que structurel.

L'objectif du colloque est de faire une mise au point, évidemment succincte, sur les similarités aujourd'hui avérées entre génomes et sur les limites. Il est aussi d'illustrer la puissance de cette approche pour acquérir rapidement des connaissances nouvelles chez les espèces peu étudiées en se référant aux données réunies pour des génomes modèles ou des génomes de référence.

L'objectif sera aussi de tenter de montrer comment la disponibilité de données gé-

nomiques et le développement des technologies correspondantes permettent – et donc imposent – un renouvellement des approches dans tous les domaines de la génétique, de la microbiologie à la sélection animale en passant par la thérapie génique, et doivent susciter une réflexion éthique parallèle.

Quatre sessions sont prévues :

- Structures comparées des génomes des levures.
- Comparaison de génomes entiers de bactéries.
- Cartographie comparée des génomes des mammifères domestiques.
- Cartographie comparative des graminées.

Pour tout renseignement concernant le paiement des droits d'inscription, l'accès à l'amphithéâtre ENSAT, la liste des hôtels, merci de vous adresser, à partir de décembre 1998,

à Mme Marie-Jo ALLEN, Laboratoire de Génétique  
Inra-Toulouse, B.P.27 – 31326 Castanet-Tolosan Cedex  
Tél. : 05 61 28 51 16  
Fax : 05 61 28 53 08  
E-mail : allen@toulouse.inra.fr

## ImMunoGeneTics Database IMGT NEWS – Août 1998

**« Charte Scientifique - Répertoire IMGT  
Nouvelle Interface »**

IMGT, the international ImMunoGeneTics data base annonce :

- la charte scientifique IMGT : une description standardisée des règles IMGT en vue d'obtenir des données de très grande qualité scientifique (numérotation unique, nomenclature de noms de gènes, régions FR-IMGT et CDR-IMGT...);
- le Répertoire IMGT : des données expertisées sur les gènes des immunoglobulines et récepteurs T (représentations en « colliers de perles », alignements et tables d'allèles, présentation des séquences protéiques...);
- une nouvelle interface et huit choix pour accéder aux résultats (annotations IMGT, fichiers à plat, régions codantes avec traduction protéique, références externes...).

Également :

- la table des gènes germline IGKV de spiro (*Mus musculus*)
- les séquences de référence IMGT en format FASTA, accessibles dans le répertoire IMGT ou à partir de la page

IMGT/DNAPLOT pour être téléchargées. Toutes ces informations sont accessibles à IMGT : <http://imgt.cnusc.fr:8104>

« Flash » sur IMGT

> 27 000 séquences d'Ig et de TcR de 81 espèces

> 26 000 sites connectés depuis le 1<sup>er</sup> janvier 96

> 4 000 requêtes par semaines

Initiateur et coordinateur de IMGT :

Professeur Marie-Paule Lefranc  
Laboratoire d'ImmunoGénétique Moléculaire, LIGM

UPR Cnrs 1142, IGH, 141, rue de la Cardonille, 34396 Montpellier Cedex 5, France

Tél. +33(0)4 99 61 99 65

Fax : +33 (0)4 99 61 99 01

lefranc@ligm.igh.cnrs.fr

Références IMGT

Lefranc MP, *Immunology Today* 18: 509 (1997)

Lefranc MP, *Exp. Clin. Immunogenet* 15: 1-7 (1998)

Pallarès N, *et al. Exp Clin Immunogenet* 15: 8-18 (1998)

Lefranc MP *et al. Nucleic Acids Research*, 26: 297-303 (1998)