

les chromosomes. De manière remarquable, il est possible d'imiter un fuseau mitotique végétal, en ajoutant une protéine appelée p50 à l'extrait de xénope, ce qui empêche la dynéine d'organiser les pôles du fuseau (Figure 2C). Dans ces conditions, la longueur d'une barre de chromatine n'est plus un facteur limitant ! Même sur des barres de chromatine de plus de 100 µm, les microtubules s'organisent de manière parfaitement symétrique. Même si le seuil sur la largeur existe toujours, cela montre que, toutes choses égales par ailleurs, un fuseau sans pôle a une capacité supérieure à celle d'un fuseau avec pôles. Cela peut être avantageux, et effectivement, cette stratégie a prévalu pour les plantes à graines au cours de l'évolution. Ces plantes ont perdu à la fois centrosomes [8] et dynéine [9], qui sont nécessaires aux deux mécanismes connus de formation des pôles. Leurs fuseaux sans pôle peuvent accommoder des génomes énormes. Certaines plantes contiennent jusqu'à 260 pg d'ADN par noyau, soit une charge à ségréger 40 fois plus importante que celle d'une cellule de xénope ou d'Homme.

### Et maintenant le fuseau en équation...

En conclusion, à géométrie égale, la variation de la masse de chromatine influence peu la longueur du fuseau. Par contre, la modification de la géométrie a un effet linéaire sur la longueur des fuseaux, quand elle ne détruit pas purement et simplement la symétrie du fuseau. Pour finir, la méthode développée présente deux autres avancées techniques majeures qui sont d'une part la possibilité de filmer la dynamique de formation des fuseaux mitotiques *in vitro*, et d'autre part l'obtention d'un très grand nombre de structures à chaque expérience. Ce seront des avantages décisifs dans la phase de recherche qui s'ouvre maintenant, dont le but est de décrire quantitativement l'assemblage du fuseau mitotique à l'aide d'un modèle mathématique. ♦

### Mitotic spindle assembly depends on chromatin geometry

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions Stéphanie Blandin, Ludovic Brun et Laure Plantard pour leur relecture du document. Le laboratoire de F. Nedelec à l'EMBL

est financé par BioMS ([www.bioms.de](http://www.bioms.de)), par la fondation Volkswagen et par le programme Human Frontier Science, contrat RGY84.

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Castro A, Vigneron S, Lorca T, Labbé JC. La mitose sous surveillance. *Med Sci (Paris)* 2003 ; 19 : 309-17.
2. Terret ME, Wassmann K. Le point faible méiotique : la première division. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 197-203.
3. Heald R, Tournebise R, Blank T, et al. Self-organization of microtubules into bipolar spindles around artificial chromosomes in *Xenopus* egg extracts. *Nature* 1996 ; 382 : 420-5.
4. Athale CA, Dinarina A, Mora-Coral M., et al. Regulation of microtubule dynamics by reaction cascades around chromosomes. *Science* 2008 ; 322 : 1243-7.
5. Dinarina A, Pugieux C, Mora Corral M, et al. Chromatin shapes the mitotic spindle. *Cell* 2009 ; 138 : 502-13.
6. Thiébaud CH, Fischberg M. DNA content in the genus *Xenopus*. *Chromosoma* 1977 ; 59 : 253-7.
7. Gatlin JC, Matov A, Groen AC, et al. Spindle fusion requires Dynein-mediated sliding of oppositely oriented microtubules. *Curr Biol* 2009 ; 19 : 287-96.
8. Bornens M, Azimzadeh J. Origin and evolution of the centrosome. *Adv Exp Med Biol* 2007 ; 607 : 119-29.
9. Wickstead B, Gull K. Dyneins across eukaryotes: a comparative genomic analysis. *Traffic* 2007 ; 8 : 1708-21.

## NOUVELLE

## Évolution comme par MAGiE

Sophia Häfner

École Normale Supérieure  
[sophia.hafner@magbio.ens.fr](mailto:sophia.hafner@magbio.ens.fr)

► Pour persuader des microbes de produire pour nous diverses « substances » d'utilité pharmaceutique, biocarburants ou composants chimiques en quantité intéressante, l'évolution a besoin d'un petit coup de main. Or, si les technologies de lecture du génome ont fait des progrès considérables grâce au séquençage automatique à fluorescence, les méthodes d'écriture par modification ciblée de gènes sont encore archaïques en comparaison, car consistant en un processus de copier-coller gène par gène, pénible

et coûteux en temps. Sachant que la plupart de ces « substances » requièrent pour leur production la synergie d'un réseau constitué de plusieurs douzaines de gènes et que les mutations de différents gènes d'un même réseau peuvent s'influencer mutuellement, produire une réelle diversité génomique et de nouveaux phénotypes relevait quasiment de l'impossible. Jusqu'à ce que Harris Wang et l'équipe de George Church de l'université de Harvard s'y collent et nous proposent le prototype de la machine à

accélérer l'évolution, le MAGiE pour *multiple automated genome engineering*, récemment publié dans *Nature* [1]. Au ralenti, le procédé n'a rien d'original - des bactéries *E. coli* transformées par le bactériophage λ-Red afin d'exprimer la protéine de la recombinaison homologue β, sont électroporées avec un mélange d'oligonucléotides synthétiques simple-brin dirigés contre les gènes d'intérêt et comportant diverses mutations aléatoires (insertions, délétions, mésappariements). La protéine X



permettra alors l'incorporation de ces oligonucléotides mutants au moment de la réplication de l'ADN en ciblant le brin néosynthétisé.

La (r)évolution consiste d'une part à cibler plusieurs gènes à la fois, d'autre part à automatiser le processus : une machine programmable gère le transfert des cellules entre incubateur, activation thermique de la protéine  $\beta$ , lavages, électroporation avec le mélange d'oligonucléotides et remise en culture, et surveille la croissance de la population (95 % des bactéries n'ont pas survécu au choc de l'électroporation) par spectrométrie. Chaque cycle dure en moyenne deux heures à deux heures et demie, et à chaque nouvelle électroporation, chaque cellule incorpore une combinaison différente de mutations, générant ainsi rapidement une diversité de combinaisons génétiques extraordinaire : une variation de 3,1 paires de bases par cellule tous les 5 cycles pour une population de  $7 \times 10^8$  cellules, cela équivaut à 4,3 milliards de variations de paires de bases par jour, un résultat qui aurait pris des années avec les bonnes vieilles méthodes. Pour illustrer leur démonstration, les auteurs se sont attaqués à 20 gènes impliqués dans la voie de biosynthèse 1-dioxy-D-xylulose-5-phosphate (DXP) du lycopène, un isoprénolide antioxydant abondant dans les tomates et utilisé dans le traitement du cancer et du paludisme.

Chez les procaryotes, les ribosomes sont recrutés sur l'ARNm par une séquence consensus très conservée nommée Shine-Dalgarno (AGGAGG) située seize bases en amont du codon *start*. Non indispensable au recrutement des ribosomes chez les bactéries Gram négatives (dont *E. coli*) où les ribosomes se fixent sur des sites



riches en bases A et U, la boîte Shine-Dalgarno semble toutefois faciliter la traduction en alignant le ribosome avec le codon *start*.

En remplaçant les séquences de liaison aux ribosomes (RBS, *ribosome binding site*) de différentes combinaisons de gènes de la voie DXP par des oligonucléotides plus similaires à la séquence consensus de Shine-Dalgarno et en insérant des mutations non-sens dans les gènes des voies secondaires, 15 milliards de variants génétiques ont été produits en trois jours seulement et examinés pour leur production de lycopène. Au

final, six souches capables de produire jusqu'à cinq fois plus de lycopène que la souche initiale ont été sélectionnées et séquencées, mettant en évidence des modifications surtout dans les gènes situés au début et à la fin de la voie de biosynthèse.

En somme, il s'agit d'un processus de génération rapide, automatique et peu coûteux d'un grand nombre de modifications génétiques qui a vite intéressé les grandes industries biochimiques et les producteurs de carburants biologiques qui espèrent la production de lignées utilisables à un niveau industriel tandis que les auteurs songent déjà à transposer la méthode aux levures et aux cellules animales ou végétales.

Plus rien ne semble empêcher la naissance sur la plate-forme de l'évolution accélérée de petits monstres de Frankenstein cellulaires au génome totalement rapiécé, résistants aux virus ou capables d'incorporer des acides aminés non naturels. Pourvu qu'ils ne se retournent pas contre leurs créateurs... ♦

### Magic evolution

#### CONFLIT D'INTÉRÊTS

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCE

1. Wang HH, Isaacs FJ, Carr PA, et al. Programming cells by multiplex genome engineering and accelerate evolution. *Nature* 2009 ; 460 : 894-8.



Tarifs d'abonnement M/S - 2010

**Abonnez-vous**

**à Médecine/Sciences**

> Grâce à *m/s*, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement  
page 152 dans ce numéro de *m/s*

