

# GENETIQUE DE LA CELLULE BACTERIENNE

par

FRANÇOIS JACOB

Laboratoire de Génétique cellulaire du Collège de France et Service de Génétique microbienne de l'Institut Pasteur, Paris

Conférence Nobel faite le 11 décembre 1965

Si je me trouve ici aujourd'hui, associé à André Lwoff et à Jacques Monod dans ce très grand honneur qui nous est fait, c'est bien parce qu'en 1950, lorsque j'ai débuté dans la recherche, j'ai eu la fortune d'arriver au bon endroit et au bon moment. Au bon endroit parce que là, dans les combles de l'Institut Pasteur, surgissait une discipline nouvelle dans une atmosphère faite d'enthousiasme, de critique lucide, de non conformisme et d'amitié. Au bon moment, parce qu'alors la biologie, en pleine effervescence, changeait ses modes de pensée, découvrait dans les microorganismes un matériel neuf et simple, se rapprochait de la physique et de la chimie. Rare instant où l'ignorance peut devenir vertu.

## LYSOGÉNIE ET CONJUGAISON BACTÉRIENNE

Le laboratoire d'André Lwoff était traversé par un long couloir où tous se rencontraient pour discuter sans fin expériences et hypothèses. A un bout du couloir l'équipe de Jacques Monod ajoutait des  $\beta$ -galactosides aux cultures de bactéries afin de déclencher la biosynthèse de la  $\beta$ -galactosidase; à l'autre bout, André Lwoff et ses collaborateurs déversaient des rayons ultraviolets sur des cultures de bactéries lysogènes car ils venaient de trouver le moyen de déclencher ainsi la biosynthèse du bactériophage. Chacun « induisait » donc à sa façon, convaincu que les deux phénomènes n'avaient rien en commun, sinon un mot.

Venu faire une thèse de doctorat chez André Lwoff, je reçus mission d'étudier la lysogénie chez *Pseudomonas pyocyanea*. Je me mis donc à irradier consciencieusement cet organisme. Mais il apparut très rapidement que le problème de la lysogénie devenait celui des relations entre bactérie et bactériophage; c'est dire qu'il constituait essentiellement un problème de génétique.

A cette époque, la génétique des microbes venait de naître quelque dix ans plus tôt avec le mémoire de Luria et Delbrück (1). Elle poursuivait sa croissance avec les travaux de Lederberg et Tatum (2), de Delbrück et Bailey (3) et de Hershey (4). Mais déjà cette jeune science était la source de nombreuses surprises pour les biologistes. La plus importante de ces surprises, ce fut l'accès offert à la chimie du gène grâce à la démonstration, par Avery, McLeod et Mc Carthy (5), puis plus tard par Hershey et Chase (6), que la spécificité génétique est portée par le DNA. Pour la première fois, il devenait possible de donner un contenu chimique et physique aux vieux concepts biologiques

d'hérédité, de variation et d'évolution. Cette interprétation moléculaire des phénomènes génétiques, c'est très précisément ce qu'a apporté la structure du DNA proposée par Watson et Crick (7).

Une autre surprise fut de constater que, par leur vitesse de croissance, par la souplesse de leur adaptation aux milieux les plus divers, par la variété de leurs mécanismes assurant le transfert de matériel génétique, les bactéries et les virus se prêtent tout particulièrement à l'étude de la cellule, de son fonctionnement, de sa reproduction. Depuis les travaux de Beadle et Tatum (8), de Lederberg (9), de Benzer (10), on sait, en effet, qu'avec un peu d'imagination, on peut exercer sur une population de microorganismes une pression sélective suffisante pour isoler, presque à volonté, des individus chez lesquels une fonction choisie est détériorée par mutation. Et l'une des méthodes les plus efficaces pour reconnaître les mécanismes normaux de la cellule consiste précisément à déceler les anomalies chez de tels monstres bien choisis.

Les premières tentatives d'analyse génétique de la lysogénie, destinées à déterminer la position du prophage dans la cellule bactérienne furent effectuées en 1952 par E. et J. Lederberg (11) et par Wollman (12). D'emblée, certains croisements entre bactéries lysogènes et non lysogènes indiquèrent l'existence d'une liaison entre le caractère lysogène, déterminé par le prophage  $\lambda$  d'*E.coli*, et d'autres caractères gouvernés par des gènes bactériens. Dans d'autres croisements, au contraire, apparaissaient certaines anomalies. De fait, la réponse apportée par ces expériences ne pouvait être décisive, le mécanisme de la conjugaison n'étant pas encore compris.

C'est avec l'idée de poursuivre cette étude dans des conditions quelque peu différentes, que je commençai à travailler avec Elie Wollman et très vite notre collaboration devint particulièrement étroite et amicale. Nous voulions d'abord comprendre les anomalies observées dans les croisements entre bactéries lysogènes et non lysogènes, et notamment le fait que le caractère lysogène n'était transmis aux recombinants que lorsqu'il provenait de la femelle. Pour étudier ce problème, nous utilisâmes un mutant mâle, récemment isolé par Williams Hayes et désigné sous le nom de *Hfr*, parce que, mélangé à une population de femelles, ces bactéries avaient le pouvoir de produire des recombinants à haute fréquence (13). En croisant de tels mâles *Hfr* lysogènes avec des femelles non lysogènes, nous eûmes la surprise de constater que les zygotes formés par plus de la moitié des mâles se lysaient en produisant du phage (14). Ce phénomène, désigné sous le nom d'*induction zygotique*, montrait que l'équilibre entre le prophage et la bactérie est maintenu par quelque système régulateur présent dans le cytoplasme d'une bactérie lysogène mais absent d'une bactérie non lysogène. Il montrait en outre qu'un caractère génétique transféré par le mâle peut s'exprimer dans le zygote, en dehors de toute intégration par recombinaison génétique avec un chromosome de la femelle. Il devenait ainsi possible de distinguer par l'expérience, au cours de la conjugaison, le transfert du matériel génétique et la recombinaison.

Pour analyser la conjugaison, non plus au niveau de grandes populations, mais à celui du couple bactérien même, il importait de comprendre dans quelles conditions le matériel génétique du mâle est transféré à la femelle. On

pouvait notamment tenter d'interrompre la conjugaison après des temps variables et de rechercher quand s'effectue le transfert. Pour cela, Elie Wollman eut l'idée quelque peu surprenante d'interrompre la conjugaison en prélevant les couples formés par un mélange de bactéries mâles et femelles pour les placer dans l'un de ces agitateurs qu'on utilise généralement à la cuisine. Il se trouva que, dans ces conditions, les forces de friction qui se forment dans l'appareil séparent le mâle de la femelle; le chromosome du mâle est coupé au cours de sa migration; mais le fragment qui a déjà pénétré dans la femelle y peut exprimer ses potentialités et s'y recombinaison. On parvient ainsi à montrer qu'au cours de la conjugaison, le mâle s'apparie à la femelle puis lui injecte lentement un chromosome, selon un horaire rigoureux et, pour une souche mâle donnée, en commençant toujours par le même point (15). Heureux organisme chez qui l'accouplement peut durer jusqu'à trois fois plus longtemps que la vie moyenne d'un individu!

Avec un tel système, il devenait relativement aisé d'analyser la constitution génétique d'*E.coli*, de disposer l'ensemble des caractères bactériens sur un seul groupe de liaison appelé le chromosome bactérien, et d'en établir la carte, non plus seulement par les méthodes classiques de la génétique, mais encore par des mesures physiques et chimiques. De cette étude émergent, en outre, deux notions nouvelles. Tout d'abord, le chromosome bactérien se comportait comme une structure fermée, ou circulaire. Ensuite, il ne constituait pas une unité aussi intangible qu'on avait pu le croire, en ce sens que d'autres éléments génétiques, qui furent désignés par le terme d'*épisomes*, comme le chromosome d'un phage ou le facteur sexuel par exemple, pouvaient y être ajoutés ou en être retranchés (16). Ces propriétés mêmes devaient se révéler précieuses pour l'étude de la cellule bactérienne et de son fonctionnement.

#### EXPRESSION DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE : LE MESSAGER

Outre son intérêt dans l'analyse des phénomènes génétiques proprement dits, la conjugaison des bactéries se trouva être particulièrement bien adaptée à l'analyse des fonctions cellulaires puisqu'elle donnait le moyen de transférer, à l'ensemble d'une population, un gène choisi, au moment voulu. Les effets qu'entraîne sur le phénotype de la bactérie réceptrice l'irruption d'un gène nouveau peuvent alors se manifester sans les complications que représentent la morphogenèse ou la différenciation cellulaire existant chez les organismes supérieurs.

De son côté, Jacques Monod était parvenu à la conclusion que les progrès dans l'étude de l'induction enzymatique exigeaient une analyse génétique. On connaissait alors deux types de mutations altérant la biosynthèse induite de la  $\beta$ -galactosidase. L'une abolissait le pouvoir de produire une protéine active. L'autre changeait le caractère inductible de la synthèse qui devenait constitutive, c'est-à-dire s'effectuait même en absence de  $\beta$ -galactosides inducteurs. Comment s'expriment ces gènes? Quelle est la relation entre les déterminants génétiques révélés par ces mutations? A quoi correspondent les caractères « inductible » ou « constitutif »? Nombre de ces questions devenaient abordables grâce à la conjugaison bactérienne. En utilisant des bactéries mâles et

femelles de génotypes convenables, on pouvait en effet transférer dans une bactérie l'allèle choisi d'un gène donné, puis étudier les conditions dans lesquelles se synthétisait l'enzyme chez les zygotes ainsi formés.

De telles expériences furent conduites en collaboration avec Arthur Pardee venu passer un an à l'Institut Pasteur (17). Elles apportèrent deux notions nouvelles. La première avait trait au mécanisme même de l'induction. Si l'on transférait à une bactérie constitutive le déterminant génétique gouvernant l'inductibilité de l'enzyme par les  $\beta$ -galactosides, on réalisait des diploïdes hétérozygotes transitoires pour les caractères « inductible/constitutif ». Bien évidemment, le phénotype que l'on trouverait alors à de tels zygotes devrait permettre un choix parmi les différentes hypothèses que l'on pouvait alors formuler sur l'induction. Il se trouva que, d'une part, l'allèle « inductible » s'exprime indépendamment du gène commandant la synthèse de l'enzyme et que, d'autre part, il est dominant sur l'allèle « constitutif ». Ce résultat démontrait l'existence d'un gène particulier qui gouverne le système d'induction parce qu'il forme un produit cytoplasmique inhibant la synthèse de l'enzyme en l'absence d'inducteur. Comme nous le verrons plus loin, ceci transformait les conceptions mêmes que l'on se formait alors sur le mécanisme de l'induction et donnait accès à l'analyse génétique des mécanismes réglant le taux des synthèses protéiques.

La seconde observation concernait le fonctionnement du matériel génétique. En transférant le gène gouvernant la structure d'une protéine à une bactérie qui en est dépourvue, on pouvait étudier les conditions dans lesquelles s'exprime le gène dans les zygotes. Là encore, différentes prédictions pouvaient être formulées suivant la nature des mécanismes assurant les transferts d'information dans la formation des protéines. De l'étude cinétique de la synthèse, on devait notamment attendre des renseignements portant sur le produit primaire du gène, les délais requis pour sa synthèse, les modalités de son fonctionnement. Or il apparut que, dès son transfert dans une bactérie, et avant même toute recombinaison génétique, le gène gouvernant la structure d'une protéine se met à fonctionner sans délai, produisant d'emblée la protéine au taux maximum.

C'était là une observation qui ne laissait pas de surprendre car elle s'accordait mal aux idées que l'on se formait alors sur ce genre de synthèse. Selon la conception généralement admise, l'expression d'un gène devait consister en l'accumulation, dans le cytoplasme, de structures stables, très vraisemblablement le RNA des ribosomes, qui jouaient le rôle de matrices spécifiant la structure des protéines (cf 18). Un tel schéma, qui peut se résumer par l'aphorisme « un gène — un ribosome — un enzyme », s'accommodait mal d'une synthèse protéique immédiate et maximum, c'est-à-dire sans accélération progressive.

Pour étudier plus avant ce problème, il fallait pouvoir retirer un gène d'une bactérie afin d'observer les conséquences de cette extraction sur la synthèse de la protéine correspondante : la présence de matrices stables devrait, en effet, laisser persister une synthèse résiduelle. Mais si la conjugaison rendait aisée l'injection d'un gène donné, il paraissait exclu de parvenir jamais à extraire

un gène donné d'une population bactérienne dans son ensemble. Ce qui, en revanche, semblait accessible, c'était de transférer un segment de chromosome possédant une teneur élevée en radiophosphore, puis de détruire le gène étudié, au moment choisi, grâce à la désintégration du phosphore. Cette expérience délicate fut menée à bien par Monica Riley dans le laboratoire d'Arthur Pardee : elle démontra, sans ambiguïté, que le pouvoir de produire la protéine ne survit pas à la destruction du gène (19).

La réponse était claire : le gène ne peut pas s'exprimer en formant des matrices stables. Et notre conviction fut encore renforcée, vers la même époque, par l'étude génétique et cinétique de l'induction. Celle-ci se trouvait opérer de façon quasi instantanée et agir sur des structures qui spécifiaient souvent plusieurs, et non pas une seule, protéines. Résultat lui aussi en contradiction avec les théories en cours car il s'accordait mal à l'homogénéité trouvée aux ribosomes.

Ainsi, ni par leur stabilité, ni par leur homogénéité, ni d'ailleurs par leur composition en bases, les deux espèces connues de RNA ne remplissaient les conditions exigées des matrices cytoplasmiques. Comme l'idée que la synthèse des protéines pourrait s'effectuer directement sur le DNA était incompatible avec la localisation cytoplasmique des ribosomes et leur rôle dans ces synthèses, il ne restait qu'une hypothèse possible : il fallait imaginer l'existence d'une troisième espèce de RNA, le *messenger*, molécule à vie brève, chargée de transmettre au cytoplasme l'information génétique contenue dans les gènes (20). Selon cette hypothèse, les ribosomes, structures non spécifiques, jouaient le rôle de machine à traduire le langage nucléaire, apporté par le messenger, en langage peptidique, avec l'aide des RNA de transfert. En d'autres termes, la synthèse d'une protéine devait s'effectuer en deux étapes : la séquence désoxyribonucléique du DNA serait d'abord *transcrite* en messenger, le produit primaire du gène; puis celui-ci s'associerait aux ribosomes, leur apportant ainsi un « programme » spécifique et la séquence nucléaire du messenger serait alors *traduite* en séquence peptidique. Malgré les oppositions qu'elle suscita, cette hypothèse du messenger possédait pour nous deux vertus principales : d'une part, elle permettait d'unir nombre de faits connus mais restés jusque-là isolés ou inconciliables; d'autre part, elle comportait des prédictions expérimentales précises.

De fait, avant même d'apparaître dans un mémoire imprimé, l'hypothèse du messenger recevait deux confirmations expérimentales. D'une part, nous avions décidé, Sydney Brenner et moi, d'aller pendant le mois de juin 1960 rechercher le messenger en compagnie de M. Meselson dans le laboratoire de Max Delbrück, au California Institute of Technology. Le meilleur candidat au rôle de messenger nous semblait être le RNA mis en évidence par Hershey (21), puis par Volkin et Astrachan (22), chez les bactéries infectées par le phage T2. En quelques semaines, grâce à l'extraordinaire agilité intellectuelle et expérimentale de Sydney Brenner, il devint possible de montrer que le RNA formé par le phage s'associe à des ribosomes synthétisés entièrement *avant* l'infection, pour y produire les protéines du phage. Les mêmes ribosomes peuvent donc synthétiser les protéines, soit du phage, soit de la bactérie, suivant

le messenger qu'ils s'adjoignent. C'est donc le messenger qui apporte aux ribosomes un programme spécifique de synthèse (23).

A la même époque un autre membre de notre groupe de l'Institut Pasteur, François Gros, partait pour passer quelques mois à Harvard dans le laboratoire de J. D. Watson. Très rapidement ils parvinrent, avec leurs collaborateurs, à démontrer l'existence d'une fraction messenger dans le RNA de bactéries en voie de croissance et à en reconnaître les propriétés principales (24). Les péripéties qui ont permis de préciser la notion de messenger ont été décrites ici même par J. D. Watson (25).

#### L'ACTIVITÉ GÉNÉTIQUE ET SA RÉGULATION : L'OPÉRON

Si les expériences de transfert génétique par conjugaison avaient conduit à réviser les conceptions sur les mécanismes de transfert d'information intervenant au cours de la synthèse des protéines, elles avaient également livré accès à l'analyse de la régulation de ces synthèses.

Ce qui nous avait vivement frappé dans l'étude du phage chez les bactéries lysogènes et dans celle de l'induction enzymatique, c'était l'extraordinaire analogie entre les résultats obtenus avec ces deux systèmes. Malgré les différences notoires entre la production d'un virus et celle d'un enzyme, il ressortait à l'évidence que, dans les deux cas, la synthèse des protéines devait obéir à un double déterminisme génétique : d'une part, des *gènes de structure* spécifiaient la configuration des chaînes peptidiques; d'autre part, des *gènes régulateurs* commandaient l'expression de ces gènes de structure. Dans les deux cas, les propriétés des mutations démontraient qu'un gène régulateur a pour effet d'inhiber l'expression des gènes de structure et qu'il agit en formant un produit cytoplasmique qui fut désigné sous le nom de *répresseur*. Dans les deux cas, l'induction de la synthèse, celle du phage, comme celle de l'enzyme, semblaient résulter d'un processus similaire : l'inhibition de l'inhibiteur. Ainsi, à notre surprise, les deux phénomènes étudiés chacun à un bout du couloir, procédaient finalement d'un mécanisme fondamental commun. Il faut dire que cette analogie nous fut précieuse. En biologie, chaque matériel possède son génie propre et s'adapte plus particulièrement à une certaine forme d'expérience. La combinaison de deux matériels devait notablement accroître nos moyens d'analyse.

L'existence d'un inhibiteur spécifique, d'un répresseur, comportait un corollaire immédiat : il devait exister, dans le système formateur de protéine, un site sur lequel agissait le répresseur pour bloquer la synthèse. Le répresseur pouvait se comparer à un signal chimique dont le gène régulateur était l'émetteur. Au signal, il fallait un récepteur. Celui-ci devait être spécifique, donc génétiquement déterminé, donc accessible par mutation. De fait, dans un système assurant la biosynthèse induite d'un enzyme, toute mutation détériorant l'un des éléments du système émetteur-récepteur qui inhibe la synthèse devait se traduire par une production constitutive. Il semblait donc difficile de distinguer les mutations affectant l'émetteur de celles affectant le récepteur jusqu'au moment où nous en vîmes à réaliser que cette distinction devait être relativement aisée chez un diploïde. Et ceci peut s'illustrer à l'aide d'une

comparaison simple. Supposons, dans une maison, deux portes dont l'ouverture est gouvernée chacune par un petit poste récepteur radio. Supposons, en outre, qu'il existe, quelque part au voisinage, deux postes émetteurs envoyant chacun un même signal qui empêche l'ouverture des portes. Si l'un des émetteurs est détérioré, l'autre continuera néanmoins à envoyer des signaux et les portes resteront fermées : l'émetteur détérioré peut être considéré comme « récessif » par rapport au normal. En revanche, si l'un des récepteurs est détérioré, il ne recevra plus le signal inhibiteur et la porte qu'il commande, mais celle-là seule, s'ouvrira. Le récepteur abîmé est donc « dominant » sur le normal, mais la lésion ne se manifeste que sur la porte même qu'il gouverne : c'est un effet *cis* et non pas *trans* dans le langage des généticiens (cf 26).

Ainsi, en principe, il devait être possible, chez les bactéries diploïdes, de distinguer, parmi les mutations constitutives, celles dues au gène régulateur de celles dues au récepteur. De fait, chez le phage, avaient été isolées depuis longtemps déjà des mutations correspondant à l'un ou l'autre de ces deux types, mais leur rôle se précisait seulement à la lumière de ce schéma. L'existence de telles mutations chez le phage nous encouragea à rechercher des mutations similaires touchant les enzymes du système lactose. Mais pour cela, il nous fallait disposer de bactéries diploïdes. Si la conjugaison permettait de constituer des diploïdes transitoires, la production en était délicate et l'étude compliquée. En revanche, certaines observations qu'Edward Adelberg venait juste de faire conduisaient à penser que l'épisome sexuel *F*, qui préside à la conjugaison chez *E. coli*, pourrait bien, dans certaines conditions, prélever un petit fragment du chromosome bactérien puis se répliquer avec lui (27). En utilisant une série de souches où l'épisome sexuel s'était inséré en divers points du chromosome bactérien, nous réussîmes à isoler des épisomes qui avaient incorporé le fragment voisin du chromosome. Les bactéries hébergeant un tel épisome devenaient des diploïdes stables pour un petit segment génétique et l'on pouvait alors réaliser les combinaisons d'allèles les plus variées dans ce segment (28).

Ayant ainsi constitué l'outil génétique nécessaire à notre analyse, nous nous mîmes à isoler, dans des conditions diverses, toute une série de mutants constitutifs du système lactose afin de les soumettre à l'analyse fonctionnelle. Ces mutants se trouvèrent appartenir à deux groupes bien distincts, possédant les propriétés attendues, soit de l'émetteur, soit du récepteur.

Une importante fraction de ces mutations se trouva être « récessive » par rapport à l'allèle sauvage. Elles permettaient de définir l'émetteur, c'est-à-dire le gène régulateur. Certaines de ces mutations possèdent des propriétés caractéristiques conduisant à préciser indirectement le produit du gène régulateur, c'est-à-dire le répresseur (29). Elles sont discutées plus en détail dans la conférence de Monod.

Dans l'autre groupe, les mutations étaient au contraire « dominantes » sur l'allèle sauvage et la production constitutive n'affectait que l'expression des gènes situés sur le même chromosome, c'est-à-dire en position *cis*. Ces mutations permettaient de définir le récepteur du répresseur, récepteur qui fut alors désigné sous le nom d'*opérateur* (30).

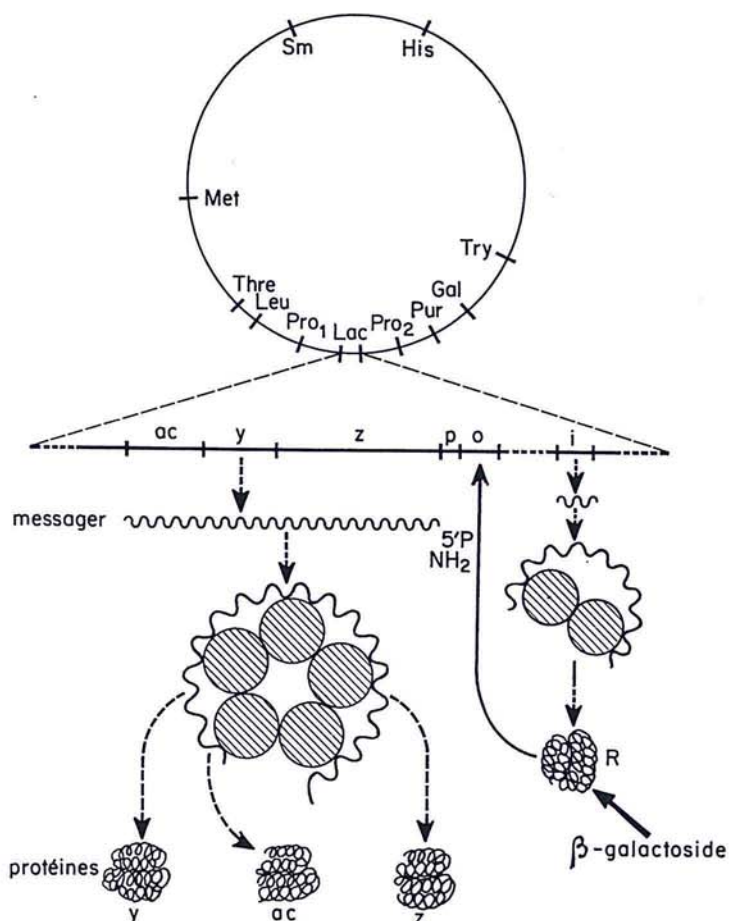


Fig. 1

La région Lactose d'*Escherichia coli*.

Le cercle représente le chromosome d'*E.coli* et la position de la région Lactose (*Lac*) parmi d'autres marqueurs. Au-dessous est représenté un agrandissement de la région Lactose. *i* : gène régulateur ; *o* : opérateur ; *p* : promoteur ; *z* : gène de structure de la  $\beta$ -galactosidase ; *y* : gène de structure de la  $\beta$ -galactoside-perméase ; *ac* : gène de structure de la  $\beta$ -galactoside-transacétylase. Les gènes de structure synthétisent vraisemblablement un seul messenger (dont le début 5'P est vraisemblablement du côté opérateur) qui s'associe aux ribosomes pour former un polysome où sont synthétisées les diverses chaînes peptidiques (dont le début NH<sub>2</sub> est vraisemblablement du côté opérateur). Le gène régulateur produit un répresseur spécifique qui, agissant au niveau de l'opérateur, bloque la production de messenger, et par là même des protéines. Les  $\beta$ -galactosides inducteurs agissent sur le répresseur pour l'inactiver, permettant ainsi la production de messenger, donc des protéines déterminées par l'opéron.

L'étude de ces mutants allait encore conduire à la notion que, chez les bactéries, le matériel génétique est organisé en unités d'activité qui furent désignées sous le nom d'*opérons*, souvent plus complexes que le gène considéré comme unité de fonction. En effet, le système lactose d'*E.coli* comprend trois protéines connues et les trois gènes gouvernant la structure de ces protéines se trouvent



être adjacents sur un petit segment du chromosome, l'opérateur étant localisé à l'une des extrémités de ce segment (fig. 1). Or, les mutations constitutives, qu'elles soient dues à la détérioration du gène régulateur ou à celle de l'opérateur, présentent toujours la propriété remarquable d'être pléiotropes, c'est-à-dire qu'elles affectent simultanément et au même degré la production des trois protéines. Il fallait donc que le circuit régulateur pût agir sur une structure intégrale contenant l'information qui spécifie la structure des trois protéines. Cette structure ne pouvait être que le DNA lui-même, ou encore un messenger commun aux trois gènes. Cette conception fut encore étayée par les propriétés trouvées aux mutations affectant les gènes de structure du système lactose. Alors que certaines de ces mutations obéissent à la règle de Beadle et Tatum « un gène-un enzyme » en ce sens qu'elles abolissent une seule des trois activités biochimiques, d'autres mutations, au contraire, violent cette règle car elles affectent l'expression, non pas d'un seul gène, mais de plusieurs à la fois (31, 32).

La notion d'opéron, groupement de gènes de structure adjacents dont la régulation est commandée par un opérateur commun expliquait pourquoi les gènes gouvernant les enzymes d'une même chaîne biochimique ont tendance à rester groupés chez les bactéries, comme l'avaient observé Demerec et Hartman (33). Elle rendait compte également de la production coordonnée d'enzymes déjà observée dans certaines chaînes de biosynthèse (34). Si à l'origine, la conception d'opéron se fondait exclusivement sur des critères génétiques, elle se complète aujourd'hui de critères biochimiques. Il existe en effet nombre d'arguments expérimentaux, tant génétiques (32, 35) que biochimiques (36) permettant de penser qu'un opéron produit un messenger intégral qui s'associe aux ribosomes pour former la série des chaînes peptidiques déterminées par les différents gènes de structure de l'opéron.

Ainsi parvient-on à se représenter l'activité du génome d'*E. coli* de la façon suivante. L'expression du matériel génétique exige un flot continu de messagers instables qui dictent aux machines que constituent les ribosomes la spécificité des protéines à produire. Le matériel génétique est formé d'opérons contenant un ou plusieurs gènes, chaque opéron formant un messenger intégral. La production de messenger par l'opéron est, d'une façon ou d'une autre, inhibée par des boucles régulatrices constituées de trois éléments : gène régulateur — répresseur — opérateur. C'est au niveau de ces boucles qu'interviennent les métabolites spécifiques jouant le rôle de signaux : dans les systèmes inductibles, pour inactiver le répresseur, donc permettre la production de messenger et partant de protéines; dans les systèmes répressibles, pour activer le répresseur, donc inhiber la production de messenger et de protéines. Selon ce schéma, seule une fraction des gènes de la cellule peut s'exprimer à chaque instant, les autres restant réprimés. C'est un réseau de circuits spécifiques, génétiquement déterminés, qui choisit à tout moment les segments de DNA qui doivent être transcrits en messenger, donc traduits en protéines, en fonction de signaux chimiques venus du cytoplasme et du milieu.

Dès l'origine, la conception du matériel génétique formé d'opérons juxtaposés dont l'activité serait réglée par un site unique déterminé par l'opérateur,

comportait une prédiction expérimentale précise : dans le cas où un remaniement chromosomique disjoindrait les gènes de structure de leur opérateur pour les associer à un autre opéron, gouverné par un autre opérateur, l'activité de ces gènes de structure devrait de ce fait être soumise à une régulation nouvelle. Mais, pendant longtemps, si, à la suite de mutations, certains gènes devenaient séparés de leur opérateur, ils se trouvaient alors rattachés à une région non identifiée du chromosome et par là même soumis à un système de régulation inconnu et sur lequel on ne savait pas intervenir (37, 38).

C'est seulement récemment qu'il a été possible d'obtenir une fusion de l'opéron lactose d'*E.coli* avec un opéron connu, grâce à l'emploi de bactéries diploïdes pour la région choisie (39). On connaît, en effet, un nombre encore limité de gènes sur le chromosome bactérien et un nombre plus limité encore de gènes dont l'activité peut être modifiée par l'action de métabolites externes. Une délétion fusionnant deux de ces régions risque d'être relativement importante et d'englober un gène nécessaire à la croissance ou à la division; elle serait par là même létale chez une bactérie haploïde. Chez des bactéries diploïdes, une série de délétions couvrant environ 50 à 80 gènes a pu être isolée; d'un côté, ces délétions se terminent dans le gène gouvernant la structure de la  $\beta$ -galactosidase, et de l'autre, dans diverses régions du chromosome. Certaines d'entre elles se terminent ainsi dans l'un des deux cistrons appartenant à un opéron purine dont elles respectent l'autre cistron (fig. 2).

Chez ces mutants, la synthèse des deux protéines de la région lactose, déterminées par les deux gènes que la délétion a laissés intacts, ne sont plus inductibles par les  $\beta$ -galactosides. Résultat prévisible puisque la délétion a détruit les deux éléments, gène régulateur et opérateur, déterminant la régulation spécifique du système lactose. *Mais cette synthèse est devenue répressible par l'addition de purines.* Il est donc clair que, dans la délétion, le fragment de l'opéron lactose et le fragment de l'opéron purine ont fusionné pour former un nouvel opéron qui, selon toute vraisemblance, produit un seul messenger contenant l'information génétique pour la synthèse de protéines impliquées, soit dans la biosynthèse des purines, soit dans l'utilisation du lactose. Mais le système qui détermine la régulation de ce messenger doit être l'opérateur de la région purine, opérateur sensible à un répresseur activé par les purines.

De la même façon, des délétions fusionnant l'opéron lactose avec un opéron gouvernant la biosynthèse du tryptophane ont récemment été isolées (40). L'expression des gènes encore intacts de l'opéron lactose devient alors répressible par le tryptophane.

Le type de régulation auquel est soumise l'expression de gènes appartenant à un opéron donné dépend donc exclusivement de l'opérateur, c'est-à-dire de la séquence nucléique située à l'extrémité proximale de l'opéron. Ainsi, non seulement la nature des métabolites dont pourra dépendre la régulation, mais aussi le type même de cette régulation, inductible ou répressible, sont imposés par la *position* respective des gènes de long du chromosome et plus particulièrement par leur *association* avec tel ou tel segment opérateur particulier. Il est bien évident que ce sont les associations les plus favorables à l'organisme qui seront sélectionnées.

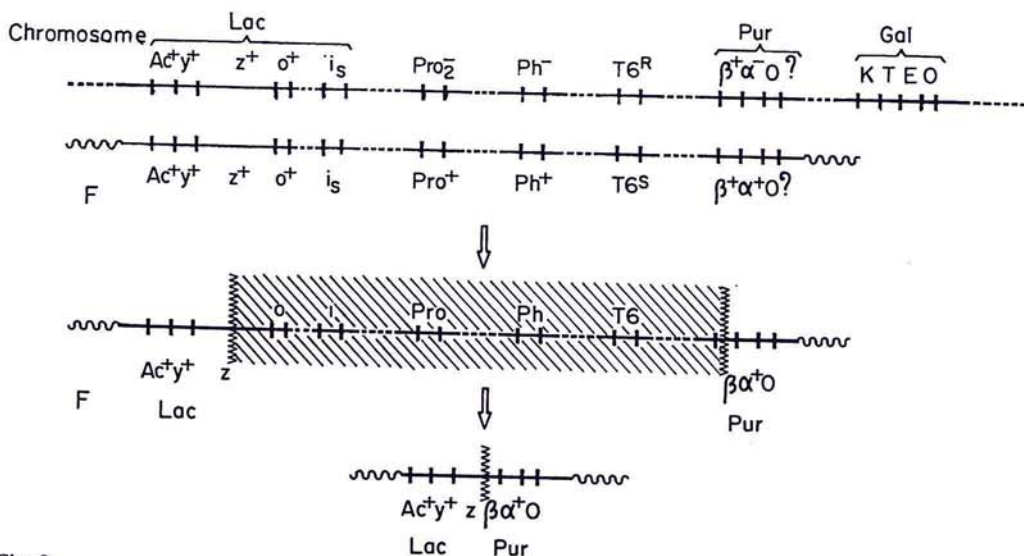


Fig. 2.

*Délétion fusionnant un fragment de l'opéron lactose et un fragment d'un opéron purine chez E.coli.*

La partie supérieure du schéma représente la structure diploïde hétérozygote d'origine, la bactérie hébergeant un épisome sexuel ayant incorporé par recombinaison un important fragment du chromosome. Dans le schéma du milieu, la région hachurée représente la zone détruite par une délétion survenue dans l'épisome. Le schéma du bas représente la structure formée par la délétion. Celle-ci a réuni un fragment terminal du gène *z* (déterminant la  $\beta$ -galactosidase) avec un fragment initial d'un gène *Pur*  $\beta$  (déterminant un enzyme de la biosynthèse des purines). Un nouvel opéron serait ainsi formé par le gène *Pur*  $\alpha$  (déterminant une protéine de la biosynthèse des purines), une structure formée par une partie du gène *Pur*  $\beta$  et une partie de *z* (produisant selon toute vraisemblance une chaîne peptidique hybride constituée par une séquence *Pur*  $\beta$ , côté  $\text{NH}_2$  terminal, et par une séquence de *z*, côté  $\text{COOH}$  terminal), les gènes *y* (déterminant la  $\beta$ -galactoside-perméase) et *Ac* (déterminant la  $\beta$ -galactoside transacétylase). L'expression de l'opéron est réprimée par les purines, vraisemblablement au niveau d'un opérateur purine, lui-même sensible à un répresseur activé spécifiquement par les purines (39).

La présence de ces unités d'activité et de régulation que constituent les opérons polygéniques, implique l'existence d'une double ponctuation dans le texte nucléique. L'une de ces ponctuations doit permettre de « découper » la longue chaîne de DNA en « tranches de transcription » correspondant aux opérons : elle doit servir de point de reconnaissance à la RNA polymérase pour lui indiquer, non seulement là où doit débuter (et éventuellement là où doit finir) la transcription d'un opéron, mais aussi quelle est la chaîne du DNA qui doit être transcrite. On peut, dans certaines conditions, obtenir des transpositions de l'opéron lactose dans une région du chromosome différente de la région normale et ces insertions peuvent être dirigées soit dans un sens soit dans l'autre (40). Il faut noter que la polarité 3'—5' des chaînes du DNA exige que, dans le cas d'une inversion, la séquence à transcrire en messenger change non seulement de sens, mais aussi de chaîne (fig. 3). Or, dans le cas des insertions obtenues, l'expression de l'opéron lactose paraît se faire tout aussi bien qu'il y ait ou non une inversion. Il faut donc admettre que

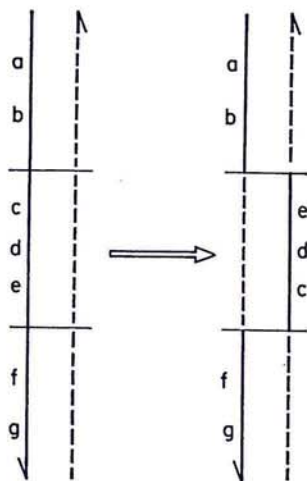


Fig. 3.  
Schéma montrant le changement de polarité,  
donc de chaîne, en cas d'inversion.

1°) toute l'information génétique n'est pas nécessairement contenue dans la même chaîne du DNA, 2°) un signal génétique doit indiquer le début de l'opéron, ainsi que la direction de transcription, et 3°) un autre signal doit marquer la fin de l'opéron. Si, en effet, deux opérons de directions opposées se trouvaient juxtaposés, la transcription d'un opéron, en l'absence d'un signal « fin de transcription », pourrait éventuellement se poursuivre le long de l'autre, sur la chaîne de DNA qui normalement ne doit pas être transcrite.

La seconde ponctuation du texte nucléique doit permettre, lors de la traduction, de « découper » le message en diverses chaînes peptidiques correspondant aux divers gènes de l'opéron. Cette ponctuation sert de signal au système de traduction (ribosomes, t-RNA, etc.) pour délimiter l'extrémité  $\text{NH}_2$  initiale et l'extrémité  $\text{COOH}$  terminale de chaque chaîne peptidique.

Dans le système lactose de *E.coli*, l'analyse d'une série de délétions montre que l'opérateur est situé en dehors du premier gène de structure connu de l'opéron (41, 38) dont il paraît séparé par une région, désignée sous le nom de *promoteur*, indispensable à l'expression de l'opéron tout entier (37). Selon toute vraisemblance, le promoteur correspond à l'une des ponctuations, soit de transcription, soit de traduction. Il existe des raisons de penser que l'opérateur n'est pas traduit en chaîne peptidique, mais on ignore encore s'il est transcrit ou non en message, et si le répresseur agit au niveau du message ou du DNA lui-même (fig. 4). Il n'est pas possible de détailler ici les arguments expérimentaux ou les hypothèses (20, 32, 42) concernant le site d'action du répresseur. Cependant, la combinaison de résultats récemment obtenus dans divers laboratoires (43) indique que la synthèse du message (terminaison 5'P) comme celle de la première chaîne peptidique (terminaison  $\text{NH}_2$ ) débutent toutes deux du côté opérateur de l'opéron. L'hypothèse qui s'accorde le plus simplement avec les résultats de l'analyse génétique et notamment avec l'étude de délétions couvrant différents segments de l'extrémité opérateur de l'opéron, c'est que le promoteur représente la ponctuation de transcription, celle que reconnaît la RNA-polymérase pour commencer à ce niveau, sur

Grâce à une quantité de travaux variés, on sait maintenant que le mieux connu de ces éléments génétiques, le chromosome, se comporte comme un élément intégral au point de vue génétique, structural et biochimique. Cet élément semble formé d'une seule double chaîne de DNA, très vraisemblablement fermée ou circulaire (45). Sa réplication paraît commencer en un point précis et fixe de la structure, le long de laquelle elle progresse régulièrement pour revenir au point de départ (45, 46). Dans les conditions normales de croissance, un nouveau cycle de réplication ne peut commencer avant la fin du précédent (47).

Bien que les autres éléments génétiques bactériens soient moins bien connus, leurs propriétés semblent analogues. L'équipement génétique d'une bactérie peut donc être considéré comme formé de structures distinctes, contenant chacune une « molécule » de DNA, circulaire et de longueur variable.

Avec Sydney Brenner, nous avons cherché alors à expliquer la régulation de la synthèse du DNA à l'aide de circuits semblables à ceux trouvés dans la synthèse des protéines (48). Pour cela, nous avons été conduits à admettre que chaque élément génétique constitue une unité de réplication ou *réplicon* qui détermine un circuit réglant sa propre réplication, en coordination avec la division cellulaire. Cette hypothèse comportait trois prédictions distinctes :

1) si chaque élément contient des déterminants génétiques réglant sa propre réplication, il doit être possible d'isoler des mutants chez lesquels ce circuit est détérioré. Et, en effet, dans les trois éléments étudiés — chromosome bactérien, épisome sexuel et phage — on peut obtenir des mutations qui abolissent la réplication de l'élément muté mais non celle des autres (49). La nature et les propriétés de ces mutations suggèrent qu'elles modifient un produit diffusible qui agirait sur une « ponctuation » du réplicon, c'est-à-dire sur une certaine séquence de nucléotides, permettant ainsi le début de la réplication. Une fois la réaction amorcée, toute séquence attachée à cette ponctuation serait répliquée par le système.

Là encore paraît intervenir une boucle régulatrice génétiquement déterminée. Mais alors que dans la synthèse des protéines la régulation semble *négative*, c'est-à-dire répressive, dans la synthèse du DNA, au contraire, tout indique que la régulation fait intervenir un élément *positif*, c'est-à-dire agissant sur le DNA pour en déclencher la réplication.

2) Les modalités de la conjugaison bactérienne ne peuvent s'interpréter que si l'épisome sexuel est attaché à la membrane bactérienne près de la zone livrant passage au chromosome mâle lors de l'appariement. Or l'hypothèse permettant le plus simplement d'expliquer la ségrégation du DNA après réplication et la distribution des deux répliques dans les deux bactéries formées par la division consiste à admettre que tous les réplicons cellulaires sont attachés à la membrane bactérienne. C'est la synthèse de cette dernière entre les points d'attachement des deux répliques formées qui en assurerait la ségrégation régulière.

C'est bien ce que paraît confirmer l'étude des « corps nucléaires » de *B. subtilis* faite au microscope électronique par Antoinette Ryter (50). Chacun de ces corps nucléaires apparaît attaché à un « mésosome », structure formée

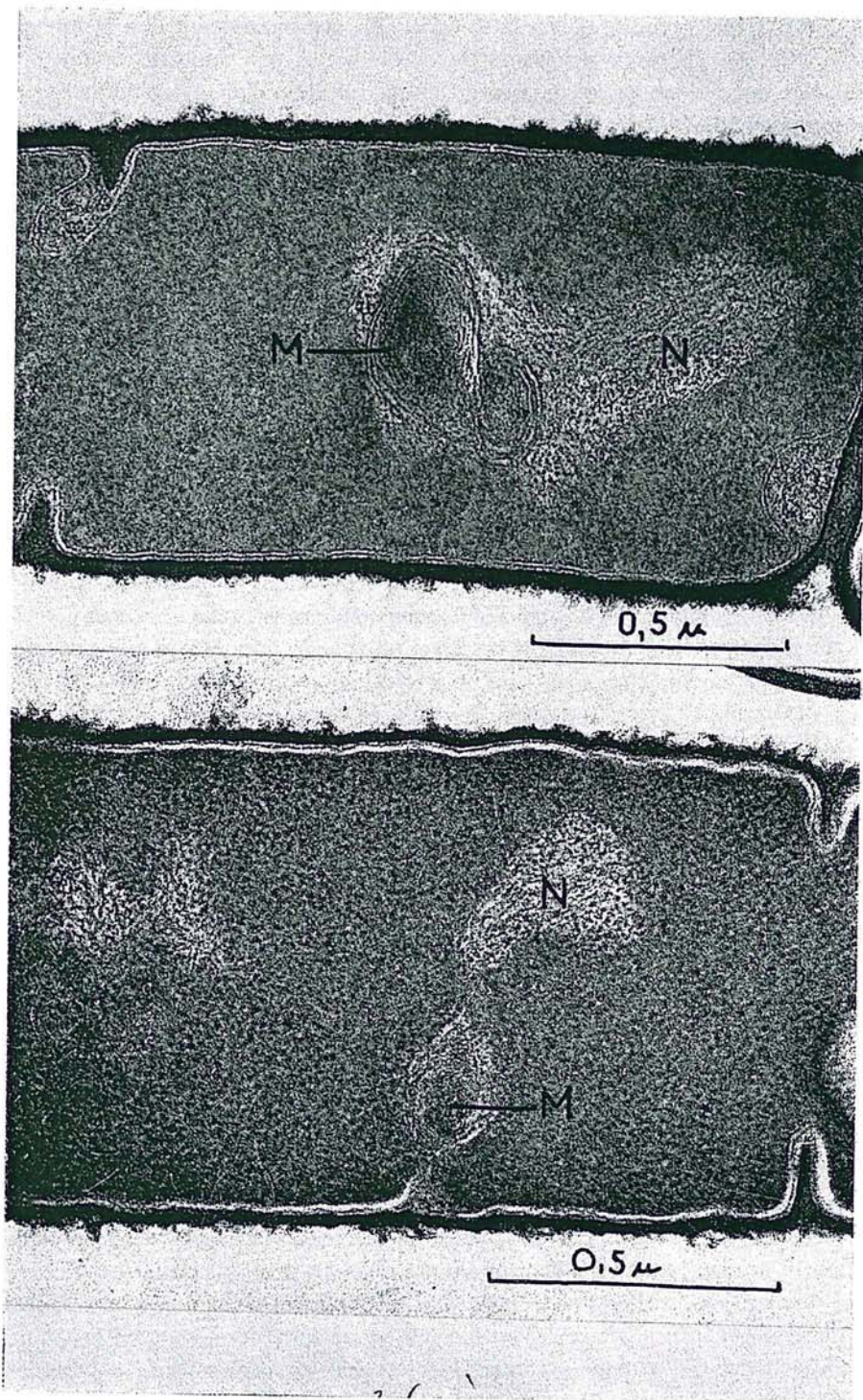


Fig. 5.

*Sections de B. subtilis.*

Le corps nucléaire (N) est lié à la membrane par l'intermédiaire d'un mésosome (M) (50)

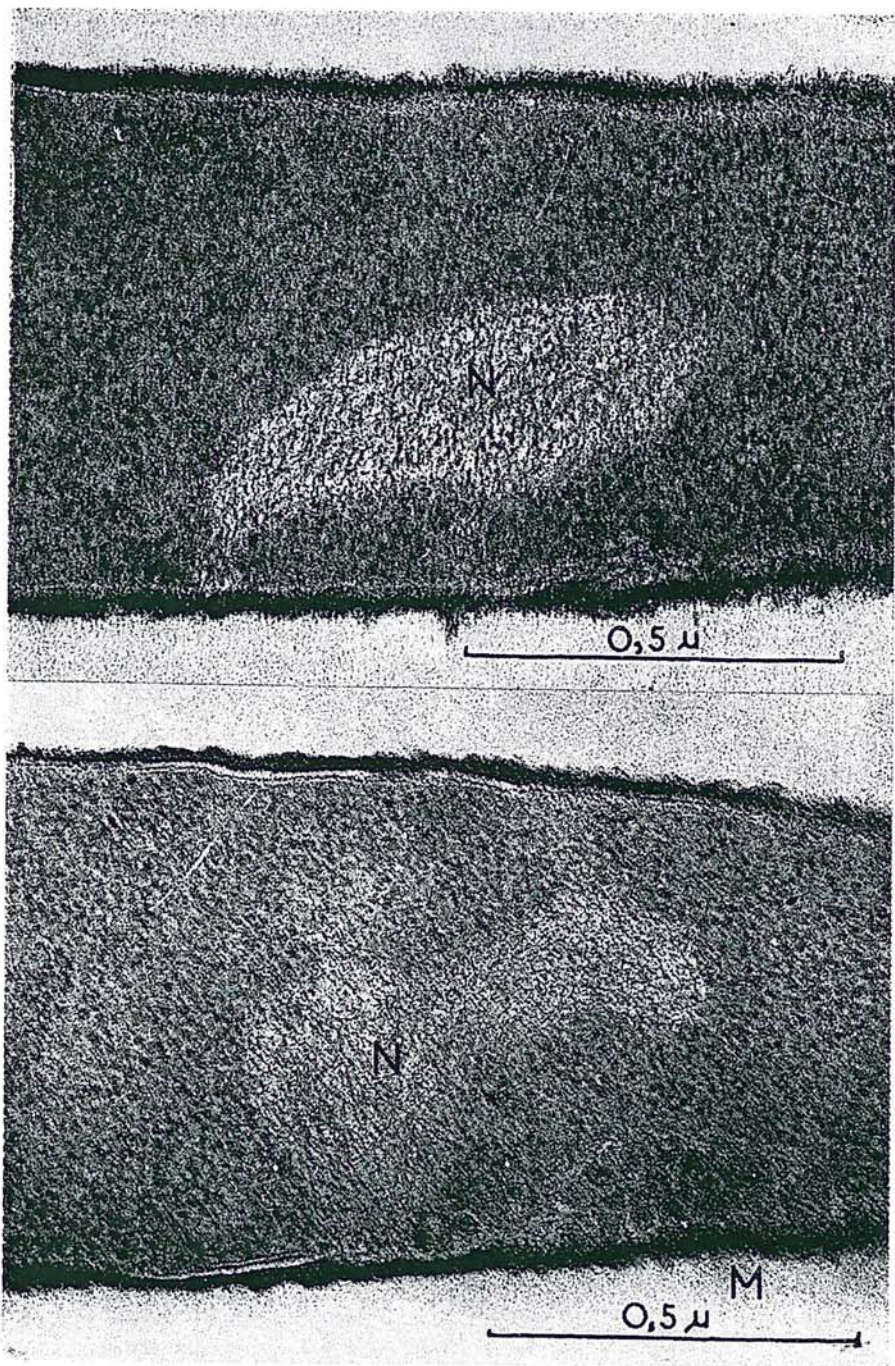


Fig. 6.

*Sections de B. subtilis placé pendant 30 minutes dans du saccharose 0,5 M.*

Les mésosomes ont été expulsés du cytoplasme. En se rétractant, ils entraînent avec eux les corps nucléaires (N) qui apparaissent alors directement liés à la membrane (50).

par invagination de la membrane (fig. 5 et 6). De plus, en marquant la membrane par un sel de tellure, on constate que sa synthèse ne se fait pas uniformément sur l'ensemble du pourtour bactérien, mais bien en des zones précises, là où sont attachés les corps nucléaires. C'est donc la croissance de la membrane qui paraît assurer la ségrégation des éléments de DNA formés par réplication. Enfin, François Cuzin est parvenu à démontrer que, pendant la croissance, deux réplicons indépendants, tels que le chromosome et l'épisome sexuel, ne ségrègent pas indépendamment, mais restent associés au cours de la multiplication bactérienne (51) : selon toute vraisemblance, chacune de ces structures est liée à un même élément, vraisemblablement à un même fragment de membrane. Ce fragment resterait intact pendant la croissance et la division bactérienne, constituant ainsi la véritable unité de ségrégation, c'est-à-dire l'équivalent d'un chromosome chez un organisme supérieur.

3) Pour expliquer la coordination entre la réplication du DNA et la croissance suivie de division bactérienne, il faut admettre que la réplication et la régulation de celle-ci se font dans la membrane. C'est ce que semblent indiquer les phénomènes de la conjugaison bactérienne : selon toute vraisemblance, une réaction de surface survenant au cours de l'accolement entre mâle et femelle déclenche en quelque sorte un cycle de réplication chez le mâle, l'une des structures ainsi synthétisées restant dans le mâle, tandis que l'autre se trouve progressivement transférée dans la femelle à mesure qu'elle est formée (52). En outre, l'idée que la synthèse du DNA s'effectuerait dans la membrane est également étayée par certains arguments biochimiques récents (53).

Ainsi en vient-on à se représenter l'équipement génétique des bactéries comme formé de « molécules » de DNA circulaires, constituant des unités de réplication indépendantes. Ces unités seraient associées à un même élément de membrane qui gouvernerait leur réplication en coordination avec la croissance, par l'intermédiaire de circuits régulateurs (fig. 7). L'information génétique de base serait contenue dans la plus longue de ces unités, mais de l'information supplémentaire pourrait être ajoutée par fixation d'autres réplicons à la membrane. Il semble que l'une des étapes importantes dans le passage de l'organisation cellulaire des procaryotes à celle des eucaryotes implique des invaginations de la structure membranaire suivie de différenciation en organites spécialisés (mitochondries, appareil génétique) dont les fonctions étaient à l'origine dévolues à la membrane bactérienne.

Il est remarquable que l'étude de la cellule bactérienne conduise à attribuer à la membrane un rôle aussi important dans la coordination entre la croissance et la division cellulaire car c'est une conclusion similaire qu'entraîne l'étude des cellules d'organismes supérieurs. Chez ces dernières, en effet, la surface cellulaire doit aussi commander la multiplication cellulaire, des signaux venus de cette surface étant, sous une forme ou sous une autre, transmis au noyau, comme en témoignent, par exemple, les processus de morphogenèse ou les phénomènes de contact entre cellules. Malgré l'évidente complexité d'une telle cellule en regard d'une bactérie, il faut admettre que l'évolution a conservé un système de communications moléculaires entre surface cellulaire et DNA.



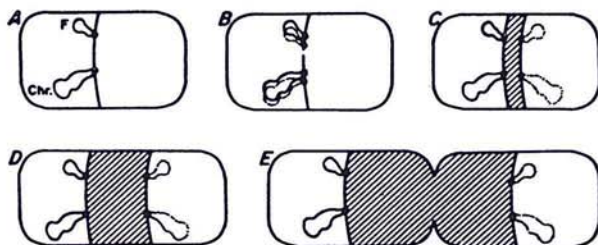


Fig. 7.

*Schéma de la réplication du DNA chez les bactéries.*

La bactérie représentée héberge deux unités indépendantes : le « chromosome » et l'épisome sexuel F. Les deux réplicons sont représentés attachés à la membrane en deux sites distincts. A une certaine étape du cycle de la division, la membrane transmet à chaque réplicon un signal permettant à la réplication de démarrer. La réplication progresse linéairement, chaque réplicon tournant lentement à travers la membrane dans laquelle on admet que se trouve le complexe enzymatique assurant la réplication. Pour chacun des réplicons, deux exemplaires sont ainsi formés dont on admet qu'ils sont attachés côte à côte à la membrane. La synthèse de la membrane est censée survenir entre les régions où s'attachent les deux exemplaires de chaque réplicon, les entraînant ainsi de chaque côté, le septum se formant dans la région médiane. Aucun cycle de réplication nouveau n'est permis jusqu'à ce que la membrane, ayant retrouvé son état d'origine à la suite de la division cellulaire, ne transmette un nouveau signal. Le processus est simplifié en ce sens que : 1) les bactéries ont généralement de 2 à 4 corps nucléaires (et non de 1 à 2), la réplication du DNA se trouvant en avance d'un cycle sur la division et 2) chaque étape est censée être terminée avant que ne commence la suivante (48).

## CONCLUSIONS

Les deux activités chimique du DNA, la transcription, copie d'une seule chaîne en séquence ribonucléique, et la réplication, copie des deux chaînes en séquences désoxyribonucléiques, sont soumises à un réseau d'interactions moléculaires spécifiques déterminées par des gènes. Le message inscrit dans le matériel génétique contient donc, non seulement les plans de l'architecture cellulaire, mais encore un programme coordonnant les synthèses ainsi que les moyens d'en assurer l'exécution.

L'une des contributions les plus importantes de la génétique microbienne est peut-être la réponse définitive donnée au vieux problème de l'interaction entre gènes et cytoplasme, entre hérédité et milieu. Si la démonstration que les caractères acquis ne sont pas transmis héréditairement fut déjà apportée par la génétique classique, l'explication en est aujourd'hui fournie par la nature même du message nucléique et du code génétique. Il est clair, en revanche, que l'expression du matériel génétique, elle, est soumise aux influences externes. Il y a dix ans encore, il paraissait vraisemblable que, dans certains processus, tels que la biosynthèse induite d'enzymes ou d'anticorps, la présence de composés spécifiques pût modifier la synthèse des protéines, qu'elle modelât en quelque sorte leur configuration, donc leurs propriétés. Le milieu semblait exercer sur les gènes une action *didactique*, selon l'expression de Lederberg (54), modulant le sens même du texte génétique. Ce qu'a démontré l'étude des circuits régulateurs, c'est que les composés en question ne jouent qu'un rôle de simple stimu-

lus : ils agissent comme signal pour déclencher une synthèse dont les mécanismes, comme le produit final, restent entièrement déterminés par la séquence nucléique du DNA. Si le message nucléique peut être comparé au texte d'un livre, le réseau régulateur détermine quelles sont les pages qui doivent être lues à chaque instant. Dans l'expression du message nucléique comme dans sa reproduction, l'adaptation résulte d'un effet, non pas didactique, mais *électif* du milieu.

Certes l'analyse génétique ne peut qu'indiquer l'existence de circuits régulateurs. Il reste à en faire une analyse chimique qui devra expliquer les interactions moléculaires spécifiques. Aucun répresseur n'a encore été isolé. La nature même des complexes qu'il peut former avec un opérateur ou un métabolite reste donc obscure. Nous ignorons comment les molécules se trouvent, se reconnaissent, se combinent pour constituer de tels circuits ou pour former les superstructures de la cellule, une membrane, une mitochondrie, un chromosome. Nous ne savons pas comment elles transmettent des signaux qui modifient l'activité de leurs associés. Ce qui, en revanche, apparaît clairement, c'est que les problèmes qu'auront à résoudre la biologie et la génétique de la cellule dans les années à venir, tendent de plus en plus à se confondre avec ceux que visent la biochimie et la chimie physique.

Le travail résumé ci-dessus n'a pu se poursuivre que grâce à des collaborations si nombreuses qu'il ne m'est pas possible de les évoquer toutes ici sans risquer l'injustice d'oublis involontaires.

Ce travail a bénéficié d'une aide apportée successivement par le Centre National de la Recherche Scientifique, la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique, le Commissariat à l'Energie atomique, la Fondation pour la Recherche médicale française, le Jane Coffin Childs Memorial Fund et la National Science Foundation.

## RÉFÉRENCES

1. S. E. Luria et M. Delbrück, *Genetics*, 28, 499 (1943)
2. J. Lederberg et E. L. Tatum, *Nature*, 158, 558 (1946)
3. M. Delbrück et W. T. Bailey, Jr., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 11, 33 (1946)
4. A. D. Hershey, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 11, 67 (1946)
5. O. T. Avery, C. M. McLeod et M. McCarthy, *J. Exp. Med.* 79, 137 (1944)
6. A. D. Hershey et M. Chase, *J. Gen. Physiol.*, 36, 39 (1952)
7. J. D. Watson et F. H. C. Crick, *Nature*, 171, 737 (1953)
8. G. W. Beadle et E. L. Tatum, *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 27, 499 (1941)
9. J. Lederberg, In « *Methods in Medical Research* », J. H. Comroe Jr. Ed., vol. 3, p. 5, Year Book Publisher, Chicago (1950)
10. S. Benzer, In « *The chemical Basis of Heredity* », W. D. McElroy et B. Glass ed., p. 70, Johns Hopkins Press, Baltimore (1957)
11. E. M. Lederberg et J. Lederberg, *Genetics*, 38, 51 (1953)
12. E. L. Wollman, *Ann. Inst. Pasteur*, 84, 281 (1953)
13. W. Hayes, *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 18, 75 (1953)
14. F. Jacob et E. L. Wollman, *C. R. Acad. Sci.*, 239, 455 (1954)
15. E. L. Wollman et F. Jacob, *C. R. Acad. Sci.*, 240, 2449 (1955)
16. F. Jacob et E. L. Wollman, *Sexuality and the Genetics of Bacteria*, Academic Press, New York, (1961)
17. A. B. Pardee, F. Jacob et J. Monod, *J. Mol. Biol.*, 1, 165 (1959)
18. T. Caspersson, *Chromosoma*, 1, 562 (1940)  
 J. Brachet, *Enzymologia*, 10, 87 (1941)  
 F. H. C. Crick, *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 12, 138 (1958)  
 R. B. Roberts, *Microsomal particles and protein synthesis*, Pergamon Press, New York (1958)  
 A. Tissières, J. D. Watson, D. Schlessinger, B. R. Hollingworth, *J. Mol. Biol.*, 1, 221 (1959)  
 C. I. Davern et M. Meselson, *J. Mol. Biol.*, 2, 153 (1960)
19. M. Riley, A. B. Pardee, F. Jacob et J. Monod, *J. Mol. Biol.*, 2, 216 (1960)
20. F. Jacob et J. Monod, *J. Mol. Biol.*, 3, 318 (1961)
21. A. D. Hershey, J. Dixon et M. Chase, *J. Gen. Physiol.*, 36, 777 (1953)
22. E. Volkin et L. Astrachan, *Virology*, 2, 149 (1956)
23. S. Brenner, F. Jacob et M. Meselson, *Nature*, 190, 576 (1961)
24. F. Gros, W. Gilbert, H. Hiatt, C. G. Kurland, R. W. Risebrough et J. D. Watson, *Nature*, 190, 581 (1961)
25. J. D. Watson, *Les Prix Nobel en 1962*
26. G. Pontecorvo, *Adv. in Enzymol.*, 13, 121 (1952)
27. E. A. Adelberg et S. N. Burns, *J. Bact.*, 79, 321 (1960)
28. F. Jacob et E. A. Adelberg, *C. R. Acad. Sci.*, 249, 189 (1959)
29. C. Willson, D. Perrin, M. Cohn, F. Jacob et J. Monod, *J. Mol. Biol.*, 8, 582 (1964)  
 S. Bourgeois, M. Cohn et L. Orgel, *J. Mol. Biol.*, 14, 300 (1965)
30. F. Jacob, D. Perrin, C. Sanchez et J. Monod, *C. R. Acad. Sci.*, 250, 1727 (1960)
31. F. Jacob et J. Monod, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 26, 193 (1961)  
 N. Franklin et S. E. Luria, *Virology*, 15, 299 (1961)
32. B. N. Ames et P. Hartman, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 28, 349 (1963)
33. M. Demerec et P. Hartman, *Ann. Rev. Microb.*, 13, 377 (1959)
34. B. N. Ames et B. Gary, *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 45, 1453 (1959)
35. J. R. Beckwith, In « *Structure and function of the genetic material* », Deutsche A. K. Wissenschaften, Akademie Verlag, Berlin, p. 119 (1964)
36. G. Attardi, S. Naono, J. Rouvière, F. Jacob et F. Gros, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 28, 363 (1963)

- B. Guttman et A. Novick, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 28, 373 (1963)
- R. G. Martin, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 28, 357 (1963)
- S. Spiegelman et M. Hayashi, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 28, 161 (1963)
37. B. N. Ames, P. Hartman, F. Jacob, J. Mol. Biol., 7, 23 (1963)  
A. Matsushiro, S. Kido, J. Ito, K. Sato et F. Imamoto, Biochem. Biophys. Res. Comm., 9, 204 (1962)
38. F. Jacob, A. Ullman et J. Monod, C. R. Acad. Sci., 258, 3125 (1964)
39. F. Jacob, A. Ullman et J. Monod, J. Mol. Biol., 13, 704 (1965)
40. J. R. Beckwith et E. Signer, manuscrit en préparation
41. J. R. Beckwith, J. Mol. Biol., 8, 427 (1964)
42. L. Szilard, Proc. Nat. Acad. Sci. US., 46, 277 (1960)  
G. S. Stent, Science, 144, 816 (1964)  
W. K. Maas et E. McFall, Ann. Rev. Microb., 18, 95 (1964)
43. R. L. Somerville et C. Yanofsky, J. Mol. Biol., 8, 616 (1964)  
G. Streisinger, Mendel Symposium on the mutational process, Prague, sous presse (1965)  
H. Bremer, M. W. Konrad, K. Gaines et G. S. Stent, J. Mol. Biol., 13, 540 (1965)  
F. Imamoto, N. Morikawa et K. Sato, J. Mol. Biol., 13, 169 (1965)  
U. Maitra et J. Hurwitz, Proc. Nat. Acad. Sci. US, 54, 815 (1965)  
M. Salas, M. A. Smith, W. M. Stanley, Jr., A. J. Wahba et S. Ochoa, J. Biol. Chem., sous presse (1965)  
R. E. Thach, M. A. Cecere, T. A. Sunarajan et P. Doty, Proc. Nat. Acad. Sci. US, 54, 1167 (1965)
44. A. Kornberg, Les Prix Nobel en 1959
45. J. Cairns, J. Mol. Biol., 6, 208 (1963)
46. N. Sueoka et H. Yoshikawa, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 28, 47 (1963)  
F. Bonhoeffer et A. Gierer, J. Mol. Biol., 7, 534 (1963)
47. O. Maaløe, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 26, 45 (1961)  
R. H. Pritchard et K. G. Lark, J. Mol. Biol., 9, 288 (1964)
48. F. Jacob et S. Brenner, C. R. Acad. Sci., 256, 298 (1963)  
F. Jacob, S. Brenner et F. Cuzin, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 28, 329 (1963)
49. M. Kohiyama, H. Lanfrom, S. Brenner et F. Jacob, C. R. Acad. Sci., 257, 1979 (1963)  
F. Cuzin et F. Jacob, 11th Intern. Congress Genetics, La Hague, 1, 40 (1963)  
F. Jacob, C. Fuerst et E. L. Wollman, Ann. Inst. Pasteur, 93, 724 (1957)
50. A. Ryter et F. Jacob, Ann. Inst. Pasteur, 107, 384 (1964)
51. F. Cuzin et F. Jacob, C. R. Acad. Sci., 260, 5411 (1965)
52. L. G. Caro et J. D. Gross, Science, sous presse (1965)  
M. Ptashne, J. Mol. Biol., 11, 829 (1965)  
A. A. Blinkova, S. E. Bresler et V. A. Lanzov, Z. Vererbungsl., 96, 267 (1965)
53. A. T. Ganesan et J. Lederberg, Biochem. Biophys. Res. Comm., 18, 824 (1965)
54. J. Lederberg, J. Cell. Comp. Physiol., suppl. 1, 52, 398 (1958)