



INSTITUT DE FRANCE
Académie des sciences

Comptes Rendus

Biologies

David Bikard

How has microbiology changed 200 years after Pasteur's birth?

Volume 345, issue 3 (2022), p. 21-33

Published online: 4 October 2022

Issue date: 10 November 2022

<https://doi.org/10.5802/crbio.85>

Part of Special Issue: Pasteur, a visionary

Guest editor: Pascale Cossart (Professeur de l'Institut Pasteur, France – Secrétaire perpétuel honoraire de l'Académie des sciences)



This article is licensed under the
CREATIVE COMMONS ATTRIBUTION 4.0 INTERNATIONAL LICENSE.
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Les Comptes Rendus. Biologies sont membres du
Centre Mersenne pour l'édition scientifique ouverte
www.centre-mersenne.org
e-ISSN : 1768-3238

tion “Science has no homeland” is attributed, and who gathered around him so many collaborators within his Institute, throughout the world, and now throughout the centuries. Modern microbiology is based on the work of these illustrious predecessors, but their discipline has now change a lot. I wish to examine here what it means to be a microbiologist in the 21st century by asking myself three questions: Are the goals of the discipline still the same? How do modern technologies impact our scientific approach? What are the new frontiers of microbiology?

1. Why are we studying microbes in the 21st century?

Since its birth, microbiology has aimed at the fundamental understanding of microorganisms, the search for mechanisms that explain infectious diseases or food fermentation. The discovery of these mechanisms was, for precursors such as Pasteur or Koch, a prerequisite for the improvement of human and animal health, and the immense progress made in the 20th century thanks to the advancement of knowledge in microbiology proved them right. Hygiene, antibiotics and vaccines have emerged as the three pillars that have made it possible to relegate infectious diseases to second place among human afflictions, behind cancers and cardiovascular diseases, at least in developed countries [1]. Everyone does not yet share this progress. Hygiene measures, such as running water and sanitation, which seem so obvious to us, still have a long way to go. More than half of the world’s population still does not have access to modern sanitation [2]. However, progress in this area is more a matter of economic development and public policy than of microbiology, so I will not dwell on it here, although it is important to remember that no research or new discovery is necessary to improve the living conditions of those billions of people who still live without the practical benefits of the discoveries of the last century.

Nevertheless, basic microbiology continues to play the role that its precursors had assigned to it in the fight against human suffering. Around the world, we are facing new public health challenges, such as the rise of antibiotic resistance and the emergence of pathogens like SARS-Cov2, which is currently killing millions. The understanding of the mechanisms of

pathogen emergence, transmission and antimicrobial resistance remains more than ever one of the objectives of modern microbiology. The more fundamental study of the mechanisms of immunity, microbial ecology, the genetics of microorganisms, and their interaction with human or animal cells, continues to inform the development of new prophylactic, therapeutic and public health strategies.

Beyond infectious diseases, it is now clear that the population of microbes that populate our body, our microbiome, exerts an influence in many other pathologies: cancers [3], obesity [4], neurological diseases [5], autoimmune diseases [6, 7] etc. According to recent publications, microbes seem to play a role in almost all human pathologies. However, strong causal links, such as the role of *Helicobacter pylori* in the development of gastric cancer [8], have only been established in a limited number of cases. This is an extremely complex field of exploration and it will probably take a few decades before we really understand the underlying mechanisms, disentangle the true from the false, and be able to propose treatments that take into account the role played by the microbes. In any case, this is one of the major axes of modern microbiology.

Today, as in the past, microbes are not only studied because of their impact on our health. Environmental microbiology has revealed the central role played by microorganisms in all ecosystems, including the carbon and nitrogen cycles, with an impact on human activities such as agriculture, but also on a global scale. The best example of this is undoubtedly the rapid increase in atmospheric oxygen levels 2 billion years ago, caused by the photosynthetic activity of cyanobacteria [9]. This great oxidation event had dramatic consequences on the evolution of life and on the earth’s climate, shaping the world we know today. At a time of global warming, we must not forget the importance of these microbes, which are both producers and consumers of greenhouse gases [10]. The study of environmental microbial ecology and the incorporation of these phenomena into climate models are therefore a major challenge for microbiology in the 21st century.

Microorganisms are also studied for their ability to transform matter and food. Louis Pasteur himself became interested in microorganisms after observing the selective consumption of one of the enantiomers of a chiral molecule, tartrate [11]. He then quickly un-

derstood the relevance of a scientific approach to microbiology for the improvement of fermented food production processes. His entrepreneurial spirit even led him to start producing beer. Today, food companies exploit a wide range of modern techniques and knowledge about the ecology, metabolism and genetics of the microorganisms they use for their business. Sometimes the industry even contributes to expanding our fundamental knowledge, as the fascinating example of the discovery of the prokaryotic immune system known as CRISPR-Cas [12] has shown. Indeed, the industrial production of yogurt requires the cultivation of bacteria in thousands of liters of milk, which can be ruined by bacteriophage infections, and industrialists are therefore constantly looking for bacterial strains resistant to these viruses. While studying the emergence of resistance in *Streptococcus thermophilus* bacteria, Danisco researchers observed the capture of viral sequences by the bacterial chromosome, within a very specific locus: CRISPR. This observation, which was of little importance to the lactic acid fermentation industry, was a major contribution to our fundamental understanding of the interactions between bacteria and their viruses. The study of the molecular mechanisms of this prokaryotic adaptive immunity system then had a reach far beyond basic microbiology, with the development of numerous biotechnological tools based on CRISPR-Cas, awarded the 2020 [13] Nobel Prize in Chemistry. This technology is now being used in new therapeutic strategies from which the first patients have already benefited.

The example of the study of CRISPR-Cas systems as prokaryotic immune systems shows how microbiologists, from Pasteur to the present day, are not only guided by a purely utilitarian vision of their work, but also by their simple curiosity. Microorganisms have been and still are formidable subjects of study for what they teach us about the mechanisms of life. The study of bacteria and bacteriophages has thus been at the heart of the discoveries of the fundamental processes of life. The work of Griffith and Avery on Streptococci [14], then of Hershey and Chase on *E. coli* and its bacteriophages [15] led to the description of DNA as a carrier of genetic information. The work of pioneers such as Brenner, Meselson and Jacob led to the description of messenger RNA, and that of Crick, Barnett and Watts-Tobin to the description of the genetic code, etc. I cite here only a

few examples of this golden period of microbiology in the 20th century, where the study of bacteria and bacteriophages has changed our understanding of life by revealing the underlying molecular mechanisms.

The quasi-universal scope of the principles discovered would have made Jacques Monod say: “Everything that is true for the bacterium *Escherichia coli* is true for the elephant” [16]. This assertion, of course hyperbolic and provocative, carried the revolutionary idea of the existence of fundamental mechanisms shared by all living organisms. Half a century later, we have a good understanding of the specificities of the different domains of life. However, even today the study of bacteria continues to reveal mechanisms shared by humans and these microorganisms. A recent example is the description of common antiviral systems.

One of these immune systems is based on proteins known as viperins [17]. These convert nucleotides into analogues capable of blocking the replication of viral genetic material. In humans, a viperin confers antiviral activity against Dengue fever, hepatitis C and HIV [18]. A recent study conducted by Aude Bernheim in Rotem Sorek’s team at the Weizmann Institute has shown how bacteria also encode viperins that confer antiviral protection [17]. In an experiment that I find particularly striking, the human viperin introduced into the bacterium *E. coli* allows it to defend itself against bacteriophages. Several billion years after our evolutionary separation from bacteria, we thus retain numerous commonalities, many of which have probably yet to be discovered.

2. How do modern technologies impact our scientific approach?

As I sit at my computer writing these lines, I can only imagine Louis Pasteur’s reaction if he came out of his crypt, in the basement of the building that once housed his laboratories and apartments, to visit me. The sterile culture techniques he invented are still central to our practices, even though plastic has almost universally replaced glass, and the flame has given way to laminar flow hoods. Data acquisition methods, on the other hand, have changed: optical, electron or atomic force microscopes compete with spectrometers, cytometers and sequencers to produce ever more data. Carefully recorded observations and measurements by hand

have given way to databases and analysis software, and the laboratory notebook itself has become electronic. The computational exploration of biological data has become a discipline in its own right and researchers who have never touched a pipette are making many discoveries.

Sydney Brenner is credited with the following quote, "Progress in science depends on new techniques, new discoveries and new ideas, probably in that order." The technologies at our disposal have a strong impact on our scientific process as well as on the discoveries we make. DNA sequencing plays a special role in revealing the incredible diversity of microorganisms and their evolutionary relationships. The wonder of the bioinformatician in front of metagenomic sequencing data is probably comparable to that of a Leeuwenhoek observing for the first time the water of a puddle under the microscope. Much of this ever-growing amount of sequence data remains to be deciphered, but combined with experimental microbiology and genetics, it is already telling us much about the strategies that microbes deploy in their never-ending race to survive and reproduce. The incredible diversity of microorganisms in our bodies has been revealed in recent years by projects such as the Human Microbiome Project [19], while the Tara Ocean expedition continues to catalog the organisms and viruses that inhabit our oceans [20].

In addition to the fresh look at microbial biodiversity that sequencing technologies provide, the increased throughput and falling cost of these technologies now allow us to trace the spread and evolution of pathogens with unprecedented granularity. Never before has a pathogen been tracked as well as Sars-Cov-2. We are now observing the adaptation of this virus to the human species mutation by mutation, in real time. It will probably take decades for researchers to extract all possible knowledge from the phenomenal amount of data generated over the past two years. Sequencing has also played a key role in the development of vaccines. Researchers around the world were able to start studying the virus and developing vaccines as soon as its sequence was made available online, even before samples of the virus were obtained. The breathtaking speed with which RNA vaccines have been developed is also the culmination of decades of basic RNA research in virology and immunology.

In the field of bacteriology, sequencing makes it possible to track the evolution of antibiotic resistance and to describe the underlying mechanisms. It is thus possible to follow the development of resistance on various scales, from the evolution occurring within a patient by mutation or gene transfer [21], to global epidemiological considerations including humans, animals and their environment [22].

The contribution of sequencing technologies goes far beyond the establishment of a simple catalog of genomes. The last decades have seen the development of strategies, each more ingenious than the last, to obtain, through sequencing, high-throughput data on gene expression, the three-dimensional organization of genomes, the interaction of proteins with DNA, RNA, or other proteins and much more. Combined with proteomics, metabolomics, and other -omics approaches, all of biology is now being done in a systematic, high-throughput manner. Immersed in these data sets, the scientist, aided by analysis tools, finds patterns, relationships and correlations that lead to the formulation of new hypotheses. This approach, driven by technology, has taken on an importance that it probably did not have in 20th century microbiology, where the formulation of hypotheses almost always preceded data collection.

In addition to advances in scientific instrumentation, Pasteur would probably also marvel at the ability to communicate almost instantaneously with researchers around the world, and at the equally rapid access to all scientific communications, including his own. I smile at the thought of Louis Pasteur sitting in front of a computer and typing his name into Google. Information and computer technologies are indeed what have most changed our scientific practices. As wonderful as these new possibilities are, I find that I complain more often about this flow of information, the pace of which I cannot control, than I marvel at it. The current competition between the ever-growing number of scientists around the world and the break-neck pace of discovery does not pale in comparison to the fierce competition that existed between Koch and Pasteur. While Pasteur was likely to have read all the microbiological work available to him, it has become difficult for the modern microbiologist to keep up with the publications on his or her specific subject of study alone. However, new sharing and communication tools are emerging, allowing to distinguish important developments from the mass in

which they could drown. Twitter has thus become a gigantic scientific forum; where everyone becomes the editor of his or her own information flow, and where network effects can give instant glory to work posted online a few minutes before. The pace of research thus seems ever more frantic.

3. New frontiers

The systematic organization and interpretation of scientific data, which are accumulating at an ever-increasing rate, requires the use of new tools. Artificial intelligence is thus beginning to make its entry into biology with impressive recent demonstrations. Research teams at companies like Facebook and Google have recently been tackling the problem of modeling proteins and their folding in space. The AlphaFold [23] tool, which predicts the three-dimensional structure of proteins, is thus disrupting our ability to interpret sequencing data by making it easier to identify gene function. This type of tool will be a major asset in deciphering the microbial genetic diversity revealed by sequencing.

The potential of machine learning techniques is not limited to protein modeling. In all areas where data are generated in a massive way, artificial intelligence has a role to play. The prediction of protein folding can in this respect be seen as a special case of one of the central problems of molecular biology, that of predicting the phenotype from the genotype and the environment. Can we predict whether a bacterium is resistant to an antibiotic from its genome sequence? If a coronavirus variant is capable of infecting a bat, a dog or a human? If a strain of *Streptococcus thermophilus* will produce a yogurt with the desired organoleptic properties? If a bacteriophage will be able to effectively kill the bacteria infecting a patient?

All these problems are not as difficult as each other. For those where the genetic determinism is well established and the observations are numerous, solutions are beginning to emerge. This is notably the case for the prediction of antibiotic resistance [24]. An important question for the future of these approaches is to what extent they will be able to reveal the mechanisms underlying their predictions. It is likely that in many circumstances the algorithm will make correct predictions without us understanding why at first. It will then be critical to work

with interpretable algorithms, which can point the researcher to new phenomena and mechanisms. The researcher will also be able to learn from the algorithm's failures to pose new hypotheses and guide the acquisition of new data.

For many problems, however, the acquisition of large data sets will remain impossible. In particular, one of the primary goals of modern microbiology is to deal with the emergence of new diseases. But how can we predict the emergence of a new coronavirus pandemic when documented examples are few and far between? Is it possible to predict evolution? Some researchers are trying, at least in simple experimental evolutionary systems [25] but predicting the evolution of pathogens in nature is a problem of an entirely different magnitude. Future microbiologists may discover promising avenues of thought, but there is no doubt that machine learning techniques will be put to good use for this task as in all areas of microbiology.

The ever finer understanding of the functioning of microorganisms enabled by high-throughput data acquisition coupled with artificial intelligence will go hand in hand with an increased ability to control microorganisms to meet our needs. This other frontier that is opening up to us is that of Synthetic Biology. This field, driven by both academic laboratories and companies like Ginkgo Bioworks, promises to transform a wide range of industries through the genetic programming of microorganisms. The possibilities range from the design and production of new drugs, to the replacement of polluting chemical processes, to the creation of new ingredients for food or feed. The use of microorganisms to propose alternatives to animal products is a particularly interesting application to face the challenges posed by the growth of the human population and its impact on global warming. Some companies have started to produce leghemoglobin by yeast as an ingredient for meat substitutes, or casein for the production of artificial milk. Louis Pasteur, whose research contributed to the improvement of beer and wine production, probably had no idea that similar processes would contribute 150 years later to the production of milk, meat, and even spider silk for the manufacture of new textiles, as proposed by the company Bolt Threads. Some even propose the modification of microorganisms as tools to fight against environmental problems, allowing for the depollution

of soils [26] or even the capture of atmospheric carbon [27].

In the medical field, many laboratories and companies are exploring the possibility of designing new bacteria or bacteriophages capable of modifying our microbiome [28, 29], controlling our immune system to fight cancers [30] or cure infectious diseases [31]. Promising leads already exist, and we can hope that as researchers reveal the mechanisms by which the microbiota influences many diseases, we will be able to propose new therapeutic interventions. This is still an extremely large field of exploration. The number of genes carried by the microorganisms in our body is much larger than that encoded by our own genome, and we do not know the function of the vast majority of these genes. Moreover, we do not have at present genetic manipulation tools for most of these microorganisms, that would allow us to interrogate their functions. The road ahead is therefore still long, and the study of the complex ecosystems of microorganisms that populate our body, their ecology and evolution, their impact on our immune system and on our brain, undoubtedly still holds many surprises in store. The challenge is even greater for the bacteria of terrestrial ecosystems, or for the microbiota of other animals.

Version française

Deux cents ans après la naissance de Louis Pasteur, je saisis ici l'opportunité de cet anniversaire pour tenter d'examiner ce qu'est devenue la microbiologie. Cet exercice me force à ce premier constat : je n'ai ni l'habitude d'écrire en français, ni l'habitude d'écrire à la première personne. C'est pourtant bien dans leur langue maternelle et sous cette forme que Louis Pasteur et ses contemporains s'exprimaient dans les Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Ce passage du national au global, de l'individuel au collectif, est symptomatique des tournants pris par la science moderne, toujours plus internationale et collaborative. L'anglais l'a emporté sur le français de Pasteur ou l'allemand de Koch, et le « nous » sur le « je » dans les publications, reflétant le nombre des expertises et collaborateurs nécessaires à nos travaux. Les valeurs qui sous-tendent cette évolution étaient cependant déjà chères à Louis Pasteur, à qui l'on prête la citation : « La science n'a pas de patrie », et qui a réuni autour de lui de si nombreux collaborateurs au sein

In conclusion, 21st century microbiology remains firmly anchored in its primary goals of improving our understanding of microorganisms for the benefit of humanity. It remains guided by the curiosity of researchers towards an ever more detailed description of the biodiversity of our planet and the mechanisms of life, down to the finest molecular scale. The immense technological progress of the last few years continues to extend the reach of researchers, allowing an accumulation of data that, once screened by artificial intelligence, will be integrated into increasingly powerful predictive models. These models will not only accelerate our understanding of microorganisms and their impacts, but will also allow us to modify them for our needs in an ever more efficient way and by going towards ever more complex modifications. This will only expand the scope of microbiology, which is already ubiquitous and will eventually percolate through all industries, from its core domains such as medicine and food processing to architecture, fashion and the fight against climate change.

Conflicts of interest

The author has no conflict of interest to declare.

de son Institut, de par le monde, et maintenant de par les siècles. La microbiologie moderne s'appuie sur les travaux de ces illustres prédécesseurs mais elle est pourtant aujourd'hui une discipline bien différente de celle qu'ils pratiquaient. Je souhaite examiner ici ce que veut dire être microbiologiste au 21^e siècle en me posant trois questions : Les objectifs de cette discipline sont-ils toujours les mêmes ? Comment les technologies modernes impactent-elles notre démarche scientifique ? Quelles sont les nouvelles frontières de la microbiologie ?

1. Pourquoi étudions-nous les microbes au 21^e siècle ?

Dès sa naissance, la microbiologie avait pour but la compréhension fondamentale des microorganismes, la recherche des mécanismes qui expliquent les maladies infectieuses ou encore la fermentation des aliments. La mise en évidence de ces mécanismes était,

pour des précurseurs comme Pasteur ou Koch, un prérequis à l'amélioration de la santé humaine et animale, et les immenses progrès accomplis au 20^e siècle grâce au progrès de la connaissance en microbiologie leur ont donné raison. Hygiène, antibiotiques et vaccins ont émergé comme les trois piliers qui ont permis de reléguer les maladies infectieuses au second plan des affres humaines, derrière les cancers et maladies cardiovasculaires, du moins dans les pays développés [1]. Ces progrès ne sont en effet pas encore partagés par tous. Les mesures d'hygiène, telles l'eau courante et les sanitaires, qui nous semblent tellement évidentes, ont encore un long chemin à parcourir. Plus de la moitié de la population mondiale n'a toujours pas accès à des sanitaires modernes [2]. Les progrès en la matière relèvent cependant plus du développement économique et des politiques publiques que de la microbiologie, et je ne m'y attarderai donc pas ici, même s'il est important de rappeler qu'aucune recherche ou nouvelle découverte n'est nécessaire à l'amélioration des conditions de vie de ces milliards d'hommes qui vivent encore dénués des bienfaits pratiques des découvertes du siècle dernier.

La microbiologie fondamentale continue néanmoins toujours à jouer le rôle que lui avaient assigné ses précurseurs dans la lutte contre les souffrances humaines. Partout dans le monde, nous faisons face à de nouveaux défis de santé publique, telles la montée des résistances aux antibiotiques et l'émergence de pathogènes comme le SARS-Cov2, qui fait actuellement des millions de morts. La compréhension des mécanismes d'émergence des pathogènes, de leur transmission et des résistances aux antimicrobiens reste donc plus que jamais un des objectifs de la microbiologie moderne. L'étude plus fondamentale des mécanismes de l'immunité, de l'écologie microbienne, de la génétique des microorganismes, de leur interaction avec les cellules humaines ou animales, continue d'informer le développement de nouvelles stratégies prophylactiques, thérapeutiques et de santé publique.

Au-delà des maladies infectieuses, il est maintenant clair que la population de microbes qui peuplent notre corps, notre microbiome, exerce une influence dans de nombreuses autres pathologies : cancers [3], obésité [4], maladies neurologiques [5], maladies auto-immunes [6, 7] etc. A en croire les publications récentes, les microbes semblent jouer un

rôle dans presque toutes les pathologies humaines. Mais des liens solides de cause à effet, tel le rôle de la bactérie *Helicobacter pylori* sur la survenue de cancers gastriques [8], n'ont cependant été établis que dans un nombre limité de cas. Il s'agit d'un champ d'exploration extrêmement complexe et il faudra sans doute quelques décennies avant de réellement comprendre les mécanismes sous-jacents, démêler le vrai du faux, et pouvoir proposer des traitements qui prennent en compte le rôle joué par les microbes. C'est en tout cas l'un des axes majeurs de la microbiologie moderne.

Aujourd'hui comme hier, les microbes ne sont pas étudiés uniquement à cause de leur impact sur notre santé. La microbiologie environnementale a notamment révélé le rôle central joué par les microorganismes dans l'ensemble des écosystèmes, entre autres sur les cycles du carbone et de l'azote, avec un impact sur les activités humaines comme l'agriculture, mais également à l'échelle planétaire. Le meilleur exemple en est sans doute l'augmentation rapide du taux d'oxygène atmosphérique il y a 2 milliards d'années, causé par l'activité de photosynthèse des cyanobactéries [9]. Ce grand événement d'oxydation a entraîné des conséquences dramatiques sur l'évolution de la vie et sur le climat de la terre, façonnant le monde que nous connaissons aujourd'hui. A l'heure du réchauffement climatique, il ne faut pas oublier l'importance de ces microbes, qui sont à la fois producteurs et consommateurs de gaz à effet de serre [10]. L'étude de l'écologie microbienne environnementale et l'incorporation de ces phénomènes dans les modèles climatiques sont donc un enjeu majeur de la microbiologie du 21^e siècle.

Les microorganismes sont également étudiés pour la capacité à transformer la matière et les aliments. Louis Pasteur lui-même s'est intéressé aux microorganismes après avoir observé la consommation sélective de l'un des énantiomères d'une molécule chirale, le tartrate [11]. Il a ensuite vite compris la pertinence d'une approche scientifique de la microbiologie pour l'amélioration des processus de production de nourriture fermentée. Son esprit entrepreneurial l'a même conduit à se lancer dans la production de bière. Aujourd'hui, les entreprises agroalimentaires exploitent un large éventail de techniques et connaissances modernes sur l'écologie, le métabolisme et la génétique des microorganismes qu'elles utilisent pour les besoins de leur

activité. Parfois même, l'industrie contribue à élargir nos connaissances fondamentales, comme l'a montré l'exemple fascinant de la découverte du système immunitaire procaryote connu sous le nom de CRISPR-Cas [12]. En effet, la production industrielle de yaourt requiert la culture de bactéries dans des milliers de litres de lait, qui peuvent être ruinés par des infections de bactériophages, et les industriels sont donc constamment à la recherche de souches bactériennes résistantes à ces virus. C'est en étudiant l'émergence de la résistance chez la bactérie *Streptococcus thermophilus* que des chercheurs de Danisco ont observé la capture de séquences virales par le chromosome de la bactérie, au sein d'un locus bien particulier : le CRISPR. Cette observation, qui n'avait que peu d'importance pour l'industrie des ferments lactiques, fut une contribution majeure à notre compréhension fondamentale des interactions entre les bactéries et leurs virus. L'étude des mécanismes moléculaires de ce système d'immunité adaptative procaryote a ensuite eu une portée allant bien au-delà de la microbiologie fondamentale, avec le développement de nombreux outils biotechnologiques basés sur CRISPR-Cas, couronnés par le prix Nobel de Chimie 2020 [13]. Cette technologie est maintenant employée dans de nouvelles stratégies thérapeutiques dont de premiers patients ont déjà pu bénéficier.

L'exemple de l'étude des systèmes CRISPR-Cas en tant que système immunitaire procaryote montre comment les microbiologistes, de Pasteur à nos jours, ne sont pas uniquement guidés par une vision purement utilitaire de leurs travaux, mais également par leur simple curiosité. Les microorganismes ont été et sont toujours de formidables sujets d'étude pour ce qu'ils nous apprennent des mécanismes de la vie. L'étude des bactéries et des bactériophages a ainsi été au cœur des découvertes des processus fondamentaux du vivant. Les travaux de Griffith et Avery sur les Streptocoques [14], puis de Hershey et Chase sur *E. coli* et ses bactériophages [15] ont mené à la description de l'ADN comme support de l'information génétique. Les travaux de pionniers comme Brenner, Meselson, Jacob ont conduit à la description des ARN messagers, ceux de Crick, Barnett, Watts-Tobin à la description du code génétique, etc. Je ne cite ici que quelques exemples de cette période faste de la microbiologie au 20^e siècle, où l'étude des bactéries et des bactériophages a bouleversé notre

compréhension du vivant en faisant apparaître les mécanismes moléculaires sous-jacents.

La portée quasi universelle des principes découverts aurait fait dire à Jacques Monod : « Tout ce qui est vrai pour la bactérie *Escherichia coli* est vrai pour l'éléphant » [16]. Cette assertion, bien sûr hyperbolique et provocatrice, portait l'idée révolutionnaire de l'existence de mécanismes fondamentaux partagés à l'ensemble du vivant. Un demi-siècle plus tard nous comprenons bien les spécificités des différents domaines du monde vivant. Pourtant, aujourd'hui encore l'étude des bactéries continue de révéler des mécanismes partagés par l'homme et ces microorganismes. Un exemple récent est celui de la description de systèmes antiviraux communs.

L'un de ces systèmes immunitaires repose sur des protéines connues sous le nom de vipérines [17]. Celles-ci convertissent des nucléotides en analogues capables de bloquer la réplication du matériel génétique viral. Chez l'homme, une vipérine confère une activité antivirale contre la Dengue, l'hépatite C ou encore le VIH [18]. Une étude récente menée par Aude Bernheim au sein de l'équipe de Rotem Sorek au Weizmann Institute, a démontré comment les bactéries encodent, elles aussi, des vipérines leur conférant une protection antivirale [17]. Dans une expérience que je trouve particulièrement marquante, la vipérine humaine introduite chez la bactérie *E. coli* lui permet de se défendre contre les bactériophages. Plusieurs milliards d'années après notre séparation évolutive des bactéries, nous conservons donc de nombreux points communs, dont une grande partie reste sans doute encore à découvrir.

2. Comment les technologies modernes impactent-elles notre démarche scientifique ?

Assis devant mon ordinateur à écrire ces lignes, je ne peux qu'imaginer la réaction de Louis Pasteur s'il sortait de sa crypte, au sous-sol du bâtiment qui autrefois abritait ses laboratoires et appartements, pour me rendre visite. Les techniques de culture stérile qu'il a inventées restent toujours au cœur de nos pratiques, même si le plastique a presque partout remplacé le verre, et la flamme a fait place à des hôtes à flux laminaire. Les méthodes d'acquisition de données ont en revanche bien changé : microscopes

optiques, électroniques ou à force atomique rivalisent avec les spectromètres, cytomètres et séquenceurs pour produire toujours plus de données. Les observations et mesures soigneusement enregistrées à la main ont fait place à des bases de données et logiciels d'analyses, et le cahier de laboratoire lui-même est maintenant devenu électronique. L'exploration des données biologiques est devenue une discipline à part entière et de nombreuses découvertes sont faites par des chercheurs qui n'ont jamais touché une pipette.

L'on prête à Sydney Brenner la citation suivante : « Le progrès en science dépend des nouvelles techniques, nouvelles découvertes et nouvelles idées, vraisemblablement dans cet ordre. » Les technologies à notre disposition ont un impact fort sur notre démarche scientifique ainsi que sur les découvertes que nous faisons. Le séquençage de l'ADN joue un rôle tout particulier en nous révélant l'incroyable diversité des microorganismes et leurs relations évolutives. L'émerveillement des bio-informaticiens devant des données de séquençage métagénomique est sans doute comparable à celui d'un Leeuwenhoek observant pour la première fois l'eau d'une flaque au microscope. Ces séquences toujours plus nombreuses restent en grande partie à décrypter, mais combinées à la microbiologie expérimentale et à la génétique, elles nous apprennent déjà beaucoup sur les stratégies que les microbes déploient au cours de leur course sans fin pour survivre et se reproduire. L'incroyable diversité des microorganismes hébergés par notre corps a ainsi été révélée au cours de ces dernières années par des projets tels que l'Human Microbiome Project [19], tandis que l'expédition Tara Ocean continue de cataloguer les organismes et virus qui peuplent nos océans [20].

Outre le regard nouveau que les technologies du séquençage permettent de jeter sur la biodiversité microbienne, l'augmentation du débit et la chute du coût de ces technologies permettent maintenant de suivre la propagation et l'évolution des pathogènes avec une granularité sans précédent. Jamais un pathogène n'avait été aussi bien suivi que le Sars-Cov-2. Nous sommes en train d'observer l'adaptation de ce virus à l'espèce humaine mutation par mutation, en temps réel. Il faudra sans doute aux chercheurs des décennies pour extraire toutes les connaissances possibles de la quantité phénoménale de données générées au cours de ces deux dernières années. Le

séquençage a également joué un rôle clé dans le développement des vaccins. Partout dans le monde, les chercheurs ont ainsi pu commencer à étudier le virus et développer les vaccins dès que sa séquence a été mise en ligne, et ce, avant même l'obtention des échantillons du virus. La vitesse époustouflante avec laquelle les vaccins à ARN ont été développés est par ailleurs la culmination de décennies de recherche fondamentale sur l'ARN, en virologie et en immunologie.

Dans le domaine de la bactériologie, le séquençage permet de pister l'évolution des résistances aux antibiotiques et de décrire les mécanismes sous-jacents. Il est ainsi possible de suivre le développement des résistances à diverses échelles, allant de l'évolution se produisant au sein d'un patient par mutation ou transfert de gène [21], jusqu'à des considérations épidémiologiques mondiales incluant l'homme, les animaux et leur environnement [22].

L'apport des technologies de séquençage va par ailleurs bien au-delà de l'établissement d'un simple catalogue de génomes. Ces dernières décennies ont vu le développement de stratégies toutes plus ingénieuses les unes que les autres pour obtenir, par le truchement du séquençage, des données à haut débit sur l'expression génétique, l'organisation tridimensionnelle des génomes, l'interaction des protéines avec l'ADN, l'ARN, ou d'autres protéines et bien plus encore. Combiné aux approches de protéomique, métabolomique et autres -omiques, c'est toute la biologie qui se fait maintenant de manière systématique et à haut débit. Immérgé dans ces jeux de données, le scientifique aidé par des outils d'analyse y trouve des motifs, relations, corrélations qui l'amènent à formuler de nouvelles hypothèses. Cette démarche dont les technologies sont le moteur a pris une importance qu'elle n'avait sans doute pas pour la microbiologie du 20^e siècle, où la formulation d'hypothèses précédait presque toujours la collecte de données.

Outre les progrès en instrumentation scientifique, Pasteur serait sans doute également émerveillé par la possibilité de communiquer de manière quasi instantanée avec les chercheurs du monde entier, et par l'accès tout aussi rapide à l'ensemble des communications scientifiques, les siennes y comprises. Je souris à l'idée de Louis Pasteur assis devant un ordinateur et tapant son nom sur Google. Les technologies de l'information et de l'informatique sont bien ce qui

a le plus changé nos pratiques scientifiques. Aussi merveilleuses que soient ces nouvelles possibilités, je m'aperçois que je me plains plus souvent de ce flux d'information dont je ne maîtrise pas le rythme que je ne m'en émerveille. La compétition actuelle entre les scientifiques du monde entier, dont le nombre croît sans cesse, et la cadence effrénée des découvertes n'a rien à envier à la compétition féroce qui existait entre Koch et Pasteur. Alors que Pasteur avait vraisemblablement lu l'ensemble des travaux en microbiologie qui lui étaient accessibles, il est devenu difficile pour le microbiologiste moderne de se tenir à jour des publications sur son seul sujet d'étude précis. De nouveaux outils de partage et de communication émergent cependant, permettant tant bien que mal de distinguer les développements importants de la masse dans laquelle ils pourraient se noyer. Twitter est ainsi devenu un gigantesque forum scientifique, où chacun devient l'éditeur de son flux information, et où les effets de réseaux peuvent donner une gloire instantanée à des travaux déposés en ligne quelques minutes auparavant. Le rythme de la recherche paraît ainsi toujours plus effréné.

3. Nouvelles frontières

L'organisation systématique et l'interprétation des données scientifiques qui s'accumulent à un rythme toujours croissant nécessitent de faire appel à de nouveaux outils. L'intelligence artificielle commence ainsi à faire son entrée en biologie avec des démonstrations récentes impressionnantes. Les équipes de recherches d'entreprises comme Facebook et Google se sont récemment intéressées au problème de la modélisation des protéines et de leur repliement dans l'espace. L'outil AlphaFold [23], qui prédit la structure tridimensionnelle des protéines, est ainsi en train de bouleverser notre capacité à interpréter les données de séquençage en facilitant l'identification de la fonction des gènes. Ce type d'outils sera un atout majeur pour décrypter la diversité génétique microbienne révélée par le séquençage.

Le potentiel des techniques d'apprentissage automatique ne se limite pas à la modélisation des protéines. Dans tous les domaines où des données sont générées de manière massive, l'intelligence artificielle a un rôle à jouer. La prédiction du repliement des protéines peut à cet égard être vu comme un cas particulier d'un des problèmes centraux de la

biologie moléculaire, celui de la prédiction du phénotype à partir du génotype et de l'environnement. Peut-on prédire si une bactérie est résistante à un antibiotique à partir de la séquence de son génome ? Si un variant de coronavirus est capable d'infecter une chauve-souris, un chien ou un homme ? Si une souche de *Streptococcus thermophilus* peut produire un yaourt aux propriétés organoleptiques désirées ? Si un bactériophage peut tuer efficacement la bactérie qui infecte un patient ?

Tous ces problèmes ne sont pas aussi ardues les uns que les autres. Pour certains dont le déterminisme génétique est bien établi et les observations nombreuses des solutions commencent à émerger. C'est notamment le cas de la prédiction des résistances aux antibiotiques [24]. Une des questions importantes pour le futur de ces approches est de savoir dans quelle mesure elles seront capables de révéler les mécanismes qui sous-tendent leurs prédictions. Il est probable que dans de nombreuses circonstances l'algorithme fasse des prédictions justes sans que nous comprenions pourquoi au premier abord. Il sera alors critique de travailler avec des algorithmes interprétables, qui pourront pointer le chercheur vers de nouveaux phénomènes et mécanismes. Le chercheur pourra également tirer parti des échecs de l'algorithme pour poser de nouvelles hypothèses et guider l'acquisition de nouvelles données.

Pour de nombreux problèmes cependant, l'acquisition de grands jeux de données restera impossible. En particulier, l'un des objectifs premiers de la microbiologie moderne est de faire face à l'émergence de maladies nouvelles. Mais comment prédire l'émergence d'une nouvelle pandémie de coronavirus alors que les exemples documentés se comptent sur les doigts de la main ? Est-il possible de prédire l'évolution ? Certains chercheurs s'y essaient, du moins dans le cadre de systèmes d'évolution expérimentale simples [25], mais prédire l'évolution des pathogènes dans la nature est un problème d'une tout autre ampleur. De futurs microbiologistes découvriront peut-être des pistes de réflexion prometteuses, mais il ne fait nul doute que les techniques d'apprentissage automatique seront mises à profit pour cette tâche comme dans tous les domaines de la microbiologie.

La compréhension toujours plus fine du fonctionnement des microorganismes permise par l'acquisition de données à haut débit couplée à

l'intelligence artificielle viendra de pair avec une capacité accrue à contrôler les microorganismes pour répondre à nos besoins. Cette autre frontière qui est en train de s'ouvrir à nous est celle de la biologie de synthèse. Ce domaine poussé aussi bien par des laboratoires académiques que par des entreprises comme Ginkgo Bioworks promet de transformer un grand nombre d'industries par la programmation génétique de microorganismes. Les possibilités vont de la conception et production de nouveaux médicaments, au remplacement de procédés chimiques polluants, en passant par la création de nouveaux ingrédients pour l'alimentation humaine ou animale. L'utilisation de microorganismes permettant de proposer des alternatives aux produits d'origine animale est une application particulièrement intéressante pour faire face aux défis posés par la croissance de la population humaine à l'heure du réchauffement climatique. Certaines entreprises se sont ainsi lancées dans la production de lég'hémoglobine par des levures comme ingrédients pour des substituts de viande, ou encore de caséine pour la production de lait artificiel. Louis Pasteur, dont les recherches ont contribué à l'amélioration de la production de bière et de vin, ne se doutait sans doute pas que des procédés similaires contribueraient 150 ans plus tard à la production de lait, de viande, voir même de soie d'araignée pour la fabrication de nouveaux textiles comme proposé par l'entreprise Bolt Threads. Certains proposent même la modification de microorganismes comme outils pour lutter contre des problèmes environnementaux, permettant la dépollution des sols [26] ou encore la capture du carbone atmosphérique [27].

Dans le domaine médical, de nombreux laboratoires et entreprises explorent la possibilité de concevoir de nouvelles bactéries ou bactériophages capables de modifier notre microbiome [28, 29], de contrôler notre système immunitaire pour combattre des cancers [30] ou soigner des maladies infectieuses [31]. Des pistes prometteuses existent déjà, et nous pouvons espérer qu'à mesure que les chercheurs révèlent les mécanismes par lesquels le microbiote influence de nombreuses maladies, nous serons capables de proposer de nouvelles interventions thérapeutiques. Il s'agit là d'un champ d'exploration encore extrêmement vaste. Le nombre de gènes portés par les microorganismes de notre corps est bien plus important que celui encodé par notre propre

génom, et nous ne connaissons pas la fonction de la très grande majorité de ces gènes. De surcroît, nous ne disposons à l'heure actuelle pour la plupart de ces microorganismes d'aucun outil de manipulation génétique qui nous permettrait d'interroger leurs fonctions. La route est donc encore longue, et l'étude des écosystèmes complexes de microorganismes qui peuplent notre corps, de leur écologie et évolution, de leur impact sur notre système immunitaire et sur notre cerveau nous réserve sans doute encore de nombreuses surprises. Le défi est encore plus grand pour les bactéries des écosystèmes terrestres, ou pour les microbiotes d'autres animaux.

Pour conclure, la microbiologie du 21^e siècle reste bien ancrée dans ses objectifs primordiaux d'améliorer notre compréhension des microorganismes pour le bien de l'humanité. Elle reste en cela guidée par la curiosité des chercheurs vers une description toujours plus détaillée de la biodiversité de notre planète et des mécanismes du vivant, allant jusqu'à l'échelle moléculaire la plus fine. Les progrès technologiques immenses de ces dernières années continuent d'étendre la portée des chercheurs, permettant une accumulation des données qui, une fois passée au crible de l'intelligence artificielle, sera intégrée au sein de modèles prédictifs toujours plus puissants. Ces modèles vont à la fois accélérer notre compréhension des microorganismes et de leurs impacts, mais également permettre de les modifier pour nos besoins de manière toujours plus efficace et en allant vers des modifications toujours plus complexes. Ceci ne fera qu'étendre le champ d'action de la microbiologie, qui, déjà omniprésente, finira par percoler toutes les industries, allant de ses domaines de prédilection comme la médecine et l'agroalimentaire jusqu'à l'architecture, la mode et la lutte contre le changement climatique.

Conflit d'intérêt

L'auteur n'a aucun conflit d'intérêt à déclarer.

References

- [1] WHO, "The top 10 causes of death", <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- [2] UNICEF and WHO, *State of the World's Sanitation: An Urgent Call to Transform Sanitation for Better Health, Environments, Economies and Societies*, World Health Organization, United Nations Children's Fund, 2020, 94 pages.

- [3] N. Cullin, C. A. Antunes, R. Straussman, C. K. Stein-Thoeringer, E. Elinav, "Microbiome and cancer", *Cancer Cell* **39** (2021), p. 1317-1341.
- [4] P. J. Turnbaugh, R. E. Ley, M. A. Mahowald, V. Magrini, E. R. Mardis, J. I. Gordon, "An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest", *Nature* **444** (2006), no. 7122, p. 1027-1031.
- [5] M. Valles-Colomer, G. Falony, Y. Darzi, E. F. Tigchelaar, J. Wang, R. Y. Tito, C. Schiweck, A. Kurilshikov, M. Joossens, C. Wijmenga, S. Claes, L. Van Oudenhove, A. Zhernakova, S. Vieira-Silva, J. Raes, "The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression", *Nat. Microbiol.* **4** (2019), p. 623-632.
- [6] T. M. Greiling, C. Dehner, X. Chen, K. Hughes, A. J. Iniguez, M. Boccitto, D. Zegarra Ruiz, S. C. Renfro, S. M. Vieira, W. E. Ruff, S. Sim, C. Kriegel, J. Glanternik, X. Chen, M. Girardi, P. Degnan, K. H. Costenbader, A. L. Goodman, S. L. Wolin, M. A. Kriegel, "Commensal orthologs of the human autoantigen Ro60 as triggers of autoimmunity in lupus", *Sci. Transl. Med.* **10** (2018), no. 434, article no. eaan2306.
- [7] C. Gil-Cruz, C. Perez-Shibayama, A. De Martin, F. Ronchi, K. van der Borgh, R. Niederer, L. Onder, M. Lutge, M. Novkovic, V. Nindl, G. Ramos, M. Arnoldini, E. M. C. Slack, V. Boivin, Jahns, R. Jahns, M. Wyss, C. Mooser, B. N. Lambrecht, M. T. Maeder, H. Rickli, L. Flatz, U. Eriksson, M. B. Geuking, K. D. McCoy, B. Ludewig, "Microbiota-derived peptide mimics drive lethal inflammatory cardiomyopathy", *Science* **366** (2019), p. 881-886.
- [8] J. Parsonnet, G. D. Friedman, D. P. Vandersteen, Y. Chang, J. H. Vogelstein, N. Orentreich, R. K. Sibley, "Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma", *N. Engl. J. Med.* **325** (1991), p. 1127-1131.
- [9] H. D. Holland, "The oxygenation of the atmosphere and oceans", *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* **361** (2006), p. 903-915.
- [10] J. M. Tiedje, M. A. Bruns, A. Casadevall, C. S. Criddle, E. Eloe-Fadrosh, D. M. Karl, N. K. Nguyen, J. Zhou, "Microbes and climate change: a research prospectus for the future", *mBio* **13** (2022), no. 3, article no. e00800-22.
- [11] L. Pasteur, *Euvres. Tome Premier: Dissymétrie moléculaire*, L. Pasteur Vallery-Radot, Paris, Masson, 1922, 480 pages.
- [12] R. Barrangou, C. Fremaux, H. Deveau, M. Richards, P. Boyaval, S. Moineau, D. A. Romero, P. Horvath, "CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes", *Science* **315** (2007), p. 1709-1712.
- [13] H. Ledford, E. Callaway, "Pioneers of revolutionary CRISPR gene editing win chemistry Nobel", *Nature* **586** (2020), p. 346-347.
- [14] C. M. Mc, O. T. Avery, "Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types; effect of desoxyribonuclease on the biological activity of the transforming substance", *J. Exp. Med.* **83** (1946), p. 89-96.
- [15] A. D. Hershey, "Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage", *J. Gen. Physiol.* **36** (1952), p. 39-56.
- [16] M. Morange, "Quarante ans après Jacques Monod", *Études* **414** (2011), p. 331-340.
- [17] A. Bernheim, A. Millman, G. Ofir, G. Meitav, C. Avraham, H. Shomar, M. M. Rosenberg, N. Tal, S. Melamed, G. Amitai, R. Sorek, "Prokaryotic viperins produce diverse antiviral molecules", *Nature* **589** (2021), p. 120-124.
- [18] E. E. Rivera-Serrano, A. S. Gizzi, J. J. Arnold, T. L. Grove, S. C. Almo, C. E. Cameron, "Viperin reveals its true function", *Annu. Rev. Virol.* **7** (2020), p. 421-446.
- [19] L. M. Proctor, H. Creasy, J. M. Fettweiss, J. Lloyd-Price, A. Mahurkar, W. Zhou, G. Buck, M. Snyder, J. Strauss, G. Weinstein, O. White, C. Huttenhower, "The integrative human microbiome project", *Nature* **569** (2019), p. 641-648.
- [20] A. A. Zayed, J. M. Wainaina, G. Dominguez-Huerta, E. Pelletier, J. Guo, M. Mohssen, F. Tian, A. A. Pratama, B. Bolduc, O. Zablocki, D. Cronin, L. Solden, E. Delage, A. Alberti, J.-M. Aury, Q. Carradec, C. Da Silva, K. Labadie, J. Poulain, H.-J. Ruscheweyh, G. Salazar, E. Shatoff, B. Ralf, K. Fredrick, L. S. Kubatko, S. Chaffron, A. I. Culley, S. Sunagawa, J. H. Kuhn, P. Wincker, M. B. Sullivan, "Cryptic and abundant marine viruses at the evolutionary origins of Earth's RNA virome", *Science* **376** (2022), p. 156-162.
- [21] R. León-Sampedro, J. DelaFuente, C. Díaz-Agero, T. Crellen, P. Musicha, J. Rodríguez-Beltrán, C. de la Vega, M. Hernández-García, R.-G. W. S. Group, N. López-Fresneda, P. Ruiz-Garbajosa, R. Cantón, B. S. Cooper, A. San Millán, "Pervasive transmission of a carbapenem resistance plasmid in the gut microbiota of hospitalized patients", *Nat. Microbiol.* **6** (2021), p. 606-616.
- [22] S. A. McEwen, P. J. Collignon, "Antimicrobial resistance: a one health perspective", *Microbiol. Spectr.* **6** (2018).
- [23] J. Jumper, R. Evans, A. Pritzel, T. Green, M. Figurnov, O. Ronneberger, K. Tunyasuvunakool, R. Bates, A. Zidek, A. Potapenko, A. Bridgland, C. Meyer, S. A. A. Kohl, A. J. Ballard, A. Cowie, B. Romera-Paredes, S. Nikolov, R. Jain, J. Adler, T. Back, S. Petersen, D. Reiman, E. Clancy, M. Zielinski, M. Steinegger, M. Pacholska, T. Berghammer, D. Silver, O. Vinyals, A. W. Senior, K. Kavukcuoglu, P. Kohli, D. Hassabis, "Applying and improving AlphaFold at CASP14", *Proteins Struct. Funct. Bioinform.* **89** (2021), p. 1711-1721.
- [24] Y. Ren, T. Chakraborty, S. Doijad, L. Falgenhauer, J. Falgenhauer, A. Goesmann, A.-C. Hauschild, O. Schwengers, D. Heider, "Prediction of antimicrobial resistance based on whole-genome sequencing and machine learning", *Bioinformatics* **38** (2022), p. 325-334.
- [25] M. Lässig, V. Mustonen, A. M. Walczak, "Predicting evolution", *Nat. Ecol. Evol.* **1** (2017), p. 1-9.
- [26] P. Dvořák, P. I. Nikel, J. Damborský, V. de Lorenzo, "Bioremediation 3.0: Engineering pollutant-removing bacteria in the times of systemic biology", *Biotechnol. Adv.* **35** (2017), p. 845-866.
- [27] B. Vögeli, L. Schulz, S. Garg, K. Tarasava, J. M. Clomburg, S. H. Lee, A. Gonnot, E. H. Mouly, B. R. Kimmel, L. Tran, H. Zeleznik, S. D. Brown, S. D. Simpson, M. Mrkisch, A. S. Karim, R. Gonzalez, M. Kopke, M. C. Jewett, "Cell-free prototyping enables implementation of optimized reverse β -oxidation pathways in heterotrophic and autotrophic bacteria", *Nat. Commun.* **13** (2022), article no. 3058.
- [28] M. E. Inda, E. Broset, T. K. Lu, C. de la Fuente-Nunez, "Emerging frontiers in microbiome engineering", *Trends Immunol.* **40** (2019), p. 952-973.
- [29] G. Ramachandran, D. Bikard, "Editing the microbiome the

- CRISPR way”, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* **374** (2019), article no. 20180103.
- [30] D. S. Leventhal, A. Sokolovska, N. Li, C. Plescia, S. A. Kolodziej, C. W. Gallant, R. Christmas, J.-R. Gao, M. J. James, A. Abin-Fuentes, M. Momin, C. Bergeron, A. Fisher, P. F. Miller, K. A. West, J. M. Lora, “Immunotherapy with engineered bacteria by targeting the STING pathway for anti-tumor immunity”, *Nat. Commun.* **11** (2020), article no. 2739.
- [31] D. Bikard, C. W. Euler, W. Jiang, P. M. Nussenzweig, G. W. Goldberg, X. Duportet, V. A. Fischetti, L. A. Marraffini, “Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials”, *Nat. Biotechnol.* **32** (2014), p. 1146-1150.