

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE LARBI BEN M'HIDI OUM EL BOUAGHI
FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**



Plasticité du génome microbien

Destiné aux étudiants de 2^{ème} année Master Microbiologie

Dr. BENSLAMA Ouided
Maitre de conférences A

2019-2020

TABLE DE MATIERES

Chapitre 1. Plasticité du génome bactérien, moteur de l'évolution	1
1. Concept de l'évolution : macroévolution et microévolution	2
1.1. Exemple de microévolution	3
1.1.1. Formation de biofilm par <i>Staphylococcus epidermidis</i>	3
1.2. Exemple de macroévolution	4
1.2.1. Dynamique de la taille du génome bactérien : théorie de la réduction	4
Références bibliographiques	7
Chapitre 2. Organisation du génome bactérien	9
1. Diversité structurale du génome bactérien	10
2. Le chromosome bactérien, une structure hautement organisée	12
Références bibliographiques	13
Chapitre 3. Mécanismes de plasticité du génome bactérien	14
1. Mutations ponctuelles	15
1.1. Conséquences des mutations ponctuelles	16
2. Réarrangements génomiques	17
2.1. Mécanismes de réarrangements	17
2.1.1. Recombinaison homologue	17
2.1.1.1. Déroulement et étapes catalytiques de la recombinaison homologue	18
2.1.2. Recombinaison non homologue (illégitime)	21
2.1.3. Recombinaison site-spécifique	22
2.1.3.1. Déroulement et étapes catalytiques de la recombinaison site-spécifique	23
2.2. Types de réarrangements et leurs effets	25
2.2.1. Insertion	26
2.2.2. Délétion	27
2.2.3. Inversion	27
2.2.4. Duplication	29
3. Transfert génétique horizontal	30
3.1. Transformation	30
3.1.1. Déroulement de la transformation	31

3.2. Conjugaison	34
3.2.1. Plasmide conjugatif	34
3.2.2. Déroulement de la conjugaison	35
3.3. Transduction	38
3.3.1. Transduction généralisée	39
3.3.2. Transduction spécialisée	40
Références bibliographiques	42
Chapter 4. Éléments génétiques mobiles	47
1. Organisation du génome bactérien	48
2. Éléments génétiques mobiles (MGE) : le mobilome	49
2.1. Séquences d'insertion (IS)	50
2.1.1. Organisation	50
2.1.2. Mécanisme d'action	51
2.1.2.1. Transposition répllicative	52
2.1.2.2. Transposition non répllicative	53
2.1.3. Impact de la transposition des éléments IS	55
2.1.3.1. Inactivation des gènes	55
2.1.3.2. Augmentation de l'expression génique	57
2.1.3.3. Création de promoteurs hybrides	58
2.2. Transposons composites	59
2.3. Transposons non composites	60
2.3.1. Transposon Tn3	60
2.3.1.1. Organisation	61
2.3.1.2. Mécanisme moléculaire de la transposition	62
2.3.1.3. Immunité de la cible du transposon Tn3	64
2.3.2. Transposon Tn7	65
2.3.2.1. Structure du Tn7	65
2.3.2.2. Principales protéines de la transposition du Tn7	66
2.3.2.3. Voie de transposition médiée par TnsD	68
2.3.2.4. Voie de transposition médiée par TnsE	69
2.4. Intégrons	72
2.4.1. Structure de l'intégron	72
2.4.2. Structure des cassettes	73
2.4.3. Expression des cassettes	74
2.4.4. Mobilité des cassettes	75
2.5. Ilots génomiques	76
2.5.1. Caractéristiques des ilots génomiques	77
2.5.2. Ilots de pathogénicité (PAI)	79
2.5.3. Ilots de résistance aux antibiotiques	80
2.6. Éléments intégratifs conjugatifs (ICE)	80
2.6.1. Structure modulaire des ICE	81

2.6.2. Intégration et excision des ICE	82
2.6.3. Stratégies de dissémination des ICE	83
Références bibliographiques	86
Chapitre 5. Réponse SOS et mutagenèse	94
1. Stress environnemental et réponse SOS	95
2. Déroulement et base moléculaire de la réponse SOS	95
2.1. Signal inducteur de la réponse SOS	95
2.2. Mécanismes de la réparation	98
2.2.1. Réparation par excision de nucléotides (NER)	98
2.2.2. Réparation par recombinaison homologue	101
2.2.3. Synthèse translésionnelle (TLS): la mutagenèse	103
2.3. Chronologie de déclenchement des processus de la réparation SOS	107
3. Conséquences de la réponse SOS sur la plasticité du génome bactérien	108
Références bibliographiques	111

AVANT-PROPOS

L'idée de ce polycopié est née de l'expérience d'enseigner le cours de plasticité du génome bactérien à l'université de Larbi Ben M'Hidi à Oum El Bouaghi pour les étudiants de deuxième année Master de microbiologie. Ce polycopié est en réalité une collection de notes de cours que j'ai essayé de développer, en se basant sur des revues et des travaux pertinents dans la discipline de la plasticité du génome bactérien, et de les rassembler afin de les rendre accessibles à un public plus large. Il fournit une vue d'ensemble et une introduction au domaine de la plasticité du génome bactériens en se focalisant sur les mécanismes et les conséquences biologiques des réarrangements génomiques chez les bactéries.

La variation génétique entre les micro-organismes existe non seulement au niveau des gènes individuels mais également au niveau de la taille et de l'organisation du génome. Elle peut affecter non seulement le contenu général du génome ou les propriétés intrinsèques des produits géniques, mais également les modèles d'expression génique. Par conséquent, la plasticité du génome peut contribuer à l'adaptation microbienne en réponse aux conditions environnementales changeantes.

Un des objectifs primordiaux de l'étude de la plasticité du génome bactérien est l'exploitation de cette plasticité afin d'augmenter notre connaissance des mécanismes impliqués dans l'évolution et l'adaptation des bactéries, ainsi que pour la mise au point de diagnostics précis et d'interventions thérapeutiques opportunes contre les agents microbiens pathogènes.

Dr. BENSLAMA Ouided

1

**Plasticité du génome bactérien :
moteur de l'évolution**

1. Concepts de l'évolution : macroévolution et microévolution

Les premiers micro-organismes sont apparus sur Terre il y a plus de trois milliards d'années. À mesure que les êtres humains se sont développés au cours des 1,5 million d'années écoulées, des agents pathogènes strictement humains peuvent être considérés comme de très jeunes microbes. Néanmoins, le développement évolutif est également observé chez ces microbes (**Morschhäuserl *et al.*, 2000**).

Le concept d'évolution est essentiel à la compréhension des changements du génome microbien depuis l'apparition de la vie sur la Terre, ainsi que des questions modernes telles que le développement de la résistance aux antibiotiques. L'évolution des populations microbiennes peut être gérée par un certain nombre de processus notamment la sélection naturelle (**Koskinieni, 2010**).

Le processus fondamental de l'évolution par la sélection naturelle a été reconnu pour la première fois par Darwin lorsqu'il l'a décrit dans son «Origine de l'espèce» il y a 150 ans. La sélection naturelle agit sur les individus ayant des traits génétiques variables, en sélectionnant ceux qui sont les plus aptes à la survie dans chaque situation spécifique. L'opposé de la sélection naturelle et le deuxième processus évolutif majeur est le hasard (c'est-à-dire la dérive génétique). Alors que la sélection naturelle détermine l'individu le plus apte à la survie dans une population, le hasard déterminera tout individu aléatoire, indépendamment de sa forme physique (**Koskinieni, 2010**).

Un processus évolutif qui se déroule à long terme (sur des millions d'années) et conduit à la formation de nouvelles espèces ou sous-espèces est considéré comme une macroévolution (**Morschhäuserl *et al.*, 2000 ; Ziebuhr *et al.*, 1999b**). En revanche, les processus de microévolution prennent des jours, voire des semaines. En conséquence de la microévolution, de nouvelles variantes d'une espèce ou d'une sous-espèce donnée sont générées (**Morschhäuserl *et al.*, 2000**). Les éléments génomiques mobiles tels que les séquences d'insertion (IS) ou les transposons jouent un rôle clé dans la microévolution. La microévolution est extrêmement importante pour la pathogenèse des maladies infectieuses (**Morschhäuserl *et al.*, 2000**).

1.1. Exemple de microévolution

1.1.1. Formation de biofilm par *Staphylococcus epidermidis*

La formation de biofilm de staphylocoques sur du matériel médical en plastique est un caractère codé par l'opéron *icaADBC* (Heilmam *et al.*, 1996). Lors de l'activation de cet opéron, un polysaccharide d'adhésion intercellulaire (PIA) est synthétisé et intervient dans la production de biofilm. Il semble que cette capacité génétique est largement répandue parmi les isolats cliniques de *S. epidermidis* (Ziebuhr *et al.*, 1997). En revanche, elle est rarement observée dans les souches saprophytes de la muqueuse saine. En ce qui concerne *S. aureus*, il a été constaté que tous les isolats, quelle que soit leur origine, contiennent les gènes *ica* (Morschhéuserl *et al.*, 2000). Cependant, seules très peu de souches expriment l'opéron et, par conséquent, la plupart des souches de *S. aureus* sont biofilm négatif *in vitro*. Outre ces différences génétiques, il a été rapporté que la synthèse de PIA subit un processus de variation de phase dans les souches productrices de biofilm qui est, dans un nombre important de clones, provoqué par l'insertion et l'excision alternés de l'élément génétique mobile IS256 dans/à partir de site de l'opéron *ica* (Ziebuhr *et al.*, 1999a). Cette étude a également révélé le caractère réversible de cette transposition. Ainsi, après le passage vers le phénotype PAI-négatif, le phénotype formateur de biofilm pourrait être restauré par l'excision complète de l'IS256 (Ziebuhr *et al.*, 1999a).

L'arrêt de la production de PIA permet à des cellules bactériennes uniques de se détacher du biofilm et de se disséminer dans de nouveaux habitats. Un éventuel retour en arrière au phénotype producteur de biofilm rendrait à nouveau la souche capable de former de nouveaux biofilms sur des surfaces appropriées. Les données suggèrent que la plasticité génétique de cet agent pathogène contribue à son adaptation réussie aux conditions environnementales changeantes et pourrait donc être impliquée dans la persistance et la récurrence d'une infection (Morschhéuserl *et al.*, 2000).

1.2. Exemple de macroévolution

1.2.1. Dynamique de la taille du génome bactérien : théorie de la réduction

La taille des génomes bactériens varient considérablement. Le plus petit et le plus grand génome bactérien connu à ce jour sont le génome archéen du *Candidatus Parvarchaeum acidiphilum* (45 kb) obtenu d'un projet de métagénome (**Fujishima et al., 2011**), et le génome de *Sorangium cellulosum* (14,7 Mb) (**Han et al., 2013**), respectivement. En dépit de cette variation de taille, les génomes bactériens de toutes tailles sont généralement très chargés en gènes et contiennent peu de matériel génétique non codant contrairement aux eucaryotes (**Cole et al., 2001**). Certaines exceptions notables incluent les bactéries pathogènes et les endosymbiotes. Exemple de l'espèce *Mycobacterium leprae* qui présente un pourcentage significativement plus élevé de pseudogènes par rapport aux gènes fonctionnels codant pour des protéines connues (~40%) (**Cole et al., 2001**). Les études ont depuis montré que plusieurs bactéries avaient un génome plus petit que leurs ancêtres (**Ochman, 2005**). En outre, entre les espèces de bactéries, la taille du génome varie relativement peu par rapport à celle des autres grands groupes (**Gregory, 2005**). Contrairement aux eucaryotes, chez les bactéries, il existe une forte corrélation entre le nombre de gènes et la taille du génome (**Kuo et al., 2009**).

En général, les bactéries intracellulaires hébergent des génomes plus petits que leurs parents vivant librement. Le séquençage des génomes montre que les bactéries parasites ont 500 à 1200 gènes, les bactéries libres, entre 1500 et 7500 gènes, et les archées, entre 1500 et 2700 gènes (**Gregory, 2005**). La relation entre les styles de vie des bactéries et la taille du génome soulève des questions quant aux mécanismes de l'évolution du génome bactérien. Les chercheurs ont développé plusieurs théories pour expliquer les modèles d'évolution de la taille du génome chez les bactéries.

- **Niche écologique: la vie intracellulaire**

Les tendances générales de l'évolution bactérienne indiquent que les bactéries ont commencé comme des organismes libres. Les chemins évolutifs ont amené certaines bactéries à devenir des agents pathogènes et des symbiotes (**Moran, 2002**). Les modes de vie des bactéries jouent un rôle essentiel dans la taille de leurs génomes respectifs (**Ochman et Davalos, 2009**) :

- Les bactéries libres ont les génomes les plus importants parmi les trois types de bactéries. Elles ont le génome le moins chargé en pseudogènes.
- Les bactéries pathogènes facultatives et celles qui ont récemment acquis le caractère de pathogénicité présentent un génome plus petit que les bactéries libres, mais elles ont plus de pseudogènes que toute autres forme de bactéries.
- Les symbiotes et les agents pathogènes bactériens obligatoires ont les plus petits génomes et le moins de pseudogènes des trois groupes.

Lorsqu'elles passent de cycles de vie en liberté ou de parasitisme facultatif à une vie dépendante de l'hôte permanente, les bactéries vivent librement dans le cytoplasme cellulaire et ont un accès illimité à la plupart des nutriments nécessaires à la croissance, ce qui diminue la pression de sélection naturelle sur de nombreux gènes métaboliques bactériens, entraînant l'inactivation de ces gènes par mutation et ensuite leur perte sans affecter l'intégralité physique des cellules bactériennes. Les bactéries perdent alors une grande quantité de leur génome (**Moran, 2002**).

Un autre facteur affectant le contenu génomique des bactéries intracellulaires est le manque de transfert de gène horizontal. À l'intérieur de la cellule eucaryote, il est peu probable que les bactéries individuelles reçoivent le matériel génétique d'autres bactéries, à l'exception de leurs parents les plus proches, qui contiennent un matériel génétique plus ou moins identique. Il en résulte un cliquet où l'ADN perdu n'est pas récupérable car la cellule ne peut pas reconstruire les régions supprimées par transfert latéral (**Koskinieni, 2010**).

- **Evolution réductrice (minimisation)**

Les mycoplasmes et les bactéries apparentées se situent à l'extrême limite de la plage des tailles des génomes avec une taille ne dépassant pas 530 kb (**Moran, 2002**). On pensait auparavant que la petite taille du génome de ces bactéries reflétait un état évolutif primitif à l'origine des espèces libres vivant avec des génomes plus grands (**Moran, 2002**). Le séquençage de nombreux génomes bactériens a montré que cette hypothèse est erronée. Les données de séquençage impliquent plutôt que les plus petits génomes d'agents pathogènes intracellulaires et d'endosymbiotes ont évolué à partir d'espèces libres plus grandes (**Koskinieni, 2010 ; Andersson, 1998**). La phylogénétique moléculaire a révélé que chaque clade de bactéries dont la taille du

génomique était inférieure à 2 Mb était dérivé d'ancêtres dotés de génomes beaucoup plus volumineux (**Ochman, 2005**).

Les bactéries dépendantes de l'hôte sont capables de fournir de nombreux composés nécessaires au métabolisme à partir du cytoplasme ou du tissu de l'hôte. Ils peuvent, à leur tour, se défaire de leurs propres voies de biosynthèse et de leurs gènes associés (**Moran, 2002**). Cette élimination explique de nombreuses pertes de gènes spécifiques. Par exemple, de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme énergétique sont éliminés des espèces *Rickettsia* et *Mycoplasma* qui peuvent compter sur la disponibilité constante de substrats énergétiques particuliers provenant de leurs hôtes (**Moran, 2002**). L'espèce *Buchnera aphidicola* constitue une exception car elle a conservé 54 gènes de la biosynthèse d'acides aminés cruciaux, mais n'a plus de voies pour les acides aminés que l'hôte peut synthétiser lui-même. Car ce mutualisme repose sur l'approvisionnement en hôtes des acides aminés essentiels (**Shigenobu et al., 2000**).

Les produits des gènes impliqués dans la réplication, la transcription, la traduction ainsi que la réparation du matériel génétique sont les produits les plus importants pour toute cellule vivante.

Références bibliographiques

1. Andersson DI., Slechta ES., Roth JR. (1998). "Evidence that gene amplification underlies adaptive mutability of the bacterial lac operon." *Science*. 282(5391): 1133-5.
2. Cole ST., Eiglmeier K., Parkhill J., James KD., Thomson NR., Wheeler PR., *et al.*, (2001). "Massive gene decay in the leprosy bacillus". *Nature*. 409 (6823): 1007–1011.
3. Fujishima K., Sugahara J., Miller CS., Baker BJ., Di Giulio M., Takesue K., Sato A., *et al.* (2011). A novel three-unit tRNA splicing endonuclease found in ultrasmall *Archaea* possesses broad substrate specificity. *Nucleic Acids. Res.* 39(22):9695-704.
4. Gregory TR. (2005). "Synergy between sequence and size in Large-scale genomics". *Nature Reviews Genetics*. 6 (9): 699–708
5. Han K., Li ZF., Peng R., Zhu LP., Zhou T., Wang LG., Li SG., *et al.* (2013). "Extraordinary expansion of a *Sorangium cellulosum* genome from an alkaline milieu". *Scientific Reports*. 3: 2101
6. Heilmann C., Schweitze O., Gerke C., Vanittanakom N., Mack D., Gotz F. (1996). Molecular basis of intracellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Mol. Microbiol.* 20: 1083-1091
7. Koskinieni S. (2010). Dynamics of the bacterial genome. Rates and mechanisms of mutation. *Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the faculty of medicine*. 5.9.56 pp.
8. Kuo CH., Moran NA., Ochman H. (2009). "The consequences of genetic drift for bacterial genome complexity". *Genome Research*. 19 (8): 1450–1454.
9. Moran NA. (2002). Microbial Minimalism: Genome Reduction in Bacterial Pathogens. *Cell*. Volume 108, Issue 5. p8.
10. Morschhäuser J., Kühlerl K., Ziebuhr W., Blum-Oehler G., Dobrindt U., Hacker J. (2000). Evolution of microbial pathogens. *Phil. mag. R. Soc. Land. B.* 355: 695-704.
11. Ochman H. (2005). "Genomes on the shrink". *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102 (34): 11959–11960.
12. Ochman H., Davalos LM. (2006). "The Nature and Dynamics of Bacterial Genomes". *Science*. 311 (5768): 1730–1733.
13. Ochman H., Lerat E., Daubin V. (2005). Examining bacterial species under the specter of gene transfer and exchange. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 102 (Suppl.1): 6595-6599.
14. Shigenobu S., Watanabe H., Hattori M., Sakaki Y., Ishikawa H. (2000). Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. *Nature*. 407: 81–86.
15. Ziebuhr W., Heilmann C., Gotz F., Meyer P., Wilms K., Straube E., Hacker J. (1997). Detection of the intercellular adhesion gene cluster (*ica*) and phase variation in *Staphylococcus epidermidis* blood strains and mucosal isolates. *Infect. Immun.* 65:890-896.
16. Ziebuhr W., Krimmer V., Rachid S., Lobner I., Gotz F., Hacker J. (1999a). A novel mechanism of phase variation virulence in *Staphylococcus epidermidis*:

evidence for control of the polysaccharide intercellular adhesion synthesis by alternating insertion and excision of the insertion sequence element IS256. *Mol. Microbiol.* 32: 345-356.

17. Ziebuhr W., Ohlsen K., Karch H., Korhonen T., Hacker J. (1999b). Evolution of bacterial pathogenesis. *Cell Mol. Life Sci.* 56: 719–728.

2

Organisation du génomme bactérien

1. Diversité structurale du génome bactérien

En 1963, John Cairns a rapporté des autoradiographies d'ADN d'*Escherichia coli* qui ont fourni la première preuve que son génome est constitué d'un seul chromosome circulaire (**diCenzo et Finan, 2017**). Les études ont ensuite montré que la majorité des bactéries présente la quasi-totalité de leurs gènes sur une molécule d'ADN circulaire unique, avec la présence éventuelle de molécules extra-chromosomiques circulaires plus petites appelées plasmides codant pour des caractères génomiques supplémentaires (**diCenzo et Finan, 2017**).

Cependant, on a découvert plus tard qu'il existe des variantes à ce schéma, remettant en cause la notion d'un génome composé d'une molécule d'ADN circulaire unique, avec la détermination de la présence d'un chromosome linéaire chez *Borrelia burgdorferi* (**Baril et al., 1989**) ; l'identification de plusieurs chromosomes chez *Vibrio cholerae* (**Heidelberg et al., 2000**), ainsi que la découverte d'un second chromosome dans *Rhodobacter sphaeroides* (**Suwanto et Kaplan, 1989**); ou encore l'identification du plasmide linéaire dans le genre *Streptomyces* (**Hayakawa et al., 1979**) et le mégaplasmide de 460kb chez *Sinorhizobium meliloti* (**Rosenberg et al., 1981**).

En plus du chromosome principal, le génome bactérien peut contenir un ou plusieurs d'autres molécules qu'on appelle « réplicon ». Le terme réplicon désigne toute molécule d'ADN, quelle que soit sa nature pouvant se répliquer à partir d'une origine de réplication, et chaque réplicon peut en outre être classé en fonction de ses caractéristiques dans l'un des quatre groupes suivants: chromosome, second chromosome ou chromide, mégaplasmide et plasmide (**diCenzo et Finan, 2017** ; **Harrison et al., 2010**). Chacune de ces molécules a des propriétés distinctes, telles que des différences dans l'utilisation des codons, le contenu en GC et l'abondance relative en dinucléotides (la fréquence à laquelle chaque paire de nucléotides apparaît dans la séquence d'ADN) (**diCenzo et Finan, 2017**).

Le chromosome. Le chromosome fait référence au réplicon primaire. C'est toujours le réplicon le plus grand du génome et contient la majorité des gènes essentiels (gènes cores) (**diCenzo et Finan, 2017** ; **Harrison et al., 2010**).

Le second chromosome (chromide). Dans une bactérie contenant plus d'un chromosome, le chromosome le plus grand codant pour la plupart des gènes essentiels

hautelement exprimés est le chromosome principal. Les chromosomes plus petits sont appelés chromosomes secondaires ou « chromides » (**Harrison et al., 2010**) et varient considérablement en taille et en persistance dans les lignées bactériennes (**Touchon et Rocha, 2016**). Le terme chromide lui-même est une combinaison de chromosome et de plasmide (**diCenzo et Finan, 2017 ; Harrison et al., 2010**) et souligne le fait que ce terme désigne un réplicon qui est un intermédiaire entre un plasmide et un chromosome (**Harrison et al., 2010**). Les systèmes de répllication des chromides sont similaires à ceux des plasmides et des mégaplasmides (**Harrison et al., 2010**). Toutefois, contrairement aux plasmides et aux méga-plasmides, les chromides portent au moins un gène essentiel à la viabilité cellulaire (c'est-à-dire un gène central dont la perte entraînerait la mort cellulaire) et possèdent généralement des signatures génomiques qui ressemblent davantage à celles du chromosome (**diCenzo et Finan, 2017 ; Harrison et al., 2010**).

Les génomes du genre *Burkholderia* portent un, deux ou trois chromosomes, ce qui suggère des changements rapides dans l'architecture du génome (**Mahenthiralingam et al., 2005**). D'autre part, *Vibrio* portent deux chromosomes de taille très différente (**Okada et al., 2005**). Les raisons de l'existence de plusieurs chromosomes ne sont pas claires. Les gènes des chromosomes secondaires sont acquis et perdus à des vitesses plus élevées que celles des chromosomes plus grands. Cela a conduit à suggérer que les réplicons secondaires pourraient favoriser l'évolutivité (**Touchon et Rocha, 2016**).

Les plasmides et les mégaplasmides. Les plasmides sont les réplicons extra-chromosomiques les plus courants et certains génomes contiennent plus de 20 de ces éléments (**Casjens et al., 2000**). Les plasmides sont des réplicons qui portent des gènes pour leur propagation et leur maintenance dans la cellule, mais aussi des gènes d'adaptabilité de l'hôte dont la majorité ont été acquis grâce à un transfert horizontal de gènes (HGT) (**diCenzo et Finan, 2017 ; Touchon et Rocha, 2016**).

Les plasmides ne portent pas de gènes centraux et ne sont pas essentiels et sont donc indispensables à la viabilité des cellules dans la plupart des environnements (**diCenzo et Finan, 2017 ; Touchon et Rocha, 2016**). La signature génomique des plasmides, telles que le contenu en GC et la composition en dinucléotides, diffèrent

significativement de celle du chromosome (**diCenzo et Finan, 2017 ; Harrison et al., 2010**).

Il n'existe pas de distinction très nette entre les grands plasmides (méga-plasmides) et les chromosomes secondaires. Mais les réplicons ne devraient être nommés plasmides que lorsqu'ils manquent de gènes essentiels (**Touchon et Rocha, 2016**). La distinction entre plasmide et mégaplasmide est basée uniquement sur la taille, une limite inférieure de 350 kb pour le statut de mégaplasmide a été suggéré (**diCenzo et Finan, 2017**).

2. Le chromosome bactérien, une structure hautement organisée

L'organisation du génome bactérien n'est pas stochastique, mais son organisation reflète un objectif fonctionnel ou réglementaire (**diCenzo et Finan, 2017**). Par exemple, les enzymes impliquées dans la même voie métabolique sont généralement codées par un seul opéron et sont souvent co-localisées sur le chromosome où leur gènes sont transcrits et régulés simultanément (**Rocha, 2008**).

Au fur et à mesure que la réplication progresse, les régions de l'ADN sont dans différents états de réplication et sont séparées en fonction de la croissance des septa à divisions multiples. Par conséquent, la réplication, la ségrégation et la division cellulaire sont étroitement liés (**Touchon et Rocha, 2016**).

Les cellules en croissance exponentielle supportent une expression génétique intense et les collisions entre la fourche de réplication rapide et les ARN polymérase relativement plus lentes sont fréquentes (**Touchon et Rocha, 2016 ; Rocha, 2004**). Ces collisions peuvent perturber à la fois la transcription et la réplication, affectant ainsi potentiellement tous les autres processus cellulaires. Les collisions peuvent entraîner l'effondrement de la fourche. Ce dernier cause des cassures dans la molécule d'ADN ce qui déclenche la réponse SOS qui elle-même peut déclencher le transfert d'éléments génétiques mobiles vers d'autres cellules, modifiant ainsi leurs répertoires de gènes (**Touchon et Rocha, 2016**). Les associations entre tous ces processus cellulaires à travers leurs interactions avec le chromosome ont pour résultat une sélection naturelle rigoureuse pour l'organisation du génome (**Touchon et Rocha, 2016**).

Références bibliographiques

1. Baril C., Richaud C., Baranton G., Saint Girons I. (1989). Linear chromosome of *Borrelia burgdorferi*. Res. Microbiol. 140:507–516.
2. Casjens S., Palmer N., van Vugt R., Huang WM., Stevenson B., Rosa P., Lathigra R., *et al.* (2000). A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. Mol. Microbiol. 35(3):490-516.
3. diCenzo GC., Finan TM. (2017). The divided bacterial genome: structure, function, and evolution. Microbiol Mol Biol. Rev 81:e00019-17.
4. Harrison PW., Lower RP., Kim NK., Young JP. (2010). Introducing the bacterial 'chromid': not a chromosome, not a plasmid. Trends Microbiol. 18(4):141-8.
5. Hayakawa T., Tanaka T., Sakaguchi K., Ōtake N., Yonehara H. (1979). A linear plasmid-like DNA in *Streptomyces* sp. producing lankacidin group antibiotics. J. Gen. Appl. Microbiol. 25:255–260.
6. Heidelberg JF., Eisen JA., Nelson WC., Clayton RA., Gwinn ML., Dodson RJ., Haft DH., *et al.* (2000). DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. Nature. 406:477–483.
7. Mahenthiralingam E., Urban TA., Goldberg JB. (2005). The multifarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. Nat. Rev. Microbiol. 3(2):144-56.
8. Okada K., Iida T., Kita-Tsukamoto K., Honda T. (2005). *Vibrios* commonly possess two chromosomes. J. Bacteriol. 187(2):752-7.
9. Rocha EPC. (2004). The replication-related organization of bacterial genomes. Microbiology. 150:1609–1627.
10. Rocha EPC. (2004). The replication-related organization of bacterial genomes. Microbiology. 150:1609–1627.
11. Rocha EPC. (2008). The organization of the bacterial genome. Annu. Rev. Genet. 42:211–233.
12. Rosenberg C., Boistard P., Dénarié J., Casse-Delbart F. (1981). Genes controlling early and late functions in symbiosis are located on a megaplasmid in *Rhizobium meliloti*. Mol. Gen. Genet. 184:326–333.
13. Suwanto A., Kaplan S. (1989). Physical and genetic mapping of the *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1 genome: presence of two unique circular chromosomes. J. Bacteriol. 171:5850–5859.
14. Touchon M., Rocha EP. (2008). From GC skews to wavelets: a gentle guide to the analysis of compositional asymmetries in genomic data. Biochimie. 90(4):648-59.
15. Touchon M., Rocha EPC. (2016). Coevolution of the Organization and Structure of Prokaryotic Genomes. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 8(1): a018168.

3

Mécanismes de plasticité du génome bactérien

Les mutations ponctuelles, les réarrangements génétiques, la recombinaison entre les sites d'ADN homologues et l'action des éléments génétiques transposables sont des mécanismes majeurs par lesquels la plasticité du génome est obtenue. La capture et la propagation de gènes par transfert horizontal de gène impliquant des plasmides, des phages et d'autres éléments mobiles contribuent également à ce processus. Enfin, le regroupement de gènes sur de grandes îlots génomiques et leur mobilisation permettent aux bactéries de gagner ou de perdre d'énormes quantités d'ADN impliquées dans l'adaptation à des niches écologiques distinctes (**Ziebuhr *et al.*, 1999**).

1. Mutations ponctuelles

Les mutations ponctuelles sont considérées comme des forces motrices dans un processus évolutif lent (**Ziebuhr *et al.*, 1999**). Les mutations ponctuelles comprennent la substitution d'un nucléotide par un autre (souvent appelé polymorphisme d'un nucléotide simple [SNP]) ou l'insertion ou la délétion d'un nucléotide unique (**Bryant *et al.*, 2012**).

Lorsque l'ADN Pol III synthétise un nouveau brin d'ADN, il peut arriver qu'un nucléotide soit mal apparié, ajouté ou omis (**Watford et Warrington, 2019 ; Goodman, 2000**). Ainsi, une mutation ponctuelle se produira. Deux dysfonctionnements distincts peuvent survenir dans la machinerie de réplication de l'ADN pour que cela se produise (**Kreuzer, 2013**):

- DNA pol III ajoute une base nucléotidique complémentaire incorrecte sur le brin fils.
- L'activité de relecture et correction ne suffit pas pour ralentir la partie polymérase de l'ADN polymérase, de sorte que l'exonucléase puisse éliminer le mauvais appariement.

Les mutations les plus simples sont les changements de base, où une base est convertie en une autre. Ceux-ci peuvent être classés comme suit:

- **Transition** : où une purine est remplacée par une autre purine (A -> G, par exemple), ou une pyrimidine par une autre pyrimidine (par exemple, T -> C).
- **Transversion** : dans lesquelles une purine est substituée par une pyrimidine ou une pyrimidine est substituée par une purine (Par exemple, A -> C).

Un autre type simple de mutation est le gain ou la perte d'une ou de quelques bases. Les loci avec un grand nombre de nucléotides à répétition courte sont prédisposés au glissement de la polymérase. Lors de la réplication, l'ADN Pol III se dissocie temporairement du brin matrice, elle peut déplacer quelques répétitions en amont ou en aval de son locus d'origine. Un mauvais appariement de ce fragment glissé peut entraîner des mutations d'insertion/délétion, car certains nucléotides sont répliqués deux fois, tandis que d'autres ne se répliquent pas (**Watford et Warrington, 2019**). Une insertion ou une délétion d'un nucléotide simple dans des séquences codant une protéine entraînera un décalage du cadre de lecture concernant tous les codons en aval, y compris le codon stop. Ce qui causera une traduction à partir d'un cadre de lecture différent, conduisant à une altération significative de la protéine codée (**Bryant et al., 2012**).

1.1. Conséquences des mutations ponctuelles

Une mutation ponctuelle peut être (**Fan et Chu, 2007; Morschhäuser et al., 2000**) :

- **Silencieuse** ou même-sens : lorsqu'elle est introduite dans la séquence codante d'un gène sans modifier la séquence d'acides aminés du produit du gène.
- **faux-sens** ou missens : si elle entraîne un changement d'acides aminés, dans ce cas une protéine modifiée en sera la conséquence. Alternativement, de telles mutations peuvent également se produire dans des régions régulatrices, affectant ainsi l'expression du gène respectif.
- **non-sens** : lorsqu'un codon d'arrêt mutant remplace un codon de type sauvage, qui met fin à la traduction, ce qui aboutit à une protéine raccourcie.

Les mutations ponctuelles affectent généralement un trait spécifique qui peut conférer un avantage dans un environnement donné (**Musser, 1995**). Cela peut générer de nouvelles variantes d'un clone dans des délais relativement courts (micro-évolution). À plus grande échelle, c'est-à-dire la génération de nouvelles espèces, l'évolution par accumulation de mutations ponctuelles est un processus très lent. Cela est particulièrement vrai pour les mutations dans les gènes essentiels de séquences spécifiques à une espèce, par exemple le gène codant pour l'ARNr 16S, des enzymes particulières (par exemple ATPases) ou des protéines structurelles (**Morschhäuser et**

al., 2000). Cela permet aux organismes de s'adapter à un environnement en constante évolution grâce à la sélection naturelle (**Koskinieni, 2010**).

Certaines mutations, dites «pathoadaptatives», permettent à des clones bactériens simples de devenir plus pathogènes sans l'acquisition de gènes supplémentaires. Ce mécanisme est basé sur la mutagenèse aléatoire qui offre à la bactérie un fort avantage sous une pression sélective (**Sokurenko et al., 1999**). En plus de la modification des gènes structuraux et régulateurs, les mutations ponctuelles contribuent également au développement de la résistance bactérienne aux antibiotiques (**Musser, 1995**).

2. Réarrangements génomiques

Parmi les types de variations génétiques présentes dans les génomes, les réarrangements concernent un assez gros morceau d'ADN et peuvent émerger à la suite de différents mécanismes cellulaires tels que la recombinaison, la réplication et la réparation de l'ADN. Les réarrangements introduisent une variabilité dans le nombre de copies de gènes, la position, l'orientation et, dans plusieurs cas, des combinaisons de tous ces événements (**Periwal et Scaria, 2015**).

2.1. Mécanismes de réarrangements

Les réarrangements chromosomiques se produisent occasionnellement lors de la réplication ou de la réparation de l'ADN et impliquent une recombinaison de l'ADN. Il existe plusieurs méthodes de recombinaison du génome qui peuvent être regroupées en trois catégories :

- Recombinaison homologue
- Recombinaison non homologue (illégitime)
- Recombinaison site-spécifique

La plus fréquente étant la recombinaison homologue entre deux segments d'ADN partageant une homologie (**Raeseide, 2014**).

2.1.1. Recombinaison homologue

La recombinaison homologue favorise l'appariement entre des séquences d'ADN identiques ou presque identiques et l'échange ultérieur de matériel génétique

entre elles (**Kuzminov, 1999**). C'est une fonction importante et largement conservée chez les organismes vivants, des bactéries à l'homme, qui permet de réparer les cassures doubles brins ou les vides simples brins dans l'ADN, résultant des radiations ionisantes, des rayons ultraviolets (UV) ou des traitements chimiques adduits bloquant la réplication (**Kuzminov, 1999**).

Comme la réplication dans les cellules bactériennes est souvent bloquée ou s'arrête au niveau de différents types de lésions ou de cassures de l'ADN, un système de réparation conçu pour conserver l'information génétique est nécessaire (**Raaside, 2014**). La recombinaison homologue nécessite une rupture simple ou double brin dans l'ADN et la réparation de cette rupture dans une nouvelle conformation. Une enzyme clé dans la recombinaison homologue est la protéine RecA, une protéine de 38 kDa, omniprésente dans toutes les classes de la vie. L'enzyme RecA, se lie en formant un filament sur l'ADN simple brin (sb) (**Story et al., 1992**).

2.1.1.1. Déroulement et étapes catalytiques de la recombinaison homologue

Lorsqu'une rupture d'ADN est rencontrée, les enzymes de traitement de la rupture ciblent la rupture et la préparent pour une recombinaison homologue. Une rupture d'ADN double brin (db) est rapidement dégradée par le complexe enzymatique RecBCD, il s'agit d'une puissante exonucléase, qui possède une forte affinité pour les extrémités d'ADNdb. La sous-unité RecB porte l'activité nucléase, qui dégrade l'ADN double brin dans la direction 3' à 5' jusqu'à atteindre une séquence d'ADN spécifique «Chi χ : 5'GCTGGTGG3'» (**Figure 3.1**) (**Anderson et Kowalczykowski, 1997**).

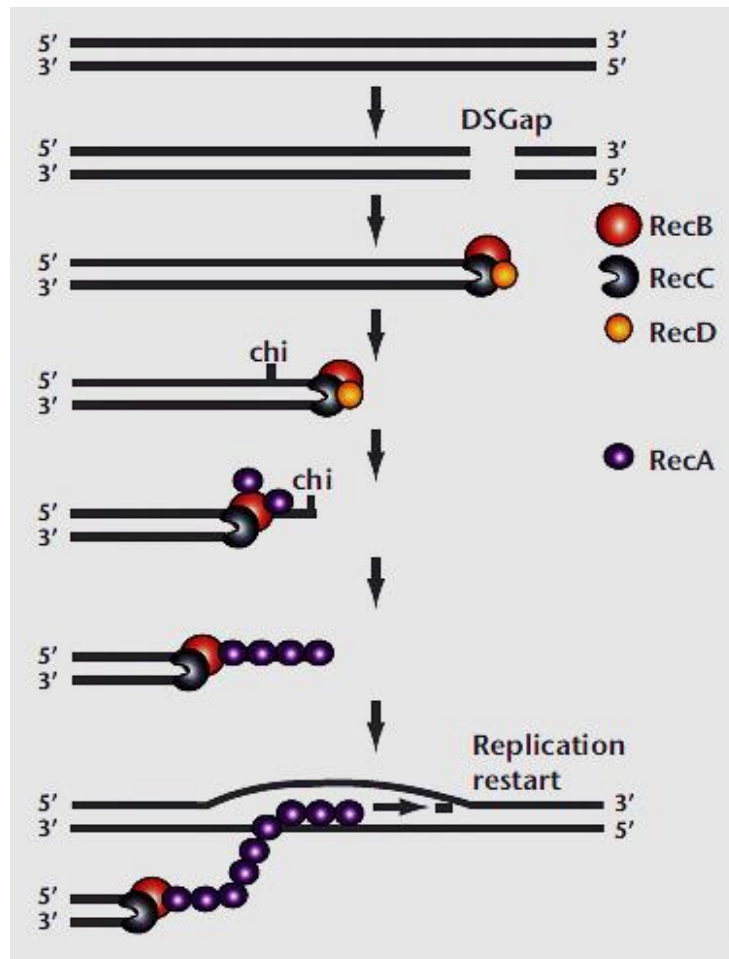


Figure 3.1. Mécanismes de recombinaisons via RecA dans le cas de rupture double brin par intervention du complexe RecBCD (Koskinieni, 2010).

Lors de l'interaction avec le site Chi, la sous-unité RecD module RecB: elle convertit la polarité de la dégradation de l'ADN par RecB, de sorte que seul le brin d'ADN 5' soit dégradé conduisant à la création d'extrémité 3' simple brin, ce qui favorise le chargement de la protéine RecA (Anderson et Kowalczykowski, 1997). De plus, RecB et RecD agissent tous les deux comme des ADN hélicases, de polarité opposée et de vitesse différente. RecC est enzymatiquement inerte et sert de composant structural permettant la séparation physique des deux brins d'ADN et il est proposé de contenir le site de reconnaissance de la séquence Chi (Figure 3.1) (Koskinieni, 2010 ; Petit, 2005).

Le second groupe de protéines comprend RecF, RecO et RecR qui jouent un rôle clé dans la préparation des substrats pour RecA sur un ADN simple brin (avec gap) auxquels RecBCD n'a pas accès. Leur rôle consiste à éliminer la protéine de liaison

SSB (une protéine de liaison à un seul brin) pour favoriser le chargement de RecA (Figure 3.2) (Mullany, 2005).

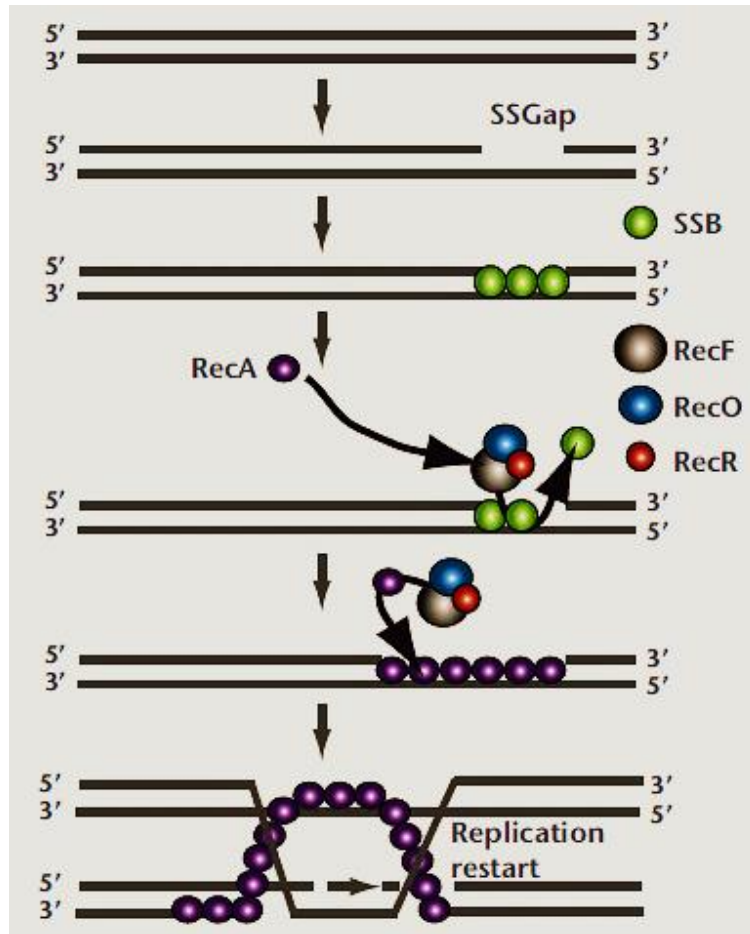


Figure 3.2. Mécanisme de recombinaison via RecA dans le cas de rupture simple brin par intervention du complexe RecFOR (Koskinieni, 2010)

La protéine RecA forme un filament stable sur l'ADN simple brin (ADNsb), qui s'étend dans la direction 5'-3'. Il favorise l'appariement de l'ADNsb avec un ADN double brin homologue, c'est l'étape clé de la recombinaison homologue. Une fois que les deux molécules d'ADN sont appariées, l'échange de brin peut commencer (Petit, 2005).

En aval de l'échange de brins promu par RecA, cette dernière recrute des facteurs de polymérisation à l'extrémité 3', qui réparent l'ADN dégradé. Deux enzymes alternatives traitent la jonction formée, RuvABC et RecG. RuvA est une protéine de liaison à l'ADN spécifique des Jonction de Holliday (JH) et RuvB est une ADN hélicase qui catalyse la migration de la branche lorsqu'elle est liée à RuvA. Cette hélicase favorise la migration des branches de la JH et les transmet à la nucléase spécifique

RuvC, qui résout l'intermédiaire de recombinaison en se clivant de manière symétrique à travers la jonction. Selon les brins coupés, différents produits sont attendus, comme indiqué sur les **Figure 3.3**. RecG est également un ADN hélicase, qui favorise la migration de branche de la JH (**Petit, 2005**).

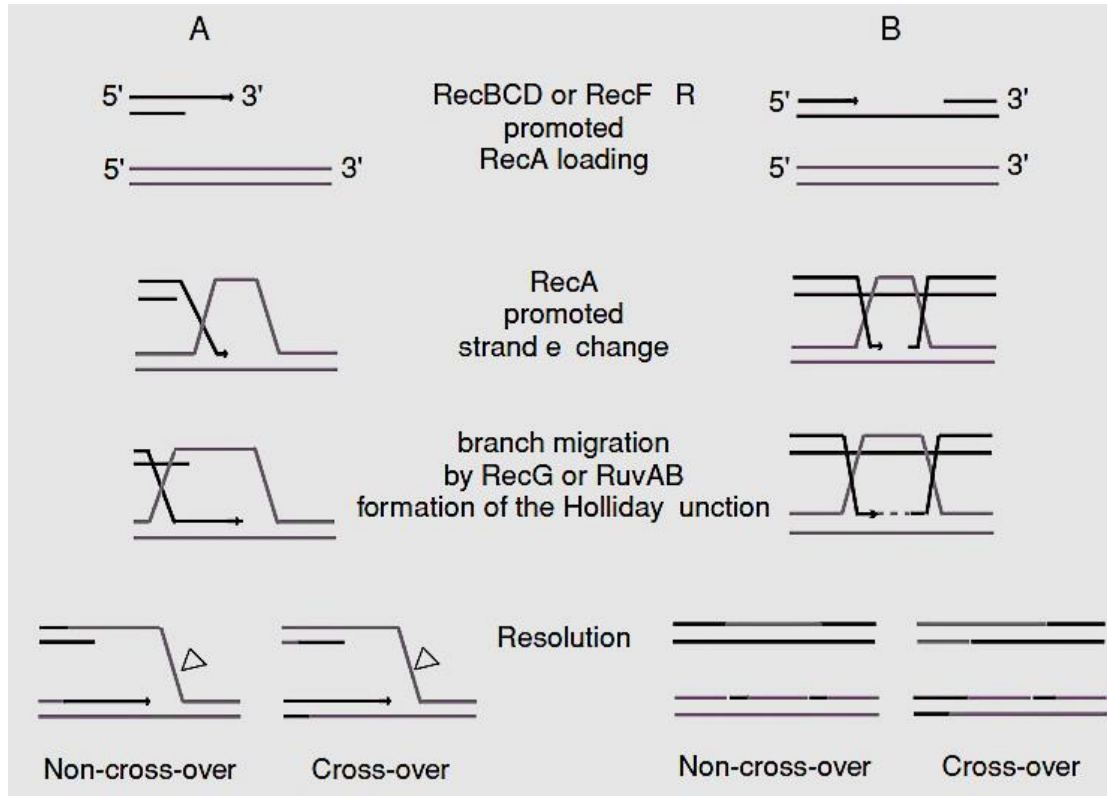


Figure 3.3. Deux modèles montrant les intermédiaires possibles du processus de recombinaison (**Petit, 2005**).

2.1.2. Recombinaison non homologue (illégitime)

La recombinaison non homologue est le processus par lequel deux molécules d'ADN partageant peu ou pas d'homologie se rejoignent (**Kegel et al., 2006**). La recombinaison illégitime diffère de la recombinaison ordinaire par son indépendance des facteurs de la recombinaison normale, telles que la RecA. Les réarrangements nécessitant ce type de recombinaison incluent la délétion, la duplication et la transduction spécialisée (**Weisberg, 1977**).

La recombinaison illégitime facilitée par l'homologie est un autre type de recombinaison qui combine les caractéristiques de la recombinaison homologue et illégitime (**Meier et Wackernagel, 2003**). L'introduction d'une séquence de faible similarité dans le génome du récepteur peut être stimulée jusqu'à 10^5 fois si elle contient

une région de haute similitude pouvant initier la recombinaison et ancrer son extension dans le segment de similarité inférieur adjacent (**de Vries et Wackernagel, 2002**).

2.1.3. Recombinaison site-spécifique

Contrairement à la recombinaison homologue qui utilise des segments d'homologie assez longs entre les molécules d'ADN partenaires, la recombinaison site-spécifique cible des sites d'ADN relativement courts avec des séquences bien définies (**Jayaram et Grainge, 2005**). Alors qu'un grand nombre de protéines ayant des activités biochimiques distinctes coopèrent pour effectuer une recombinaison homologue, ce sont généralement une seule protéine ou un couple de protéines qui effectuent les étapes catalytiques de la recombinaison spécifique au site (**Jayaram et Grainge, 2005**). La recombinaison site-spécifique a été largement adoptée pour le réarrangement de l'ADN des bactéries, des archées et des éléments d'ADN mobiles qui les infestent (bactériophage, plasmides et transposons) (**Stark, 2015 ; Hallet et Sherratt, 1997 ; Nash, 1996**). Dans une recombinaison site-spécifique typique, les deux partenaires portent un site spécifique bien défini qui est nécessaire pour l'événement de la recombinaison et qui contient le point d'échange génétique (**Figure 3.4**) (**Stark, 2015 ; Nash, 1996**).



Figure 3.4. Sites de la recombinaison site-spécifique (**Stark, 2015**).

Le degré de spécification de ces sites dicte l'unicité du réaménagement. Par exemple, dans l'intégration du phage lambda, le même point dans le chromosome viral de 46,5 kb est impliqué dans pratiquement tous les événements et, ce qui est encore plus impressionnant, dans la grande majorité des cas, lambda s'insère dans une cible unique dans le génome d'*Escherichia coli* de 4,5 Mb. Et généralement, dans la plupart des cas, les locus de recombinaison des deux partenaires sont hautement spécifiés et, par conséquent, le réarrangement est défini de manière unique (**Nash, 1996**).

2.1.3.1. Déroulement et étapes catalytiques de la recombinaison site-spécifique

Le processus de recombinaison site-spécifique peut être divisé en une série d'étapes. (i) Tout d'abord, la recombinase se lie aux deux sites de recombinaison. (ii) Les deux sites liés à la recombinase forment un complexe synaptique avec des sites de croisement juxtaposés. (iii) La recombinase catalyse ensuite le clivage, l'échange de brins et le regroupement de l'ADN au sein du complexe synaptique. (iv) Enfin, le complexe synaptique se décompose en libérant les produits recombinants (**Grindley et al., 2006**).

Les composants minimaux d'un système de recombinaison site-spécifique sont une recombinase et une paire de sites de recombinaison. Les sites les plus simples sont des segments courts d'ADN double brin, d'une longueur de 20 à 30 pb, qui contiennent une paire inversée de séquences de reconnaissance et lient un dimère (ou deux monomères) de la recombinase (**Grindley et al., 2006**). Dans de nombreux systèmes, la recombinaison a lieu entre deux sites identiques et deux sites identiques sont reformés dans les recombinants. Cependant, il existe des exemples (notamment des systèmes d'intégrase de bactériophages) dans lesquels la recombinaison est effectuée entre deux sites différents. La longueur des sites varie d'environ 25 à plusieurs centaines de paires de bases (**Stark, 2015**). Les sites les plus courts ont généralement une symétrie d'ADN imparfaite (dyade /palindrome), ce qui est cohérent avec leur propriété observée de se lier à un dimère symétrique de la recombinase (**Stark, 2015**).

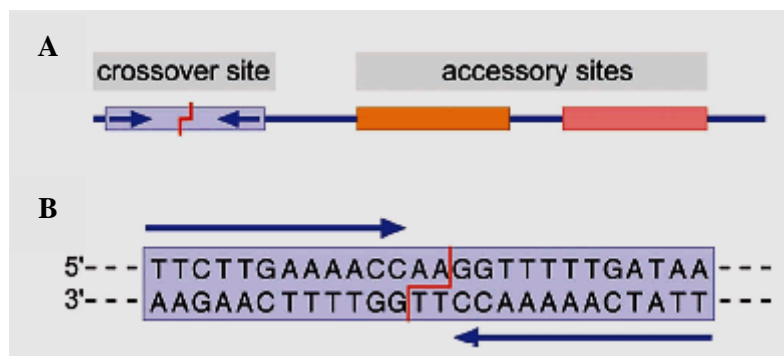


Figure 3.5. Sites de la recombinaison (**Stark, 2015**).

Ces sites contiennent en leur centre le point de rupture et d'adhésion de l'ADN, souvent appelés sites de croisement (crossover site) (**Figure 3.5**). Dans la nature, cependant, de nombreux sites de recombinaison sont plus compliqués, contenant non seulement un site de croisement, mais également des séquences supplémentaires couvrant 100 paires de bases ou plus (sites accessoires). Un tel site complexe peut

fonctionner en combinaison avec un site de croisement simple (comme avec l'intégrase λ (Int) lors de l'intégration) ou avec un autre partenaire complexe (comme avec $\gamma\delta$ résolvasse) (Grindley *et al.*, 2006).

Comme indiqué ci-dessus, la rupture et la jonction de l'ADN lors de la recombinaison site-spécifique se produisent sans perte ou gain de nucléotides et avec une conservation stricte de l'énergie de la liaison phosphodiester (Grindley *et al.*, 2006 ; Nash, 1996). Pour y parvenir, un mécanisme analogue à celui d'une topoisomérase est utilisé; les brins d'ADN sont cassés non par hydrolyse mais plutôt par transfert direct de phosphoryle dans une chaîne latérale de la recombinase. Cette chaîne latérale, une tyrosine ou une sérine, attaque directement le squelette sucre-phosphate de l'ADN au niveau du site de croisement dans une réaction de transestérification, en formant un intermédiaire covalent recombinase-ADN d'un côté de la rupture et un groupe hydroxyle libre de l'autre. La jonction des brins d'ADN est accomplie en inversant le processus; les hydroxyles libres d'un partenaire de recombinaison attaquent directement la liaison phosphodiester entre la recombinase et l'ADN de l'autre partenaire, libérant la recombinase et scellant les cassures pour produire les recombinants. Les détails du processus diffèrent selon que la recombinase utilise une tyrosine ou une sérine (Figure 3.6) (Grindley *et al.*, 2006).

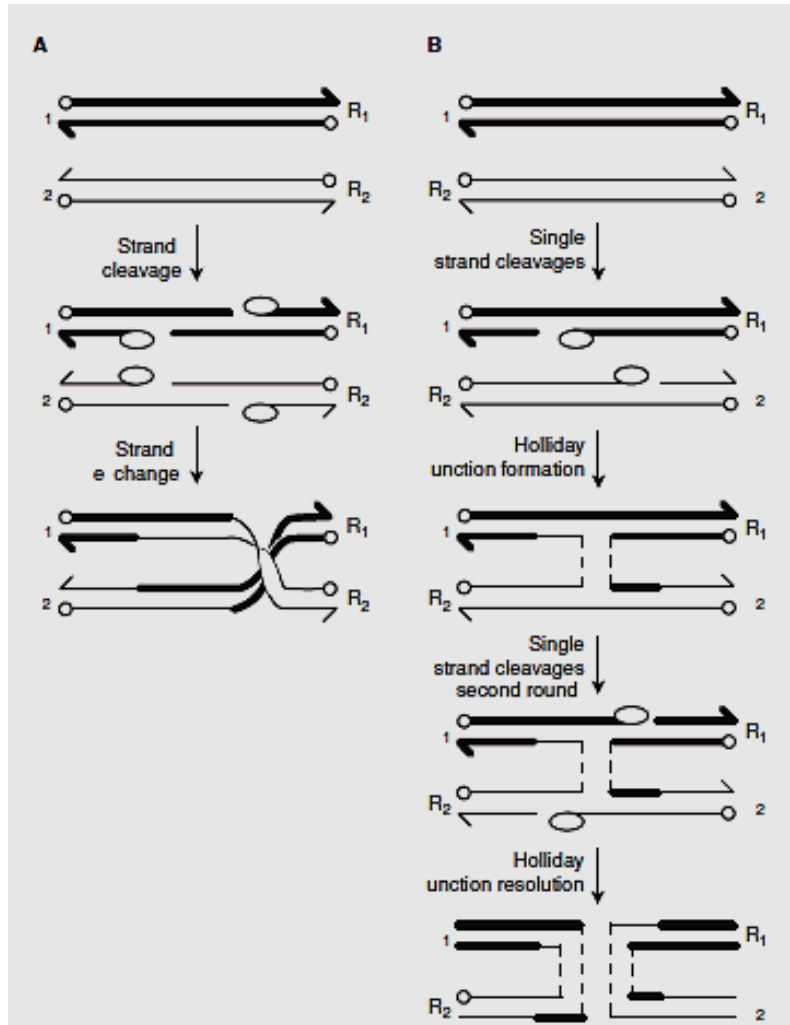


Figure 3.6. Recombinaison conservatrice site-spécifique (Jayaram et Grainge, 2005).

Deux familles de systèmes de recombinaison site-spécifiques peuvent être identifiées sur la base de la similarité des séquences de recombinase et des mécanismes réactionnels (Grindley *et al.*, 2006 ; Stark *et al.*, 1992). Les recombinases de tyrosine utilisent un résidu de tyrosine à site actif invariant pour attaquer le phosphodiester d'ADN au cours de l'étape de clivage de l'ADN dans la réaction de recombinaison, alors que les sérine recombinases utilisent un résidu invariant de sérine (Olorunniji et Stark, 2010).

2.2. Types de réarrangements et leurs effets

Les réarrangements intra-chromosomiques peuvent entraîner une perte, une amplification et des inversions de fragments d'ADN. Ces types de réarrangements peuvent contribuer à l'évolution d'un organisme par la perturbation d'un gène existant, la création d'un nouveau gène ou un produit génique chimérique par la fusion de gènes

(Periwal et Scaria, 2015). Dans les génomes bactériens, les réarrangements chromosomiques peuvent modifier la distance d'un gène à l'origine de la réplication chromosomique (*oriC*), ce qui entraîne une modification du nombre de copies du gène et, par conséquent, une incidence sur son expression (Block *et al.*, 2012).

Les inversions, les délétions et les duplications se produisent lorsque la jonction de Holliday résultante est résolue de manière incorrecte. Alors que la recombinaison entre les répétitions inversées conduit à des inversions, la recombinaison entre les répétitions directes conduit à la délétion. Lorsque la recombinaison entre répétitions directes a lieu pendant la réplication, le segment est supprimé d'un chromosome et dupliqué dans l'autre (Darling *et al.*, 2008).

La fréquence des réarrangements observés dans les génomes bactériens est corrélée à la présence de répétitions induites par des éléments génétiques mobiles (Achaz *et al.*, 2003). Fait intéressant, les éléments génétiques mobiles (éléments IS/transposons) sont également associés à la génération de pseudogènes, à la réduction du génome et à l'évolution adaptative du changement de niche. L'inversion et la délétion à grande échelle sont toutes les deux produites par recombinaison homologue entre éléments répétés (Darling *et al.*, 2008).

2.2.1. Insertion

Les événements d'insertion dans les génomes bactériens jouent un rôle important dans l'émergence de clones épidémiques (Figure 3.7) (Bryant *et al.*, 2012). Les exemples incluent: l'insertion de prophages, ou d'éléments conjugatifs intégratifs (ICE), éléments auto-transmissibles conjugatifs pouvant s'intégrer aux chromosomes et en exciser. Ces éléments comprennent des gènes codant des facteurs de virulence ou des déterminants de la résistance aux médicaments (Bryant *et al.*, 2012).

En plus de l'acquisition de gènes potentiellement bénéfiques, les événements d'insertion peuvent également perturber l'intégrité des gènes, entraînant une perte de fonction. Dans une comparaison des génomes de trois espèces de *Bordetella*, Parkhill *et al.* (2003) ont démontré que l'insertion de séquence d'insertion (IS) ont conduit à une inactivation des gènes. Des études WGS plus récentes ont mis en évidence des tendances similaires dans diverses espèces de bactéries pathogènes, suggérant que le

processus est courant dans l'évolution bactérienne, en particulier là où une adaptation récente à une nouvelle niche a eu lieu (**Bryant *et al.*, 2012**).

2.2.2. Délétion

Les délétions sont les réarrangements les plus couramment observés dans les populations en évolution et jouent un rôle important dans l'évolution et l'adaptation des populations à leur environnement (**Raeseide, 2014**). Les délétions entraînent la perte d'un segment génomique et peuvent être intragéniques, entraînant l'inactivation d'un gène ou la perte d'un ou plusieurs domaines fonctionnels ou une altération de la fonction du gène. En cas de délétions intergéniques, elles pourraient potentiellement affecter les régions régulatrices, affectant ainsi l'expression des gènes voisins (**Figure 3.7**) (**Angov et Brusilow, 1994**).

Les effets phénotypiques des délétions dépendent de la taille et de l'emplacement des segments chromosomiques supprimés sur le génome. Les délétions les plus importantes impliqueront de nombreux gènes, entraînant ainsi des phénotypes plus radicalement modifiés. Les délétions englobant la perte de gènes essentiels ou de composants de gènes peuvent entraver considérablement la viabilité des cellules (**Periwal et Scaria, 2015**).

Il a été démontré que les délétions jouent un rôle dans la formation des génomes d'agents pathogènes. Dans une étude dans laquelle les auteurs ont comparé les séquences du génome entier d'un groupe de deux espèces de *Salmonella* ayant le même ancêtre, la moins virulente *S. bongori*, qui infecte rarement les animaux à sang chaud, et la plus virulente *S. enterica*, responsable d'infections graves chez les hôtes à sang chaud ; il a été démontré que plusieurs régions de *S. bongori* étaient absentes, ce qui pourrait limiter sa capacité à provoquer des maladies par rapport à *S. enterica*. Cela comprenait un locus appelé îlot de pathogénicité de *Salmonella* 2 (SPI-2), qui code les systèmes de sécrétion de type III requis pour une répllication optimale au sein des macrophages (**Fookes *et al.*, 2011**).

2.2.3. Inversion

Les inversions sont des variations impliquant un réarrangement de l'orientation d'un segment génomique (**Periwal et Scaria, 2015**). Les inversions se produisent

lorsqu'une région du chromosome est coupée du chromosome par des cassures double brin, puis réintroduite dans l'orientation opposée (**Figure 3.7**) (**Raeside, 2014**).

Les conséquences fonctionnelles des inversions sont potentiellement guidées par leurs nouveaux contextes génomiques (**Periwal et Scaria, 2015**). Ils pourraient changer l'expression des gènes en cassant les gènes aux extrémités de l'inversion ou en modifiant l'orientation des gènes par rapport à la fourche de réplication. En effet, les gènes qui sont transcrits en plus grandes quantités vont dans le même sens que la fourche de réplication sur le brin principal, car cela minimise l'incidence des collisions entre l'ARN et l'ADN polymérase (**Raeside, 2014**).

L'inversion symétrique des gènes englobant l'*oriC* ne modifie pas l'emplacement des gènes par rapport aux brins d'ADN principaux et retardés (**Periwal et Scaria, 2015**). La contrainte de garder les deux répliques de même taille conduit à des inversions symétriques à *oriC* et à *ter*. Il a été suggéré que les inversions importantes, qui perturbent la symétrie autour des régions chromosomiques contraintes, à savoir les domaines *oriC* et *ter*, entraînent une diminution de la forme des cellules (**Campo et al., 2004**). Les inversions symétriques inter-réplichoires sont plus fréquemment observées que tout autre réarrangement. L'analyse des points de rupture chromosomiques dans la population de *Yersinia* en évolution naturelle a montré que le taux d'inversion est trois fois plus élevé près de *oriC*, affichant ainsi un biais de recombinaison et des forces sélectives réduisant le taux d'inversion près de *ter* (**Periwal et Scaria, 2015**).

En plus, les inversions peuvent changer la conformation du génome en déplaçant les structures secondaires et en déplaçant les caractéristiques génomiques impliquées dans la conformation physique des chromosomes (**Umbarger et Toro et al., 2011**).

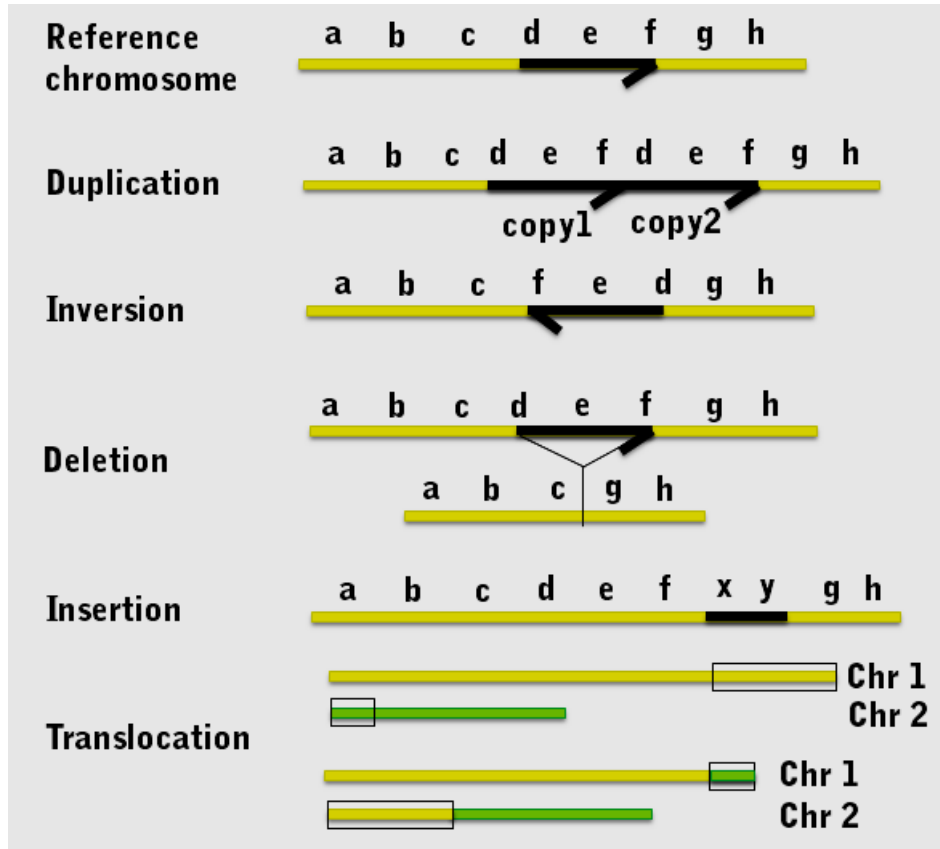


Figure 3.7. Vue schématique d'ensemble des cinq types de base de variations structurelles (Periwal et Scaria, 2015).

2.2.4. Duplication

Les duplications sont marquées par la présence de deux copies ou plus d'une région génomique ou d'un segment génomique. Les régions dupliquées peuvent soit être adjacentes les unes aux autres, appelées duplication en tandem, soit être situées à un emplacement génomique différent, appelé duplication dispersées (Figure 3.7) (Periwal et Scaria, 2015).

La duplication de gènes peut avoir quatre conséquences possibles (i) la non-fonctionnalisation ou la perte du gène dupliqué par délétion ou dégénérescence; (ii) la sous-fonctionnalisation, aboutissant à l'adoption de rôles complémentaires; (iii) la néofonctionnalisation, entraînant de nouvelles fonctions; et (iv) la régulation différentielle des gènes dupliqués effectuant l'expression spatio-temporelle (Treangen et al., 2009).

D'autre part, un dosage génétique variable provoqué par des duplications permet aux organismes de surmonter les limitations liées à une expression génique inefficace en augmentant le produit du gène. Par exemple, pour aider une population en évolution

à surmonter l'expression limitée de fonctions spécifiques, telles que l'augmentation de l'absorption de lactose dans des environnements limités en lactose chez *E. coli*. Elle contribue également à la résistance aux antibiotiques ou aux métaux lourds (**Raeside, 2014**). Les gènes dupliqués peuvent agir comme un mécanisme de redondance. Ainsi, si un gène est affecté par une mutation délétère, il existe toujours une autre copie fonctionnelle (**Clark, 1994**).

3. Transfert génétique horizontal

Le transfert génétique horizontal (HGT) est un mécanisme important de l'évolution microbienne (**Arber, 2000**). C'est une source majeure d'innovation phénotypique parmi les bactéries, particulièrement importante dans la diffusion des gènes de la résistance aux antibiotiques et d'autres caractères adaptatifs (**Skippington et Ragan, 2011**).

Il existe trois manières principales par lesquelles une molécule d'ADN externe peut être incorporée à la cellule : la transformation, la conjugaison et la transduction.

3.1. Transformation

La transformation naturelle repose sur l'absorption d'ADN libre dans l'environnement sans intervention d'éléments génétiques mobiles tels que les phages et les plasmides (**Seitz et Blokesch, 2012**). En fait, la découverte de la transformation naturelle chez les bactéries était basée sur le travail fondateur de Frederick Griffith. Griffith souhaitait comprendre la différence entre les souches virulentes et non virulentes de *Streptococcus pneumoniae* et savoir comment ces souches peuvent s'interconvertir (**Griffith, 1928**).

La transformation naturelle repose sur l'exposition bactérienne à des molécules d'ADN extracellulaires dans l'environnement. L'ADN pénètre continuellement dans l'environnement lors de la libération de cellules en décomposition, de cellules perturbées ou de particules virales, ou par l'excrétion par des cellules vivantes (**Thomas et Kaare, 2005**). L'excrétion active d'ADN a été rapportée pour de nombreux genres de bactéries, notamment *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Streptococcus* (**Paget et Simonet, 1994**).

3.1.1. Etat de compétence

Pour que la transformation naturelle se produise, les cellules bactériennes doivent d'abord développer un état physiologique de compétence, qui implique environ 20 à 50 protéines (**Thomas et Kaare, 2005**). La plupart des bactéries naturellement transformables acquièrent une compétence limitée dans le temps en réponse à des conditions environnementales spécifiques telles que des conditions de croissance altérées, l'accès aux nutriments, la densité cellulaire ou la famine. La proportion de bactéries qui développent des compétences dans une population bactérienne peut aller de zéro à près de 100% (**Thomas et Kaare, 2005**).

La compétence naturelle est un état physiologique programmé génétiquement permettant l'absorption efficace de l'ADN macromoléculaire. Il se distingue de la transformation artificielle impliquant l'électroporation, les protoplastes et le traitement par choc thermique/CaCl₂ (**Dubnau, 1999**).

3.1.2. Déroulement de la transformation

Chez les bactéries à Gram positif, l'ADN doit traverser la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique. Chez les bactéries à Gram négatif, l'ADN doit également traverser la membrane externe. Des étapes supplémentaires doivent donc être impliquées dans les systèmes de transformation chez les Gram négatif et l'interaction initiale de l'ADN avec la surface de la cellule doit être différente dans les deux types de bactéries (**Dubnau, 1999**). Un résumé des voies de transformation est présenté dans la **figure 3.8**.

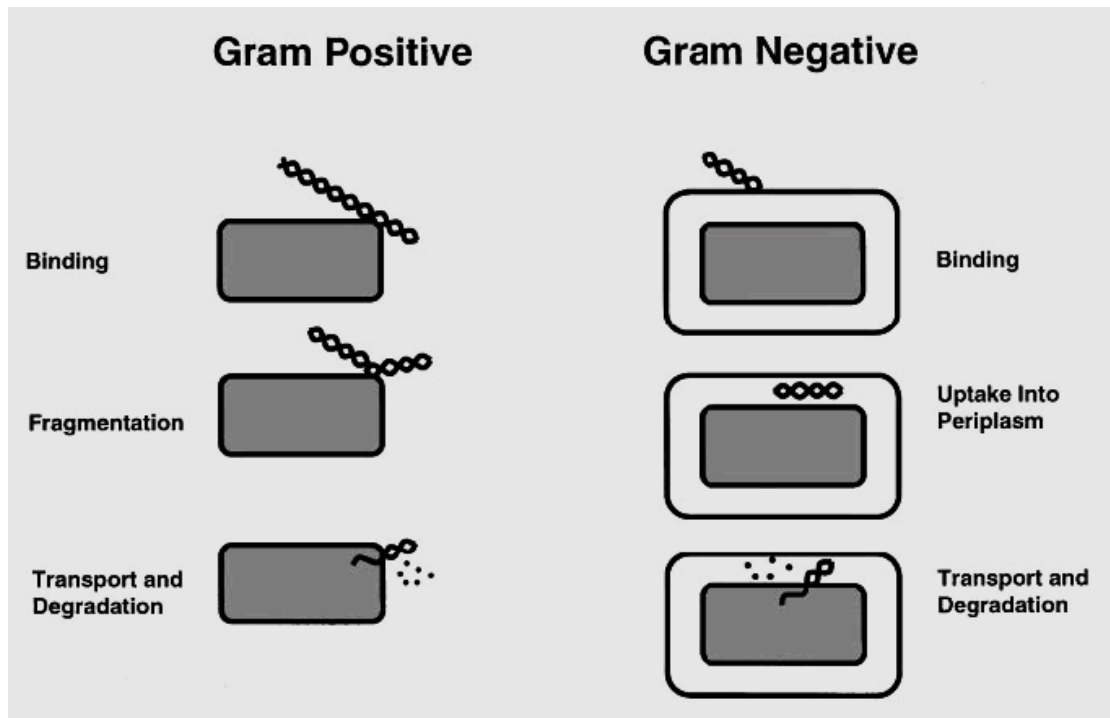


Figure 3.8. Voies de transformation chez les bactéries à Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Streptococcus pneumoniae*) et à Gram négatif (*Haemophilus influenzae* et *Neisseria gonorrhoeae*) (Dubnau, 1999).

Les bactéries à Gram négatif absorbent l'ADN en deux étapes, tout d'abord vient l'absorption de l'ADN à travers la membrane externe ensuite sa translocation à travers la membrane interne (Chen et Dubnau, 2004). L'ADN_{db} est d'abord lié au pilus de sécrétion de type IV au niveau extracellulaire (Figure 3.9). Une fois l'ADN lié à la cellule l'absorption se produit par la rétraction des fibres des pilus T4P, qui tire l'ADN dans le périplasm (Mell et Redfield, 2014). Le processus de rétraction nécessite l'ATPase PilT (Hepp et Maier, 2017).

Une fois que l'ADN_{db} est dans le périplasm, des protéines chaperonnes de liaison à l'ADN, ComEA, se lient de manière réversible à l'ADN et empêchent sa diffusion à l'extérieur du périplasm. Un simple brin est alors transféré à travers la membrane dans le cytoplasme, avec son extrémité 3' en avance, ce transfert se fait à travers un transporteur de membrane interne ComEC (Figure 3.9) (Hepp et Maier, 2017).

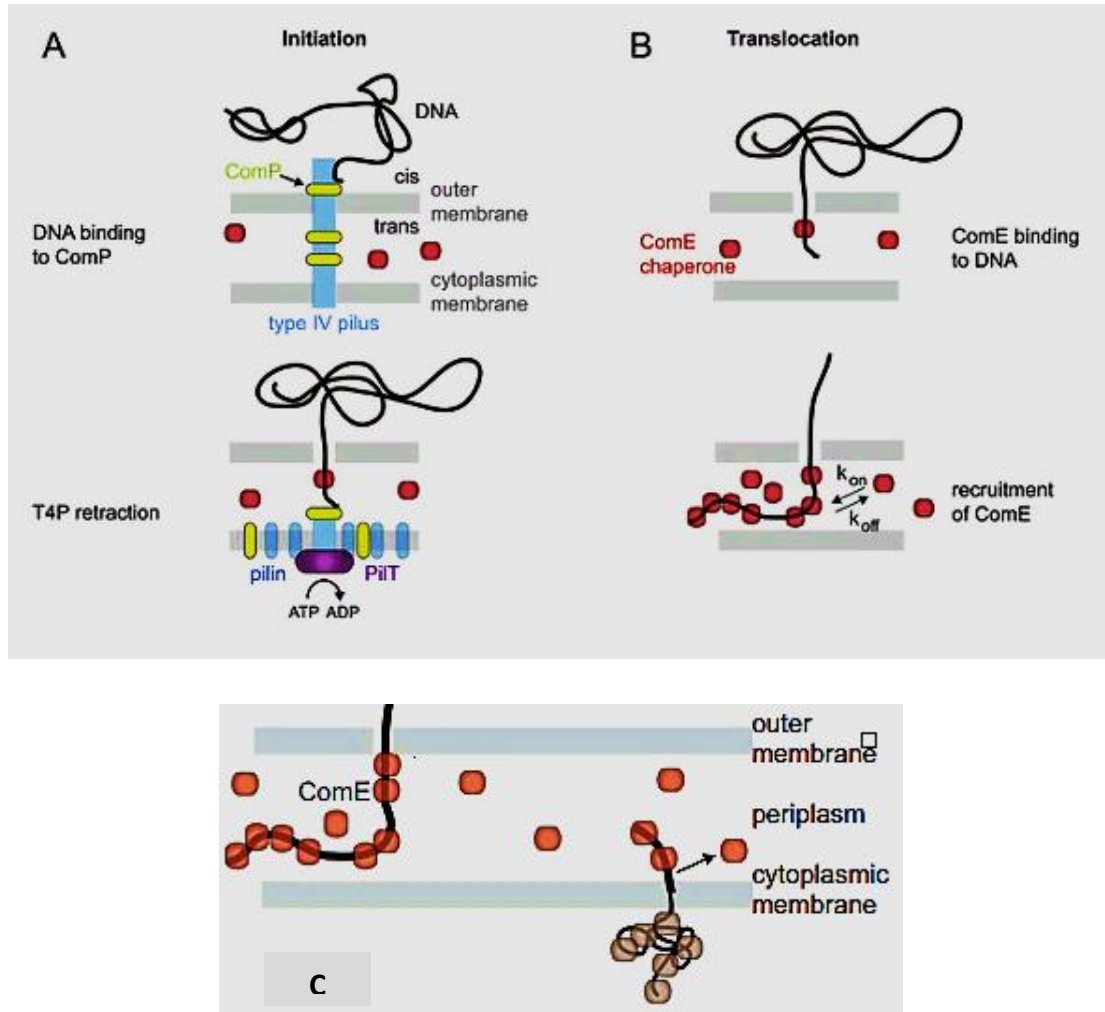


Figure 3.9. Mécanisme proposé pour l'absorption d'ADN dans le périplasm pendant la transformation (Hepp et Maier, 2017).

Bien que les bactéries à Gram positif utilisent une nucléase à la surface des cellules pour couper l'ADN en fragments plus petits avant l'étape de translocation (Lacks et Neuberger, 1975), ce n'est pas le cas pour les bactéries à Gram négatif. Le brin non transloqué est dégradé à la surface de la membrane. Si la similarité de séquence le permet, le brin transloqué peut alors remplacer un brin chromosomique par recombinaison homologue ; sinon, il est dégradé et ses sous-unités nucléotidiques sont recyclées (Mell et Redfield, 2014). Les bactéries à Gram positif utilisent des protéines similaires au T4P pour extraire l'ADN double brin à travers leurs parois cellulaires épaisses (Mell et Redfield, 2014).

3.2. Conjugaison

La conjugaison est un mécanisme clé pour le transfert horizontal de gènes chez les bactéries qui implique un contact physique entre deux cellules et où l'ADN est échangé à travers le pore créé entre les deux membranes cellulaires (**Ochman *et al.*, 2000**). La première preuve du sexe par conjugaison dans *E. coli* a été fournie par Lederberg, qui a obtenu une descendance prototrophe en mélangeant deux parents auxotrophes différents (**Lederberg et Tatum, 1946**). Le transfert d'ADN par conjugaison est conduit par le plasmide conjugatif F de manière unidirectionnelle d'une cellule donneuse F⁺ à une cellule receveuse F⁻. Le plasmide F contient tous les gènes nécessaires à la conjugaison (par exemple, la médiation du contact entre les cellules donneuse et receveuse) et à la régulation de la mobilisation de l'ADN et de son transfert unidirectionnel (**Babic *et al.*, 2008**).

Il y a peu de temps encore, on pensait que la gamme d'hôtes du plasmide F était limitée à quelques membres des *Enterobacteriaceae*. Mais il s'est avéré que les plasmides conjugatifs peuvent être transférés entre bactéries de différentes espèces et y sont maintenus de manière stable (**Summers, 1996**). Il a été démontré que des plasmides à large spectre d'hôtes mobilisaient l'ADN de bactéries à Gram négatif vers un certain nombre d'espèces à Gram positif (**Summers, 1996**) et même vers la levure (**Heinemann et Sprague, 1989**), démontrant la possibilité d'un transfert horizontal de gènes entre genres et royaumes.

3.2.1. Plasmide conjugatif

Le processus de conjugaison nécessite l'implication de deux ensembles de gènes de mobilité (MOB) :

- (i) la région MPF (mating pair formation) comprend généralement des gènes codant pour le système de sécrétion de type 4 (T4SS) qui est un complexe associé à la membrane qui constitue le canal d'accouplement impliqué dans la formation de paires d'appariement cellulaire (**Guglielmini *et al.*, 2014**) ;
- (ii) la région DTR (DNA-transfer replication) code pour la protéine Mob, une relaxase qui reconnaît l'origine du transfert (*oriT*), une courte séquence d'ADN qui est la seule séquence requise en *cis* pour qu'un

plasmide soit transmissible par voie conjugale (**Wawrzyniak et al., 2017 ; Smillie et al., 2010**).

Un plasmide qui code pour son propre ensemble de gènes MOB est appelé auto-transmissible ou conjugatif. S'il utilise un MPF d'un autre élément génétique présent dans la cellule, il est appelé mobilisable. Certains plasmides sont appelés non mobilisables car ils ne sont ni conjugatifs ni mobilisables. Ils se propagent par transformation naturelle ou par transduction. Par conséquent, les plasmides peuvent être classés en trois catégories en fonction de leur mobilité: conjugatif, mobilisable et non mobilisable (**Smillie et al., 2010**).

Typiquement, l'ADN est transféré d'une cellule donneuse à une cellule receveuse par un plasmide auto-transmissible ou mobilisable (**Ochman et al., 2000**). À basse fréquence, le plasmide F peut s'intégrer au chromosome de la cellule hôte, donnant lieu à une souche Hfr (haute fréquence de recombinaison) (**Babic et al., 2008**). Les gènes chromosomiques de la bactérie Hfr peuvent être mobilisés et transférés à une bactérie receveuse. Dans certains cas, F peut s'exciser du chromosome du Hfr, créant une molécule F' qui porte les gènes chromosomiques ainsi que les gènes de conjugaison (**Yu et al., 2002**). Hfr et F' peuvent tous les deux servir de véhicules à l'ADN dans le transfert horizontal de gènes entre bactéries (**Babic et al., 2008 ; Ochman et al., 2000**).

Les plasmides conjugatifs portent plusieurs gènes nécessaires à la conjugaison regroupés dans la région *tra* de 33 kb qui constitue environ un tiers du plasmide (**Summers, 1996**). Leurs produits assurent toutes les fonctions liées au transfert, notamment: (a) l'exclusion de surface (processus dépendant de *traT* et *traS*, qui bloque le transfert dans une cellule qui possède déjà le plasmide F (**Harrison et al., 1992**); (b) synthèse et assemblage du pilus F (**Maneewannakul et al., 1992a**); (c) stabilisation des agrégats cellulaires formés lors de l'accouplement; et (d) transport du brin transféré vers la cellule réceptrice (**Maneewannakul et al., 1992b**).

3.2.2. Déroulement de la conjugaison

La première étape de la conjugaison consiste en la formation des paires cellulaires assurée par les pili F extracellulaires qui jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance des cellules réceptrices et l'établissement de contact de cellule à cellule. Après le contact initial entre la pointe du pilus et la cellule receveuse, le pilus se rétracte,

rapprochant étroitement les deux cellules donneuse et receveuse (**Figure 3.10**) (**Summers, 1996**).

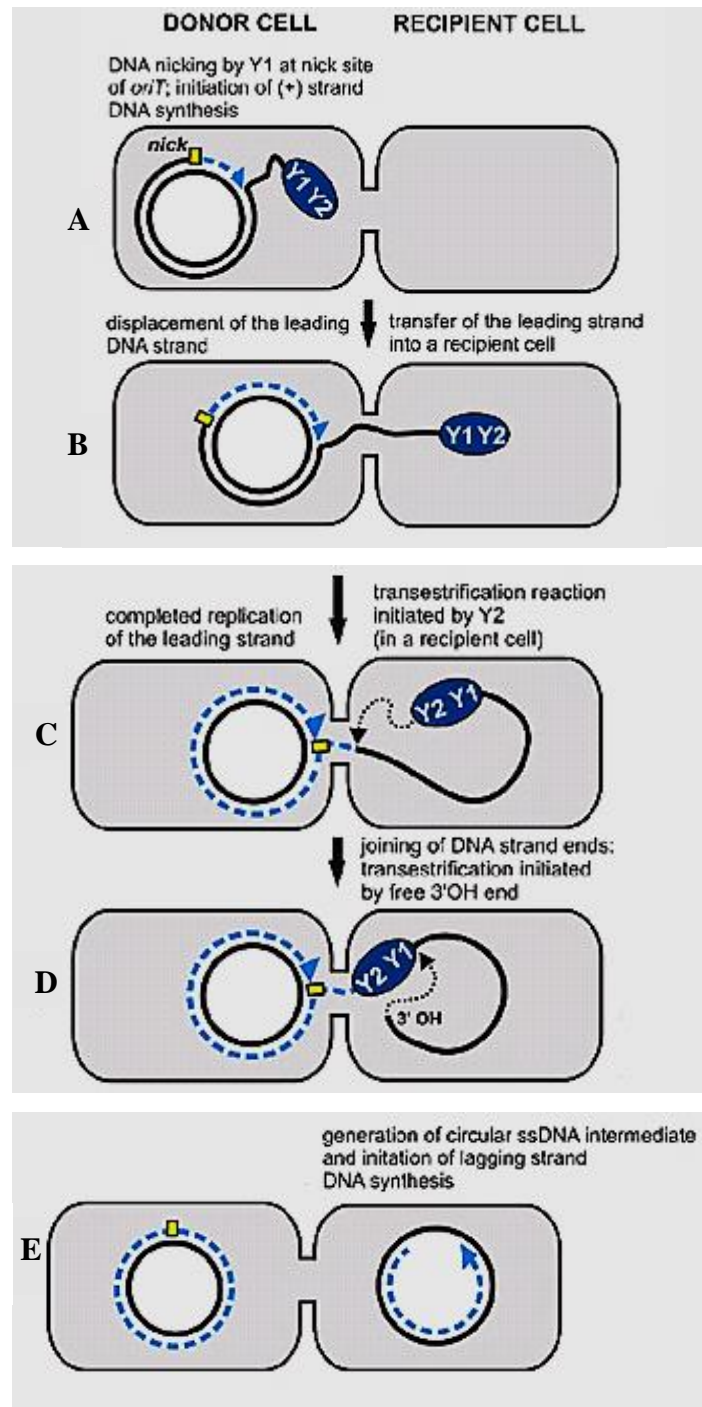


Figure 3.10. Réplication en cercle roulant (RCR) en transfert conjuguatif. (**Wawrzyniak et al., 2017**).

Dans la deuxième étape, un ADN simple brin est introduit dans la cellule receveuse à partir de l'origine du transfert *oriT*. Une relaxase, généralement codée par le plasmide, reconnaît *oriT*, provoque une cassure de l'ADN simple brin dans *oriT* et se

fixe de manière covalente à l'extrémité 5' du brin d'ADN incisé via une liaison phosphotyrosyle (**Figure 3.10**) (**Lanka et Wilkins, 1995**).

Les plasmides conjugatifs utilise la synthèse de l'ADN du brin principal (réplication en cercle tournant) à partir de l'extrémité 3' incisée pour favoriser le déplacement du brin et le transfert de l'ADN simple brin (**Lanka et Wilkins, 1995**). Dans ce cas, la relaxase couplée de manière covalente avec l'ADN interagit avec une protéine membranaire de couplage de type IV (T4CP) qui dirige le simple brin de l'ADN plasmidique vers le canal conjugatif qui est essentiellement un canal de sécrétion de protéine (T4SS), qui transporte la protéine relaxase liée à l'ADN à transférer (**Figure 3.11**) (**Llosa et al., 2002**). L'ADN relaxase termine le transfert en rejoignant avec précision les extrémités du plasmide et en libérant un cercle d'ADN simple brin dans la cellule receveuse (**Figure 3.10, 3.11**) (**Llosa et al., 2002**).

Un complément du brin transféré est synthétisé chez la receveuse. Cela nécessite les enzymes de réplication de l'ADN codées par le chromosome, y compris l'holoenzyme de l'ADN polymérase III. Le transfert est suivi d'une désagrégation active des cellules donneuse et receveuse (**Summers, 1996**).

A la différence des plasmides conjugatifs qui portent tous les mécanismes nécessaires à l'auto-transfert, les plasmides mobilisables ne portent que l'ensemble des gènes DTR qui codent pour la protéine relaxase. Les plasmides mobilisables ne contiennent qu'un module MOB (avec ou sans T4CP) et ont besoin du MPF d'un plasmide conjugatif par correspondance pour devenir transmissibles par conjugaison (**Figure 3.11**) (**Smillie et al., 2010**).

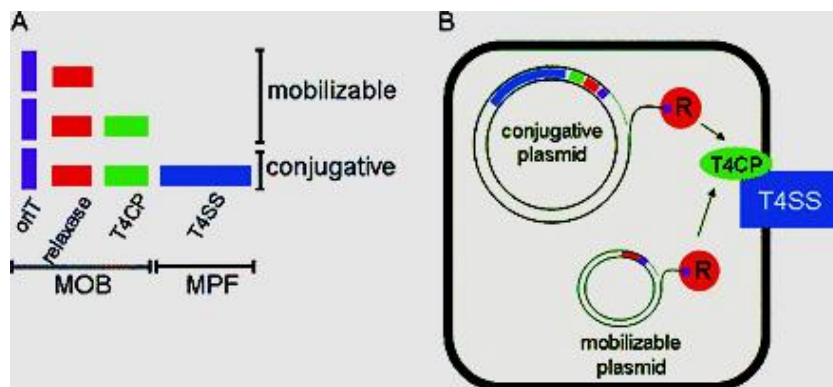


Figure 3.11. (A) Vue schématique de la constitution génétique de plasmides transmissibles. (B) Schéma de certaines interactions essentielles dans le processus de conjugaison (**Smillie et al., 2010**).

3.3. Transduction

Au début des années 1950, Lederberg et ses collaborateurs ont observé un transfert de gène entre les souches de *Salmonella typhimurium* lorsqu'une souche était exposée à un extrait sans cellule d'une autre. Ce processus, qu'ils ont appelé transduction, était assuré par des particules de bactériophage qui servaient de vecteurs pour transporter l'ADN entre souches (**Zinder et Lederberg, 1952**). Le mécanisme de transduction du phage est bien compris et documenté.

Les bactériophages sont hautement spécifiques à leurs hôtes bactériens. Le phage se fixe sur la cellule bactérienne pour l'insertion de son génome. Ce processus de fixation est hautement spécifique et implique la reconnaissance précise de composants de la surface cellulaire, tels que des protéines et des éléments lipopolysaccharidiques, par des structures spécialisées de reconnaissance de bactériophages (**Brabban et al., 2005**).

Une fois que le génome viral est introduit dans l'hôte, les cycles de vie des bactériophages lytique et tempéré divergent. Cette divergence est déterminée à la fois par la biologie des bactériophages (les bactériophages lytiques ne peuvent se reproduire que par un cycle de vie lytique; les bactériophages tempérés peuvent se reproduire par voie lytique ou entrer dans la lysogénie) et par l'environnement cellulaire (**Brabban et al., 2005**).

La voie lytique implique une reproduction rapide des bactériophages se terminant par une lyse cellulaire et la prolifération d'une nouvelle génération de virions fils. Au cours du cycle de vie tempéré, le bactériophage produit au lieu de cela des protéines répresseurs essentielles pour empêcher l'expression des gènes de bactériophages conduisant à la lyse cellulaire, et intègre son génome dans le génome bactérien, ce qui entraîne souvent une conversion lysogène. Ce bactériophage (ou prophage) intégré peut être amené à entrer dans le cycle de vie lytique en stress environnemental (rayonnement ultraviolet) ou produits chimiques affectant le métabolisme de l'ADN (**Figure 3.12**) (**Brabban et al., 2005**).

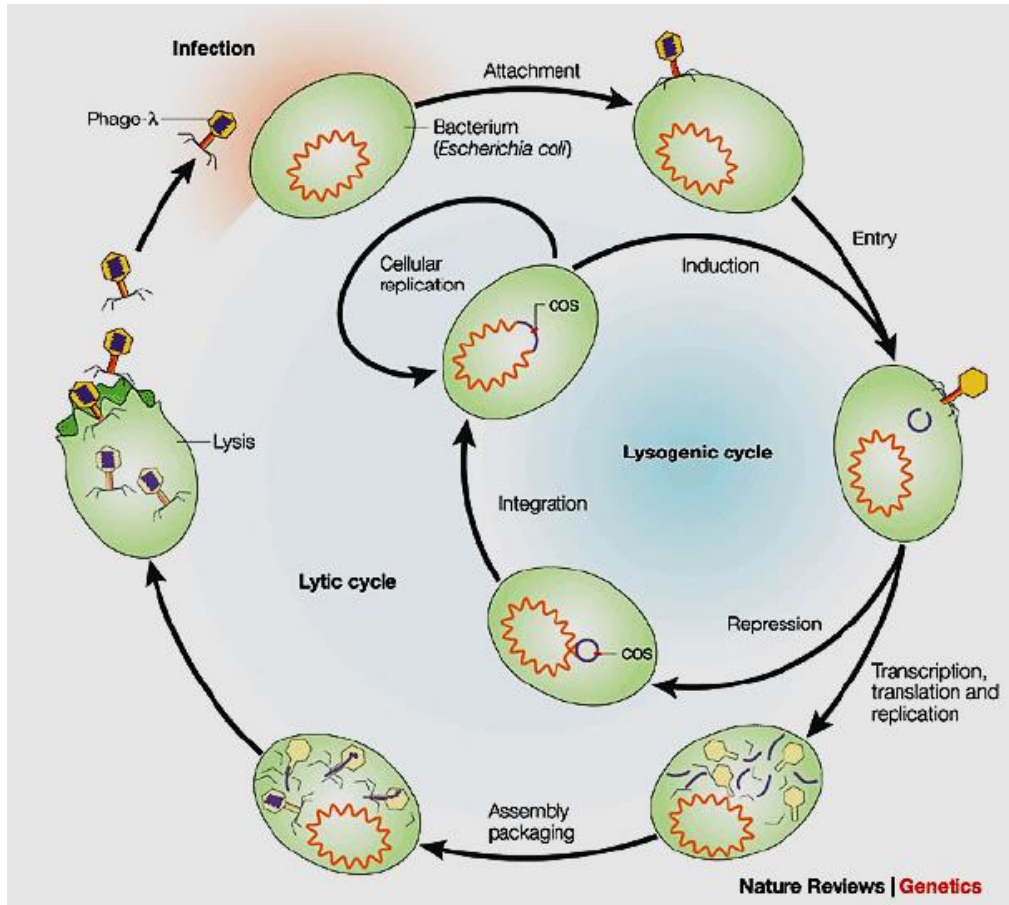


Figure 3.12. Cycle lytique et cycle lysogénique (Campbell, 2003).

3.3.1. Transduction généralisée

La transduction généralisée se produit lorsque l'ADN bactérien est emballé accidentellement dans des têtes de phage au lieu de l'ADN phagique. Les particules de phage qui ont un ADN bactérien encapsidé sont appelées particules transductrices. Comme toute particule de phage typique, un TP peut être adsorbé à la surface de son hôte et éjecter son ADN dans le cytoplasme de l'hôte. Une fois à l'intérieur de l'hôte, ce petit fragment d'ADN peut être dégradé ou recombiné avec l'ADN du nouvel hôte. Si cela se produit et que le gène est exprimé, un changement phénotypique peut être observé (Thierauf *et al.*, 2009 ; Brabban *et al.*, 2005).

Ce processus s'appelle la transduction généralisée, car le fragment d'ADN bactérien qui est emballé dans la tête du phage peut provenir de n'importe quelle partie du génome de l'hôte (Thierauf *et al.*, 2009). Des particules génératrices de transduction peuvent être produites lors de la croissance lytique du phage virulent ou tempéré (Figure 3.13) (Margolin, 1987).

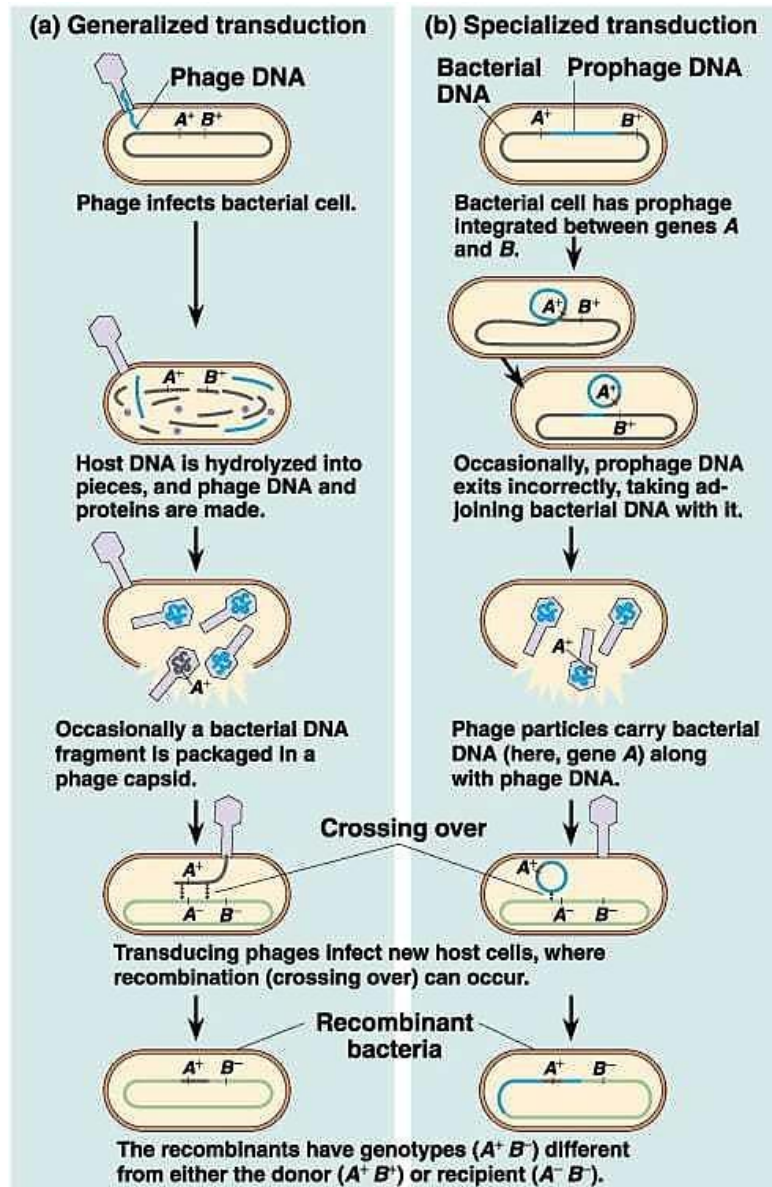


Figure 3.13. Transduction généralisée vs transduction spécialisée (Copyright© Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings).

3.3.2. Transduction spécialisée

La transduction spécialisée est un processus beaucoup plus efficace, impliquant le passage de l'état de prophage (lysogénie) au cycle lytique. Certains bactériophages tempérés incorporent toujours leurs génomes dans le même point dans le génome bactérien, tandis que d'autres sont plus aléatoires. Lors de l'induction, le prophage s'excise du génome de l'hôte sous forme d'une unité intacte. Cependant, parfois, cette excision est imprécise et conduit à la co-excision d'un fragment adjacent du génome de l'hôte, laissant ainsi certains gènes de bactériophages (**Figure 3.13**) (**Brabban *et al.* 2005**).

En fonction des gènes remplacés, le bactériophage fils résultant peut être défectueux ou opérationnel. Par conséquent, les bactériophages transducteurs peuvent varier. Pour que le bactériophage transducteur soit opérationnel, un ensemble minimal de gènes viraux est requis, y compris le site d'attachement (*att*), l'origine de la réplication du bactériophage (*ori*) et les extrémités cohésives (*cos*). Ce bactériophage tempéré transportant le gène de l'hôte peut maintenant passer à un nouvel hôte et intégrer son matériel génétique dans le génome du nouvel hôte (**Brabban *et al.*, 2005**).

Références bibliographiques

1. Achaz G., Coissac E., Netter P., Rocha EP. (2003). Associations between inverted repeats and the structural evolution of bacterial genomes. *Genetics*. 164(4):1279-89.
2. Anderson DG., Kowalczykowski SC. (1997). The translocating RecBCD enzyme stimulates recombination by directing RecA protein onto ssDNA in a chi-regulated manner. *Cell*. 90:77–86.
3. Angov E., Brusilow WS. (1994). Effects of deletions in the *uncA-uncG* intergenic regions on expression of *uncG*, the gene for the gamma subunit of the *Escherichia coli* F1Fo-ATPase *Biochim. Biophys. Acta*. 1183 : 499-503
4. Arber W. (2000). Genetic variation: molecular mechanisms and impact on microbial evolution. *FEMS Microbiol. Rev.* 24: 1–7.
5. Babic A., Lindner AB., Vulic M., Stewart EJ., Radman M. (2008). Direct Visualization of Horizontal Gene Transfer. *Science*. 319: 1533-1536.
6. Block DH., Hussein R., Liang LW., Lim HN. (2012). Regulatory consequences of gene translocation in bacteria. *Nucleic Acids Res.* 40(18):8979-92.
7. Brabban AD., Hite E., Callaway TR. (2005). Evolution of foodborne pathogens via temperate bacteriophage-mediated transfer. *Foodborne Pathog. Dis.* 2: 287–303.
8. Bryant J., Chewapreecha C., Bentley SD. (2012). Developing insights into the mechanisms of evolution of bacterial pathogens from whole-genome sequences. *Future Microbiol.* 7(11): 1283–1296.
9. Campbell A. (2003). The future of bacteriophage biology. *Nat Rev Genet.* 4: 471-477.
10. Campo N., Dias MJ., Daveran-Mingot ML., Ritzenthaler P., Le Bourgeois P. (2004). Chromosomal constraints in Gram-positive bacteria revealed by artificial inversions. *Mol. Microbiol.* 51: 511-522
11. Chen I., Dubnau D. (2004). DNA uptake during bacterial transformation. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:241–249.
12. Clark AG. (1994). "Invasion and maintenance of a gene duplication." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91(8): 2950-2954.
13. Darling AE., Miklós I., Ragan M. (2008). Dynamics of Genome Rearrangement in Bacterial Populations. *PLoS Genet.* 4(7): e1000128.
14. de Vries J., Wackernagel W. (2002). Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 99: 2094–2099.
15. Dubnau D. (1999). DNA uptake in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 53: 217–244.
16. Engelmoer DJP., Donaldson I., Rozen DE. (2013). Conservative sex and the benefits of transformation in *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS Pathog.* 9:e1003758.
17. Fan H., Chu JY. (2007). A brief review of short tandem repeat mutation. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 5(1):7-14.

18. Fookes M., Schroeder GN., Langridge GC., Blondel CJ., Mammina C., Connor TR., Seth-Smith H., *et al.* (2011). *Salmonella bongori* provides insights into the evolution of the *Salmonellae*. PLoS Pathog. 7(8):e1002191.
19. Goerke C., Pantucek R., Holtfreter S., Schulte B., Zink M., *et al.*, (2009). Diversity of prophages in dominant *Staphylococcus aureus* clonal lineages. J. Bacteriol. 191: 3462–3468.
20. Goodman MF. (2000). Coping with replication 'train wrecks' in *Escherichia coli* using Pol V, Pol II and RecA proteins. Trends Biochem. Sci. 25(4):189-95.
21. Griffith F. (1928). The significance of pneumococcal types. J. Hyg. 27: 113–159.
22. Grindley NDF., Whiteson KL., Rice PA. (2006). Mechanism of site-specific recombination. Ann. Rev. Biochem. 75:567–605.
23. Guglielmini J., Néron B., Abby SS., Garcillán-Barcia MP., de la Cruz F., Rocha EP. (2014). Key components of the eight classes of type IV secretion systems involved in bacterial conjugation or protein secretion. Nucleic Acids Res. 42: 5715–5727.
24. Hallet B., Sherratt DJ. (1997). Transposition and site-specific recombination: adapting DNA cut-and-paste mechanisms to a variety of genetic rearrangements. FEMS Microbiol. Rev. 21:157–178.
25. Harrison JL., Taylor IM., Plat K., Connor CD. (1992). Surface exclusion specificity of the TraT lipoprotein is determined by single alterations in a five-amino-acid region of the protein. Molec. Microbiol. 6: 2825-2832.
26. Heinemann JA., Sprague GF. (1989). Bacterial conjugative plasmids mobilize DNA transfer between bacteria and yeast. Nature. 340: 205-209.
27. Hepp C., Maier B. (2017). Bacterial Translocation Ratchets: Shared Physical Principles with Different Molecular Implementations. Bioessays. 39(10)
28. Jayaram M., Grainge I. (2005). Introduction to site-specific recombination. In: Mullany P. The Dynamic Bacterial Genome. Cambridge University Press, New York, NY. p 446.
29. Kegel A., Martinez P., Sidney D. Carter SD, Åström SU. (2006). Genome wide distribution of illegitimate recombination events in *Kluyveromyces lactis* Nucleic Acids Res. 34(5): 1633–1645.
30. Koskinieni S. (2010). Dynamics of the bacterial genome. Rates and mechanisms of mutation. Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the faculty of medicine. pp.9-56.
31. Kowalczykowski SC., Dixon DA., Eggleston AK., Lauder SD., Rehrauer WM. (1994). "Biochemistry of homologous recombination in *Escherichia coli*." Microbiol. Rev. 58(3): 401-65.
32. Kreuzer KN. (2013). DNA damage responses in prokaryotes: regulating gene expression, modulating growth patterns, and manipulating replication forks. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 5(11):a012674.
33. Kuzminov A. (1999). Recombinational repair of DNA damage in *Escherichia coli* and bacteriophage lambda. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63:751–813.

34. Lacks S., Neuberger M. (1975). Membrane location of a deoxyribonuclease implicated in the genetic transformation of *Diplococcus pneumoniae*. *J. Bacteriol.* 124:1321–1329.
35. Lanka E., Wilkins BM. (1995). DNA processing reactions in bacterial conjugation. *Annu. Rev. Biochem.* 64:141-169.
36. Lederberg J., Tatum EL. (1946). *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 11:113.
37. Llosa M., Gomis-Ruth FX., Coll M., de la Cruz F. (2002). Bacterial conjugation: a two-step mechanism for DNA transport. *Mol. Microbiol.* 45:1-8
38. Low KB. (1991). Conjugational methods for mapping with Hfr and F-prime strains. *Methods Enzymol.* 204:43-62.
39. Maneewannakul S., Kathir P., Ippen-Ihler K. (1992b). Characterization of the F plasmid mating aggregation gene *traN* and of a new F transfer region locus *trbE*. *J. Molec. Biol.* 225: 299-311
40. Maneewannakul S., Maneewannakul K., Ippen-Ihler K. (1992a). Characterization, localization and sequence of F transfer region products: the pilus assembly gene product *TraW* and a new product. *Trbl. J. Bacteriol.* 174: 5567-5574.
41. Margolin P. (1987). Generalized transduction. In: Neidhardt F, Ingraham J, Low K, *et al.* (eds): *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*: Cellular and Molecular Biology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
42. Meier P., Wackernagel W. (2003). Mechanisms of homology-facilitated illegitimate recombination for foreign DNA acquisition in transformable *Pseudomonas stutzeri*. *Mol. Microbiol.* 48: 1107–1118.
43. Mell JC., Redfield RJ. (2014). Natural Competence and the Evolution of DNA Uptake Specificity. *American Society for Microbiology Journals.* 196 (8):1471-1483.
44. Morschhéuserl J., Kiihlerl K., Ziebuhr W., Blum-Oehler G., Dobrindtg U., and Hacker J. (2000). Evolution of microbial pathogens. *Phil. mm. R. Soc. Land. B.* 355 : 695-704.
45. Mullany P. (2005). *The Dynamic Bacterial Genome*. Cambridge University Press, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, São Paulo, p. 423.
46. Musser JM. (1995). Antimicrobial agent resistance in mycobacteria: molecular genetic insights. *Clin. Microbiol. Rev.* 8: 496-514.
47. Nash HA. (1996). Site-specific recombination: integration, excision, resolution and inversion of defined DNA segments. In Neidhardt FC (ed), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. ASM Press, Washington, DC. pp. 2363–2376.
48. Novick RP. (1987). Plasmid incompatibility. *Microbiol. Rev.* 51: 381–395.
49. Ochman H., Lawrence JG., Groisman E. A. (2000). Lateral gene transfer and the nature of bacterial evolution. *Nature.* 405: 299-305.
50. Olorunniji FJ., Stark WM. (2010). Catalysis of site-specific recombination by *Tn3* resolvase. *Biochem. Soc. Trans.* 38: 417–421.
51. Paget E., Simonet P. (1994). On the track of natural transformation in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 15: 109–117.

52. Parkhill J., Sebaihia M., Preston A., Murphy LD., Thomson N., Harris DE., Holden MT. *et al.* (2003). Comparative analysis of the genome sequences of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella bronchiseptica*. *Nat. Genet.* 35(1):32–40.
53. Periwal V., Scaria V. (2015). Insights into structural variations and genome rearrangements in prokaryotic genomes. *Bioinformatics.* 31: 1–9.
54. Petit M-A. (2005). Mechanisms of homologous recombination in bacteria. In: Mullany P. *The Dynamic Bacterial Genome*. Cambridge University Press, New York, NY.p.446.
55. Raeside C. (2014). Plasticity of the genome of the course of a long term evolution experiment in *Escherichia coli*. Thèse de doctorat. Virology. Université de Grenoble.
56. Seitz P., Blokesch M. (2012). Cues and regulatory pathways involved in natural competence and transformation in pathogenic and environmental Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 37(3):336-63
57. Smillie C., Garcillán-Barcia MP., Francia MV., Rocha EPC., de la Cruz F. (2010). Mobility of Plasmids. *American Society for Microbiology Journals.* 74 (3): 434–452
58. Sokurenko EV., Hasty DL., Dykhuizen DE. (1999). Pathoadaptive mutations: gene loss and variation in bacterial pathogens. *Trends Microbiol.* 7: 191-195.
59. Stark WM. (2015). The Serine Recombinases. In: Craig N.L, Chandler M., Gellert M., Lambowitz A.M., Rice P.A., Sandmeyer S. *Mobile DNA*, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
60. Stark WM., Boocock MR., Sherratt DJ. (1992). Catalysis by site-specific recombinases. *Trends Genet.* 8: 432–439.
61. Story RM., Weber IT., Steitz TA. (1992). The structure of the *E. coli recA* protein monomer and polymer. *Nature.* 355(6358): 318-25.
62. Summers D. (1996). *The Biology of Plasmids*. Blackwell Science Ltd. Cambridge. USA. p. 157.
63. Thierauf A., Perez G., Maloy AS. (2009). Generalized transduction. *Methods Mol. Biol.* 501:267-86.
64. Thomas CM., Kaare M. (2005). Mechanisms of and, barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Microbiology.* 3: 711-721.
65. Treangen TJ., Abraham AL., Touchon M., Rocha EP.(2009). Genesis, effects and fates of repeats in prokaryotic genomes, *FEMS Microbiol. Rev.* 33: 539-571.
66. Umbarger MAE., Toro E., Wright MA., Porreca GJ., Baù D., Hong SH., *et al.*,(2011). The three-dimensional architecture of a bacterial genome and its alteration by genetic perturbation. *Mol. Cell.* 44(2): 252-264.
67. Watford S., Warrington SJ. (2019). *Bacterial DNA Mutations*. StatPearls Publishing LLC. Bookshelf ID: NBK459274PMID: 29083710
68. Wawrzyniak P., Płucienniczak G., Bartosik D. (2017). The Different Faces of Rolling-Circle Replication and Its Multifunctional Initiator Proteins. *Microbiol.* 8:2353.

- 69.** Weisberg RA. (1977). Illegitimate recombination in bacteria and bacteriophage. *Ann. Rev. Genet.* 11:451-73.
- 70.** Yu LZ., Birky CW., Adam RD. (2002). The two nuclei of *Giardia* each have complete copies of the genome and are partitioned equationally at cytokinesis. *Eukaryot. Cell* 1(2):191-9.
- 71.** Ziebuhr, W., Ohlsen, K., Karch, H., Korhonen, T., Hacker, J. Evolution of bacterial pathogenesis. *Cell Mol. Life Sci.* 56: 719–728 (1999).
- 72.** Zinder ND., Lederberg J. (1952). Genetic exchange in *Salmonella*. *J. Bacteriol.* 64: 679-699.

4

Éléments génétiques mobiles

1. Organisation du génome bactérien

Le génome bactérien consiste généralement en deux parties distinctes : le génome central (le noyau) et le génome flexible (**Medini *et al.*, 2005 ; Tettelin *et al.*, 2005**). L'ensemble de ces deux parties est nommé le **pan génome**.

Le **génome central** (core-genome) est une partie commune à toutes les souches de l'espèce et elle contient des gènes présents dans le chromosome et dans les grands plasmides de chaque souche, ces gènes codent les fonctions de base de la cellule, telles que les voies métaboliques clés, la formation d'enveloppe cellulaire, la réplication de l'ADN et le renouvellement des nucléotides (**Medini *et al.*, 2005 ; Tettelin *et al.*, 2005**).

En revanche, les gènes du **génome flexible** peuvent être présents de manière variable entre les différentes souches (populations) des espèces et sont généralement acquis par transfert horizontal de gènes (**Dobrindt, 2004**). Ces gènes codent pour des caractéristiques accessoires mais pertinentes, telles que la pathogénicité et la virulence, la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds, le métabolisme secondaire et la symbiose et sont profondément impliqués dans l'adaptation et l'évolution de l'espèce (**Dobrindt, 2004 ; Hacker et Carniel 2001**). La principale conséquence de la mobilité des fonctions codées dans des gènes qui peuvent être librement échangés entre espèces taxonomiquement non apparentées est que les compositions des génomes bactériens peuvent rapidement et radicalement changer, et ces changements sont cruciaux pour l'évolution bactérienne (**Hacker et Carniel, 2001**). La plasticité du génome flexible contribue donc à l'évolution du génome bactérien.

Le génome flexible est organisé principalement en segments d'ADN polymorphes spécifiques à la souche. Ces segments sont nommés région de plasticité génomique (**RPG**) (**Mathee *et al.*, 2008**). Cette région peut couvrir deux classes: (i) les segments hypervariables qui sont susceptibles d'être le résultat de délétions de régions d'ADN particulières dans une ou plusieurs souches, (ii) et les éléments génétiques mobiles (**MGE**) (**Ogier *et al.*, 2010**). Les éléments génétiques mobiles pourraient être excisés d'un endroit et réintégrés ailleurs dans le génome ou subir une transposition répllicative avant l'intégration d'une nouvelle copie de l'élément ailleurs dans le génome (mobilité intracellulaire) (**Rocha, 2004**).

2. Éléments génétiques mobiles (MGE) : le mobilome

Le total de tous les éléments génétiques mobiles dans un génome est appelé "mobilome". Dans un sens plus large, ces éléments sont des «agents de l'évolution» ou des «ingénieurs génétiques naturels» (Katsy, 2014). Ces éléments sont des segments d'ADN capables de se déplacer d'un site génétique (site donneur) à un autre (site cible) (Berg et Howe, 1989).

Le mouvement des MGE peut avoir des effets profonds sur le développement bactérien, en diminuant et/ou en augmentant le potentiel génomique de la bactérie. Des événements d'intégration dans de nouveaux sites du génome de l'hôte peuvent perturber d'importantes fonctions régulatrices et métaboliques (Naitoa et Pawlowskac, 2016). À l'inverse, les MGE contribuent à l'acquisition de nouvelles informations génétiques par le transfert horizontal de gènes, alors que les réarrangements génomiques médiés par les MGE peuvent générer de nouveaux phénotypes (Naitoa et Pawlowskac, 2016).

Les MGE ou les éléments transposables (TE) peuvent être divisés en deux groupes, ceux capables de passer horizontalement entre les chromosomes par un mouvement intercellulaire (plasmides et bactériophages) et ceux qui sont uniquement mobiles dans le matériel génétique de la cellule par un mouvement intracellulaire ou nécessitant un vecteur pour le transfert horizontal. Les MGE intracellulaires comprennent les transposons (Tn), les séquences d'insertion (IS) et les intégrons (In) (Craig *et al.*, 2002). Les procaryotes hébergent également plusieurs types de structures possédant les caractéristiques des deux groupes (par exemple, les éléments conjugatifs intégratifs (ICE), appelés à l'origine transposons conjugatifs), et les îlots génomiques (GI) (Siguier *et al.*, 2014).

Les TE peuvent être regroupés en trois classes en fonction de leur organisation génétique, de leurs homologies de séquence d'ADN et de leurs propriétés mécaniques (Nojiri *et al.*, 2004) :

- **Classe I** : comprennent les IS simples (portant uniquement les déterminants génétiques pour la transposition) et les transposons composites, dans lesquels divers traits génétiques non liés à la transposition sont accompagnés de deux copies d'IS très similaires, à orientation directe ou inversée.
- **Classe II** : également appelés transposons non composites comme les transposons Tn3, Tn7.

- **Classe III** : comprend le bactériophage Mu et phages apparentés. Cette classe comprend également les éléments intégratifs conjugatifs (ICE), les îlots génomiques et les intégrons (**Burrus et al., 2002**).

2.1. Séquences d'insertion (IS)

La définition initiale d'un IS était la suivante: un segment d'ADN court, codant uniquement les enzymes nécessaires à sa transposition et capable d'insertion répétée dans de nombreux sites différents d'un génome en utilisant des mécanismes indépendants d'homologie de l'ADN entre IS et cible (**Craig et al., 2002**). Ils peuvent se déplacer de façon autonome dans un génome (entre différentes molécules d'ADN ou dans une molécule d'ADN individuelle) ou horizontalement entre les génomes en tant que partie d'autres vecteurs MGE tels que les phages et les plasmides. Plus de 4500 IS appartenant à 29 familles ont été identifiés à ce jour (**Siguiet et al., 2014, 2006**).

Les IS jouent un rôle crucial dans la translocation des séquences d'ADN de large taille, dans l'évolution du génome bactérien et la mutagènes (**Darling et al., 2008**). Leur mobilité dans le génome peut avoir des effets néfastes, avantageux ou neutres sur la condition physique des bactéries (**Martiel et Blot, 2002**).

2.1.1. Organisation

Les IS constituent les plus petits éléments transposables présents dans le génome du procaryote (entre 700 et 2500 bp) (**Siguiet et al., 2014, 2006 ; Mahillon et Chandler, 1998**), avec un ou deux cadres de lecture ouverts (orfs) qui occupent toute la longueur de l'IS et se terminent par des séquences répétées de terminaison imparfaites (IR) (**Figure 4.1**). Les IR sont nécessaires pour la liaison de la transposase, le clivage de l'ADN du donneur et le transfert de brins (**Vandecraen et al., 2017**). Les orfs codent pour une transposase (Tpase) qui catalyse le clivage de l'ADN et les transferts de brins conduisant au mouvement de l'IS et, dans certains cas, ils codent également pour des protéines régulatrices (**Mahillon et Chandler, 1998**).

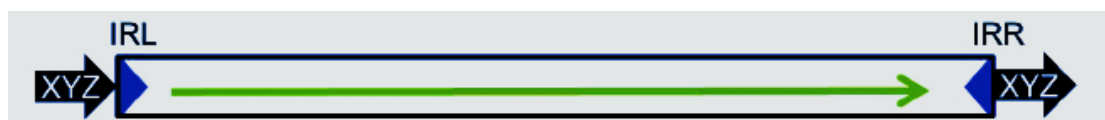


Figure 4.1. Organisation d'un IS typique (**Raeseide, 2014**).

Les IS génèrent également souvent une duplication de répétition directe (DR) dans la cible lors de son insertion (**Figure 4.2**). Ces caractéristiques ne se limitent pas aux IS des procaryotes, mais sont également partagés avec la plupart des transposons d'ADN eucaryotes (**Vandecraen *et al.*, 2017 ; Mahillon et Chandler, 1998**).

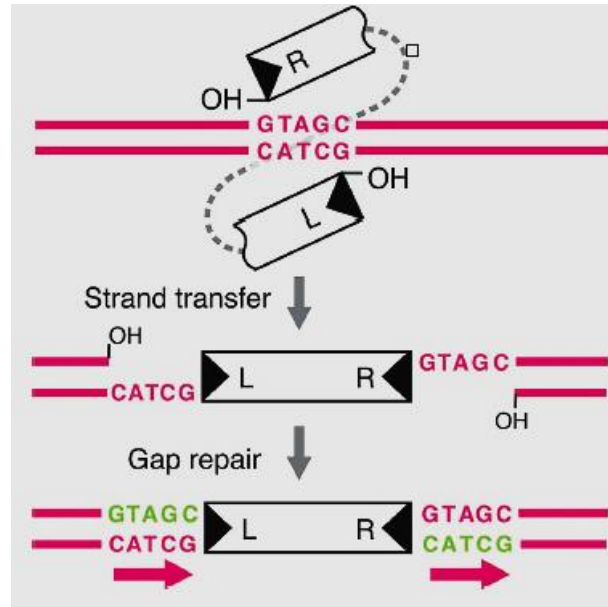


Figure 4.2. Génération des extrémités de répétitions directes (DR) flanquant l'IS dans la cible (**Craig, 2015**).

2.1.2. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action impliqué dans la transposition peut être divisé en plusieurs étapes définies, comprenant généralement la liaison de la transposase aux extrémités; l'élaboration d'un complexe synaptique impliquant la transposase, peut-être des protéines accessoires et les deux extrémités du transposon ; cette étape implique un recrutement concomitant ou ultérieur (en fonction de l'élément) de l'ADN cible; le clivage et le transfert de l'IS dans la cible; et le traitement du complexe de transfert de brin en un produit final (**Mahillon et Chandler, 1998**).

La chimie du clivage et du transfert de brin est très similaire, dans la plupart des éléments de la collection d'éléments transposables. Ceux-ci comprennent les rétrovirus et les éléments eucaryotes Tc ainsi que le bactériophage Mu, IS10, Tn7 et IS911 (**Mahillon et Chandler, 1998**).

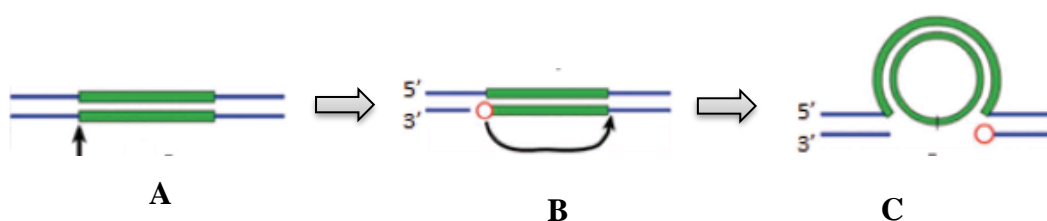
La transposase sélectionne l'une des nombreuses séquences cibles possibles où elle déplacera l'élément d'insertion. En fonction du type, l'élément IS peut entrer dans

la séquence cible par l'un des deux mécanismes généraux suivants: transposition répllicative ou transposition non répétitive (Mizuuchi, 1992).

2.1.2.1. Transposition répllicative

La transposition répllicative est appelée aussi réplication par copier-coller. Elle permet d'augmenter le nombre de copies de l'élément IS dans la cellule. Dans ce mécanisme, la T_pase catalyse le clivage aux extrémités 3' des deux brins de l'élément transposable par un attaquant nucléophile (généralement H₂O) ce qui génère un groupe 3'OH libre. Cet hydroxyle agit à son tour comme nucléophile dans l'attaque d'un groupe 5'-phosphate dans l'ADN cible dans une réaction de transestérification, entraînant ainsi une coupure dans l'ADN cible (**Figure 4.4A**) (Mahillon et Chandler, 1998 ; Mizuuchi, 1992). Un transfert concerté des deux brins se termine au site cible tout en maintenant la polarité correcte du brin. Ce transfert se traduit par la jonction de chaque brin de transposon à des brins cibles opposés et laisse un groupe 3'OH sur le brin cible clivé (cas de IS₆, Tn₃). En outre, il convient de souligner que, c'est le brin donneur lui-même qui effectue l'étape de clivage et de ligation dans l'ADN cible (Mahillon et Chandler, 1998 ; Mizuuchi, 1992). L'ADN polymérase comble les lacunes et l'ADN ligase scelle les entailles restantes. Un événement de recombinaison résout les deux molécules. À la suite d'une transposition par réplication, la cellule a une copie de l'élément transposable flanquée de séquences cibles dupliquées (**Figure 4.4A**) (Mahillon et Chandler, 1998 ; Mizuuchi, 1992).

Une autre forme intermédiaire est aussi rencontrée dans ce type de transposition, il s'agit de la forme circulaire adoptée par certaines familles comme IS₃, IS₂₁, IS₃₀ et IS₂₅₆. Cela implique le clivage d'une extrémité IS et l'attaque de l'extrémité opposée par le 3'OH libéré, l'IS subit ensuite une réplication en utilisant le 3'OH dans l'ADN du donneur, un processus que l'on pourrait appeler une réplication du transposon amorcé par le donneur. Cela génère un cercle de transposon d'ADN double brin et régénère la molécule donneuse. Le cercle subit ensuite un clivage et une insertion (**Figure 4.3**) (Siguier *et al.*, 2015).



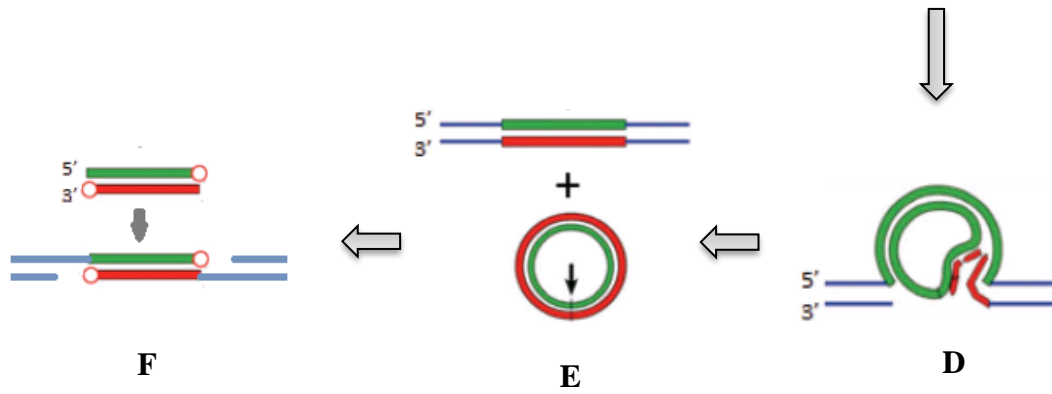


Figure 4.3. Mécanisme de transposition (répllicative) par copier-coller circulaire (Siguier *et al.*, 2015).

2.1.2.2. Transposition non répllicative

La transposition non répllicative est appelée aussi répllication par couper-coller. Les éléments IS4, IS21 et IS30 sont des exemples de ce type de répllication. Les IS se transposent physiquement d'une région du génome à une autre (Leonard et Mahillon, 1998). Dans ce processus, la T_pase rapproche les répétitions inversées et l'ADN flanquant. Une liaison phosphodiester est alors clivée sur chaque brin aux extrémités opposées de l'élément IS, ce qui donne des groupes OH libres (Figure 4.4B). Chaque extrémité 3'OH attaque l'extrémité 5' du brin complémentaire, formant ainsi un nouveau lien créant des structures en épingle à cheveux au niveau des extrémités IS, libérant l'IS de l'ADN adjacent. Le lien est ensuite hydrolysé pour régénérer le groupement 3'OH qui attaquent l'ADN cible (Siguier *et al.*, 2015 ; Mizuuchi, 1992). À partir des groupes 3'OH, les molécules d'ADN polymérase de la cellule comblent les lacunes (Figure 4.4B).

A

B

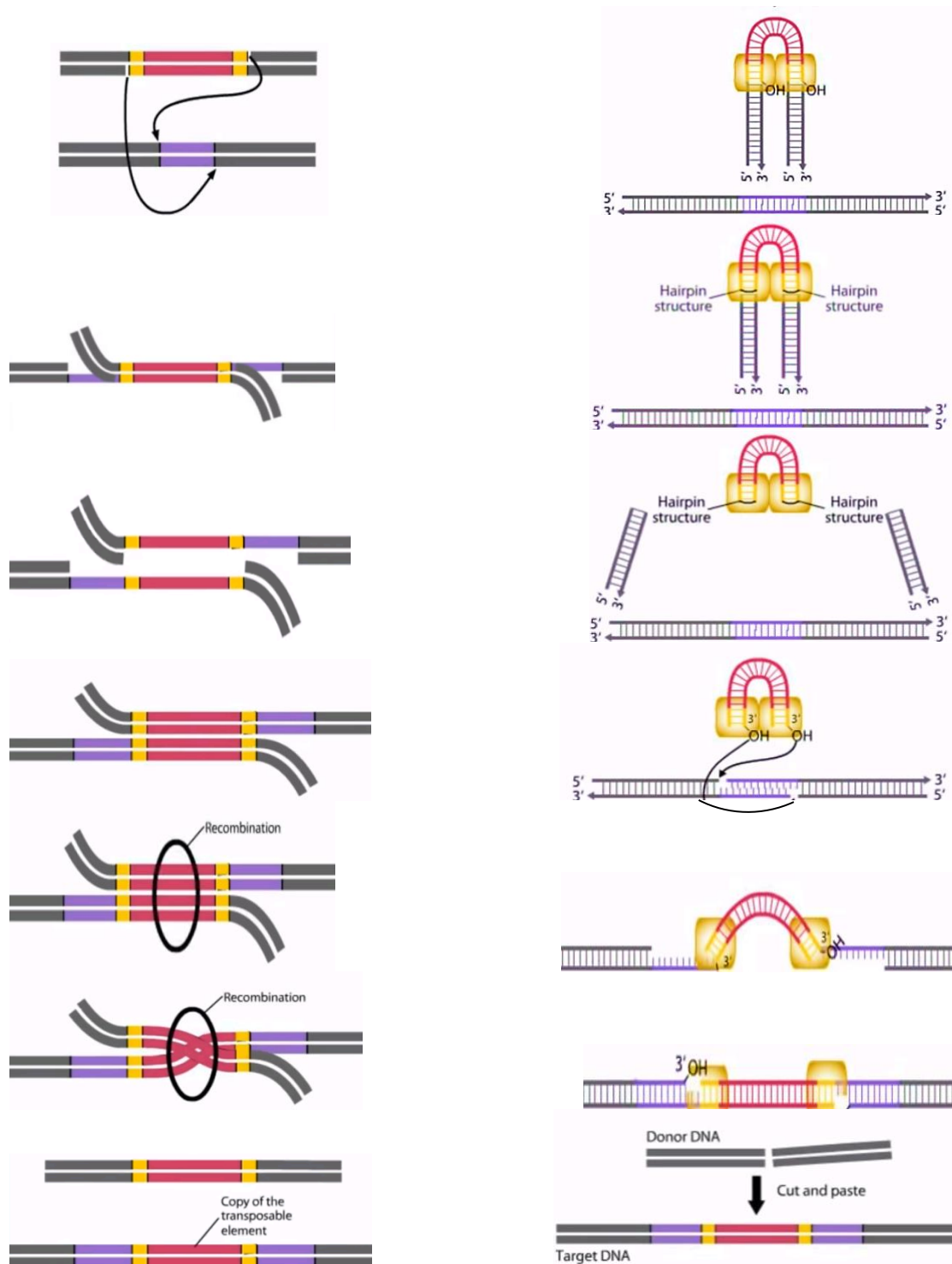


Figure 4.4. Les séquence donneuse et cible sont représentées en haut et en bas, respectivement (Copyright © 2008 W.W. Norton and Company).

Certains éléments IS, tels qu'IS1, sont capables de subir les deux types de transposition (Biel et Berg, 1984).

2.1.3. Impact de la transposition des éléments IS

De plus en plus de données décrivent l'impact des IS sur le génome de leur hôte, mais l'inactivation des gènes reste l'effet le plus courant de la transposition des IS (**Figure 4.5**). De nombreux cas ont été décrits illustrant la modulation de la résistance, de la virulence et des activités métaboliques par l'inactivation de gènes médiée par l'IS (**Vandecraen *et al.*, 2017**).

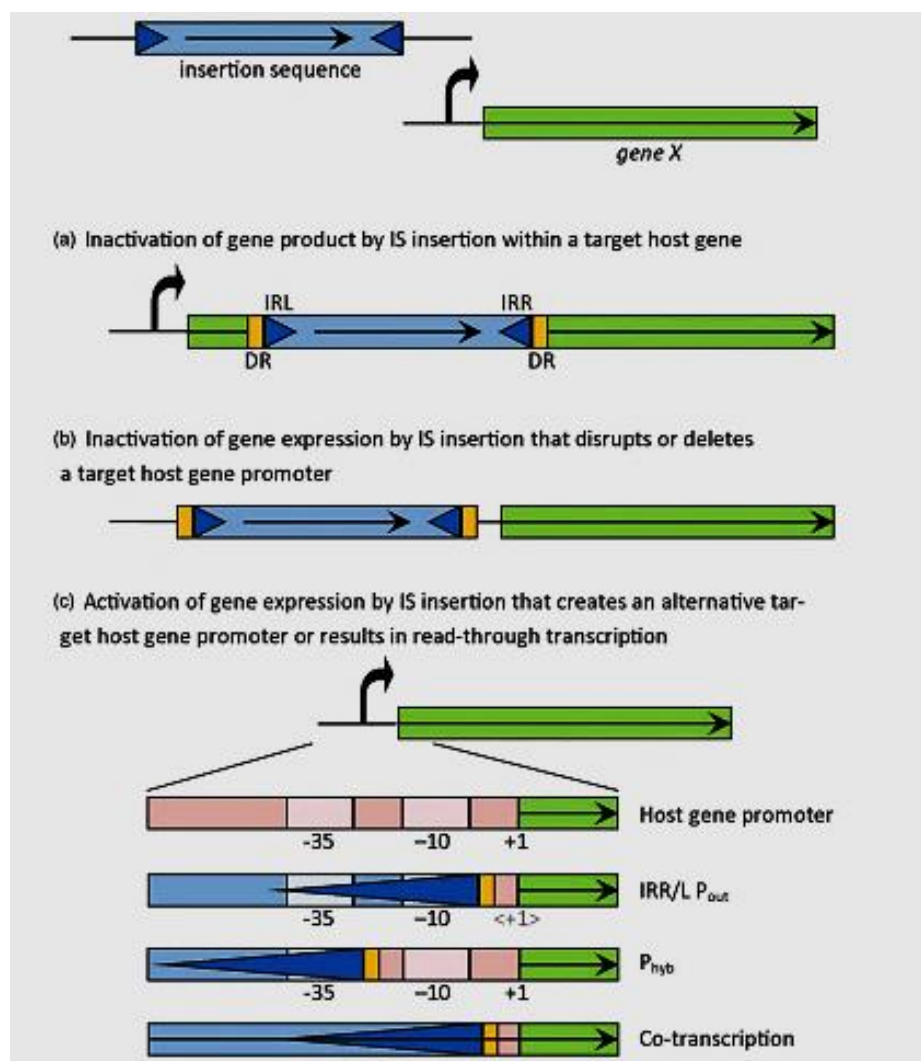


Figure 4.5. Effets possibles de la transposition d'IS sur la fonction et l'expression d'un gène cible (**Vandecraen *et al.*, 2017**).

2.1.3.1. Inactivation des gènes

L'effet le plus courant de la transposition des IS est l'inactivation des gènes en raison de la perturbation de la séquence codante par l'IS (**Kumar *et al.*, 2014**). Cela est particulièrement préoccupant dans le cas où les IS affectent la résistance aux antibiotiques créant ainsi un problème de santé majeur. Des cas où des IS affectent la

résistance aux antibiotiques en inactivant directement les gènes de l'absorption ont été décrits (Vandecraen *et al.*, 2017) :

Transport des antibiotiques. Des exemples incluent une résistance accrue au carbapénème en raison de la translocation d'une IS dans le gène *oprD* codant pour la porine de nombreux isolats de *Pseudomonas aeruginosa* (Al-Bayssari *et al.*, 2015 ; Fowler et Hanson 2014; Rojo-Bezares *et al.*, 2014) ; le gène *carO* codant pour la porine d'*Acinetobacter baumannii* (Mussi *et al.*, 2005) ; le gène *ompE36* codant pour la porine d'*Enterobacter aerogenes* (Chen *et al.*, 2008) et le gène *ompK36* codant pour la porine de *Klebsiella pneumoniae* (Lee *et al.*, 2007).

Sites cibles des antibiotiques. La translocation des IS peut également affecter les sites cibles des antibiotiques. Par exemple, l'inactivation médiée par l'IS des familles IS*Abal1* et IS70 des gènes de la biosynthèse du lipide A chez *Acinetobacter baumannii* entraîne une résistance élevée à la colistine en raison de la perte totale de la production du lipopolysaccharide, cible initiale de la colistine (Moffatt *et al.*, 2011).

Activités métaboliques. D'autres cas illustrant la modulation d'activités métaboliques telles que l'utilisation de sources de carbone, l'utilisation de donneurs d'électrons et la production de métabolites primaires et secondaires par inactivation de gènes médiée par IS ont été décrits (Vandecraen *et al.*, 2017) : Par exemple, la capacité à croître sur différents composés aromatiques peut être modulée par insertion des IS de la famille ISL3 dans la voie catabolique du xylène et du naphthalène du *Pseudomonas stutzeri* OX1 (Bolognese *et al.*, 1999). Egalement, la capacité de *Thiobacillus ferrooxidans* à oxyder le Fe²⁺ (donneur d'électrons) peut être affectée par l'insertion de ISTfe1 (famille ISL3) dans le gène *resB* (Cabrejos *et al.*, 1999). Une inactivation de la production de métabolites primaires et secondaires induite par IS a été observée chez *Acinetobacter baumannii* pour la biosynthèse des lipides A (Moffatt *et al.*, 2011). Egalement, la production d'indole, souvent utilisé comme caractéristique biochimique pour la différenciation des espèces, est inactivé dans de nombreuses souches de *Shigella* par transposition d'IS dans l'opéron *tna* (Rezwan *et al.*, 2004).

Virulence. L'impact de la transposition d'IS sur la virulence via la modulation de la formation de biofilm et la production de substances polymères extracellulaires a

été décrit pour différentes bactéries (Vandecraen *et al.*, 2017) : Chez *Enterococcus faecalis*, une inactivation de l'activité gélatinase qui est essentielle dans les premières étapes de la formation de biofilm est induite par la transposition de l'IS256 (Perez *et al.*, 2015). Une perte de production de polysaccharides extracellulaires a également été observée chez *Xanthomonas oryzaei* via l'inactivation médiée par IS du gène de la gomme M, qui fait partie du groupe de gommes impliqués dans la biosynthèse de polysaccharides extracellulaires (Rajeshwari et Sonti, 2000). Chez *Neisseria meningitidis*, l'expression de la capsule et l'endogène lipooligosaccharide (LOS), ainsi qu'un important antigène sont affectés par l'inactivation de gènes de biosynthèse essentiels par l'IS1301 (Claus *et al.*, 2003 ; Newcombe *et al.*, 1998 ; Hammerschmidt *et al.*, 1996). Dans ce cas, l'inactivation des gènes responsables des antigènes de surface offre une protection accrue contre les défenses de l'hôte.

Génération de pseudogènes. Un autre aspect important de l'inactivation des gènes par l'insertion dans les parties régulatrices est l'apparition de pseudogènes et leur fixation qui sera facilitée par des goulots d'étranglement successifs et son effet serait d'autant plus marqué que la population bactérienne est génétiquement isolée (Touchon et Rocha, 2007). Les endosymbiotes intracellulaires en fournissent de nombreux exemples. L'accumulation de pseudogènes chez les endosymbiotes générés par les IS dans des fonctions pouvant être assurées par l'hôte augmenterait la dépendance de la population bactérienne vis-à-vis de l'hôte (Mira *et al.*, 2001). La capacité des IS à générer des suppressions devrait également conduire à une élimination complète ou partielle des IS eux-mêmes. On pense que cela s'est produit dans des anciens endosymbiotes sans IS (Siguier *et al.*, 2015).

2.1.3.2. Augmentation de l'expression génique

Transport d'antibiotiques. Les éléments IS peuvent également affecter les voies de régulation, modulant ainsi l'expression des gènes. Cela peut augmenter les niveaux d'expression si l'IS est inséré dans une séquence de répresseur. Une dérégulation des pompes d'efflux a été observée chez *P. aeruginosa*, par l'insertion d'IS21 dans le répresseur *mexR*, ce qui entraîne une transcription accrue de la pompe d'efflux *mexAB-oprM* et une résistance accrue aux b-lactamines (Boutoille *et al.*, 2004). Un autre exemple chez *P. putida*, où l'insertion de l'ISS12 (famille IS21) dans

le répresseur du gène *srpS*, entraîne une expression accrue de la pompe d'efflux *srpAC* et une tolérance constitutive aux solvants organiques toxiques (Sun et Dennis 2009).

Virulence. Un autre exemple de l'augmentation de l'expression génique entraînée par l'atteinte des séquences régulatrices est la modulation médiée par IS256 de la virulence de *S. aureus* par insertion dans le promoteur *Rot* (répresseur des toxines), entraînant la dérégulation de l'expression de la cytotoxine et une virulence accrue (Benson *et al.*, 2014).

2.1.3.3. Création de promoteurs hybrides

Les IS peuvent fournir des séquences promotrices, qui sont soit entièrement incluses dans l'IS, soit créées par le placement correct d'un composant promoteur -35 dirigé vers l'extérieur, souvent présent dans les extrémités de l'IS, par rapport à une boîte -10 appropriée dans la région génomique adjacente pour former un promoteur hybride (Figure 4.5). Ces séquences promotrices fournies par l'IS peuvent être orientées vers l'IR droit ou gauche (défini par rapport à l'orientation de la transcription du gène de la transposase) (Vandecraen *et al.*, 2017).

De nombreux IS portent des composants promoteurs -35 orientés vers l'ADN adjacent. Dans un certain cas, cela joue un rôle important dans leur transposition, car un nombre important d'IS transposent à l'aide d'un cercle de transposon excisé avec des extrémités gauche et droite aboutées (Siguier *et al.*, 2015). Pour ces IS, l'autre extrémité porte un élément -10 orienté vers le gène *Tpase* avec le -35, cela génère un puissant promoteur lors de la formation de la jonction circulaire pour diriger l'expression de la *Tpase* nécessaire à la catalyse de l'intégration (Duval-Valentin *et al.*, 2001). Par conséquent, si l'intégration se produit à côté d'une séquence résidente -10, la séquence IS-35 peut contribuer à un promoteur hybride pour conduire l'expression de gènes voisins (Prentki, Teter *et al.*, 1986). À l'heure actuelle, on a signalé que ce phénomène se produisait avec plus de 30 IS différents chez au moins 17 espèces bactériennes (Siguier *et al.*, 2015).

2.2. Transposons composites

Les transposons composites sont des MGE assurant la dissémination de gènes responsables de l'adaptation et de la survie des bactéries, y compris ceux conférant la résistance aux antibiotiques et la dégradation des xénobiotiques (Tansirichaiya *et al.*, 2016). Ils consistent en deux séquences d'insertion (IS) qui encadrent un segment d'ADN (Figure 4.5) (Tansirichaiya *et al.*, 2016). Les IS peuvent être en orientation directe ou inverse. Très souvent, seule l'une des deux IS du transposon code pour une transposase fonctionnelle, l'autre code souvent pour un régulateur de la transposition (Merlin et Toussaint, 1999).

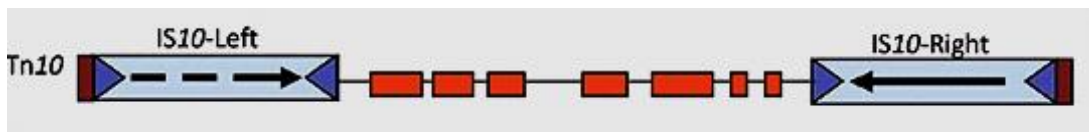


Figure 4.5. Transposon composite Tn10 avec des copies inversées de IS10 (la copie de gauche IS10 n'est pas transposable de manière autonome) (Siguier *et al.*, 2015).

Le segment d'ADN encadré par les IS n'intervient pas dans la transposition et peut coder pour n'importe quelle fonction. Le plus souvent, il s'agit de gènes de résistance aux antibiotiques (kanamycine chez Tn5, tétracycline chez Tn10 ou chloramphénicol chez Tn9), ou de gènes cataboliques comme chez Tn3411 (catabolisme du citrate) ou Tn5280 (catabolisme du trichlorobenzène) (Merlin et Toussaint, 1999).

Le transposon composite peut être transposé comme une unité entière (y compris les deux éléments IS adjacents) selon un mode couper-coller ou copier-coller. Les transposons Tn10 et Tn5 ainsi que leurs éléments IS respectifs (IS10 et IS50), sont transposés par un mécanisme couper-coller non répliatif. Lors de la transposition couper-coller, le transposon est d'abord excisé de l'ADN donneur adjacent par une paire de cassures double brin catalysées par la transposase à chaque extrémité du transposon, ensuite le transposon excisé est inséré dans un site cible. La réparation chez l'hôte de la jonction de l'ADN transposon-cible complète le processus de transposition et laisse une duplication caractéristique du site cible (Haniford et Ellis, 2015).

2.3. Transposons non composites

Les transposons non composites se caractérisent par l'absence d'IS à leurs extrémités. La plupart d'entre eux sont apparentés par leur transposase et par leurs séquences terminales de 35 à 48 pb, répétées en orientation inverse et reconnues par la transposase (**Merlin et Toussaint, 1999**). Ce type de transposons possède un mécanisme de transposition plus complexe, regroupant principalement les membres des familles de transposons Tn3 et Tn7 (**Szuplewska et al., 2014**).

2.3.1. Transposon Tn3

Le transposon Tn3 est l'archétype d'une grande famille de transposons avec des représentants dans presque tous les phyla bactériens, notamment les protéobactéries, les firmicutes et les cyanobactéries (**Nicolas et al., 2015**).

Le trait distinctif contribuant à la prolifération et au succès évolutif des transposons de la famille Tn3 est leur mode de transposition rélicative (**Curcio et Derbyshire, 2003**). Ils se transposent à l'aide d'un mécanisme de type copier-coller dans lequel la réplication du transposon se produit lors de l'intégration dans la cible. La transposition intermoléculaire génère un intermédiaire de co-intégrat, dans lequel les molécules donneur et cible sont fusionnés par des copies de transposons de répétition directe (**Nicolas et al., 2015**).

La formation du co-intégrat nécessite à la fois la transposase codée par le transposon (*tnpA*), pour couper et joindre les extrémités du transposon avec l'ADN cible, et la machinerie de réplication cellulaire, pour copier les brins complémentaires du transposon (**Nicolas et al., 2015**).

Les transposons de la famille Tn3 codent généralement pour une recombinase site-spécifique, ou «résolvase», dont le rôle est de résoudre l'intermédiaire co-intégrat en catalysant une réaction de recombinaison réciproque entre les copies nouvellement synthétisées de l'élément. La recombinaison a lieu sur un site spécifique, le «site de résolution» (*res*) ou le «site de recombinaison interne» (IRS) situé à l'intérieur du transposon (**Nicolas et al., 2015 ; Szuplewska et al., 2014**). La réaction achève le cycle de transposition en restaurant la molécule d'origine du donneur et en produisant une molécule cible avec une copie de transposon (**Nicolas et al., 2015**).

La résolvase des transposons les plus caractérisés de la famille Tn3 appartient à la famille des sérine recombinases (S-recombinases), mais dans quelques cas, elle

appartient à la famille des tyrosines recombinases (Y-recombinases) (Olorunniji et Stark, 2010).

2.3.1.1. Organisation

Les membres de la famille Tn3 sont composés de (Figure 4.6) :

- **un module central de transposition** : comprenant le gène de la transposase (*tnpA*) et des répétitions inversées (IR) d'environ 38 pb typiques aux extrémités du transposon (Nicolas *et al.*, 2015).
- **un module de résolution du co-intégrat** : c'est un module de recombinaison site-spécifique composé d'un gène de résolvasse (*tnpR*) et d'une séquence *res* responsable de la résolution du co-intégrat (sur les sites *res*), qui sont des formes intermédiaires en transposition répllicative (Szuplewska *et al.*, 2014).

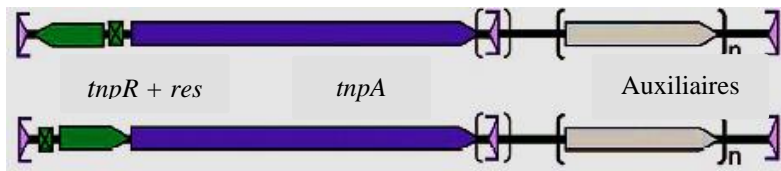


Figure 4.6. Structure des transposons de la famille Tn3. (Nicolas *et al.*, 2015).

- **Gènes auxiliaires** : Les transposons de la famille Tn3 contiennent généralement un ou plusieurs gènes auxiliaires en plus de leurs modules de transposition et de résolution de co-intégrat. La taille de ces éléments varie de quelques dizaines à plusieurs kilobases selon le nombre de gènes qu'ils transportent (Nicolas *et al.*, 2015). Ces gènes peuvent être regroupés en trois catégories :

a. Gènes auxiliaires antimicrobiens

Les membres de la famille Tn3 qui confèrent une résistance aux composés antimicrobiens se trouvent dans différents sous-groupes de la famille. Des exemples de ceux-ci incluent les gènes β -lactamase porté sur le Tn3 (Partridge et Hall, 2005), le gène de résistance au macrolide-lincosamide-streptogramine porté sur le Tn917 d'*Enterococcus faecalis* (Shaw et Clewell, 1985), les gènes aminoglycoside phosphotransférase porté sur le Tn5393 (Chiou et Jones, 1993) ou le gène *tetA* (A) de la pompe d'efflux de tétracycline porté sur Tn1721 (Allmeier *et al.*, 1992).

Il existe maintenant de nombreux représentants de la famille Tn3 identifiés avec différentes combinaisons de déterminants de la résistance aux antibiotiques, qui contribuent à l'émergence et à l'expansion accélérée d'agents pathogènes bactériens multirésistants dans les environnements cliniques et communautaires (Nicolas *et al.*, 2015).

b. Gènes auxiliaires cataboliques

Les transposons cataboliques de la famille Tn3 permettent aux cellules hôtes d'utiliser des composés xénobiotiques tels que des hydrocarbures aromatiques récalcitrants (par exemple, le toluène, les xylènes et le naphthalène) en tant que source unique de carbone et d'énergie (Nicolas *et al.*, 2015).

c. Gènes auxiliaires pathogéniques

Cette catégorie de gènes auxiliaires inclue des facteurs de virulence provenant d'agents pathogènes d'origine animale et végétale. Par exemple, le transposon TnXOI du plasmide de virulence de *B. anthracis*, porte un opéron responsable de la germination des spores lors de l'infection (Van der Auwera et Mahillon, 2005), et le TnhopX1 du *Pseudomonas syringae*, favorise la dispersion de HopX1, une protéine effectrice conservée dans la plupart des phytopathogènes, avec systèmes de sécrétion de type III (Landgraf *et al.*, 2006).

2.3.1.2. Mécanisme moléculaire de la transposition

Les transposons de la famille Tn3 se transposent par un mécanisme de transposition répllicative en deux étapes (Ichikawa et Ohtsubo, 1990):

a. Formation d'un co-intégrat

La transposase introduit des clivages aux deux extrémités 3' de l'élément, puis relie ces extrémités aux phosphates échelonnés de l'ADN cible (transfert de brin) pour générer l'intermédiaire «intermédiaire de Shapiro» dans lequel les brins d'ADN du transposon sont connectés aux molécules du donneur et de la cible par l'intermédiaire de structures ramifiées à trois voies ressemblant à des fourches de réplication (Figure 4.7). Le recrutement des facteurs de réplication de l'hôte conduit à une duplication des transposons et à la formation de répétitions directes courtes flanquant les deux copies de l'élément dans le co-intégrat (Figure 4.7) (Nicolas *et al.*, 2015).

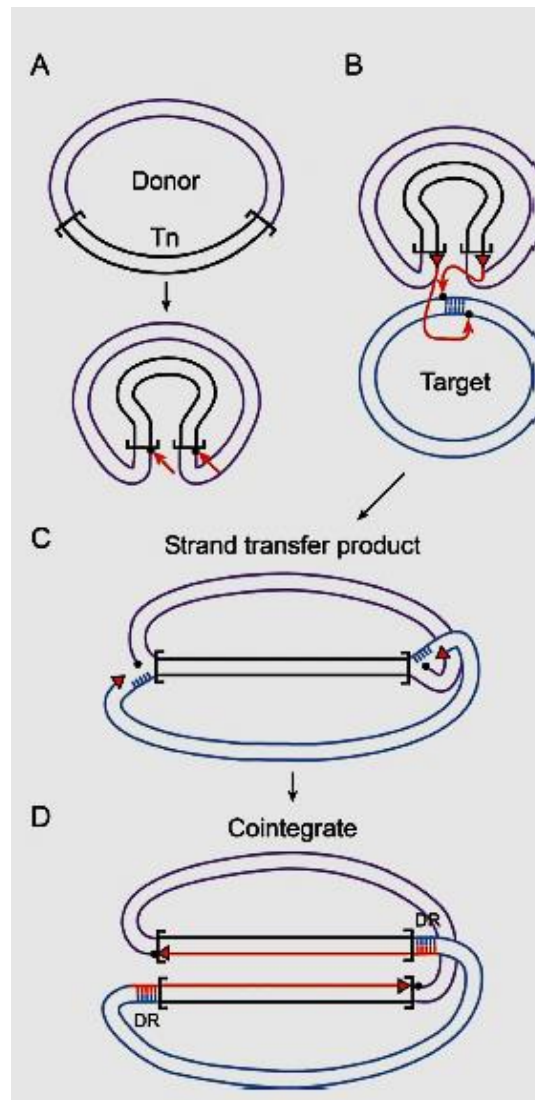


Figure 4.7. Modèle de transposition répllicative d'un transposon Tn (Nicolas *et al.*, 2015).

b. Résolution du co-intégrat

La résolution du co-intégrat est une étape catalysée par une enzyme résolvasse qui sert à scinder l'intermédiaire de co-intégration en deux cercles, en catalysant une réaction de recombinaison site-spécifique entre les deux copies du transposon dans le co-intégrat (Olorunniyi et Stark, 2010).

2.3.2. Transposon Tn7

Le transposon Tn7 est un transposon bactérien de 14 kb qui a été découvert à l'origine chez *Escherichia coli* (Parks et Peters, 2007). Le Tn7 se distingue des autres

transposons par les niveaux de contrôle qu'il affiche quand et où il dirige la transposition et par sa capacité à utiliser différents types de sites cibles (Peters, 2015).

Le Tn7 possède deux systèmes de transposition distincts qui tirent parti à la fois de la stabilité du chromosome et de la mobilité des plasmides pour la propagation, la persistance et la dissémination parmi les bactéries (Figure 4.8) (Peters, 2015 ; Parks et Peters, 2009 ; Craig, 2002; Peters and Craig, 2001a ; Waddell et Craig, 1988).

Le Tn7 se transpose préférentiellement aux plasmides conjugatifs lorsqu'ils entrent dans la cellule. Ce ciblage préférentiel de ces plasmides par Tn7, et le large éventail d'hôtes de ces plasmides, contribuent à la dispersion du Tn7 parmi les populations bactériennes (Wolkow *et al.*, 1996). Le Tn7 comme beaucoup d'autres transposons bactériens, porte des gènes qui codent pour les déterminants de la résistance aux antibiotiques. La voie de dispersion des plasmides peut donc permettre à de nombreuses bactéries d'acquérir une résistance aux antibiotiques (Peters et Craig, 2001b).

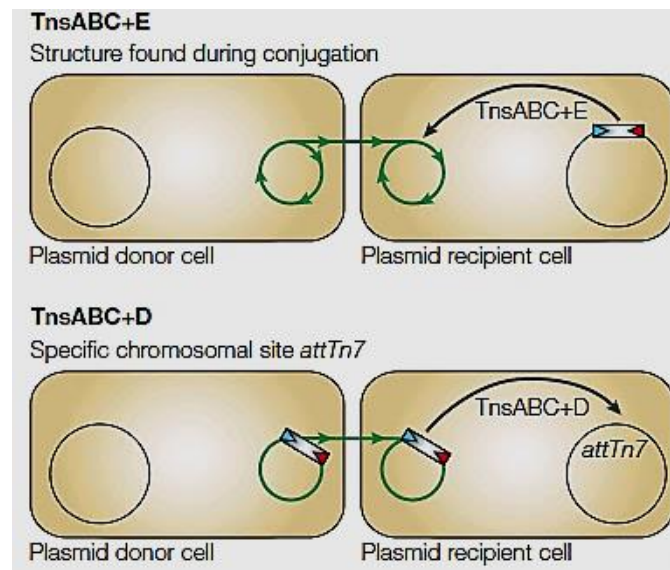


Figure 4.8. Les deux voies de transposition du Tn7 (Peters et Craig, 2001b).

Dans sa deuxième voie de transposition, le Tn7 s'insère à haute fréquence dans un seul site spécifique dans les chromosomes bactériens. L'insertion de Tn7 dans ce site n'est pas délétère pour l'hôte et fournit un site «sûr» pour l'insertion du transposon. Cette voie d'insertion site-spécifique fournit donc un mécanisme pour favoriser la coexistence réussie de Tn7 et de son hôte, ainsi que pour promouvoir la transmission de Tn7 aux cellules filles (Peters, 2015 ; Peters et Craig, 2001b).

2.3.2.1. Structure du Tn7

Le transposon Tn7 est composé de cinq gènes codant pour des protéines: TnsA, TnsB, TnsC, TnsD et TnsE (TnsABCDE), ainsi que des séquences d'extrémité gauche et droite Tn7-L et Tn7-R (**Figure 4.9**) (**Bainton *et al.*, 1993**). TnsA et TnsB constituent la transposase, TnsD et TnsE sont des facteurs de spécificité de cible, et TnsC est une protéine régulatrice qui communique entre la transposase et les protéines de ciblage (**Peters, 2015**). Les extrémités Tn7-L et Tn7-R sont les séquences sur lesquelles agit le mécanisme de transposition. Le segment de l'extrémité gauche (Tn7-L) est d'environ 150 pb et contient trois sites de liaison de TnsB largement espacés, et le segment de l'extrémité droite (Tn7-R) est d'environ 90 pb de long et contient quatre sites chevauchant de liaison de TnsB (**McKown *et al.*, 1987**). Tout morceau d'ADN flanqué par ces segments d'extrémité peut être transposé en présence des protéines de transposition Tn7 (**Peters et Craig, 2001b**).

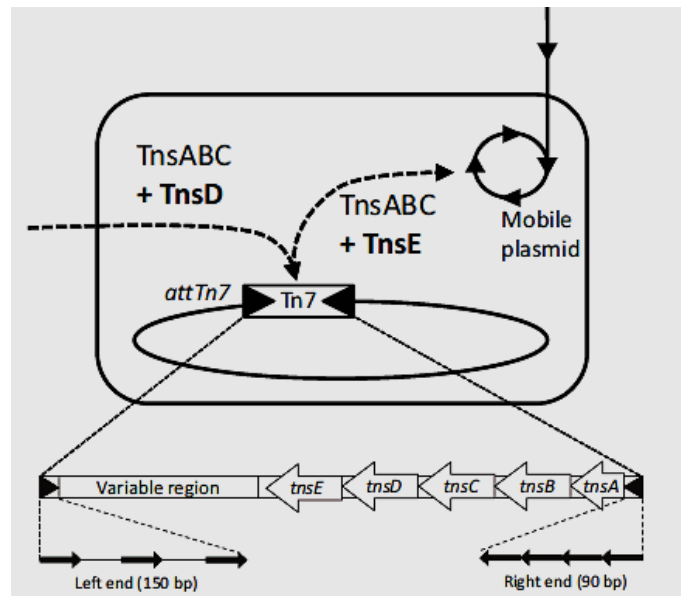


Figure 4.9. Structure du Tn7 (**Peters, 2015**).

Cette configuration des sites de liaison confère une asymétrie au transposon et permet au Tn7 de contrôler non seulement la position et le moment de la transposition, mais également l'orientation gauche à droite des séquences d'extrémité du transposon par rapport à la molécule d'ADN cible (**Finn *et al.*, 2007 ; Peters et Craig, 2001a ; Bainton *et al.*, 1991**). Les sites de liaison TnsB des différents éléments ne sont pas identiques, mais ils sont similaires (**Parks et Paters, 2009**).

2.3.2.2. Principales protéines de la transposition du Tn7

La transposase hétéromérique TnsA/TnsB. Les protéines TnsA et TnsB comprennent le composant transposase du mécanisme de transposition du Tn7 (**Parks et Peters, 2009**). La transposase hétéromérique TnsAB excise le Tn7 du site donneur en introduisant des coupures d'ADN double brin à chaque extrémité de l'élément transposable, puis joint les extrémités du transposon à l'ADN cible (**Lu et Craig, 2000 ; Sarnovsky *et al.*, 1996**). La transposase TnsAB ne déclenche la transposition que lorsqu'un lieu approprié pour l'insertion a été identifié (**Sarnovsky *et al.*, 1996 ; May et Craig, 1996**). Bien que tous les éléments transposables présentent un certain degré de spécificité ou de biais vis-à-vis du site cible, il a été montré qu'un nombre limité contrôle la transposition, de sorte qu'ils n'initient le processus que lorsque certaines cibles spécifiques sont identifiées (**Peters, 2015**).

TnsB est une transposase de la superfamille des intégrases rétrovirales (**Haren *et al.*, 1999 ; Sarnovsky *et al.*, 1996**). Cette protéine effectue la première réaction de rupture et de jonction, qui impliquent le clivage des extrémités 3' du transposon de l'ADN flanquant du donneur. Le Tn7 est également clivé aux extrémités 5' par TnsA. Les extrémités 3'-hydroxyle du transposon sont ensuite reliées à des groupes 5'-phosphate de l'ADN au site d'insertion de la molécule cible (**Figure 4.10**) (**Sarnovsky *et al.*, 1996**).

En plus de catalyser les événements de rupture et de jonction aux extrémités 3' de l'élément pendant la transposition, la protéine TnsB est également responsable de la reconnaissance des séquences qui délimitent les extrémités gauche et droite de l'élément (**Figure 4.10**) (**Arciszewska et Craig, 1991**).

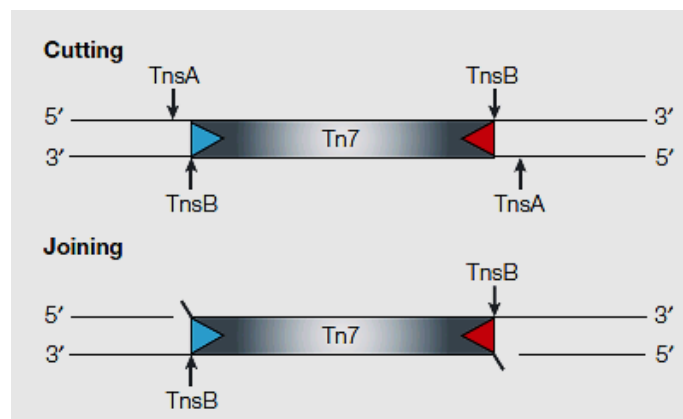


Figure 4.10. Mécanisme de la transposition du Tn7 (**Peters et Craig, 2001b**).

La protéine TnsA ressemble structurellement à une endonucléase de restriction (**Ronning *et al.*, 2004**) et réalise la réaction de rupture sur le brin opposé de la molécule donneuse dans les extrémités 5', libérant ainsi complètement l'élément et laissant derrière elle une rupture d'ADN double brin (**Figure 4.10**) (**May et Craig, 1996**; **Sarnovsky *et al.*, 1996**).

Les réactions de rupture et ligature de la transposase hétéromérique TnsAB donne un produit dans lequel le transposon est lié de manière covalente à l'ADN cible à ses extrémités 3' et est flanqué de gap à ses extrémités 5' (**Figure 4.10**). La réparation de ces gap par la machinerie de l'hôte après la transposition donne une duplication du site cible de 5 pb, caractéristique de l'insertion de Tn7 (**Peters, 2015** ; **Peters et Craig, 2001a** ; **Peters et Craig, 2001b**).

La TnsC. La TnsA et TnsB ne procéderont pas à la transposition seule. TnsC interagit avec l'ADN cible et avec TnsAB pour favoriser l'excision et l'insertion de Tn7 (**Bainton *et al.*, 1993**). La TnsC n'active la transposition qu'une fois complexé avec l'ADN cible et l'une des protéines de sélection de la cible, TnsD ou TnsE (**Bainton *et al.*, 1993**; **Waddell et Craig, 1988**). TnsC est une protéine de liaison à l'ADN double brin censée moduler l'activité via un domaine ATPase (**Stellwagen et Craig, 1998**). Cette protéine est considérée comme le régulateur central de la transposition en raison de son exigence dans les deux voies de sélection du site cible (**Peters et Craig, 2001a**).

TnsD et TnsE. Ce sont des sélecteurs de cibles. Les deux protéines de sélection de cible TnsD et TnsE agissent en identifiant les molécules cibles potentielles et en activant ensuite la machinerie de transposition centrale par la formation du complexe nucléoprotéine (**Finn *et al.*, 2007** ; **Craig, 2002** ; **Peters et Craig, 2001b**). TnsD et TnsE permettent aux protéines TnsABC d'exécuter les réactions de cassure et de jonction qui excisent Tn7 du donneur et l'insère dans un site cible (**Peters et Craig, 2001b**). Ainsi, TnsD et TnsE agissent non seulement comme des sélecteurs de sites cibles, mais également comme des activateurs de la machinerie de base de TnsABC. TnsD et TnsE sont toutes deux des protéines de liaison à l'ADN (**Peters, 2015** ; **Parks et Peters, 2009** ; **Peters et Craig, 2001b**).

2.3.2.3. Voie de transposition médiée par TnsD

TnsABC+D favorise l'insertion de Tn7 en une séquence d'ADN spécifique, appelée attTn7, que l'on trouve dans de nombreuses bactéries (Gay *et al.*, 1986). TnsD est une protéine de liaison à l'ADN site-spécifique qui se lie à attTn7 (Peters, 2015 ; Parks et Peters, 2009 ; Peters et Craig, 2001b).

La protéine TnsD se lie à une séquence d'ADN située dans l'extrémité 3' du gène *glmS* (Figure 4.11) (Peters, 2015). Le gène *glmS* code pour la glucosamine 6-phosphate synthase (GlmS). Cette protéine catalyse la formation du 6-phosphate glucosamine à partir d'un précurseur de fructose 6-phosphate. Le produit de cette réaction, la N-acétylglucosamine, est un composant essentiel de la paroi cellulaire chez les bactéries (Peters, 2015). Ce qui rend ce gène hautement conservé en raison de son rôle essentiel à la survie des cellules hôtes (Peters, 2015 ; Parks et Peters, 2009 ; Peters et Craig, 2001b). Cependant, le point réel d'insertion de Tn7 se situe en aval de la région codante du gène *glmS* (Figure 4.11). Ainsi, l'insertion de Tn7 dans attTn7, bien que dirigée par un gène hautement conservé, ne conduit pas à la destruction de ce gène (Peters, 2015 ; Parks et Peters, 2009 ; Peters et Craig, 2001b). La séquence attTn7 trouvée dans le gène *glmS* est hautement conservée dans un large éventail de bactéries, ce qui indique que la transposition médiée par TnsABC + D fournit une stratégie «intelligente» qui devrait permettre à Tn7 de trouver un site d'insertion «sûre» chez divers hôtes (Peters et Craig, 2001b).

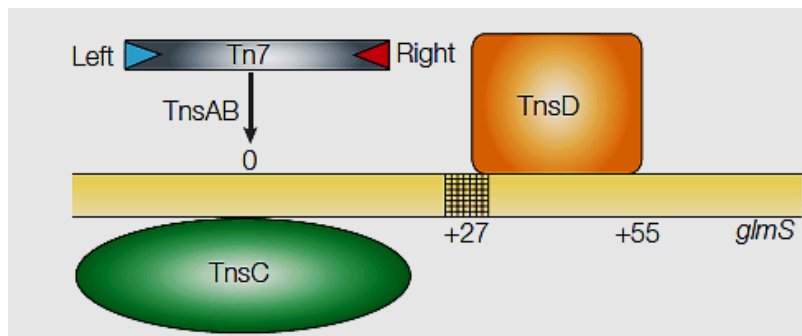


Figure 4.11. Voie de transposition médiée par TnsD (Peters et Craig, 2001b).

Lorsque TnsD se lie au site attTn7, il provoque une distorsion de la structure de l'ADN qui recrute à son tour TnsC et active la transposition (Kuduvalli *et al.*, 2001). La protéine TnsD interagit également avec deux protéines hôtes, la protéine ribosomale L29 et la protéine acyl-carrier (ACP), qui semblent stabiliser le complexe nucléoprotéique et stimuler la transposition TnsABC+D (Sharpe et Craig, 1998). L'interaction avec ces protéines peut fournir à l'élément Tn7 des indices sur l'état

métabolique ou la phase de croissance de la cellule hôte, affinant encore la régulation de la transposition (**Sharpe et Craig, 1998**).

En outre, la localisation du gène *glmS* pourrait également être considérée comme avantageuse pour Tn7. Le gène *glmS* est presque toujours situé près de l'origine chromosomique de la réplication et se réplique donc tôt dans le cycle cellulaire. Puisque Tn7 est un transposon de type couper-coller, il laisse derrière lui une rupture d'ADN double brin (DSB) suite à l'excision (**Bainton et al., 1991**). Une copie de l'élément est généralement régénérée une fois la DSB réparée par recombinaison homologue avec le chromosome frère (**Parks et Peters, 2009**). Ainsi la voie TnsABC+D favoriserait la transmission verticale du transposon Tn7 vers les cellules filles.

2.3.2.4. Voie de transposition médiée par TnsE

Alors que la voie TnsD dirige la transposition dans les chromosomes et favorise la propagation verticale du Tn7 vers la descendance d'un hôte, la voie TnsE maximise le transfert horizontal de l'élément (**Finn et al., 2007; Wolkow et al., 1996**).

La transposition médiée par TnsABC+E cible un aspect de la réplication spécialisée de l'ADN qui se produit pendant le transfert du plasmide conjugatif (**Parks et Peters, 2009 ; Peters et Craig, 2001b**). Le transfert du plasmide conjugatif débute quand une protéine codée par le plasmide clive l'ADN au niveau du site (*oriT*), et en se liant l'extrémité 5' du brin clivé, elle le dirige dans la cellule réceptrice. Un brin d'ADN complémentaire est alors synthétisé dans les cellules donneuse et receveuse pour rétablir l'ADN double brin (**Peters et Craig, 2001b**). Toutefois, la synthèse du deuxième brin de l'ADN plasmidique est fondamentalement différente dans les cellules donneuse et receveuse, car les brins d'ADN sont de polarité opposée. Dans la cellule donneuse, la réplication de l'ADN plasmidique se produit par synthèse de l'ADN du brin principal et ne doit être amorcée qu'une seule fois, alors que dans la cellule receveuse, la réplication de l'ADN doit être continuellement réamorcée dans le cadre d'un processus de synthèse du brin tardif (**Peters et Craig, 2001b**).

La transposition médiée par TnsE se produit en identifiant un aspect de la synthèse de l'ADN du brin tardif (**Parks et Peters, 2009 ; Peters et Craig, 2001a; Peters et Craig, 2001b**). Cette voie de transposition reconnaît préférentiellement les

plasmides mobiles lorsqu'ils entrent dans la cellule hôte contenant Tn7 (**Wolkow et al., 1996**).

Le transposon Tn7 obtient l'accès à l'ADN plasmidique activement transporté parmi les bactéries, augmentant ainsi la probabilité que le transposon soit transporté vers un nouvel hôte. Tn7 est capable d'y parvenir sans le compromis évolutif auquel les autres transposons sont confrontés en sélectionnant des cibles au hasard, ce qui risquerait de perturber les fonctions essentielles de l'hôte ou de les insérer à des positions qui, par ailleurs, auraient un effet défavorable sur l'expression des gènes (**Parks et Peters, 2009**).

La voie médiée par TnsE ne reconnaît pas les plasmides qui ne sont pas capables de se mobiliser entre les bactéries, ce qui indique qu'une adaptation spécifique pour reconnaître les plasmides mobiles existe (**Peters, 2015**). Les événements de transposition sont également dirigés vers la possibilité du phage filamenteux M13, indiquant un autre mécanisme pour faciliter le transfert horizontal de l'élément (**Finn et al., 2007**).

Bien qu'une préférence régionale distincte soit trouvée avec les insertions médiées par TnsE, aucune séquence d'ADN préférée ne peut être identifiée dans les séquences d'ADN utilisées pour l'insertion. Par conséquent, contrairement à TnsD, TnsE n'est pas une protéine de liaison à l'ADN spécifique à une séquence (**Peters, 2015**). L'analyse de la liaison de TnsE montre que cette protéine possède une liaison spécifique aux extrémités libres 3' (**Peters, 2015 ; Peters et Craig, 2001a ; Peters et Craig, 2001b**).

Les caractéristiques qui permettent à la transposition médiée par TnsE de cibler le brin tardif lors de la réplication de l'ADN impliquent une interaction de TnsE avec une structure d'ADN composée d'une extrémité 3' libre et de la pince coulissante β (également appelé β -clamp ou DnaN) qui s'attache à l'ADN polymérase lors de son déplacement le long du chromosome bactérien au cours de la réplication (**Peters, 2015**).

La distribution attendue des protéines β -clamp sur les deux brins pendant la réplication de l'ADN est très différente (**Peters, 2015**). En théorie, une seule β -clamp sur le brin avancé pourrait suffire à répliquer un réplichore entier. Cependant, la réplication de la matrice du brin tardif est discontinue et une nouvelle β -clamp est

chargée pour l'ADN polymérase III et l'ancienne est abandonnée. La capacité de TnsE à interagir avec la β -clamp coulissante constitue un modèle satisfaisant de la manière dont TnsE pourrait être recruté dans le brin tardif (Peters, 2015). L'interaction avec la pince coulissante se fait par l'intervention d'une séquence conservée trouvée entre 121 et 131 dans TnsE (Peters, 2015).

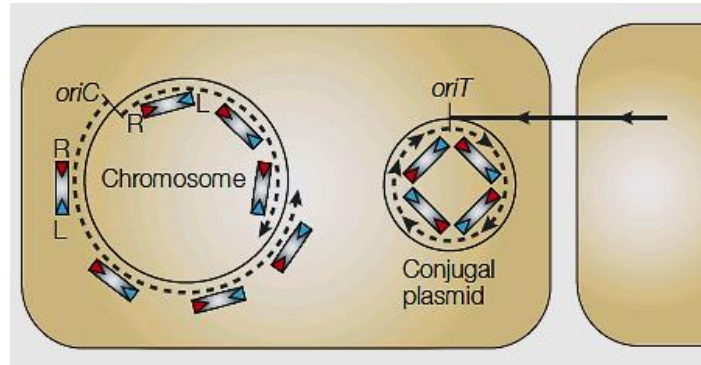


Figure 4.12. Voie de transposition médiée par TnsE (Peters et Craig, 2001b).

Des insertions médiées par TnsE se produisent parfois dans le chromosome (Figure 4.12), bien qu'à une fréquence beaucoup plus basse que celle observée dans les plasmides conjugatifs (Parks et Peters, 2009 ; Peters et Craig, 2001b). Les insertions chromosomiques médiées par le TnsE sont fréquentes dans la région du chromosome où la réplication se termine (Peters et Craig, 2000). Tous les chromosomes bactériens sont répliqués de façon bidirectionnelle par deux fourches de réplication qui proviennent d'une même origine (*ori*), ces fourches de réplication se rencontrent au niveau de la région terminale, divisant le chromosome en deux réplichores (Sherratt, 2003). Les insertions médiées par TnsE se produisent avec une orientation opposée des extrémités Tn7 dans chaque réplichore dans une configuration compatible avec la reconnaissance de la synthèse du brin chromosomique tardif (Figure 4.12) (Parks et Peters, 2009 ; Peters et Craig, 2001a ; Peters et Craig, 2001b).

2.4. Intégrons

Les intégrons sont des plates-formes génétiques qui permettent aux bactéries d'évoluer rapidement grâce à l'acquisition, au stockage, à l'excision et au réordonnement des cadres de lecture ouverts trouvés dans des éléments mobiles nommés **cassettes** (Escudero *et al.*, 2014). Les intégrons constituent donc un système original de capture de gènes capable de promouvoir efficacement la dissémination des

gènes de résistance aux antibiotiques au sein du monde bactérien (Ploy *et al.*, 2000). Les intégrons se trouvent principalement dans les bactéries à Gram négatif (Hall et Collis, 1998).

2.4.1. Structure de l'intégron

La structure de tout intégron comprend une plate-forme stable et un réseau de cassettes variables. La plateforme contient: (i) le gène codant pour l'intégrase (*intI*), permettant de réaliser spécifiquement l'intégration et l'excision de cassettes en catalysant la recombinaison entre *attI* et *attC* (ou *attC* x *attC*), (ii) un site de recombinaison pour l'intégration de cassettes (*attI*), qui se trouve en amont du gène *intI* et (iii) un promoteur (P_C), au sein du gène *intI* ou entre *intI* et le site *attI*, qui est orienté vers le point d'intégration et conduit à l'expression des cassettes (Figure 4.13) (Jové *et al.*, 2010 ; Collis et Hall, 1995 ; Levesque *et al.*, 1994).

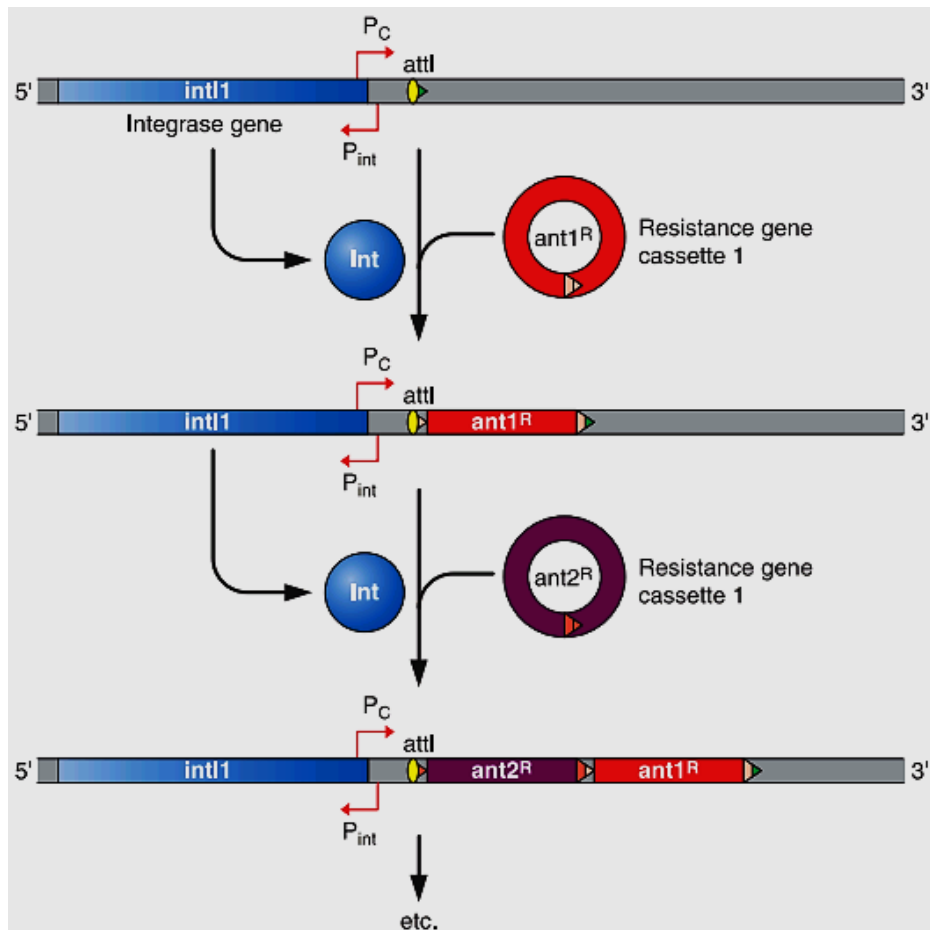


Figure 4.13. Organisation d'un intégron (Mazel, 2004).

2.4.2. Structure des cassettes

Les cassettes sont des éléments circulaires qui ne se répliquent pas lors du déplacement d'un site génétique à un autre (Collis et Hall, 1992a), mais qui se trouvent normalement sous forme de séquences linéaires faisant partie d'une molécule d'ADN plus grande, telle qu'un plasmide ou un chromosome bactérien (Peter, 1999).

Les cassettes contiennent généralement un gène sans promoteur et un site de recombinaison: le site *attC*, qui fonctionne comme un site de recombinaison spécifique (Hall et al., 1991). Par conséquent, les cassettes sont petites, généralement de l'ordre de 500 à 1000 pb (Peter, 1999).

Les cassettes présentent des tailles et des fonctions variables, mais ont une structure commune. La région terminale 3' de chaque gène est adjacente à la séquence palindromique *attC* (Ploy et al., 2000). Les sites *attC* sont des répétitions inversées imparfaites. Le premier site *attC* décrit avait une taille de 59 paires de bases et le terme «élément de 59 pb» est souvent utilisé pour les sites *attC*. La longueur des sites *attC* est variable et varie de 57 à 141 pb. Deux séquences de 7 paires de bases sont situées aux limites de chaque site *attC* et sont désignées comme site core et site core inverse (Ploy, 2000 ; Ploy et al., 2000). Le site core avec la séquence consensus GTTRRRY (R, purine, Y, pyrimidine) est localisé à l'extrémité droite du site *attC*. Le site core inverse avec la séquence complémentaire RYYAAC est localisé à l'extrémité gauche. En résumé, une cassette est constituée d'un gène immédiatement suivi d'un site *attC*. Cette entité entière est encadrée par deux séquences consensus GTTRRRY (Figure 4.14) (Ploy, 2000 ; Ploy et al., 2000).

Toutes les cassettes sont orientées dans la même direction puisque la recombinaison a lieu au niveau du site core GTTRRRY, situé en 3' du site *attC*, et non du core inverse, situé en 5' (Ploy, 2000).

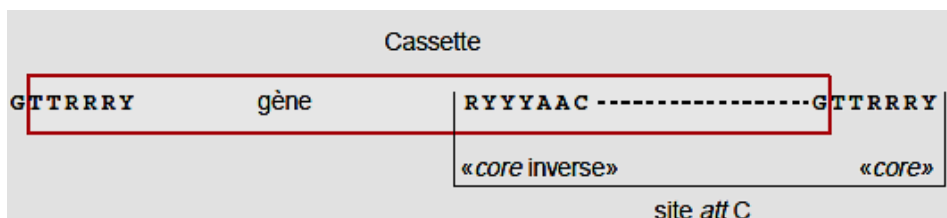


Figure 4.14. Structure d'une cassette. Une cassette contient un gène flanqué à son extrémité 3' du site de recombinaison *attC*. Le site *attC* est flanqué à ces deux extrémités de séquences inversées et répétées, le core et le core inverse. L'extrémité 5' de la cassette est constituée des 6 dernières paires de bases du site *attC* de la cassette

précédente. Le point de recombinaison se situe entre le G d'une séquence core et le premier T d'une autre séquence core (cadre rouge) (Ploy, 2000).

2.4.3. Expression des cassettes

Les gènes portés sur des cassettes sont généralement dépourvus de promoteurs et sont rendus fonctionnels par leur intégration dans la plateforme d'intégron et leur expression par le promoteur P_C (Escudero *et al.*, 2014 ; Peter, 1999), dans ce cas leur transcription est, comme dans un opéron, sous le contrôle d'une région promotrice localisée dans la région 5' conservée d'intégron (Collis et Hall, 1995).

Une même cassette aura un niveau d'expression différent selon qu'elle est proche ou éloignée du P_C . Ainsi, les gènes localisés dans des cassettes éloignées du promoteur seront faiblement exprimés (Figure 4.15) (Ploy, 2000). Les cassettes peuvent être excisées de manière aléatoire et ensuite intégrées dans la première position du réseau où leur expression est maximale. Par conséquent, le contenu de la cassette d'un intégron est variable, reflétant l'historique d'événements intégratifs représentant une mémoire de fonctions utiles et peu coûteuse pour la cellule (Escudero *et al.*, 2014). La pression de sélection exercée par un antibiotique donné peut favoriser des réarrangements de cassettes afin de positionner une cassette codant pour le gène de résistance à cet antibiotique à une localisation plus proche du promoteur (Collis et Hall, 1995).

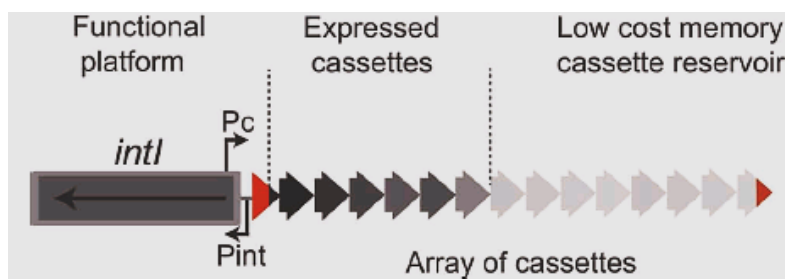


Figure 4.15. Expression des cassettes: les cassettes du réseau sont représentées par de petites flèches. Leur niveau d'expression est reflété par l'intensité de la couleur de chaque flèche. Seules les premières cassettes du groupe sont exprimées et les suivantes peuvent être considérées comme un réservoir de cassette peu coûteux (Escudero *et al.*, 2014).

2.4.4. Mobilité des cassettes

Les mouvements d'intégration et d'excision sont catalysés par une tyrosine intégrase via un mécanisme de recombinaison site-spécifique (Collis et Hall, 1992b).

Les sites spécifiques reconnus par l'intégrase sont les sites *attC* et le site *attI*. Deux réactions de recombinaisons sont possibles : la réaction *attI*×*attC*, qui intègre les cassettes dans l'intégron et la réaction *attC*×*attC* menant à l'excision des cassettes du réseau (Escudero *et al.*, 2014). Le site *attI* contient également les séquences de 7 pb GTTRRRY mais, contrairement aux sites *attC*, pas la séquence complémentaire. Le point de croisement se produit entre la base G d'un site core GTTRRRY et la première base T d'un deuxième site core (Ploy *et al.*, 2000).

Contrairement aux cassettes, les intégrons sont défectueuses pour l'auto-transposition, mais ce défaut est souvent complété par association avec des IS, des transposons et/ou des plasmides conjugatifs qui peuvent servir de véhicules pour la transmission intra et interspécifique du matériel génétique. Avec ce système, les bactéries sont capables de stocker des loci génétiques exogènes pour constituer un arsenal antimicrobien appréciable (Mazel, 2004).

2.5. Îlots génomiques

Les îlots génomiques (GEI) sont d'anciens éléments génétiques mobiles qui se présentent sous la forme d'unités distinctes sur le chromosome (Hentschel et Hacker, 2001). Ces structures génomiques sont présents dans les génomes de nombreuses bactéries mais absents des génomes de souches étroitement apparentées. Les GEI sont souvent grandes (10–200 kb) (Hentschel et Hacker, 2001). Ils ont une composition de base aberrante par rapport au génome entier, ils codent pour une intégrase et s'insèrent au niveau des loci d'ARNt (Boyd *et al.*, 1990).

Le terme **îlot de pathogénicité** (PAI) a été inventé pour la première fois à la fin des années 1990 par Hacker et ses collègues pour décrire des régions instables présentes dans des isolats uropathogènes d'*Escherichia coli* qui ne ressemblaient à aucun élément intégratif décrit précédemment (Hacker *et al.*, 1990). Les régions ont été appelées îlots de pathogénicité car elles codent plusieurs facteurs de virulence (Hacker et Kaper, 2000 ; Hacker *et al.*, 1997 ; Hacker *et al.*, 1990). Par la suite, des éléments similaires ou identiques aux PAI ont été identifiés dans une gamme d'espèces non pathogènes, constatation qui présentait initialement un paradoxe. Cependant, des études plus récentes ont montré que ces éléments contribuent non seulement à l'évolution des

microorganismes pathogènes, mais également aux espèces non pathogènes et environnementales (Dobrindt *et al.*, 2004).

L'expression «îlot génomique» a été introduite pour décrire des régions contenant un large éventail de fonctions, telles que (i) la possibilité d'utiliser de nouvelles sources de carbone et d'azote (îlots métaboliques); (ii) la capacité à décomposer de nouveaux composés (îlots de dégradation); (iii) la résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds (îlots de résistance); et (iv) la capacité de provoquer une maladie (îlots de pathogénicité). Dans chaque sous-ensemble d'îlots, le contenu en gènes peut varier considérablement, même au sein d'une même espèce (Boyd *et al.*, 1990).

2.5.1. Caractéristiques des îlots génomiques

Malgré les différents contextes écologiques et la diversité phylogénétique des organismes impliqués, les îlots génomiques partagent un ensemble de caractéristiques structurales communes et apparemment hautement conservées (Figure 4.16) (Hacker *et al.*, 1997).

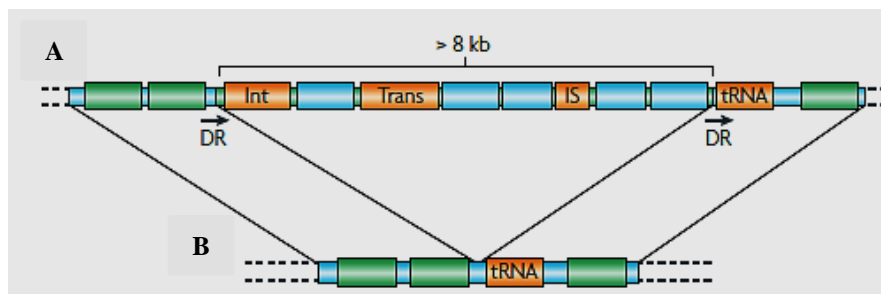


Figure 4.16. Représentation graphique de plusieurs caractéristiques associées aux îlots génomiques (Langille *et al.*, 2010).

Distribution sporadique (discontinue) : l'une des caractéristiques les plus prononcées des GEI est que les profils phylétiques des GEI diffèrent des modèles du génome de l'hôte, car les GEI sont distribués sporadiquement (c'est-à-dire que seuls certains isolats d'une espèce ou d'une souche donnée les portent). Plusieurs rapports ont montré que les GEI sont instables et peuvent sporadiquement être excisées même dans une souche spécifique (Langille *et al.*, 2010).

Biais de composition de séquence : en conséquence des différentes compositions de séquences de génomes de différentes lignées bactériennes, les GEI auront souvent une composition de séquences très différente de celle du nouveau génome de l'hôte (**Langille *et al.*, 2010**). Leur contenu en GC et leur utilisation de codons diffèrent du reste du chromosome (**Hentschel et Hacker, 2001**).

Gène *ARNt* voisin : les GEI sont généralement associés à des loci d'*ARNt* qui servent vraisemblablement de cibles pour l'intégration d'ADN étranger. De plus, les régions 3' des locus d'*ARNt* sont souvent identiques aux sites de fixation des bactériophages, ce qui en fait des points chauds pour l'insertion d'ADN étranger (**Hentschel et Hacker, 2001**). Plusieurs études ont révélé que certains types de gènes *ARNt* sont préférentiellement utilisés pour l'insertion, tels les gènes codant pour tRNA_{Ser}, tRNA_{Arg}, tRNA_{Leu}, tRNA_{Thr} et tRNA_{Sec} (**Langille *et al.*, 2010**).

Séquences de répétitions directes (DR) : les GEI sont flanqués par DR qui peuvent être générées suite à l'intégration dans le génome de l'hôte via une recombinaison (**Langille *et al.*, 2010 ; Hentschel et Hacker, 2001**). Les DR sont définis comme des séquences d'ADN de 16 à 20 pb (jusqu'à 130 pb) avec une répétition de séquence parfaite ou presque parfaite (**Schmidt et Hensel, 2004**). La DR pourrait avoir servi de site de reconnaissance pour l'intégration des bactériophages, et leur intégration a entraîné la duplication de la DR. De plus, les DR agissent comme des séquences de reconnaissance pour les enzymes impliquées dans l'excision d'éléments génétiques mobiles, contribuant ainsi à l'instabilité d'un GEI flanqué de DR (**Schmidt et Hensel, 2004**).

Gènes de mobilité : de nombre GEI sont liées à des gènes de mobilité des MGE, telles que les intégrases et les transposases. Ces gènes de mobilité pourraient indiquer qu'un GEI est autonome (qu'il peut se mobiliser lui-même) ou refléter des restes d'autres MGE incorporés, tels que des séquences d'insertion (IS), que l'on trouve fréquemment dans les GEI (**Langille *et al.*, 2010 ; Hentschel et Hacker, 2001 ; Hacker *et al.*, 1997**). L'insertion d'éléments IS peut entraîner l'inactivation de gènes, mais la combinaison de deux éléments IS ou plus peut également entraîner la mobilisation de plus grandes quantités d'ADN (**Schmidt et Hensel, 2004**). Les intégrases, qui peuvent avoir été dérivées de bactériophages lysogènes, facilitent l'intégration du génome du phage dans le génome de la bactérie hôte, ainsi que

l'excision nécessaire pour entrer dans un cycle lytique. Ces gènes sont toujours fonctionnels dans certains GEI et les protéines codées peuvent jouer un rôle dans l'excision du GEI et sa perte (**Schmidt et Hensel, 2004**).

Gènes de phage et de virulence : des classes particulières de gènes fonctionnels sont également surreprésentées dans les GEI, en particulier des gènes codant pour des protéines de surface cellulaire, des protéines d'interaction avec l'hôte, des protéines de liaison à l'ADN (**Langille et al., 2010**). Les GEI contiennent souvent des gènes qui codent pour des protéines avec fonction inconnue, ce qui semble refléter l'origine des phages dans de nombreuses GEI et le fait que le pool de gènes des phages est beaucoup plus important que celui des bactéries (**Langille et al., 2010 ; Hsiao et al., 2005**).

Instabilité génétique : les GEI sont souvent instables. Les fonctions de virulence codées par certains GEI sont perdues à une fréquence élevée. Les analyses génétiques ont montré que cela est causé par la perte de grandes portions d'un GEI, voire de l'ensemble du GEI (**Schmidt et Hensel, 2004**). Les mêmes mécanismes génétiques permettant la distribution de GEI par transfert horizontal de gènes déterminent également leur instabilité génétique. Plusieurs éléments caractéristiques, tels que les intégrases, les transposases et les éléments IS, ont été identifiés et contribuent à la mobilisation ainsi qu'à l'instabilité du GEI (**Schmidt et Hensel, 2004**).

Structure mosaïque : les GEI représentent souvent des structures de type mosaïque plutôt que des segments homogènes d'ADN acquis horizontalement. Certains GEI représentent une insertion d'un seul élément génétique. D'autres présentent une structure plus complexe, car des éléments d'origine différente sont présents (**Schmidt et Hensel, 2004**). Au cours de l'évolution, plusieurs éléments génétiques ont été acquis indépendamment à différents moments et de différents hôtes. Cependant, ces acquisitions d'ADN ont été intégrées à la même position dans le chromosome de la cellule bactérienne receveuse. Cela se traduira par l'accumulation d'éléments acquis horizontalement à un certain emplacement du chromosome, et les mêmes structures cibles (par exemple, les gènes d'ARNt) serviront à plusieurs reprises à l'intégration des divers éléments (**Schmidt et Hensel, 2004**).

2.5.2. Ilots de pathogénicité (PAI)

La pathogénicité est en corrélation avec l'expression de facteurs liés à la maladie qui sont présents dans les bactéries pathogènes, mais sont généralement absents d'espèces non pathogènes (**Dobrindt et al., 2004 ; Hacker et Kaper, 2000**). Les déterminants de la virulence bactérienne sont principalement codés par des éléments génétiques mobiles, tels que des phages, des plasmides, des éléments d'insertion ou des transposons, et un grand nombre de tels déterminants sont situés dans les PAI (**Hacker et Carniel, 2001**). Les PAI contiennent des gènes codant pour un ou plusieurs facteurs de virulence. Ils ont d'abord été décrits dans des agents pathogènes humains, mais sont également présents dans des agents phytopathogènes (**Jackson et al., 1999**).

Les PAI ont d'abord été décrits en tant que régions d'ADN chromosomique, mais la quantité croissante de données de séquences provenant d'éléments extrachromosomiques confirme que les PAI peuvent également faire partie de génomes de plasmides ou de bactériophages (**Hacker et Kaper, 2000**).

2.5.3. Ilots de résistance aux antibiotiques

Les intégrons constituent le mécanisme principal par lequel les gènes de résistance aux antibiotiques sont acquis par les entérobactéries à Gram négatif. Les super-intégrons permet d'accumuler de grands ensembles de cassettes de gènes qui peuvent éventuellement être transférés dans leur ensemble entre différents réplicons et devenir des GEI (**Dobrindt, 2004**). En outre, des GEI typiques conférant de multiples caractéristiques de résistance aux antibiotiques ont été décrits pour les entérobactéries et les cocci à Gram positif (**Dobrindt, 2004**).

2.6. Éléments intégratifs conjugatifs (ICE)

Les éléments intégratifs conjugatifs (ICE) sont des éléments génétiques mobiles auto-transmissibles (**Burrus et al., 2002**). Ces éléments mobiles ont des caractéristiques à la fois plasmidiques et phagiques. Semblable aux plasmides conjugatifs, les ICE sont transférés par conjugaison; cependant, contrairement aux plasmides, les ICE ne se répliquent pas de manière autonome. Semblables à de nombreux bactériophages tempérés, les ICE s'intègrent et se répliquent avec le chromosome de l'hôte (**Burrus et al., 2006**).

Les premiers ICE décrits, Tn916 d'*Enterococcus faecalis* et CTnDOT de *Bacteroides thetaiotaomicron*, étaient qualifiés de «transposons conjugatifs» car, comme les transposons, ils s'intègrent dans divers sites du chromosome hôte. Cependant, avec la découverte au cours des dernières années de plusieurs éléments conjugatifs qui s'intègrent de manière spécifique au site (de manière similaire au bactériophage lambda) dans le chromosome hôte, la pertinence du terme "transposon" conjugatif a été mise en doute (**Burrus et Waldor, 2004**).

Plusieurs années après la description de ces deux ICE, il semblait que cette classe d'éléments mobiles se limitait à deux subdivisions eubactériennes, les bactéries à Gram positif à faible GC% et le groupe *Bacteroides* (**Burrus et al., 2006**). Toutefois, au cours de la dernière décennie, un nombre croissant de ICE ont été décrits dans des microbes provenant d'autres subdivisions bactériennes majeures, notamment les actinomycètes, les *Rhizobiaceae* (α -proteobacteria), les *Burkholderiaceae* (β -proteobacteria) et un grand nombre de γ -proteobacteria (**Burrus et al., 2006 ; Burrus et Waldor, 2004**).

2.6.1. Structure modulaire des ICE

La structure de base de l'ICE est composée de quatre modules essentiels: le module d'intégration/excision qui assure les fonctions de mobilité intracellulaire, le module de réplication/traitement de l'ADN, le module de sécrétion d'ADN et le module de régulation (**Figure 4.17**) (**Carraro et Burrus, 2014**) :

- a. **Le module d'intégration/excision** : porte le site de fixation *attP* ainsi que le gène codant pour l'intégrase (*Int*), une sérine ou une tyrosine recombinase. Les gènes de tyrosine recombinase sont souvent associés à un petit gène codant pour un facteur de directionnalité de recombinaison (RDF) aidant l'intégrase à catalyser l'étape de l'excision.
- b. **Le module de réplication/traitement de l'ADN** : consiste en un gène codant pour *oriT* et un gène apparenté à la relaxase et au T4CP (transfert d'ADNsb) ou une origine de réplication (*ori*) et le gène *Rep* associé (transfert d'ADNdb). Dans le cas du transfert d'ADNsb, le module de sécrétion d'ADN associé est toujours un groupe de gènes codant pour un T4SS. Dans le cas du transfert ADNdb, ce module est remplacé par un gène codant pour une protéine Tra de type FtsK et une séquence *clt*.

- c. **Le module de régulation** : est important pour contrôler l'activité des autres modules et sa complexité varie.
- d. **Les modules auxiliaires** : sont souvent présents dans les ICE et codent pour diverses fonctions, telles que la résistance aux antibiotiques ou aux métaux lourds, des voies cataboliques alternatives, l'établissement de la symbiose ou la virulence.

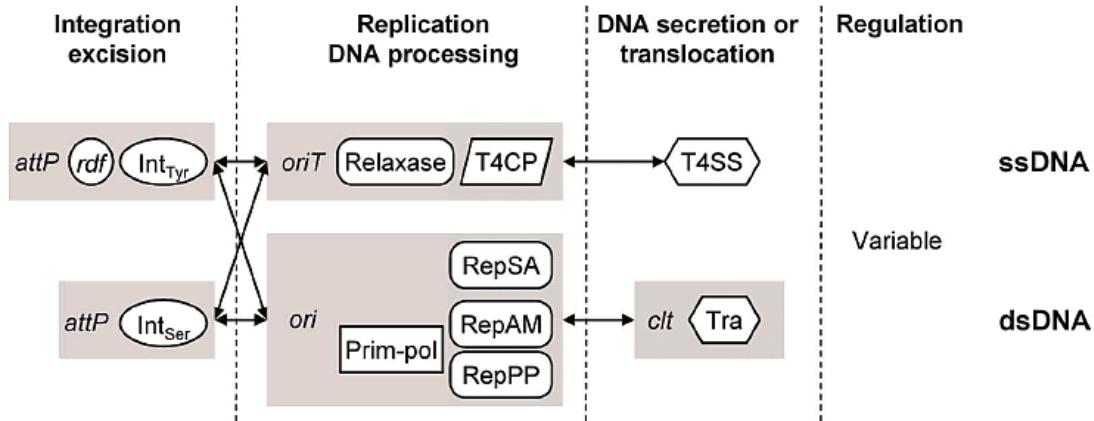


Figure 4.17. Représentation schématique de l'organisation modulaire des ICE et des protéines fonctionnelles typiques associées à chaque module en fonction du mode de transfert de l'ADN (ADNsb ou ADNdb). Des combinaisons possibles de modules d'intégration/excision, de réplication et de transfert conjugatif sont représentées. *Int_{Tyr}*, tyrosine recombinase; *Int_{Ser}*, sérine recombinase; T4CP, protéine de couplage de type IV ; T4SS, système de sécrétion de type IV; Tra, protéine de translocation d'ADN de type FtsK; RepSA, RepAM et RepPP, protéines initiateurs de la réplication; Prim-pol, ADN primase/polymérase bifonctionnelle. Le module de régulation est extrêmement variable selon les familles d'ICE (Carraro et Burrus, 2014).

2.6.2. Intégration et excision des ICE

Contrairement aux plasmides, qui sont maintenus dans leurs hôtes via une réplication autonome, et comme de nombreux phages, les ICE s'intègrent dans un réplicon de leur hôte (plasmide ou chromosome) pour assurer leur héritage vertical (Carraro et Burrus, 2014 ; Wozniak et Waldor, 2010 ; Burrus et Waldor, 2004). L'intégration de l'ICE est assurée par une recombinase (*Int*) qui catalyse une réaction de recombinaison entre une séquence spécifique (*attP*) situé dans le module d'intégration/excision, et une séquence cible (*attB*) sur le chromosome. Une forme circulaire de l'ICE s'intègre au chromosome par recombinaison entre *attP* et *attB*,

généralisant deux séquences de jonction ICE–chromosome, *attL* et *attR* (**Burrus et Waldor, 2004**).

Les sites *attB* chromosomiques peuvent être très variables, comme c'est le cas pour Tn916, qui s'intègre dans les régions riches en A+T de son hôte naturel *E. faecalis* (**Burrus et Waldor, 2004**). Alternativement, il peut y avoir des sites *attB* uniques dans un génome, comme c'est le cas pour ICE SXT de *Vibrio cholerae*, qui s'intègre spécifiquement à l'extrémité 5' du gène *prfC* qui code pour un facteur de libération qui est important pour la terminaison de la traduction (**Wozniak et Waldor, 2010 ; Burrus et Waldor, 2004**). Dans la plupart des cas, les ICE codent pour des tyrosine recombinases, mais des ICE codant pour des sérine recombinases, telles que la Tn5397, ont également été rapportés (**Carraro et Burrus, 2014 ; Burrus et Waldor, 2004**).

En plus de *Int* et *attP*, la plupart des modules d'intégration ICE codent un autre facteur, souvent appelé *Xis* (pour excisionase), requis pour l'excision des ICE. Les protéines *Xis* des ICE, comme les intégrase, sont variées et sont nécessaires pour faciliter la recombinaison catalysée par *Int* entre les jonctions gauche et droite de l'ICE (*attL* et *attR*) permettant l'excision de l'élément (**Burrus et Waldor, 2004**).

2.6.3. Stratégies de dissémination des ICE

Lors de l'induction par des signaux environnementaux ou intracellulaires, les ICE peuvent s'exciser du chromosome, généralement par recombinaison site-spécifique médiée par une tyrosine ou une sérine recombinase (**Carraro et Burrus, 2014**). Après excision, les ICE se circularisent et sont répliqués puis transférés vers de nouveaux hôtes par la machinerie de conjugaison codée dans les éléments. Dans la cellule receveuse l'ICE s'intègre dans le chromosome et la copie de l'ICE qui reste dans la cellule donneuse réintègre le chromosome de la cellule donneuse (**Figure 4.18**) (**Wozniak et Waldor, 2010**).

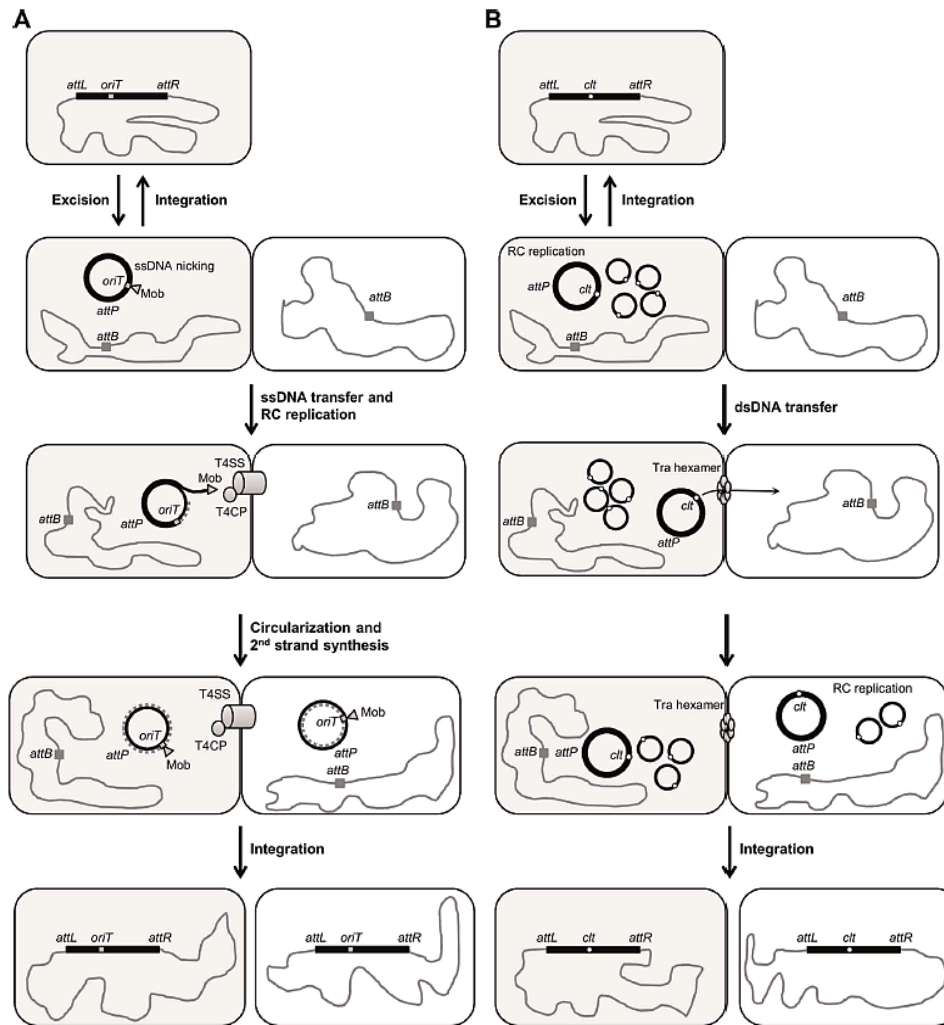


Figure 4.18. Stratégies de transfert conjuguatif des ICE (Carraro et Burrus, 2014).

La molécule ICE circulaire résultante sert ensuite de substrat à la machinerie conjuguative qui transfère l'ICE de la cellule donneuse à la cellule receveuse. Comme pour les plasmides conjuguatifs, la translocation de l'ADN entre les deux partenaires conjugués peut s'effectuer en utilisant un ADN simple brin (ADNsb) ou un ADN double brin (ADNdb), en fonction du type du système conjuguatif codé par l'ICE (Carraro et Burrus, 2014 ; Bordeleau *et al.*, 2012).

La stratégie la plus répandue utilisée par les ICE des bactéries à Gram négatif et à Gram positif repose sur la translocation d'une molécule d'ADNsb par un système de sécrétion de type IV (T4SS) (Bordeleau *et al.*, 2012). Les T4SS sont des machines complexes qui impliquent généralement la sécrétion et l'assemblage d'un pilus extracellulaire (Carraro et Burrus, 2014 ; Wozniak et Waldor, 2010).

Le traitement biochimique de la molécule ICE circulaire est initié à l'origine du transfert (*oriT*), un locus reconnu et lié par une ADN relaxase et d'autres protéines auxiliaires codées par l'ICE et par l'hôte, assemblées sous la forme d'un complexe nucléoprotéique appelé relaxosome (Carraro et Burrus, 2014 ; Wozniak et Waldor, 2010).

L'ADN relaxase assure le clivage spécifique du brin au sein du site *oriT* et reste liée de manière covalente à l'extrémité 5' du brin coupé. La réplication du cercle roulant (RC) facilite ensuite la translocation de 5' à 3' de l'ADNsb lié à la relaxase vers la cellule receveuse. La protéine de couplage conjugatif du T4SS (T4CP) sert de site d'accueil pour le relaxosome et son activité ATPase stimule la translocation de l'ADNsb à travers les membranes cellulaires de la donneuse et la receveuse. Une fois chez la receveuse, la relaxase lie les extrémités de la molécule linéaire d'ADNsb transférée et son brin complémentaire est synthétisé (Carraro et Burrus, 2014 ; Wozniak et Waldor, 2010).

La deuxième stratégie est exclusivement documentée pour les ICE présentes dans *Actinobacteria* et repose sur un mécanisme de translocation de molécules d'ADNdb (Figure 4.18) (Carraro et Burrus, 2014). La réplication RC de l'ICE excisé est initiée par une protéine Rep. Cette étape de réplication de l'ICE est nécessaire avant son transfert dans la cellule réceptrice, ce qui devrait permettre d'éviter la perte de l'élément dans la cellule donneuse. La machinerie conjugative utilisée pour la translocation de l'ADNdb vers la cellule receveuse est structurellement beaucoup plus simple que le T4SS utilisé pour le transfert de l'ADNsb. Le locus de transfert (*clt*) est reconnu et lié par une protéine Tra. Cette protéine est capable de s'assembler sous forme de pore hexamère dans la membrane, permettant ainsi la translocation dépendante de l'ATP de l'ADN de l'ICE dans la cellule receveuse (Carraro et Burrus, 2014).

Dans les deux modes de transfert, une fois dans la cellule réceptrice, l'ICE s'intègre par recombinaison site-spécifique dans le chromosome pour être hérité verticalement dans la descendance des cellules donneuse et receveuse (Carraro et Burrus, 2014).

Références bibliographiques

1. Al-Bayssari C., Valentini C., Gomez C., Reynaud-Gaubert M., Rolain JM. (2015). First detection of insertion sequence element ISPa1328 in the oprD porin gene of an imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolate from an idiopathic pulmonary fibrosis patient in Marseille, France. *New. Microbes New. Infect.* 7:26–27.
2. Allmeier H., Cresnar B., Greck M., Schmitt R. (1992). Complete nucleotide sequence of Tn1721: gene organization and a novel gene product with features of a chemotaxis protein. *Gene.* 111:11–20.
3. Arciszewska LK., Craig NL. (1991). Interaction of the Tn7-encoded transposition protein TnsB with the ends of the transposon. *Nucleic Acids Res.* 19:5021–5029.
4. Bainton R., Gamas P., Craig NL. (1991). Tn7 transposition in vitro proceeds through an excised transposon intermediate generated by staggered breaks in DNA. *Cell.* 65(5):805-16.
5. Bainton RJ., Kubo KM., Feng J-N., Craig NL. (1993). Tn7 transposition: target DNA recognition is mediated by multiple Tn7-encoded proteins in a purified in vitro system. *Cell.* 72: 931–943
6. Benson MA., Ohneck EA., Ryan C., Alonzo F., Smith H., Narechania A., *et al.* (2014). Evolution of hypervirulence by a MRSA clone through acquisition of a transposable element. *Mol. Microbiol.* 93:664–681.
7. Berg DE., Howe MM .(1989) *Mobile DNA.* American Society for Microbiology, Washington, DC.
8. Biel, SW., Berg DE. (1984). "Mechanism of IS1 transposition in *E. coli*: choice between simple insertion and cointegration. *Genetics.* 108(2): 319-330.
9. Bolognese F., Di Lecce C., Galli E., Barbieri P. (1999). Activation and inactivation of *Pseudomonas stutzeri* methylbenzene catabolism pathways mediated by a transposable element. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1876–1882.
10. Bordeleau E., Ghinet MG., Burrus V. (2012). Diversity of integrating conjugative elements in Actinobacteria: coexistence of two mechanistically different DNA-translocation systems. *Mob. Genet. Elements.* 2:119–124.
11. Boutuille D., Corvec S., Caroff N., Giraudeau C., Espaze E., Caillon J. *et al.* (2004). Detection of an IS21 insertion sequence in the mexR gene of *Pseudomonas aeruginosa* increasing β -lactam resistance. *FEMS Microbiol. Lett.* 230:143–6.
12. Boyd EF., Almagro-Moreno S., Parent MA. (2009). Genomic islands are dynamic, ancient integrative elements in bacterial evolution. *Trends in Microbiology.* 17(2):47-53.
13. Burrus V., Marrero JK., Waldor MK. (2006). The current ICE age: Biology and evolution of SXT-related integrating conjugative elements. *Plasmid.* 55:173–183.
14. Burrus V., Pavlovic G., Decaris B., Guedon G. (2002). Conjugative transposons: the tip of the iceberg. *Mol. Microbiol.* 46: 601–610.
15. Burrus V., Waldor M.K. (2004). Shaping bacterial genomes with integrative and conjugative elements. *Res. Microbiol.* 155:376–386.

16. Cabrejos ME., Zhao HL., Guacucano M., Bueno S., Levican G., Garcia E. *et al.* (1999). *IST1* insertional inactivation of the *resB* gene: implications for phenotypic switching in *Thiobacillus ferrooxidans*. *FEMS Microbiol. Lett.* 175:223–229.
17. Carraro N., Burrus V. (2014). Biology of three ICE families: SXT/R391, ICEBs1, and ICES_{t1}/ICES_{t3}. *Microbiol Spectrum* 2(6):MDNA3-0008-2014.
18. Chen YG., Zhang Y., Yu YS., Qu TT., Wei ZQ., Shen P., Li LJ. (2008). In vivo development of carbapenem resistance in clinical isolates of *Enterobacter aerogenes* producing multiple beta-lactamases. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 32:302–307.
19. Chiou CS., Jones AL. (1993). Nucleotide sequence analysis of a transposon (Tn5393) carrying streptomycin resistance genes in *Erwinia amylovora* and other gramnegative bacteria. *J. Bacteriol.* 175:732–740.
20. Claus H., Borrow R., Achtman M., Morelli G., Kantelberg C., Longworth E., *et al.* (2003). Genetics of capsule O-acetylation in serogroup C, W-135 and Y meningococci. *Mol. Microbiol.* 51:227–239.
21. Collis CM., Hall RM. (1995). Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:155–162.
22. Collis CM., Hall RM. (1992a). Gene cassettes from the insert region of integrons are excised as covalently closed circles. *Molecular Microbiology.* 6: 2875–85.
23. Collis CM., Hall RM. (1992b). Site-specific deletion and rearrangement of integron insert genes catalyzed by the integrin DNA integrase. *J. Bacteriol.* 174:1574–85.
24. Craig NL. (2002). Tn7. *Mobile DNA*, Vol. II. (Craig NL, Craigie R, Gellert M, Lambowitz A, eds), ASM press, Washington, DC. pp. 423–456.
25. Craig NL. (2015). A moveable feast: An introduction to mobile DNA. In: Craig N.L, Chandler M., Gellert M., Lambowitz A.M., Rice P.A., Sandmeyer S. *Mobile DNA*, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
26. Craig NL., Craigie R., Gellert M., Lambowitz A. (2002). *Mobile DNA II*. American Society of Microbiology, Washington DC.
27. Curcio MJ., Derbyshire KM. (2003). The outs and ins of transposition: from mu to kangaroo. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 4:865–877.
28. Darling AE., Miklós I., Ragan MA. (2008). Dynamics of genome rearrangement in bacterial populations. *PLoS Genet.* 4(7):1–16.
29. Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U., Hacker J. (2004). Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2(5):414–424.
30. Duval-Valentin G., Normand C., Khemici V., Marty B., Chandler M. (2001). Transient promoter formation: a new feedback mechanism for regulation of IS911 transposition. *EMBO J.* 20:5802–5811.
31. Escudero JA., Loot C., Nivina A., Mazel D. (2014). The integron: adaptation on demand. *Microbiol. Spectrum.* 2(6):MDNA3-0019-2014.

32. Finn JA., Parks AR., Peters JE. (2007). Transposon Tn7 directs transposition into the genome of filamentous bacteriophage M13 using the element-encoded TnsE protein. *J. Bacteriol.* 189(24):9122-5
33. Fowler RC., Hanson ND. (2014). Emergence of carbapenem resistance due to the novel insertion sequence ISPa8 in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One.* 9:e91299.
34. Gay NJ., Tybulewica VLJ., Walker JE. (1986). Insertion of transposon Tn7 into the *Escherichia coli glmS* transcriptional terminator. *Biochem. J.* 234 :111–117.
35. Grindley NDF., Whiteson KL., Rice PA. (2006). Mechanism of site-specific recombination. *Ann. Rev. Biochem.* 75: 567–605.
36. Hacker J., Bender L., Ott M., Wingender J., Lund B., Marre R., Goebel W. (1990). Deletions of chromosomal regions coding for fimbriae and hemolysins occur in vitro and in vivo in various extraintestinal *Escherichia coli* isolates. *Microb. Pathog.* 8(3):213-25.
37. Hacker J., Blum-Oehler G., Muhldorfer I., Tschape H. (1997). Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Mol. Microbiol.* 23:1089–1097.
38. Hacker J., Carniel E. (2001). Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity-A Darwinian view of the evolution of microbes. *EMBO Reports.* 2(5):376-381.
39. Hacker J., Kaper J.B. (2000). Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu. Rev. Microbiol.* 54:641–679.
40. Hall RM., Brookes DE., Stokes HW. (1991). Site-specific insertion of genes into integrons: role of the 59-base element and determination of the recombination cross-over point. *Molecular Microbiology.* 5: 1941–59.
41. Hall RM., Collis CM. (1998). Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resist. Updates.* 1: 109-19.
42. Hammerschmidt S., Hilse R., van Putten JP., Gerardy-Schahn R, Unkmeir A., Frosch M. (1996). Modulation of cell surface sialic acid expression in *Neisseria meningitidis* via a transposable genetic element. *EMBO J.* 15:192–198.
43. Haniford DB., Ellis MJ. (2015). Transposons Tn10 and Tn5. In: Craig NL, Chandler M., Gellert M., Lambowitz AM., Rice PA., Sandmeyer S. *Mobile DNA*, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
44. Haren L., Ton-Hoang B., Chandler M. (1999). Integrating DNA: transposases and retroviral integrases. *Annu. Rev. Microbiol.* 53:245–281.
45. Hentschel U., Hacker J. (2001). Pathogenicity islands: the tip of the iceberg. *Microbes and Infection.* 3: 545–548.
46. Hsiao WW., Ung K., Aeschliman D., Bryan J., Finlay BB, Brinkman FSL. (2005). Evidence of a large novel gene pool associated with prokaryotic genomic islands. *PLoS Genet.* 1, e62.
47. Ichikawa H., Ohtsubo E. (1990). In Vitro Transposition of Transposon Tn3. *Vol. J. biological Chem.* 265 (31): 18829-18832.
48. Jackson RW., Athanassopoulos GT., Tsiamis G., Mansfield JW., Sesma A., Arnold DL., *et al.* (1999). Identification of a pathogenicity island, which

- contains genes for virulence and avirulence, on a large native plasmid in the bean pathogen *Pseudomonas syringae* pathovar phaseolicola. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96:10875–80.
49. Jové T., Da Re S., Denis F., Mazel D., Ploy MC. (2010). Inverse correlation between promoter strength and excision activity in class 1 integrons. PLoS Genet. 6:e1000793.
 50. Katsy EI. (2014). Plasticity in Plant-Growth- Promoting and Phytopathogenic Bacteria. Russian Academy of Sciences Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms. Saratov, Russia. p. 208.
 51. Kuduvalli PN., Rao JE., Craig NL. (2001). Target DNA structure plays a critical role in Tn7 transposition. EMBO J. 20(4):924-32.
 52. Kumar, R., S. Grover, Kaushik JK., Batish VK. (2014). IS30-related transposon mediated insertional inactivation of bile salt hydrolase (*bshI*) gene of *Lactobacillus plantarum* strain Lp20." Microbiol. Res. 169(7-8): 553-560.
 53. Landgraf A., Weingart H., Tsiamis G., Boch J. (2006). Different versions of *Pseudomonas syringae* pv. Tomato DC3000 exist due to the activity of an effector transposon. Mol. Plant. Pathol. 7:355–364.
 54. Langille MGI., Hsiao WWL., Brinkman FSL. (2010). Detecting genomic islands using bioinformatics approaches. Nature Reviews. Microbiology. 8: 373-382.
 55. Lee CH., Chu C., Liu JW., Chen YS., Chiu CJ., Su LH. (2007). Collateral damage of flomoxef therapy: in vivo development of porin deficiency and acquisition of blaDHA-1 leading to ertapenem resistance in a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae* producing CTX-M-3 and SHV-5 beta-lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 60:410–413.
 56. Leonard C., Mahillon J. (1998). IS231A transposition: conservative versus replicative pathway. Res. Microbiol. 149(8): 549-555.
 57. Levesque C., Brassard S., Lapointe J., Roy PH. (1994). Diversity and relative strength of tandem promoters for the antibiotic-resistance genes of several integrons. Gene. 142:49–54.
 58. Lu F., Craig, NL. (2000). Isolation and characterization of Tn7 transposase gain-of-function mutants: a model for transposase activation. EMBO J. 19: 3446–3457.
 59. Mahillon J., Chandler M. (1998). Insertion sequences. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62: 725–774.
 60. Martiel JL., Blot M. (2002). Transposable elements and fitness of bacteria. Theor. Popul. Biol. 61(4):509–18.
 61. Mathee K., Narasimhan G., Valdes C., Qiu X., Matewish JM., Koehrsen M., *et al.* (2008). Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 105(8):3100-3105.
 62. May EW., Craig NL. (1996). Switching from cut-and-paste to replicative Tn7 transposition. Science. 272:401–404.

63. Mazel D. (2004). Integrons and the Origin of Antibiotic Resistance Gene Cassettes. *ASM News*. 70 (11): 520-525.
64. McKown RL., Waddell CS., Arciszewska LK., Craig NL. (1987). Identification of a transposon Tn7-dependent DNA-binding activity that recognizes the ends of Tn7. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 84(22):7807-11.
65. Medini D., Donati C., Tettelin H. Masignani V., Rappuoli R. (2005). The microbial pan-genome. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 15:589–594.
66. Merlin C., Toussaint A. (1999). Les éléments transposables bactériens Société Française de Génétique. m/s n° 8-9, vol. 15.
67. Mira A., Ochman H., Moran NA. (2001). Deletional bias and the evolution of bacterial genomes. *Trends Genet.* 17:589–596.
68. Mizuuchi K. (1992). Polynucleotidyl transfer reactions in transpositional DNA recombination. *J. Biol. Chem.* 267(30):21273-6.
69. Moffatt JH., Harper M., Adler B., Nation RL., Li J., Boyce JD. (2011). Insertion sequence ISAbal1 is involved in colistin resistance and loss of lipopolysaccharide in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 55:3022–3024.
70. Mussi MA., Limansky AS., Viale AM. (2005). Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of beta-barrel outer membrane proteins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1432–1440.
71. Naitoa M., Pawlowskac TE. (2016). The role of mobile genetic elements in evolutionary longevity of heritable endobacteria. *Mobile Genetic Elements*, 6:1,e1136375.
72. Newcombe J., Cartwright K., Dyer S., McFadden J. (1998). Naturally occurring insertional inactivation of the porA gene of *Neisseria meningitidis* by integration of IS1301. *Mol. Microbiol.* 30:453–454.
73. Nicolas E., Lambin M., Dandoy D., Galloy C., Nguyen N., Oger C., Hallet B. (2015). The Tn3-family of Replicative Transposons. In: Craig NL., Chandler M., Gellert M., Lambowitz A.M., Rice P.A., Sandmeyer S. *Mobile DNA*, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC
74. Nicolas E., Lambin M., Hallet B. (2010). Target Immunity of the Tn3-Family Transposon Tn4430 Requires Specific Interactions between the Transposase and the Terminal Inverted Repeats of the Transposon. *J. Bacterio.* 16: 4233–4238.
75. Nojiri H., Shintani M., Omori T. (2004). Divergence of mobile genetic elements involved in the distribution of xenobiotic-catabolic capacity. *Appl. Microbiol. Biot.* 64:154–74.
76. Ogier JK., Calteau A., Forst S., Goodrich-Blair H., Roche D., Rouy Z., *et al.* (2010). Units of plasticity in bacterial genomes: new insight from the comparative genomics of two bacteria interacting with invertebrates, *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. *BMC Genomics.* 11:568.

77. Olorunniji FJ., Stark WM. (2010). Catalysis of site-specific recombination by Tn3 resolvase *Biochem. Soc. Trans.* 38: 417–421.
78. Parks AR., Peters JE. (2007). Transposon Tn7 is widespread in diverse bacteria and forms genomic islands. *J. Bacteriol.* 189:2170–2173.
79. Parks AR., Peters JE. (2009). Tn7 elements: engendering diversity from chromosomes to episomes. *Plasmid.* 61: 1–14.
80. Partridge SR., Hall RM. (2005). Evolution of transposons containing blaTEM genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49:1267–1268.
81. Partridge SR., Tsafnat G., Coiera E., Iredell JR. (2009). Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. *FEMS Microbiol. Rev.* 33:757–784.
82. Perez M., Calles-Enriquez M., del Rio B., Ladero V., Martin MC., Fernandez M., Alvarez MA. (2015). IS256 abolishes gelatinase activity and biofilm formation in a mutant of the nosocomial pathogen *Enterococcus faecalis* V583. *Can. J. Microbiol.* 61:517–519.
83. Peter M. (1999). Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria Bennett. *J. Antimicrob. Chemo.* 43(1): 1–4.
84. Peters JE. (2015). Tn7. In: Craig N.L, Chandler M., Gellert M., Lambowitz AM., Rice PA., Sandmeyer S. *Mobile DNA*, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
85. Peters JE., Craig NL. (2000). Tn7 transposes proximal to DNA double-strand breaks and into regions where chromosomal DNA replication terminates. *Mol. Cell.* 6(3):573-82.
86. Peters JE., Craig NL. (2001a). Tn7 recognizes transposition target structures associated with DNA replication using the DNA-binding protein TnsE. *Genes Dev.* 15(6):737-47.
87. Peters JE., Craig NL. (2001b). Tn7: smarter than we thought. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2(11):806-14.
88. Ploy MC. (2000). Les intégrons : un système original de capture de gènes chez les bactéries. *Med Sci.* 16 : 255-9
89. Ploy MC., Lambert T., Couty J-P., Denis F. (2000). Integrons: an antibiotic resistance gene capture and expression system. *Clin. Chem. Lab. Med.* 38(6):483–487.
90. Prentki P., Teter B., Chandler M., Galas DJ. (1986). Functional promoters created by the insertion of transposable element IS1. *J. Mol. Biol.* 191:383–393.
91. Rajeshwari R., Sonti RV. (2000). Stationary-phase variation due to transposition of novel insertion elements in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J. Bacteriol.* 182: 4797–4802.
92. Rezwan F., Lan R., Reeves PR. (2004). Molecular basis of the indole-negative reaction in *Shigella* strains: extensive damages to the tna operon by insertion sequences. *J. Bacteriol.* 186:7460–7465.
93. Rocha EPC. (2004) Order and disorder in bacterial genomes. *Curr. Opin. Microbiol.* 7:519–527.

94. Rodriguez-Palenzuela P., Matas IM., Murillo J., López-Solanilla E., Bardaji L., Pérez-Martínez I., *et al.* (2010). Annotation and overview of the *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 draft genome reveals the virulence gene complement of a tumour-inducing pathogen of woody host. *Environ. Microbiol.* 12:1604–1620.
95. Rojo-Bezares B., Estepa V., Cebollada R., de Toro M., Somalo S., Seral C., *et al.*, (2014). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from a Spanish hospital: characterization of metallo-beta-lactamases, porin OprD and integrons. *Int. J. Med. Microbiol.* 304:405–414.
96. Ronning DR., Li Y., Perez ZN., Ross PD., Hickman AB., Craig NL., Dyda F. (2004). The carboxy-terminal portion of TnsC activates the Tn7 transposase through a specific interaction with TnsA. *EMBO J.* 23(15):2972-81.
97. Sarnovsky RJ., May EW., Craig NL. (1996). The Tn7 transposase is a heteromeric complex in which DNA breakage and joining activities are distributed between different gene products. *EMBO J.* 15(22):6348-61.
98. Schmidt H., Hensel M. (2004). Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin. Microbiol. Rev.* 17(1): 14–56.
99. Sharpe PL., Craig NL. (1998). Host proteins can stimulate Tn7 transposition: a novel role for the ribosomal protein L29 and the acyl carrier protein. *EMBO J.* 17(19):5822-31.
100. Shaw JH., Clewell DB. (1985). Complete nucleotide sequence of macrolide-incosamide-streptogramin B-resistance transposon Tn917 in *Streptococcus faecalis*. *J. Bacteriol.* 164:782–796.
101. Sherratt DJ. (2003). Bacterial chromosome dynamics. *Science.* 301(5634):780-5.
102. Siguier P., Gourbeyre E., Chandler M. (2014). Bacterial insertion sequences: their genomic impact and diversity *FEMS Microbiology Reviews.* 38(5): 865–891.
103. Siguier P., Gourbeyre E., Varani A., Hoang BT., Chandler M. (2015). Everyman's Guide to Bacterial Insertion Sequences. In: Craig NL, Chandler M., Gellert M., Lambowitz A.M., Rice P.A., Sandmeyer S. *Mobile DNA*, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
104. Siguier P., Perochon J., Lestrade L., Mahillon J., Chandler M. (2006). ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences. *Nucleic Acids Res.* 34: D32–D36.
105. Skippington E., Ragan MA. (2011). Lateral genetic transfer and the construction of genetic exchange communities. *FEMS Microbiol. Rev.* 35 (5)707–735.
106. Stark WM. (2015). The Serine Recombinases. In: Craig N.L, Chandler M., Gellert M., Lambowitz AM., Rice PA., Sandmeyer S. *Mobile DNA*, 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
107. Stark WM., Boocock MR., Sherratt DJ. (1992) Catalysis by site-specific recombinases. *Trends Genet.* 8 : 432–439.

108. Stellwagen AE., Craig NL. (1998). Mobile DNA elements: controlling transposition with ATP-dependent molecular switches. *Trends Biochem. Sci.* 23(12):486-90.
109. Stellwagen, A., Craig, NL. (1997). Avoiding self: two Tn7- encoded proteins mediate target immunity in Tn7 transposition. *EMBO J.* 16: 6823–6834.
110. Sun X., Dennis JJ. (2009). A novel insertion sequence derepresses efflux pump expression and preadapts *Pseudomonas putida* S12 for extreme solvent stress. *J. Bacteriol.* 191:6773–6777.
111. Szuplewska M., Czarnecki J., Bartosik D. (2014). Autonomous and non-autonomous Tn3-family transposons and their role in the evolution of mobile genetic elements. *Mob. Genet. Elements.* 4(6): 1–4.
112. Tansirichaiya S., Mullany P., Roberts PA. (2016). PCR-based detection of composite transposons and translocatable units from oral metagenomic DNA 363. *FEMS.* (18): 1-6
113. Tettelin H., Masignani V., Cieslewicz MJ., Donati C., Medini D., Ward NL., *et al.* (2005). Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae* : implications for the microbial “pan-genome”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102:13950–13955.
114. Touchon M., Rocha EP. (2007). Causes of insertion sequences abundance in prokaryotic genomes. *Mol. Biol. Evol.* 24:969–981.
115. Van der Auwera G., Mahillon J. (2005). TnXO1, a germination-associated class II transposon from *Bacillus anthracis*. *Plasmid.* 53:251–257.
116. Vandecraen J., Chandler M., Aertsen A., Van Houdt R. (2017). The impact of insertion sequences on bacterial genome plasticity and adaptability. *Critical Rev. Microbiol.* 43 (6): 709-730.
117. Waddell CS., Craig NL. (1988). Tn7 transposition: two transposition pathways directed by five Tn7-encoded genes. *Genes Dev.* 2(2):137-49.
118. Wolkow CA., DeBoy RT., Craig NL. (1996). Conjugating plasmids are preferred targets for Tn7. *Genes Dev.* 10(17):2145-57.
119. Wozniak RAF.,Waldor MK. (2010). Integrative and conjugative elements: mosaic mobile genetic elements enabling dynamic lateral gene flow. *Nature.* 8: 552-563.

5

Réponse SOS et mutagénèse

1. Stress environnemental et réponse SOS

L'ADN qui contient toutes les informations nécessaires pour coder un organisme et les protéines qui lui permettent de vivre, est très souvent attaqué. Les dommages causés à l'ADN peuvent provenir de diverses sources, telles que les rayons ultraviolets, les antibiotiques, les produits chimiques mutagènes ou même des produits issus de son propre métabolisme, tels que les radicaux d'oxygène. Les dommages peuvent être fatals pour l'organisme car ils peuvent empêcher la réplication de l'ADN, et donc la division cellulaire (Stavans, 2006).

Afin de survivre à ces facteurs de stress et de réparer les dommages de l'ADN, les cellules bactériennes disposent d'un réseau de gènes qu'elles peuvent choisir d'exprimer ou de réprimer en fonction de leurs besoins. Parmi cette vaste collection de réseaux contrôlés génétiquement, la réponse SOS est un mécanisme de régulation qui permet l'adaptation et l'évolution de la bactérie quand les conditions environnementales l'exigent. C'est un système conservé, induit à la suite de stress causant des dommages à l'ADN, et qui est essentiel à la réparation de l'ADN et à la reprise de la réplication (Da Re et Ploy, 2012). La tâche principale de la réponse SOS consiste donc à redémarrer la réplication avant la mort de la cellule. Ce système est régulé à la fois par le répresseur transcriptionnel LexA et par l'activateur, la recombinase RecA (Da Re et Ploy, 2012). Le premier support expérimental en faveur de l'existence d'un système de réparation d'ADN inductible chez *Escherichia coli* a été découvert par Miroslav Radman, qui a introduit le terme «réponse SOS» pour décrire ce réseau (Michel, 2005).

2. Déroulement et base moléculaire de la réponse SOS

2.1. Signal inducteur de la réponse SOS

Deux protéines jouent un rôle clé dans la régulation de la réponse SOS: un répresseur nommé LexA et un inducteur RecA. Durant la croissance normale, le répresseur LexA se lie à une séquence spécifique (la boîte SOS), présente dans la région promotrice des gènes SOS (appelés également régulon SOS) empêchant la liaison de l'ARN polymérase et l'expression génique (Figure 5.1) (Erill, 2007 ; Michel, 2005).

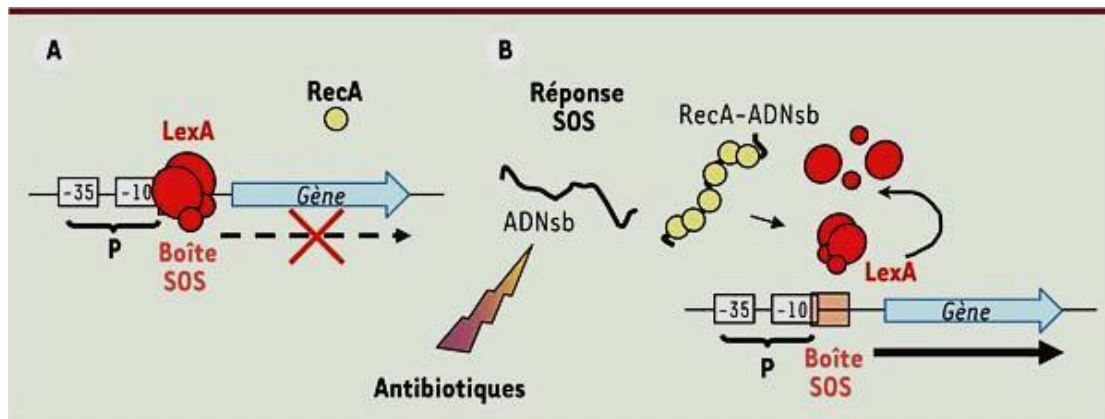


Figure 5.1. Signal inducteur de la réponse SOS (Da Re et Ploy, 2012).

Une variété d'agents tels que les UV ou le rayonnement de haute énergie peuvent provoquer des lésions sur l'ADN, telles que la dimérisation des pyrimidines voisines. Lorsqu'elle rencontre une telle lésion, la machinerie de réplication de la cellule (réplisome) située au niveau d'une fourche de réplication s'arrête (Stavans, 2006). A ce niveau le réplisome se décroche alors de l'ADN et reprend la synthèse du brin complémentaire à environ 1kb en aval de la lésion. On pourrait dire que, lorsqu'il rencontre une lésion, le réplisome ouvre et referme une parenthèse vide de 1kb (Devoret, 1993). Une conséquence importante de l'arrêt est qu'un segment d'ADN simple brin est exposé sans être répliqué (Stavans, 2006).

A ce stade, la région d'ADNsb est liée à la protéine SSB (Protéine de liaison à l'ADNsb) (Livneh, 2001). La fonction principale de cette protéine est de dissoudre les structures secondaires dans l'ADN, de sorte que l'ADN puisse être facilement répliqué. La SSB est un homotétramère et l'ADNsb lié est enroulé autour de la protéine (Lohman et Ferrari, 1994). Cependant, une fois que la réplication est arrêtée, la liaison de l'ADNsb autour de la SSB l'expose à des blessures, cet ADN devient alors sujet aux attaques (Livneh, 2001).

A ce stade, la cellule recouvre rapidement le fragment d'ADNsb d'une protéine importante appelée RecA qui déplace la SSB, et se polymérise le long de l'ADN simple brin pour former un filament nucléoprotéinique multimérique hélicoïdal RecA-ADNsb. Ce filament protéique protège l'ADN de la dégradation (Cox, 1999). Ce filament de nucléoprotéine fonctionne comme une coprotéase qui intervient dans le clivage de LexA en stimulant la capacité latente du répresseur LexA à se scinder en deux via un mécanisme d'autodigestion protéolytique (Williams et Schumacher, 2017 ; Little,

1993). La boîte SOS a une structure palindromique, ce qui suggère que le répresseur LexA se lie en tant que dimère (Thliveris *et al.*, 1991). La coprotéase RecA stimule le clivage de la protéine LexA (202 acides aminés) sur le site Ala84-Gly85, ce qui entraîne son élimination des promoteurs et l'expression des gènes SOS (régulon) (Figure 5.1 et 5.2) (Janion, 2008).

Comme l'arrêt de la fourche de réplication est l'un des principaux déclencheurs de la réponse SOS, plusieurs gènes SOS, tels que *recA* et *ssb*, sont rapidement induits pour protéger et stabiliser la fourche, tandis qu'un second ensemble de gènes (comprenant *uvrA*, *uvrB*, *ydjQ*, *uvrD*, *recN* et *ruvAB*) s'exprime pour traiter les lésions par excision de nucléotides ou par des mécanismes de réparation par recombinaison (Erill *et al.*, 2007). Pour contourner les lésions qui ne peuvent pas être facilement réparées et ainsi empêcher l'avancée de la fourche de réplication, le système SOS d'*E. Coli* régule également l'induction de trois ADN polymérase (pol III, *dinB* et *umuDC*) capables d'effectuer la synthèse de l'ADN par translésion (Napolitano *et al.*, 2000). Ces polymérase sont sujettes aux erreurs, leur capacité à fonctionner via des bases d'ADN endommagées permet la réplication, ce qui sacrifie la fidélité génétique pour la viabilité (Erill *et al.*, 2007).

Enfin, la réponse SOS agit également sur la division cellulaire en régulant plusieurs gènes impliqués dans la septation. Plus particulièrement, l'induction du gène *sulA* qui inhibe la formation de septum, et la raison de ce processus semble être de retarder la division cellulaire jusqu'à ce que les dommages de l'ADN aient été correctement corrigés (Erill *et al.*, 2007).

Une fois les lésions de l'ADN réparées ou contournées, RecA cesse d'être activé par des fragments d'ADN simple brin. Comme les gènes *lexA* et *recA* sont tous les deux dérépressés au cours de la réponse SOS (Walker, 1984), les niveaux de la protéine LexA non clivée augmentent rapidement à mesure que les taux de RecA non activés augmentent, ramenant le système à son état de répression (Erill *et al.*, 2007).

De plus, deux protéines inductrices, DinI (SOS-induced damage-inducible) et RecX, affectent la stabilité du filament RecA et peuvent donc participer au contrôle de la réponse SOS. DinI peut inhiber l'activité de la coprotéase du filament de nucléoprotéine RecA/ADNsb. De cette façon, DinI module l'induction de la réponse SOS en inhibant l'autodigestion de LexA (Lusetti *et al.*, 2004 ; Sutton *et al.*, 2000).

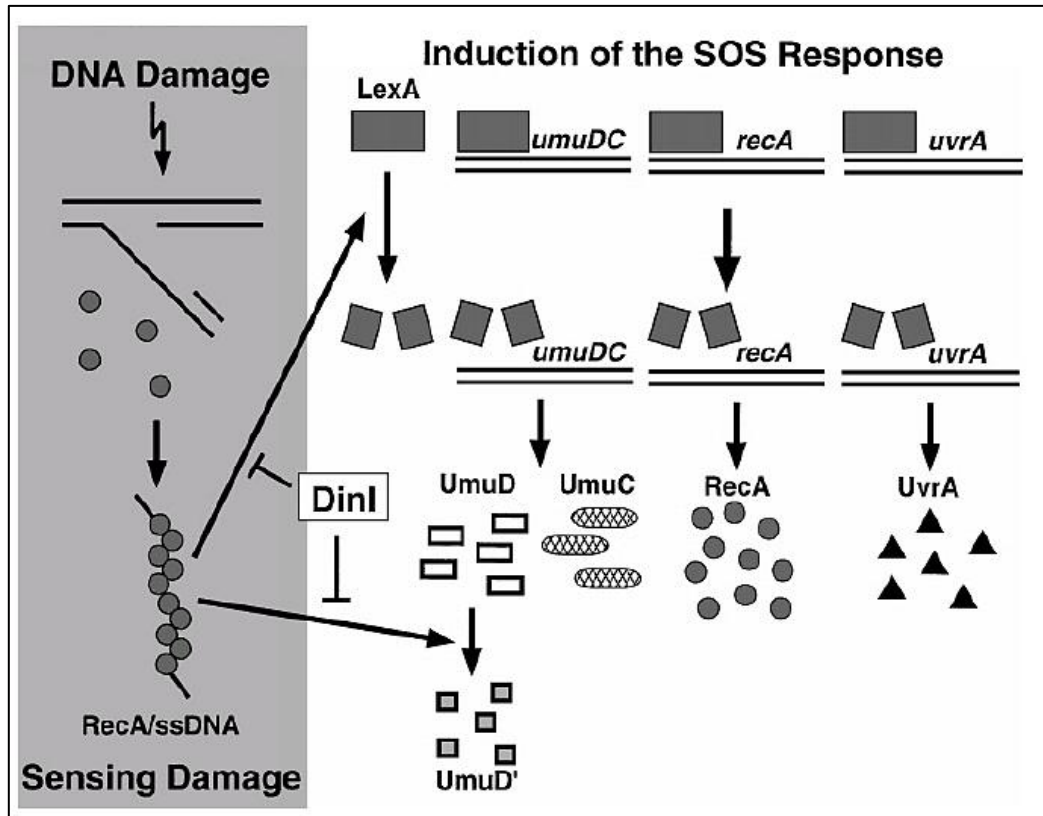


Figure 5.2. Induction de la réponse SOS par des dommages de l'ADN. Clivage de LexA stimulé par RecA, conduisant à l'expression des gènes SOS (*uvrA*, *recA* et *umuDC*) (Sutton *et al.*, 2000).

2.2. Mécanismes de réparation

Il existe plus de 40 gènes connus pour être impliqués dans la réparation SOS (Fernandez de Henestrosa *et al.*, 2000). La plupart de ces gènes sont induits rapidement et sont impliqués dans la réparation de l'ADN sans erreur, y compris la réparation par excision de nucléotide (NER) et la réparation par recombinaison homologue. Si les dommages causés à l'ADN sont si importants que les voies sans erreur sont insuffisantes pour terminer la réparation et redémarrer la réplication, la phase mutagène de la réponse SOS est déclenchée (Patel *et al.*, 2010).

2.2.1. Réparation par excision de nucléotides (NER)

Les gènes *uvr*, qui codent les protéines qui effectuent la réparation de l'excision des nucléotides (NER), constituent l'un des premiers ensembles de gènes exprimés (Stavans, 2006). Le complexe UvrABC impliqué dans cette réparation est constitué de quatre enzymes : UvrA, UvrB, UvrC et UvrD (UvrD est également appelé ADN

hélicase II). Parmi ces enzymes, UvrB et UvrC sont les endonucléases qui coupent le squelette phosphodiester de l'ADN. Le complexe UvrABC est également appelé ADN excinucléase (**Van Houten, 1990**). Le mécanisme NER nécessite également l'ADN pol I qui comblera les gaps une fois que l'exinucléase aura éliminé les bases endommagées. Le NER requiert également une enzyme ADN ligase pour le rattachement final de la liaison phosphodiester. L'action séquentielle de ces enzymes : UvrA, UvrB, UvrC, UvrD, pol I et l'ADN ligase est essentielle au bon fonctionnement du mécanisme NER dans la cellule bactérienne (**Van Houten, 1990**).

- Déroulement de la réparation NER

Au cours du mécanisme d'excision des nucléotides, deux unités UvrA et une unité UvrB se combinent pour former un complexe hétéromère UvrA₂B. Le complexe UvrA₂B scanne l'ADN à la recherche de toutes lésions ou modifications chimiques affectant l'ADN. Lorsque le complexe UvrA₂B trouve une lésion dans l'ADN, il se lie de manière compacte à la région endommagée (**Orren et Sancar, 1990**). Ensuite, les deux unités UvrA se détachent de l'ADN laissant la protéine UvrB sur la partie endommagée formant un complexe stable de pré-excision UvrB-ADN (**Shi et al., 1992**). L'enzyme UvrB recrute alors une autre enzyme, UvrC, dans la zone endommagée. Ces deux enzymes constituent l'endonucléase du complexe UvrABC. L'enzyme UvrB coupe la liaison du squelette phosphodiester située 5 nucléotides au-delà de la base endommagée du côté 3' et l'enzyme UvrC coupe la liaison phosphodiester située 8 nucléotides au-delà de la lésion du côté 5' (**Zou et al., 1995 ; Lin and Sancar, 1992**). Ce double clivage en deux points génère un fragment de 12 à 13 nucléotides appelé 12-mère ou 13-mère en fonction du nombre de nucléotides. Après le clivage, l'enzyme UvrB se détache de l'ADN (**Figure 5.3**) (**Van Houten, 1990**).

Ensuite, une enzyme ADN hélicase II appelée également UvrD se lie au complexe d'ADN-UvrC. L'enzyme hélicase permet de séparer les deux brins de l'ADN double brin et de les dissocier (**Crowley et Hanawalt, 2001**), ce qui permet de retirer le fragment 13-mère contenant la base endommagée de l'ADNdb. Après le retrait complet de la partie endommagée de l'ADN, l'UvrC quitte également l'ADN. Ainsi, la base endommagée ainsi qu'un court fragment de nucléotides sains sont retirés de l'ADN, laissant cette partie sous forme de région simple brin (**Van Houten, 1990**). La partie simple brin sera reconnue par l'enzyme pol I qui s'y liera. La pol I comblera alors

le vide avec les nucléotides corrects en consultant la séquence nucléotidique du brin complémentaire. Finalement, l'ADN ligase complète la réaction de réparation en réalisant la liaison phosphodiester entre l'ADN nouvellement synthétisé et le brin d'ADN parental (**Figure 5.3**) (**Baharoglu et Mazel, 2014 ; Van Houten, 1990**). Ainsi, la partie endommagée de l'ADN est retirée et la composition initiale en nucléotides est retrouvée.

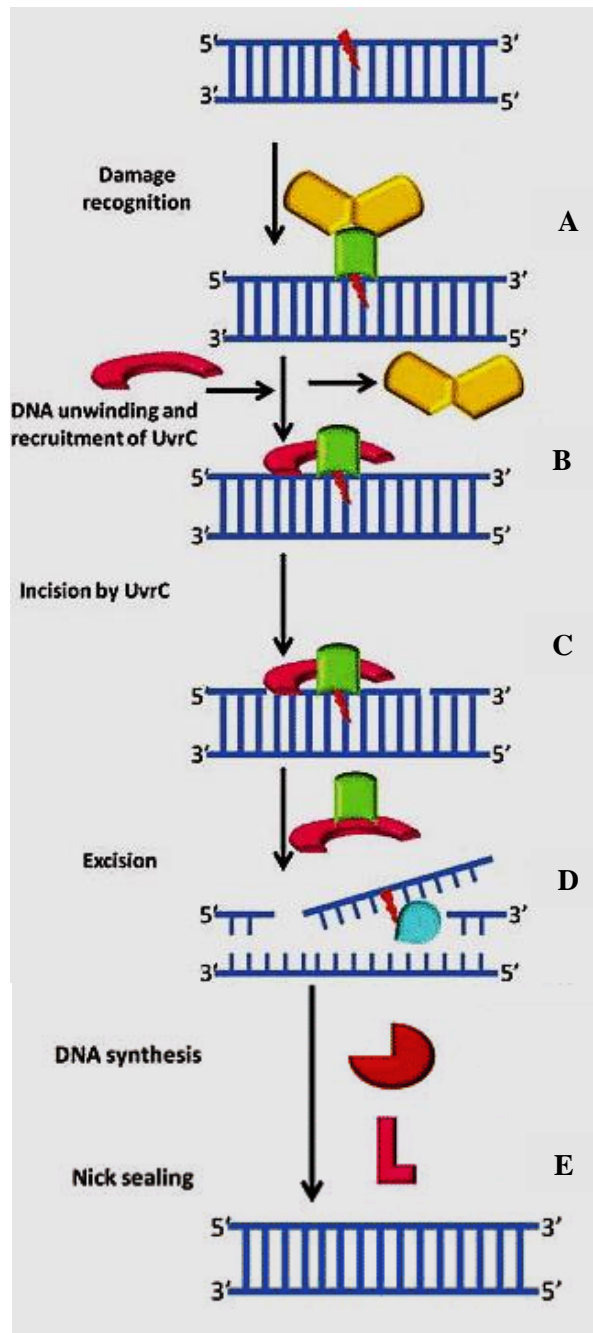


Figure 5.3. Représentation du processus de la réparation par excision de nucléotides (NER) (**Khanam et Ramachandran, 2014**).

Le NER est de loin le mécanisme de réparation dominant. Environ 85% des lésions sont réparées de cette façon. Après la réparation par excision, il reste encore 15% de lésions dans l'ADN (Stavans, 2006 ; Devoret, 1993).

2.2.2. Réparation par recombinaison homologue

Certaines lésions échappent au NER, et un autre mécanisme de réparation s'installe alors: la recombinaison homologue (Stavans, 2006). La réparation par recombinaison homologue consiste à combler le vide, crée après l'arrêt de l'ADN pol III, par un segment d'ADN homologue coupé du brin non endommagé du chromosome frère entièrement répliqué. Ceci convertit la région endommagée à la forme d'ADNdb, permettant une deuxième tentative de réparation sans erreur (Livneh, 2001).

La recombinaison est principalement effectuée par RecA. La protéine RecA localisée sur le filament RecA-ADNsb, formé au cours des étapes initiales de la réponse SOS, catalyse d'abord le couplage de l'ADN simple brin avec l'ADN double brin dans une partie présentant une homologie avec l'ADN simple brin. Après la localisation du locus homologue, RecA catalyse l'échange de brins (Stavans, 2006).

Dans le cas d'une cassure simple brin, un complexe protéique intervient, RecFOR. Son rôle consiste à éliminer la protéine de liaison SSB (une protéine de liaison à un seul brin) pour favoriser le chargement de RecA (Mullany, 2005).

Dans le cas de cassures double brin, un autre ensemble de protéines entre en jeu, c'est le complexe hélicase/nucléase trimoléculaire de trois sous-unités RecBCD. Il se lie spécifiquement à la molécule d'ADN subissant des cassures double brin et déroule les brins d'ADN le long de l'ADN, accompagnée d'une dégradation nucléolytique d'un ou des deux brins d'ADN (Khanam et Ramachandran, 2014).

Les activités de RecBCD sont contrôlées par des séquences d'ADN Chi spécifiques (5'GCTGGTGG3'). La sous-unité RecB dégrade l'ADN double brin dans la direction 3'-5' jusqu'à atteindre la séquence d'ADN Chi (Anderson et Kowalczykowski, 1997). Lors de l'interaction avec le site Chi, la sous-unité RecD convertit la polarité de la dégradation de l'ADN par RecB, qui commence à dégrader le brin d'ADN 5' seulement, ce qui conduit à la création d'extrémité 3' simple brin, ce qui favorise le chargement de RecA (Anderson et Kowalczykowski, 1997). Dans le

complexe trimoléculaire RecBCD, RecC n'a aucune activité catalytique et sert à reconnaître la séquence Chi (**Figure 5.4**) (**Koskinieni, 2010**).

Le fragment d'ADN simple brin (créé par arrêt de la pol III ou généré par RecBCD) est alors recouvert de la protéine RecA pour que la recombinaison se produise. RecA est recruté par les complexes enzymatiques eux-mêmes (**Khanam et Ramachandran, 2014**).

Une fois rassemblée, la protéine RecA forme un filament stable sur l'ADN simple brin (ADNsb), qui s'étend dans la direction 5'-3'. Il favorise l'appariement de l'ADNsb avec un l'ADN double brin homologue (**Petit, 2005**). C'est à l'intérieur du filament RecA que la recherche des séquences d'ADN homologues est effectuée et que l'échange des brins d'ADN se produit (**Churchill et al., 1999**). Une fois l'étape d'invasion du brin homologue terminée, les deux molécules d'ADN recombinantes sont connectées par une branche d'ADN appelée jonction de Holliday. La protéine spécifique à la jonction Holliday, RuvA, reconnaît et se lie à la jonction et recrute l'hélicase RuvB qui fournit l'énergie nécessaire à l'échange des paires d'ADN et au déplacement de la branche de l'ADN. RuvC est une endonucléase résolvasse qui assure le clivage et la résolution de la jonction en complexe avec RuvA et RuvB en coupant les deux brins d'ADN homologues. Les extrémités 3'-OH et 5'phosphate sont créées et sont ensuite ligaturées par l'ADN ligase (**Figure 5.4**) (**Khanam et Ramachandran, 2014**).

La réparation par recombinaison homologue a une efficacité qui se situe entre 50 et 65 %. Après le passage des deux processus de réparation par excision et par recombinaison, il reste environ 5 à 7 % de lésions non réparées (**Devoret, 1993**).

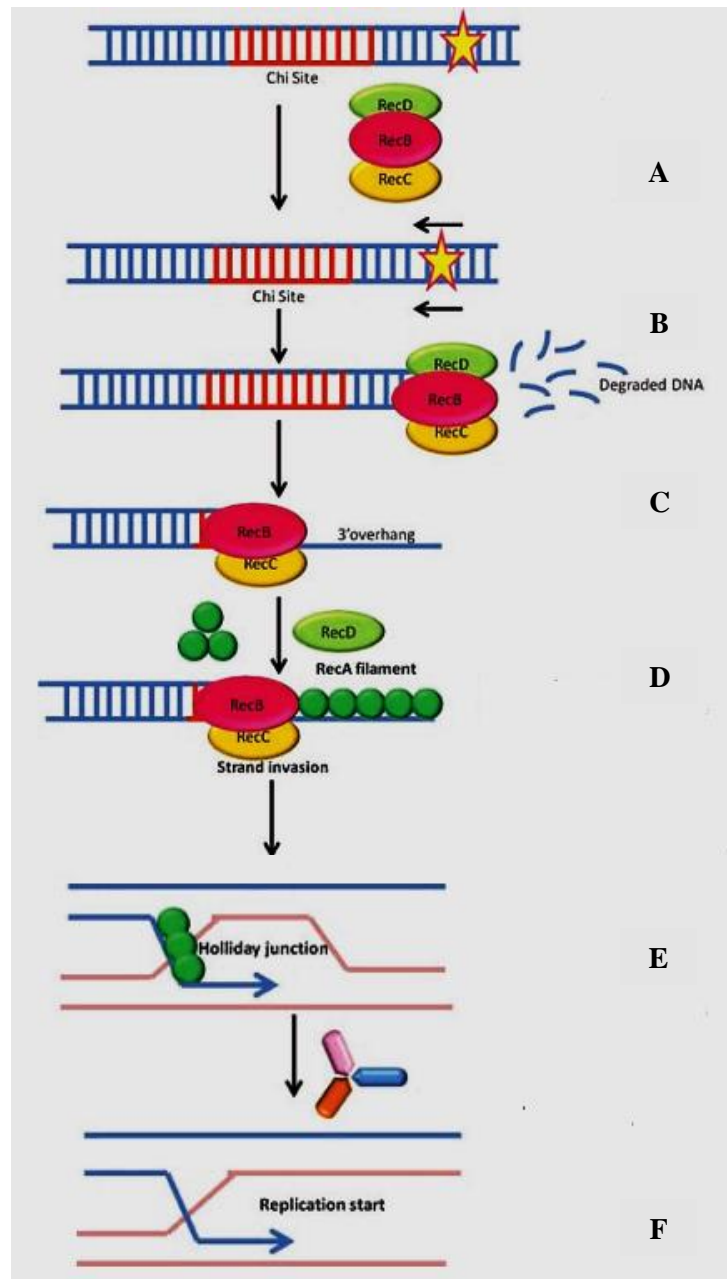


Figure 5.4. Représentation du mécanisme de la réparation par recombinaison homologue par le complexe RecBCD (Khanam et Ramachandran, 2014).

2.2.3. Synthèse translésionnelle (TLS): la mutagenèse

Il existe des situations où le NER et la recombinaison homologue échouent à réparer les lésions de l'ADN et, en dernier recours, la réplication est reprise à une fourche bloquée, mais à un prix: la mutagenèse (Stavans, 2006). La mutagenèse est une réponse SOS médiée par les ADN polymérases qui produisent des mutations (Goodman, 2002). Cette voie a donc été appelée réplication ou synthèse

translésionnelle (TLS), réparation à risque d'erreur, mutagénèse SOS et réparation par contournement de lésion (**Livneh, 2001**).

La TLS est responsable de la forte augmentation des mutations dans le génome bactérien (**Patel et al., 2010**). La mutagenèse SOS peut être considérée comme une sorte de réponse au désespoir. Les mutations qui se produisent peuvent tuer de nombreuses cellules. Cependant, la réplication est redémarrée avec succès et les cellules «chanceuses» survivent (**Patel et al., 2010**).

Le composant principal de la réaction TLS est une ADN polymérase, qui est un produit des gènes *umuD* et *umuC* appelée pol V (**Reuven et al., 1999 ; Tang et al., 1999**). Comme les autres gènes SOS, les gènes *umuD* et *umuC* sont réprimés par LexA et induits par RecA. L'activité du contournement de la lésion par pol V nécessite trois protéines: UmuC, UmuD' (une forme plus courte d'UmuD) et RecA (**Livneh, 2001 ; Reuven et al., 1999; Tang et al., 1999**). De plus, elle est stimulée par la sous-unité β de la pol III (**Livneh, 2001 ; Tang et al., 1999**).

Le processus TLS nécessite les produits de l'opéron *umuDC*. La TLS ne nécessite pas la protéine UmuD de longueur complète, mais plutôt une forme traitée post-traductionnelle appelée UmuD' (**Nohmi et al., 1988**). La nature biochimique de ce traitement est similaire à celle de l'autodigestion de LexA: l'interaction d'UmuD avec le filament de nucléoprotéine RecA/ADNsb stimule la capacité latente d'UmuD à s'autocliner, entraînant l'élimination des 24 acides aminés amino-terminaux (**Nohmi et al., 1988**). Comme avec l'autodigestion de LexA, la protéine DinI inhibe l'autodigestion d'UmuD à UmuD' induite par RecA/ADNsb (**Sutton, 2000**). Deux des molécules *umuD'* actives forment l'ADN PolIV en complexe avec UmuC ($UmuD'_2C$). La PolIV procède à la réplication de l'ADN sur l'ADN endommagé en incorporant n'importe quelle base en opposé de la lésion de l'ADN que la Pol III ne peut pas répliquer (**Baharoglu et Mazel, 2011**).

Il y a trois ADN polymérases induites par la réponse SOS chez *E. coli*, les pol II, IV et V, et toutes sont impliquées dans divers aspects de la TLS (**Goodman, 2002**). C'est la pol V, codée par l'opéron *umuDC*, qui est en grande partie responsable de l'augmentation d'environ 100 fois des mutations induites par les dommages de l'ADN (**Patel et al., 2010**).

La TLS peut être hautement mutagène, car ces polymérases peuvent incorporer une base correcte ou incorrecte en face de la lésion sur le brin matrice (**Friedberg *et al.*, 2002**). Contrairement à Pol III, les polymérases TLS n'ont pas d'activité de relecture. Ainsi, l'induction de la TLS entraîne une fréquence accrue de mutations spontanées (**Baharoglu et Mazel, 2011**).

La première étape de TLS est la phase de pré-initiation, qui consiste à assembler le filament de nucléoprotéine RecA (**Figure 5.5, étape B**) (**Reuven *et al.*, 2001**). Ce filament, qui s'assemble dans la direction 5'-3', couvre la région de l'ADNsb et s'achemine vers la région de l'ADNdb adjacente à la région de l'ADNsb, y compris l'amorce terminale près de la lésion (**Reuven *et al.*, 2001**). Au cours de l'étape suivante (**Figure 5.5, étape C**), pol V se lie à l'amorce, guidé par le filament RecA, qui sert de plate-forme de ciblage (**Livneh, 2001**).

L'initiation de la TLS par pol V nécessite la dissociation locale des monomères RecA de l'ADN près de l'amorce pour permettre une liaison appropriée de pol V à l'ADN (**Figure 5.5, étape C**) (**Reuven *et al.*, 2001**). La SSB aidera probablement pol V à déplacer RecA de l'ADN (**Livneh, 2001**).

Après l'assemblage de l'holoenzyme pol V, la synthèse de l'ADN commence et, lorsqu'elle rencontre la lésion, pol V met une base nucléique en face de la lésion résiduelle. La réplication fidèle est alors temporairement suspendue pour restaurer un réplicon viable, même si c'est au prix d'une altération du code génétique (contournement de la lésion) (**Figure 5.5, étape E**) (**Devoret, 1993**). Une fois la lésion contournée, la pol V se dissocie de l'ADN et l'holoenzyme pol III prend le relais et reprend la réplication (**Figure 5.5, étape F**) (**Livneh, 2001**).

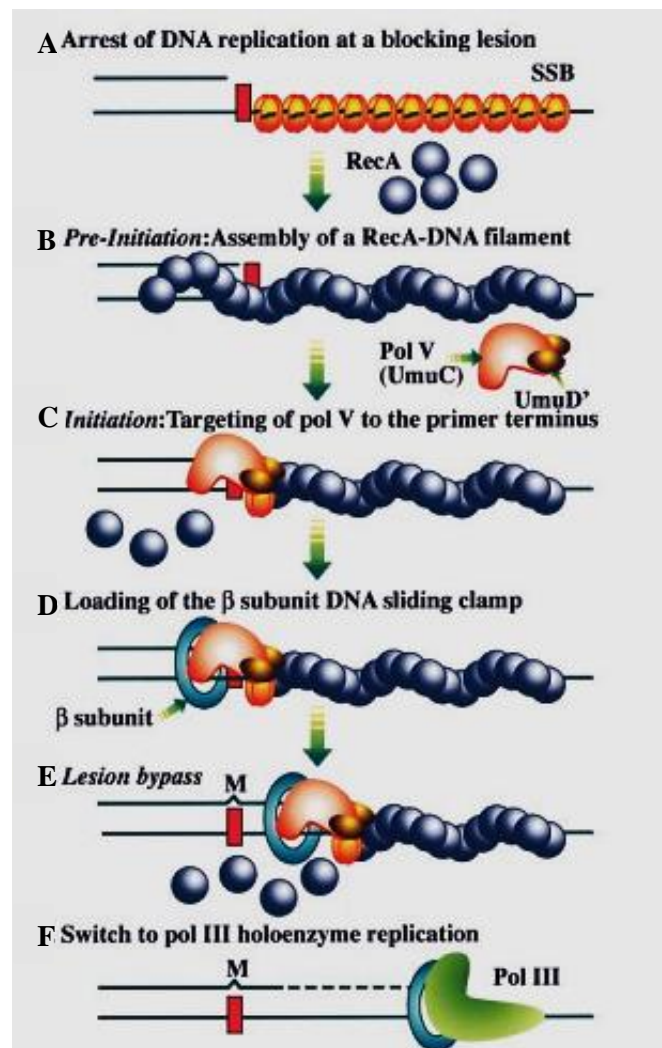


Figure 5.5. Modèle de réplication translésionnelle par l'ADN pol V (Livneh, 2001).

L'induction de la réponse SOS conduit à un haut degré de mutabilité dans les cellules bactériennes via le processus de la synthèse translésionnelle (Ysern *et al.*, 1990). Le traitement antibiotique de *E. coli* leur permet d'augmenter leurs chances de générer des mutations leur permettant de survivre dans les conditions de stress auxquelles ils sont soumis (Ysern *et al.*, 1990). En effet, des mutations ponctuelles peuvent entraîner l'acquisition d'une résistance aux antibiotiques. Par exemple, la résistance à la ciprofloxacine et à la rifampicine est due à des mutations causées lors de l'induction de la réponse SOS par l'action des polymérases mutagènes (IV et V) (Baharoglu et Mazel, 2014).

2.3. Chronologie de déclenchement des processus de la réparation SOS

Les gènes SOS ne sont pas tous induits au même moment et au même niveau. Cela dépend de la séquence exacte de leur boîte SOS (région du promoteur reconnue par LexA), de sa position dans la région du promoteur et de la force du promoteur (Michel, 2005). La boîte SOS est une séquence consensus longue de 20 nucléotides. La séquence de ces boîtes varie légèrement, ce qui entraîne une différence d'affinité pour LexA. Les promoteurs qui lient faiblement LexA sont les premiers à être pleinement exprimés. De cette manière, LexA peut activer séquentiellement différents mécanismes de réparation (Stavans, 2006). La synchronisation de la dérèpression des gènes SOS dépend donc de la force de liaison du répresseur LexA avec les boîtes SOS et de la facilité du détachement du LexA d'une boîte SOS particulière (Janion, 2008).

Les gènes les plus rapidement dérèprimés (<1 min après l'induction de la réponse SOS) incluent: le gène *lexA* codant pour la protéine LexA (rapidement dégradée dans les cellules induites) et *uvrAB* et *uvrD* impliqués dans la réparation NER (Janion, 2008 ; Michel, 2005). En tant que seconde défense contre les lésions de l'ADN, l'expression de *recA* et d'autres fonctions de recombinaison homologue comme *ruvAB* a lieu 5 min après l'induction SOS (Janion, 2008). La recombinaison homologue permet de réparer les lésions qui se produisent sur les régions d'ADNsb en les rendant double brin (et donc un substrat pour la réparation NER) (Michel, 2005). Les gènes *polB* et *dinB* codant pour Pol II et Pol IV, respectivement et *dinI*, dont le produit inhibe le traitement de UmuD en UmuD' sont aussi induits. Par conséquent, la protéine DinI retarde la synthèse de Pol V (Janion, 2008 ; Michel, 2005).

Si, toutefois, la NER et la recombinaison homologue ne suffisent pas à réparer les dommages, la concentration de LexA est encore réduite, de sorte que l'expression des gènes avec des boîtes de LexA plus fortes (telles que *sulA*, *umuD* et *umuC*) est induite environ 40 minutes après le déclenchement de la réponse SOS (Tippin et al., 2001). Cette dernière réponse permet également aux bactéries de rendre les lésions de l'ADN sous forme double brin, donc réparables, mais au détriment d'introduire des erreurs dans le génome (Michel, 2005). *sulA* (ancien nom, *sfiA*) est un autre gène SOS exprimé tardivement, ce gène code pour la protéine SulA qui arrête la division cellulaire en se liant à FtsZ, la protéine initiatrice de ce processus. Cela provoque une

filamentation (élongation de la cellule) et l'induction d'une réparation mutagène dépendant d'UmuDC (**Janion, 2008**).

3. Conséquences de la réponse SOS sur la plasticité du génome bactérien

L'une des conséquences importante de l'induction de la réponse SOS, après la formation de cassures simple ou double brin, est l'augmentation de la recombinaison homologue qui est l'un des mécanismes principale du réarrangement génomique et donc de la plasticité du génome (**Baharoglu et Mazel, 2014**).

Modification de l'expression génique. Un exemple de l'importance de la recombinaison homologue peut être constaté chez la bactérie *Vibrio cholerae* qui possède deux chromosomes qui ont des origines de réplication différentes. Il a été constaté que après l'induction de la réponse SOS, la recombinaison homologue conduit à la fusion des deux chromosomes par le biais de séquences IS homologues présentes dans les deux chromosomes, ce qui entraîne des modifications en terme de dosage génique (**Val et al., 2013**). En fait, plus un gène est proche de l'origine de la réplication, plus son nombre de copies dans une cellule donnée augmente en raison de plusieurs déclenchements de la réplication. Lorsque deux chromosomes sont fusionnés, une seule origine est active, ainsi la posologie du gène peut être modifiée. Ceci suggère que l'induction de la réponse SOS peut influencer l'expression des gènes et donc la physiologie cellulaire en général (**Baharoglu et Mazel, 2014**).

Transfert génétique horizontal. L'induction SOS en réponse aux transferts génétiques horizontaux (HGT) conduit également aux réarrangements génomiques (**Baharoglu et Mazel, 2014**). Lors de la conjugaison et de la transformation, l'ADN plasmidique ou chromosomique pénètre dans la cellule réceptrice sous forme simple brin. L'ADN entrant en induisant le système SOS chez la cellule receveuse peut induire sa propre intégration dans son génome par recombinaison homologue, soulignant une fois de plus le rôle de la réponse SOS en tant qu'initiateur de la plasticité du génome bactérien (**Baharoglu et Mazel, 2014**).

Il est intéressant de noter que même des plasmides conjugatifs à gamme d'hôte étroite qui ne peuvent ni se répliquer ni être maintenus dans la bactérie réceptrice induisent la réponse SOS lors de l'entrée dans la cellule (**Baharoglu et al., 2010**). Cela

signifie que même si le plasmide entrant n'est pas maintenu et que l'ADN entrant est finalement dégradé, la conjugaison laisse toujours une empreinte chez la cellule hôte en induisant une plasticité du génome dépendante de la réponse SOS, telle que des mutations ponctuelles ou un réarrangement d'intégron, ce qui peut éventuellement conduire au développement d'une résistance aux antibiotiques (**Baharoglu et al., 2013**).

Régulation du système intégron. Les intégrons de multirésistance sont composés d'un réseau de cassettes (jusqu'à 8 cassettes ou > 20 et jusqu'à 200 pour le super-intégron de *V. cholerae*) codant des résistances contre différents antibiotiques (**Partridge et al., 2009**). Dans ces intégrons, le gène de l'intégrase (*intI*) qui code pour une recombinase site-spécifique, catalyse l'excision et l'intégration des cassettes (**Mazel, 2006**). Les cassettes sont des ORF sans promoteur qui peuvent être exprimées à partir du promoteur constitutif d'intégron (Pc). En plus de la capture des cassettes, l'intégrase permet également le réarrangement des cassettes (**Jove et al., 2010**).

Il a été démontré que toutes les intégrases connues des intégrons sont régulées par la réponse SOS (**Cambray et al., 2011 ; Guerin et al., 2009**). Un site de fixation conservé de LexA a été découvert dans la région promotrice du gène *intI*, suggérant une régulation de l'expression des intégrases des intégrons par la réponse SOS via LexA (**Guerin et al., 2010**). Une étude visant l'analyse de l'expression du gène de l'intégrase d'intégron de la bactérie *V. cholerae* montre que l'expression de l'intégrase était induite en réponse à des agents chimiques connus pour induire la réponse SOS comme la mitomycine C ou certains antibiotiques (ciprofloxacine, triméthoprime et ampicilline) (**Guerin et al., 2009**).

L'acquisition de nouvelles cassettes de résistance ou le réarrangement de ces cassettes au sein d'un intégron ne pourra se produire qu'en conditions d'activation de la réponse SOS et donc de production d'intégrase (**Guerin et al., 2010**). La régulation de l'expression de l'intégrase des intégrons permet à la bactérie une économie énergétique car le gène de l'intégrase n'est exprimé que lors du besoin permettant ainsi à la bactérie de s'adapter au stress (**Guerin et al., 2010**). En plus, dans des conditions de stress, l'activation de l'intégrase permettra le réarrangement interne des cassettes au sein d'intégron pour rapprocher un gène éloigné du promoteur (donc non exprimé) permettant ainsi un niveau d'expression supérieur (**Guerin et al., 2010**).

Le déclenchement de la recombinaison des cassettes aux intégrons est l'une des conséquences de l'induction de la réponse SOS par transfert d'ADN conjugatif (**Baharoglu *et al.*, 2010**). Autrement dit, le transfert conjugatif de plasmides induit fortement la réponse SOS conduisant à l'augmentation des réarrangements des cassettes. Une conséquence importante de cela est l'émergence de clones résistants aux antibiotiques (**Baharoglu *et al.*, 2013**).

Références bibliographiques

1. Anderson DG., Kowalczykowski SC. (1997). The translocating RecBCD enzyme stimulates recombination by directing RecA protein onto ssDNA in a chi-regulated manner. *Cell*. 90:77–86
2. Baharoglu Z., Bikard D., Mazel D. (2010). Conjugative DNA transfer induces the bacterial SOS response, promotes antibiotic resistance development through integron activation. *PLoS Genet*. 6 : e1001165
3. Baharoglu Z., Garriss G., Mazel D. (2013). Multiple Pathways of Genome Plasticity Leading to Development of Antibiotic Resistance. *Antibiotics*. 2: 288-315.
4. Baharoglu Z., Mazel D. (2011). *Vibrio cholerae* triggers SOS and mutagenesis in response to a wide range of antibiotics, a route towards multi-resistance. *Antimicrob. Agents Chemother*. 55: 2438–2441.
5. Baharoglu Z., Mazel D. (2014). SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions. *FEMS Microbiol. Rev*. (6):1126-45.
6. Cambray G., Sanchez-Alberola N., Campoy S., Guerin E., Da Re S., Gonzalez-Zorn B., *et al.* (2011). Prevalence of SOS-mediated control of integron integrase expression as an adaptive trait of chromosomal and mobile integrons. *Mob. DNA*. 2: 6.
7. Churchill JJ., Anderson DG., Kowalczykowski SC. (1999). The RecBC enzyme loads RecA protein onto ssDNA asymmetrically and independently of chi, resulting in constitutive recombination activation. *Genes and development*. 13(7): 901–11.
8. Cox MM. (1999). Recombinational DNA repair in bacteria and the RecA protein. *Prog. Nucleic Acids Res. Mol. Biol*. 63: 311–366.
9. Crowley DJ., Hanawalt PC. (2001). The SOS-dependent upregulation of *uvrD* is not required for efficient nucleotide excision repair of ultraviolet light induced DNA photoproducts in *Escherichia coli*. *Mutation Research*. 485: 319–329.
10. Da Re S., Ploy M-C. (2012). Antibiotiques et réponse SOS bactérienne. Une voie efficace d'acquisition des résistances aux antibiotiques. Resistance acquisition via the bacterial SOS response: the inducive role of antibiotics. *Med. Sci. (Paris)*. 28: 179–184.
11. Devoret R. (1993). Mécanisme de la mutagenèse SOS chez les bactéries. *Société Française de Génétique. mis n°3*, vol. 9.
12. Erill I., Campoy S., Barb J. (2007). Aeonsof distress: an evolutionary perspective on the bacterial SOS response. *FEMS Microbiol. Rev*. 31 : 637–656.
13. Fernandez de Henestrosa AR., Ogi T., Aoyagi S., Chafin D., Hayes JJ., Ohmori H., Woodgate R. (2000). Identification of additional genes belonging to the LexA-regulon in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol*. 35:1560–1572.
14. Friedberg EC., Wagner R., Radman M. (2002). Specialized DNA polymerases, cellular survival, and the genesis of mutations. *Science*. 296: 1627-1630.

15. Goodman MF. (2002). Error-prone repair DNA polymerases in prokaryotes and eukaryotes. *Annu Rev Biochem.* 71:17–50.
16. Goodman MF., Tippin B. (2000). The expanding polymerase universe. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 1:101–109.
17. Guerin E., Cambray G., Da Re S., Mazel D., Ploy M-C. (2010). Les antibiotiques induisent la capture de gènes de résistance par les bactéries. The SOS response controls antibiotic resistance by regulating the integrase of integrons. *Med. Sci. (Paris).* 26: 28–30.
18. Guerin E., Cambray G., Sanchez-Alberola N., Campoy S., Erill I., Da Re S., *et al.* (2009). The SOS response controls integron recombination. *Science.* 324: 1034.
19. Janion C. (2008). Inducible SOS Response System of DNA Repair and Mutagenesis in *Escherichia coli*. *Int. J. Biol. Sci.* 4(6):338-344.
20. Jove T., Da Re S., Denis F., Mazel D., Ploy MC. (2010). Inverse correlation between promoter strength and excision activity in class 1 integrons. *PLoS Genet.* 6: e1000793.
21. Khanam T., Ramachandran R. (2014). Exploiting Bacterial DNA Repair Systems as Drug Targets: A Review of the Current Scenario with Focus on Mycobacteria. *J. Indian Institute of Science.* 94:1.
22. Koskinieni S. (2010). Dynamics of the bacterial genome. Rates and mechanisms of mutation. *Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the faculty of medicine.* pp.9-56
23. Kuzminov A. (1999). Recombinational repair of DNA damage in *Escherichia coli* and bacteriophage lambda. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63(4):751-813.
24. Lin J-J., Phillips AM., Hearst JE., Sancar A. (1992). Active site of (A)BC excinuclease. II. Binding, bending and catalysis mutants of UvrB reveal a direct role in 3' and an indirect role in 5' incision. *J. Biol. Chem.* 267: 17693–17700.
25. Lin J-J., Sancar A. (1992). Active site of (A)BC excinuclease. I. Evidence for 5' incision by UvrC through a catalytic site involving Asp399, Asp438, Asp466 and His538 residues. *J. Biol. Chem.* 267: 17688–17692.
26. Little JW. (1993). LexA cleavage and other self-processing reactions. *J. Bacteriol.* 175:4943–50.
27. Livneh Z. (2001). DNA Damage Control by Novel DNA Polymerases: Translesion Replication and Mutagenesis. *The journal of biological chemistry.* 276 (28): 25639–25642.
28. Lohman TM., Ferrari ME. (1994). *Escherichia coli* single-stranded DNA-binding protein: multiple DNA-binding modes and cooperativities. *Annu. Rev. Biochem.* 63: 527–570.
29. Lusetti SL., Drees JC., Stohl EA., Seifert HS., Cox MM. (2004). The DinI and RecX proteins are competing modulators of RecA function. *J. Biol. Chem.* 279:55073–55079.
30. Mazel D. (2006). Integrons: agents of bacterial evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 4: 608-620.

31. Michel B. (2005). After 30 Years of Study, the Bacterial SOS Response Still Surprises Us. PLoS Biol. 3(7): e255.
32. Moolenaar GF., Franken KLMC., Dijkstra DM., Thomas-Oates JE., Visse R., van de Putte P., Goosen N. (1995). The C-terminal region of the UvrB protein of *Escherichia coli* contains an important determinant for UvrC binding to the pre-incision complex but not the catalytic site for 3' incision. J. Biol. Chem. 270: 30508–30515.
33. Mullany P. (2005). The Dynamic Bacterial Genome. Cambridge University Press Cambridge, New York, Melbourne, Madrid, Cape Town, Singapore, São Paulo, p 423.
34. Napolitano R., Janel-Bintz R., Wagner J., Fuchs RP. (2000). All three SOS-inducible DNA polymerases (Pol II, Pol IV and Pol V) are involved in induced mutagenesis. EMBO J. 19: 6259-6265.
35. Nohmi T., Battista JR., Dodson LA., Walker GC. (1988). RecA-mediated cleavage activates UmuD for mutagenesis: mechanistic relationship between transcriptional derepression and posttranslational activation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85:1816–20.
36. Orren DK., Sancar A. (1990). Formation and enzymatic properties of the UvrB-DNA complex. J. Biol. Chem. 265: 15796–15803.
37. Pagès V., Fuchs RPP. (2002). How DNA lesions are turned into mutations within cells? Oncogene. 21: 8957–8966.
38. Partridge SR., Tsafnat G., Coiera E., Iredell JR. (2009). Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons. FEMS Microbiol. Rev. 33: 757–84.
39. Patel M., Jiang Q., Woodgate R., Cox MM., Goodman MF. (2010). A new model for SOS-induced mutagenesis: how RecA protein activates DNA polymerase V. Critical Rev. Biochem. Mol. Biolo. 45(3): 171–184.
40. Petit M-A. (2005). Mechanisms of homologous recombination in bacteria. In: Mullany P. The Dynamic Bacterial Genome. Cambridge University Press, New York, NY.446.
41. Reuven NB., Arad G., Maor-Shoshani A., Livneh Z. (1999). The mutagenesis protein UmuC is a DNA polymerase activated by UmuD', RecA, and SSB and is specialized for translesion replication. J. Biol. Chem. 274: 31763–31766.
42. Reuven NB., Arad G., Stasiak AZ., Stasiak A., Livneh Z. (2001). Lesion bypass by the *Escherichia coli* DNA polymerase V requires assembly of a RecA nucleoprotein filament. J. Biol. Chem. 276, 5511–5517.
43. Shi Q., Thresher R., Sancar A., Griffith J. (1992). Electron microscopic study of (A)BC excinuclease. DNA is sharply bent in the UvrB–DNA complex. J. Mol. Biol. 226: 425–432.
44. Stavans J. (2006). The SOS response of bacteria to DNA damage. A Single Cell Study. Dynamics of Complex Interconnected Systems: Networks and Bioprocesses.pp: 39–47.

45. Sutton MD., Smith BT., Godoy VG., Walker CG. (2000). The SOS response: Recent Insights into umuDC-Dependent Mutagenesis and DNA Damage Tolerance. *Annu. Rev. Genet.* 34:479–97.
46. Tang M., Shen X., Frank EG., O'Donnell M., Woodgate R., Goodman MF. (1999). UmuD'(2)C is an error-prone DNA polymerase, *Escherichia coli* pol V. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96: 8919–8924.
47. Thliveris AT., Little JW., Mount DW. (1991). Repression of the *E. coli* recA gene requires at least two LexA protein monomers. *Biochimie.* 73(4):449-456
48. Tippin B., Pham P., Goodman MF. (2004). Error-prone replication for better or worse. *Trends Microbiol.* 12(6): 288-95.
49. Val ME., Kennedy SP., Soler-Bistue AJ., Barbe V., Bouchier C., Ducos-Galand M., *et al.* (2013). Fuse or die: how to survive the loss of Dam in *Vibrio cholerae*. *Mol Microbiol.* 91(4):665-78.
50. Van Houten B. (1990). Nucleotide excision repair in *Escherichia coli*. *Microbiol. Rev.* 54: 18–51.
51. Walker GC. (1984) Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*. *Microbiol. Rev.* 48: 60 – 93.
52. Watford S., Warrington SJ. (2019). Bacterial DNA Mutations. Copyright © 2019, StatPearls Publishing LLC. Bookshelf ID: NBK459274 PMID: 29083710
53. Williams AB., Schumacher B. (2017). DNA damage responses and stress resistance: Concepts from bacterial SOS to metazoan immunity. *Mech. Ageing. Dev.* 165(Pt A): 27–32.
54. Ysern P., Clerch B., Castano M., Gibert I., Barbe J., Llagostera M. (1990). Induction of SOS genes in *Escherichia coli* and mutagenesis in *Salmonella typhimurium* by fluoroquinolones. *Mutagenesis.* 5: 63-66.