

Ilots génomiques et transfert horizontal de gènes entre bactéries

Les chromosomes sont en général considérés comme des molécules stables devant être soigneusement copiées pour chaque cellule fille nouvellement formée. A part quelques rares erreurs de copiage («mutations»), il ne peut pas arriver grand chose à l'ADN chromosomique. Mais en est-il vraiment ainsi? On sait maintenant que les chromosomes bactériens comportent des «îlots génomiques», c'est-à-dire des régions de l'ADN capables de se séparer elles-mêmes de leur chromosome, d'atteindre d'autres bactéries et de s'insérer dans le chromosome récepteur. Leur fonction? Ils dotent bien souvent les bactéries réceptrices de nouvelles propriétés leur permettant par exemple d'infecter certains hôtes eucaryotes ou de dégrader certains polluants.

Il y a près de dix ans que nous avons commencé d'étudier le processus de transfert horizontal de gènes entre bactéries (voir glossaire). Notre objectif était de déterminer la fréquence avec laquelle certains gènes étaient transférés entre différentes bactéries dans un environnement naturel. Pour notre étude, nous avons choisi comme système modèle la souche B13 de la bactérie *Pseudomonas* sp. isolée à partir de boues d'épuration. Cette souche se sert exclusivement de 3-chlorobenzoate comme source de carbone et d'énergie (Fig. 1). Lors de sa découverte en 1974, elle faisait partie des rares souches bactériennes capables de dégrader les composés chlorés. Cet aspect était particulièrement intéressant puisque de nombreux polluants appartiennent à la famille des composés aromatiques chlorés. Mais la souche B13 se distingue encore par une autre propriété des plus spectaculaires: ces bactéries sont en effet capables de transférer ceux de leurs gènes impliqués dans le métabolisme du 3-chlorobenzoate vers d'autres espèces de bactéries et ce, même au sein du microcosme d'un digesteur d'eaux usées [1]. On constata d'autre part un fait tout à fait curieux: le taux de transfert de gène horizontal semblait augmenter en présence de 3-chlorobenzoate. Nous avons alors supposé que ce phénomène était dû au fait que le 3-chlorobenzoate favorisait la croissance des bactéries recevant les gènes responsables de la dégradation de ce composé. D'un autre côté,

nous ne savions pas encore trop comment ces gènes pouvaient passer du B13 aux autres bactéries.

Les gènes responsables de la dégradation du 3-chlorobenzoate localisés sur un îlot génomique

Nous nous sommes donc penchés avec une attention particulière sur le mécanisme de transfert de gène. Roald Ravatn, qui a effectué une thèse sur ce thème, constata que la bactérie «receveuse» avait en fait reçu un fragment d'ADN de B13 contenant au moins 100 000 paires de bases. Ce fragment contenant les gènes responsables de la dégradation du 3-chlorobenzoate fut appelé l'élément *c/c* [2] (Fig. 2A) et l'on constata qu'il était inséré dans un ou deux sites très spécifiques du chromosome récepteur. Le chromosome de la souche B13 est lui-même doté de deux copies de l'élément *c/c* qui ne semblent pas disparaître après transfert vers une nouvelle bactérie (Fig. 2B). Roald Ravatn identifia également le facteur responsable de l'excision de l'élément *c/c* du chromosome de B13 et de sa réinsertion dans le chromosome récepteur. Il s'agit d'une enzyme appelée «intégrase». En comparant la composition biochimique de l'intégrase de la souche B13 avec d'autres protéines, on constata qu'il existait une parenté avec les intégrases des bactériophages qui intègrent leur génome aux chromosomes des cellules infectées, et avec les

intégrases de ce que l'on appelle les îlots génomiques (voir glossaire) [3]. Le gène de l'intégrase de la souche B13 est situé à l'extrémité 5' de l'élément *c/c* (Fig. 2A).

Depuis quelques années, la découverte de nouveaux îlots génomiques se fait à un rythme grandissant. Ces progrès sont principalement dus à la multiplication des projets de séquençage des génomes. De grands laboratoires sont parvenus à déterminer la séquence de nucléotides complète de près de 100 génomes bactériens. L'étude des séquences complètes de nucléotides a révélé que de nombreuses bactéries portaient des îlots génomiques et disposaient même d'une multitude de copies différentes. Les îlots génomiques se caractérisent par la présence d'un gène codant pour une intégrase ainsi que par la présence d'un site spécifique d'insertion sur le chromosome récepteur (Fig. 2B). Toutes les informations dont nous disposons sur l'élément *c/c* indiquent qu'il s'agit bien d'un îlot génomique.

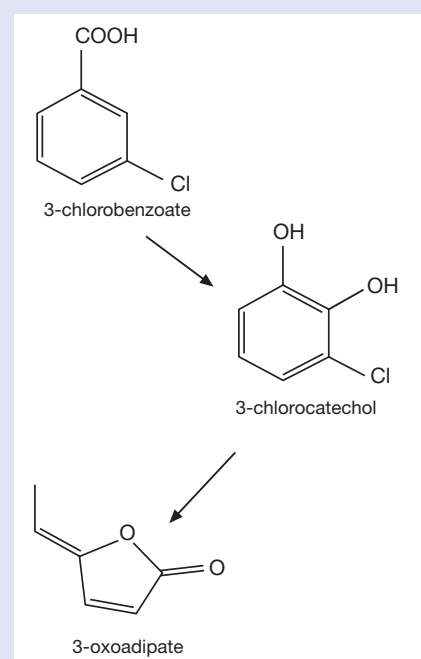


Fig. 1: Dégradation spécifique d'un composé aromatique chloré, le 3-chlorobenzoate. Le produit 3-oxoadipate entrera ensuite dans le métabolisme général.

Comment les îlots génomiques se déplacent-ils?

Maintenant que nous savons que les gènes responsables de la dégradation du 3-chlorobenzoate se situaient sur un îlot génomique, il nous restait à nous pencher sur le fait constaté antérieurement que le transfert de l'élément *c/c* était favorisé par la présence de 3-chlorobenzoate. C'est à ce stade que Vladimir Sentchilo a entamé en 1999 une thèse de doctorat visant à déterminer quels facteurs environnementaux ou cellulaires influencent sur le transfert de l'élément *c/c*. Etant donné que le transfert de l'élément *c/c* est toujours précédé d'une activa-

tion du gène codant pour l'intégrase, il nous a semblé judicieux d'utiliser cette activation comme indicateur de l'excision et du transfert dont elle est toujours suivie. Dans ce but, Vladimir Sentchilo a donc concentré

ses efforts sur le gène codant pour l'intégrase et construit des bactéries rapporteurs spécifiques (à la manière du biosenseur pour la détection de l'arsenic, p. 12). Ces bactéries rapporteurs portent une construc-

Glossaire

Îlots génomiques

Régions instables des chromosomes bactériens qui se transfèrent parfois elles-mêmes du génome d'une bactérie à celui d'une autre. Elles produisent un accroissement de la vitalité des bactéries et peuvent être classées en différentes catégories ou sous-types: par exemple, les «îlots écologiques» des bactéries de l'environnement et les «îlots de pathogénicité» des bactéries pathogènes qui comportent des fonctions auxiliaires intervenant au niveau de l'infection, de la synthèse de toxines et de l'adhésion [4].

Green Fluorescent Protein ou GFP

Protéine rapporteur; les cellules dans lesquelles la GFP est synthétisée deviennent fluorescentes et peuvent être observées au microscope à épifluorescence.

Transfert de gène horizontal

Echange d'ADN entre bactéries; par opposition au transfert de gène vertical qui correspond à la transmission d'un gène d'un ancêtre commun à ses descendants. La reproduction des bactéries est généralement qualifiée d'asexuée car les bactéries ne pratiquent pas l'équivalent de la fusion génétique de deux cellules différentes qui est la caractéristique de la reproduction sexuée des eucaryotes. Les bactéries sont néanmoins capables d'échanger des segments d'ADN. Etant donné que ces segments peuvent se fixer dans un génome et conférer de nouvelles propriétés à la bactérie receveuse, l'échange de gènes entre bactéries peut être considéré comme une forme de sexualité bactérienne.

Promoteur

Région régulatrice d'un gène situé en tête de la région codante. L'activation du promoteur induit la transcription de la région codante qui provoque la synthèse de la protéine correspondante.

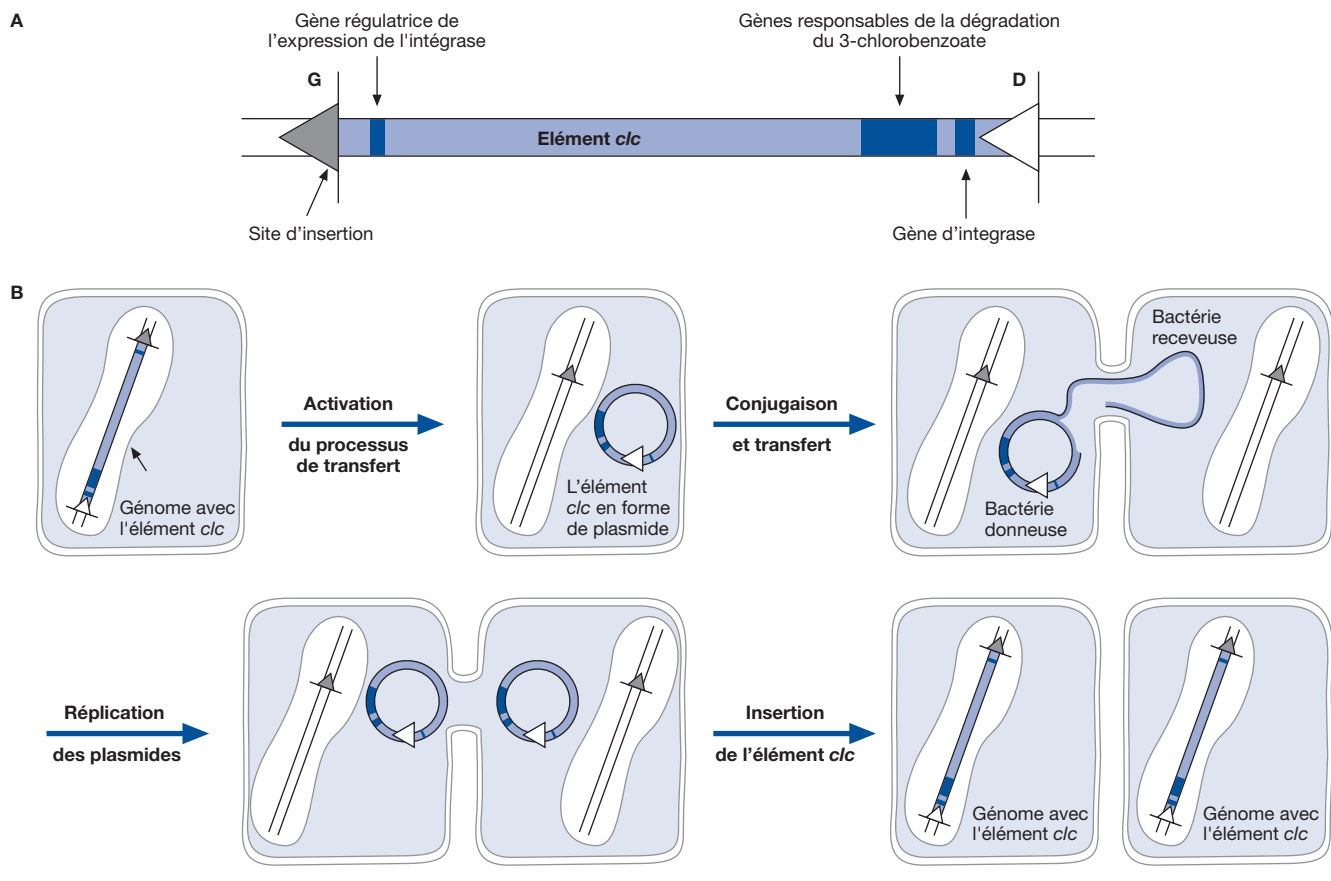


Fig. 2: L'élément *c/c* (A) et sa propre vie hypothétique (B). Une fois activé, le élément *c/c* est découpé du chromosome par l'intégrase et se trouve alors dans la cellule bactérienne comme molécule d'ADN circulaire (= plasmide). Quand cette bactérie rencontre une deuxième bactérie sans l'élément *c/c*, l'élément *c/c* est transféré sous forme d'ADN simple brin. Après répliation l'élément *c/c* s'est réintégré également grâce à l'intégrase au site d'insertion dans les génomes des deux bactéries.

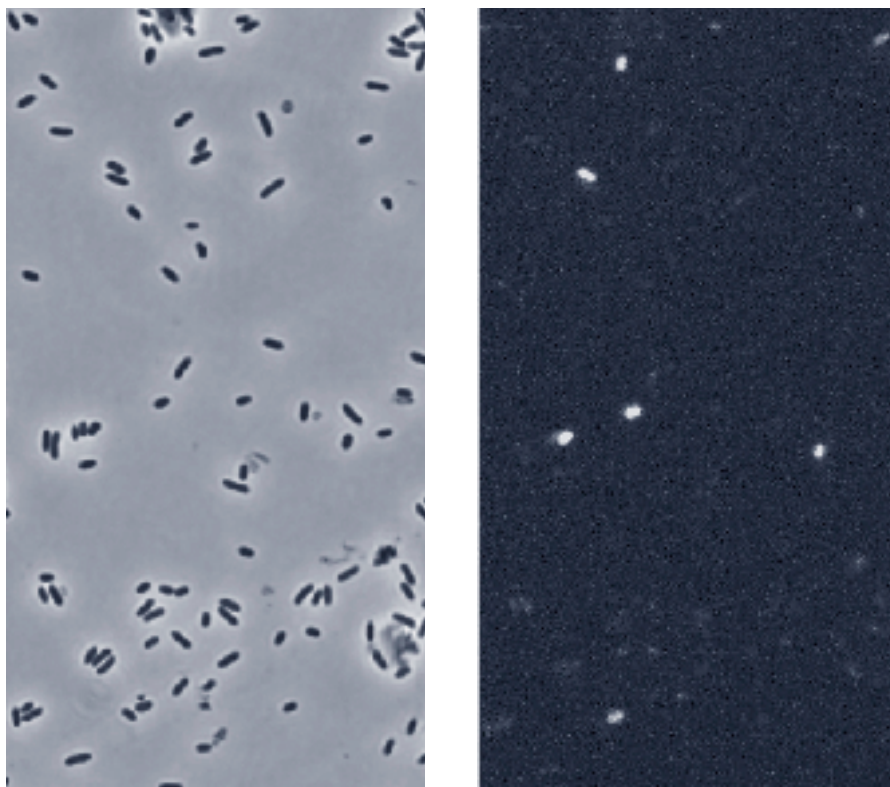


Fig. 3: Le processus du transfert de l'élément *cIc* est seulement activé dans très peu de bactéries d'une culture de *Pseudomonas* sp. souche B 13. Veuillez comparer l'image microscopique en contraste de phase (gauche, noir sur gris) avec le même détail (droit) montrant les bactéries activées comme cellules claires sur fond noir.

tion moléculaire constituée du promoteur (voir glossaire) du gène de l'intégrase couplé au gène rapporteur de la «Green Fluorescent Protein» (GFP, voir glossaire). La présence de GFP dans la cellule révélerait donc une activation du promoteur du gène de l'intégrase et donc la mise en route du processus de transfert de l'élément *cIc*.

A notre grande surprise, seule une petite partie des cellules d'une culture de la souche B13 développa un signal fluorescent (Fig. 3), ce qui indique que le mécanisme de transfert n'a été activé que dans une petite partie de la population. Dans la plupart des cas, cependant, les cellules qui deviennent fluorescentes ne se trouvent plus dans une phase de croissance active (c.-à-d. dans des conditions de jeûne). Autre observation surprenante, quand les cellules avaient été cultivées en présence de 3-chlorobenzoate, le nombre de cellules fluorescentes en conditions de jeûne était plus élevé que chez les cellules cultivées avec d'autres sources de carbone. Ce résultat confirme notre observation initiale et montre de plus que le 3-chlorobenzoate stimule le transfert de l'élément *cIc* à un stade particulièrement précoce, c.-à-d. au niveau de l'activation de l'expression du gène de l'intégrase. On ignore cependant encore pourquoi le gène de l'intégrase est activé dans certaines bactéries et pas dans d'autres.

Vladimir Sentchilo a d'autre part réussi à identifier deux protéines qui semblent influencer l'expression du gène de l'intégrase et peuvent être en rapport avec des signaux cellulaires ou environnementaux. Curieusement, ces deux protéines sont codées par l'îlot génomique lui-même (Fig. 2A) et en consultant les bases de données, on s'aperçoit que de nombreuses autres bactéries synthétisent des protéines similaires. Pour mieux comprendre la fonction de l'îlot génomique de la souche B13 ainsi que ses rapports avec d'autres îlots génomiques sur le plan de l'évolution, nous avons maintenant décidé de déterminer la séquence complète de l'ADN de ces bactéries. Ce travail est réalisé en collaboration avec l'Institut Pasteur de Paris et l'Institut de Recherche sur le Génome (IfG) de l'Université de Bielefeld en Allemagne. Nous espérons que ces connaissances nous permettront de comprendre les mécanismes de régulation du transfert de l'élément de la souche B13 ainsi que d'autres îlots génomiques.

Implications plus ou moins désirables

S'il s'avère que certains polluants tels que le 3-chlorobenzoate stimulent réellement le transfert de gène, il faut s'attendre à observer des effets sur les taux de dissémination de certaines fonctions génétiques au sein des communautés bactériennes. Du point

de vue de la dégradation des polluants, il serait plutôt bénéfique de voir les gènes responsables de leur dégradation plus largement répandus, leur biodégradation s'en trouvant accélérée. Par contre, une dissémination plus rapide de propriétés pathogènes permettant aux bactéries d'infecter des hôtes eucaryotes ne constitue pas une perspective très réjouissante. Il semble que même les génomes des organismes considérés comme étant les plus petits du monde vivant comportent des entités encore plus petites, les îlots génomiques, qui semblent avoir leur propre mode de vie.



Jan Roelof van der Meer est microbiologiste et dirige le groupe «Microbiologie moléculaire» à la division «Microbiologie de l'environnement et écotoxicologie moléculaire» de l'EAWAG. Domaines de recherche: Evolution, dégradation des polluants, développement de biosenseurs et écologie microbienne.

Coauteurs: Vladimir Sentchilo, Muriel Gaillard

- [1] Ravatn R., Zehnder A.J.B., van der Meer J.R. (1998): Low-frequency horizontal transfer of an element containing the chlorocatechol degradation genes from *Pseudomonas* sp. strain B13 to *Pseudomonas putida* F1 and to indigenous bacteria in laboratory-scale activated-sludge microcosms. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 2126–2132.
- [2] Ravatn R., Studer S., Springael D., Zehnder A.J.B., van der Meer J.R. (1998): Chromosomal integration, tandem amplification, and deamplification in *Pseudomonas putida* F1 of a 105-kilobase genetic element containing the chlorocatechol degradative genes from *Pseudomonas* sp. strain B13. *Journal of Bacteriology* 180, 4360–4369.
- [3] van der Meer J.R., Ravatn R., Sentchilo V. (2001): The *cIc* element of *Pseudomonas* sp. strain B13 and other mobile degradative elements employing phage-like integrases. *Archives of Microbiology* 175, 79–85.
- [4] Hacker J., Carniel E. (2001): Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity: A Darwinian view of the evolution of microbes. *EMBO Reports* 2, 376–381.