

Virulome & séquences d'insertion

Laurent Mereghetti

UMR1282 INRA – *Equipe Bactéries et Risque Materno-Fœtal*
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène – CHRU Tours



Génomés, éléments génétiques mobiles & séquences d'insertion

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

● Génome bactérien

- grande variabilité de taille des génomes bactériens

- *Carsonella ruddii* : 160 kb (0,16 Mb)
- *Sorangium cellulosum* : 13 Mb
- majorité : 2 à 5 Mb

- *Streptococcus pyogenes* : 1,8 Mb
- *Haemophilus influenzae* : 1,9 Mb
- *Neisseria meningitidis* : 2,2 Mb
- *Staphylococcus aureus* : 2,8 Mb
- *Enterococcus faecalis* : 2,8 Mb
- *Mycobacterium tuberculosis* : 4,4 Mb
- *Escherichia coli* : 4,6 Mb
- *Pseudomonas aeruginosa* : 6,2 Mb

- génome = « core genome » + « dispensable genome »
= mosaïque de régions stables et instables
- instabilité correspond évolution adaptative de la bactérie
- implication des mutations, duplications, inversions, recombinaisons, délétions, insertions, transpositions...

● Éléments génétiques mobiles

- décrits par Barbara McClintock en 1950 (Nobel 1983)
- classification évolutive
- actuellement :
 - séquences d'insertion (IS)
 - transposons composites
 - transposons non composites
 - transposons conjugatifs
 - intégrons
 - phages tempérés
- ou plus simplement :
 - transmission inter-cellulaire (phages ou plasmides)
 - transmission intra-cellulaire (via les éléments du 1^{er} groupe)

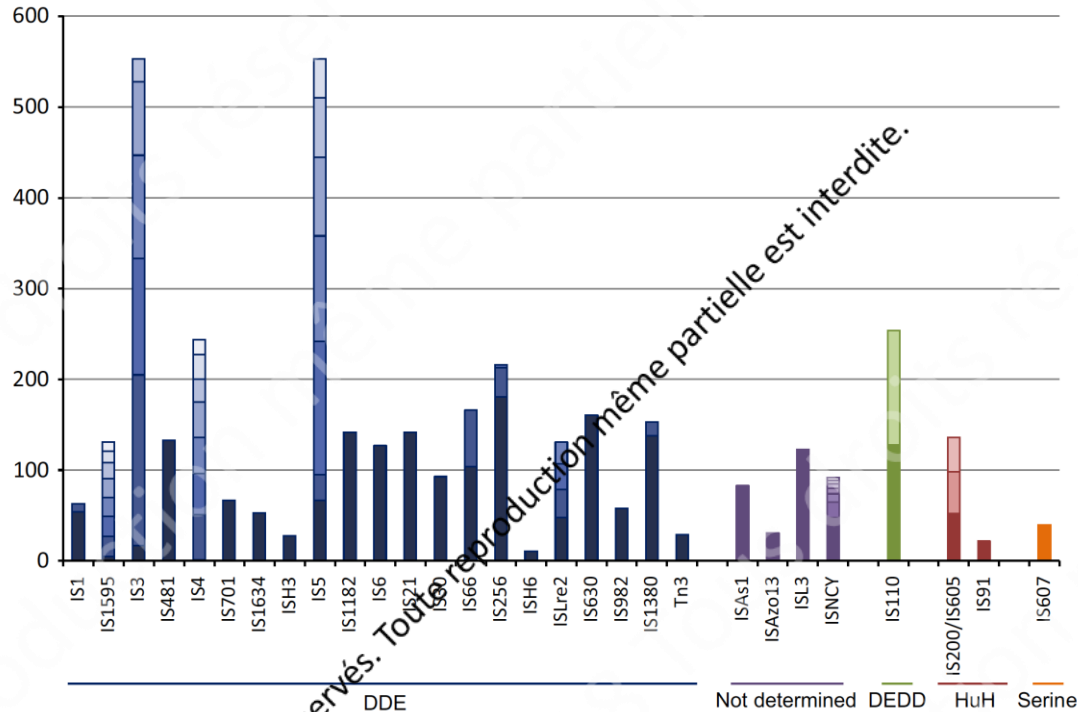
● Caractéristiques des séquences d'insertion

- séquences d'ADN de petite taille (0,7 à 2,5 kb)
- gène transposase + séquences inversées répétées (IR)
- code fonction impliquée dans sa propre mobilité
- élément frustré
- élément transposable le plus simple



● Classification des séquences d'insertion

- > 4500 séquences d'insertion
- trentaine de familles (séquence site d'insertion de la transposase)



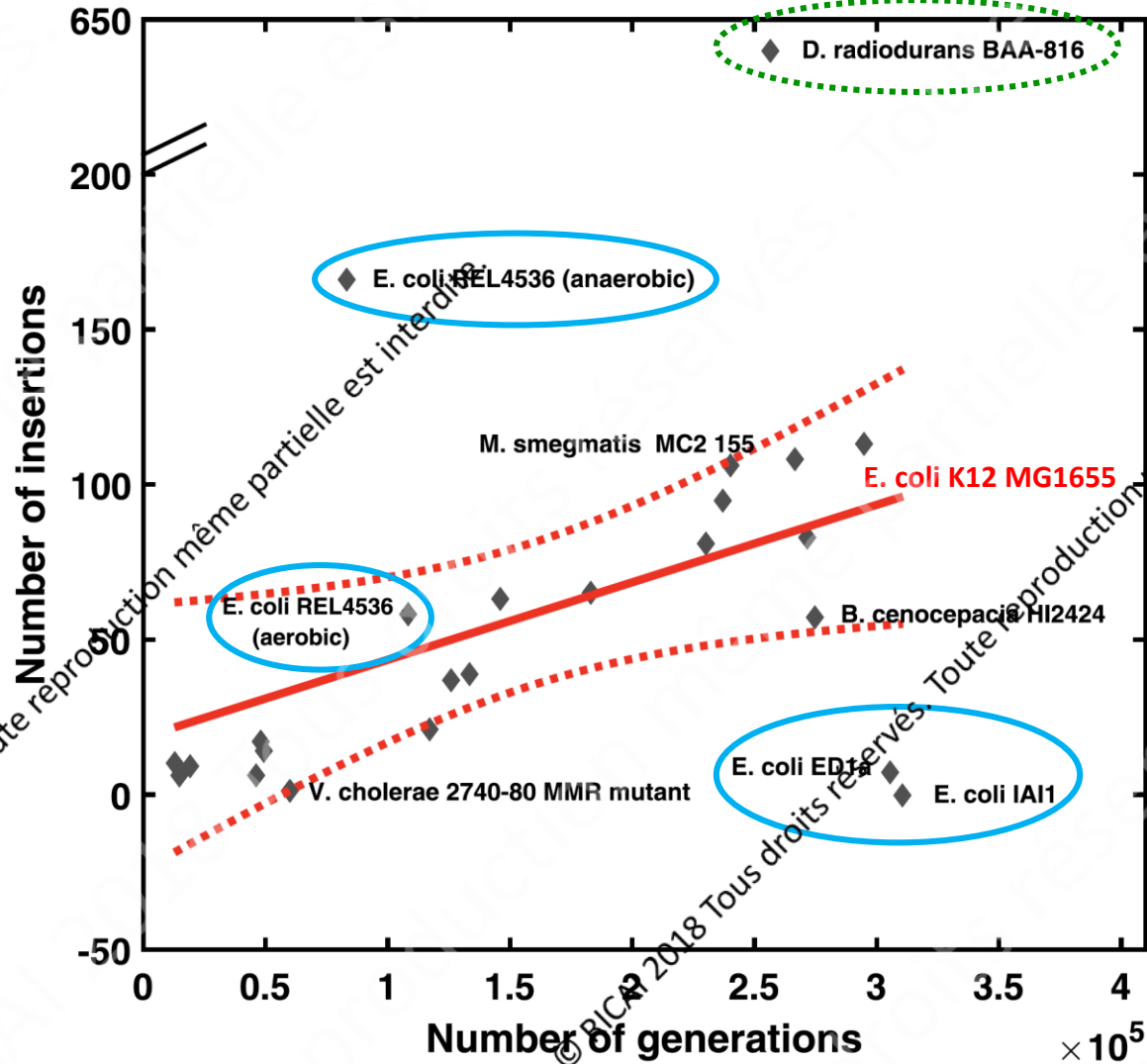
- nomenclature : IS 1548 → ISBce1
- cible large (zones riches AT ou CG) ou plus grande spécificité de site

(Singer et al, FEMS Microbiol Lett 2014)

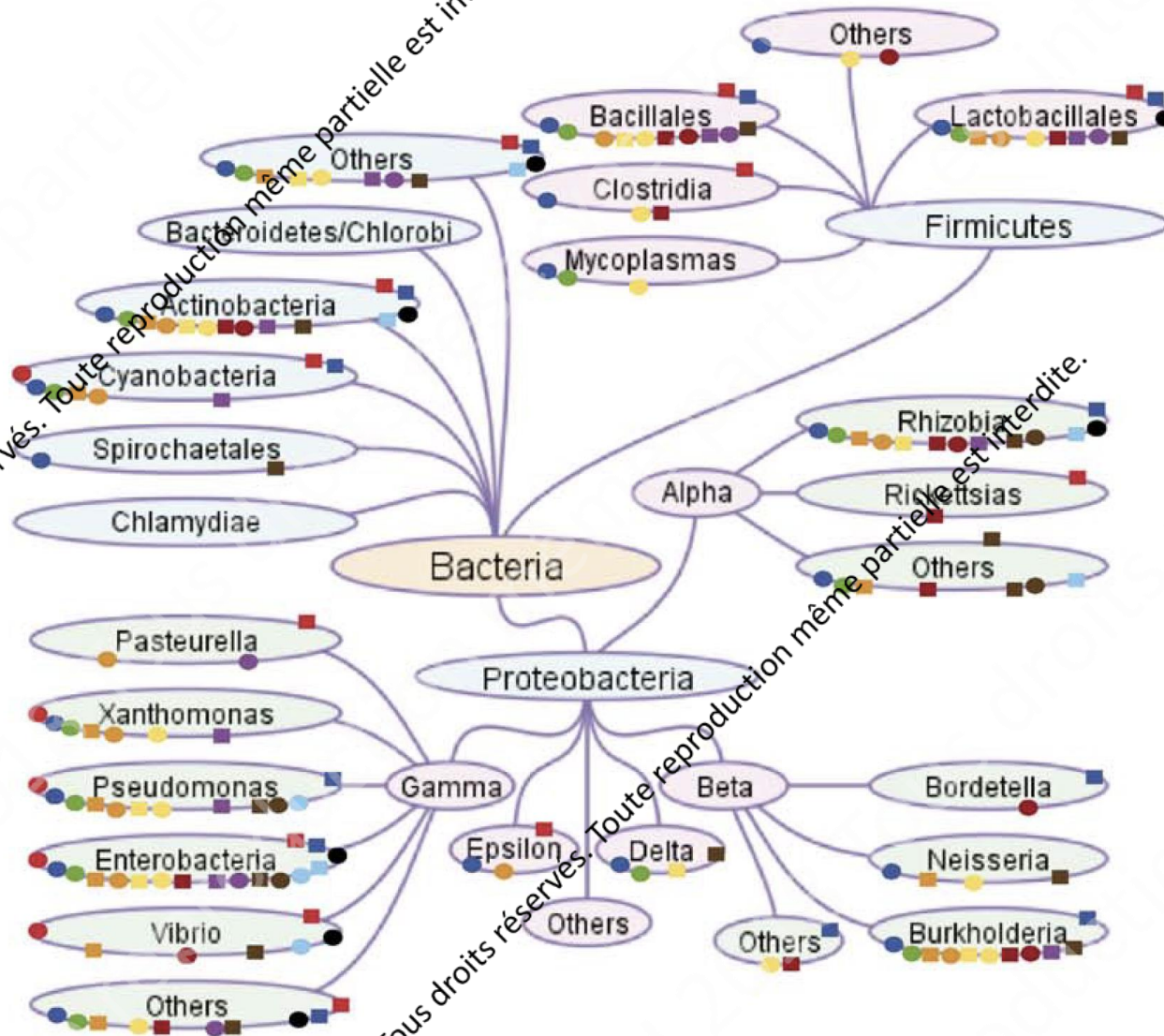
● Variabilité du taux d'insertion des IS

Variabilité dépend :

- familles IS
- nutriments
- température
- stress
- rayonnement UV
- champ magnétique
- espèces bactériennes
- souches



Distribution des séquences d'insertion au sein des Eubacteria



- © RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.
- IS4
 - IS3
 - IS6
 - IS30
 - IS481
 - IS982
 - IS66
 - IS91
 - IS1
 - ISAs1
 - ISL3
 - IS5
 - IS21
 - IS256
 - IS630
 - IS110
 - IS1380
 - IS200/IS605/IS607

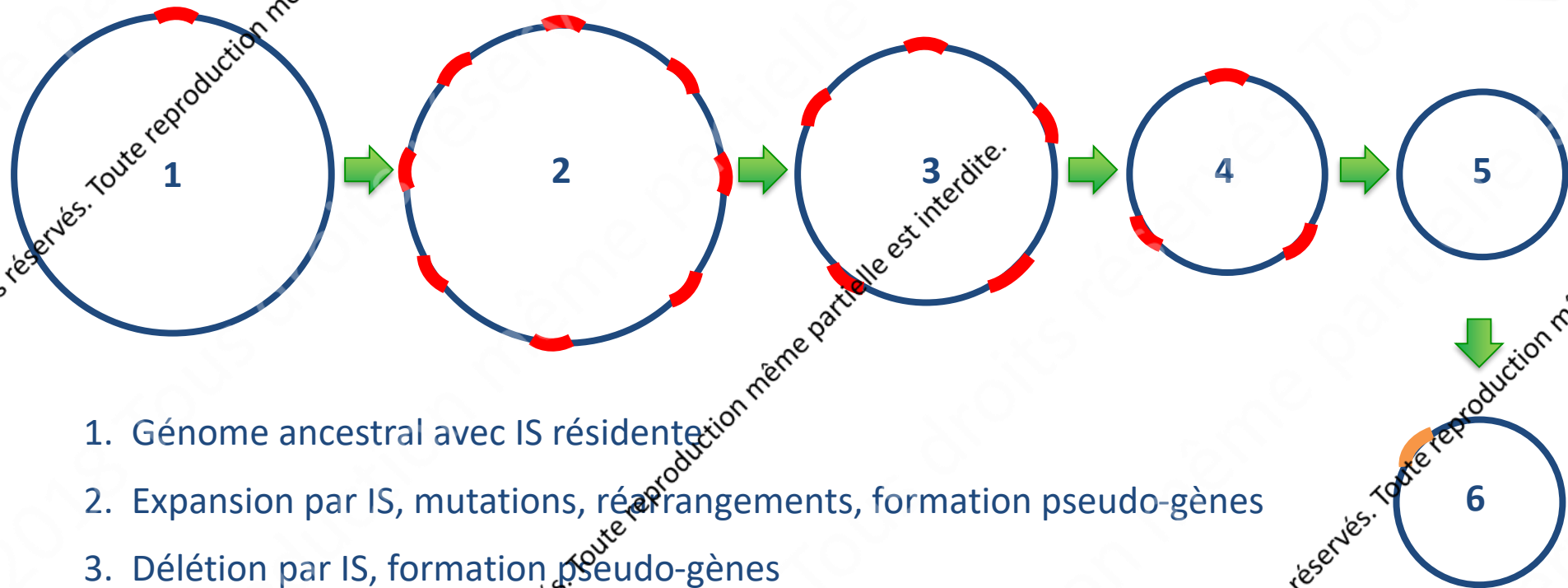
Siguier et al, Curr Opin Microbiol 2006)

● Impact de l'insertion des IS

- IS s'insère dans un gène fonctionnel
 - arrêt de la transcription
- IS s'insère dans un gène régulateur
 - si répresseur => surexpression des gènes régulés
 - si activateur => diminution expression des gènes régulés
- IS s'insère dans une région non codante mais :
 - apporte promoteur inclut dans IS
 - créé promoteur par apport de séquence en région -35
 - créé promoteur hybride

Séquences d'insertion & évolution des génomes

Schéma de l'expansion et la réduction des génomes médiées par les IS



1. Génome ancestral avec IS résidente
2. Expansion par IS, mutations, réarrangements, formation pseudo-gènes
3. Délétion par IS, formation pseudo-gènes
4. Elimination des IS
5. Epuration du génome
6. « Ré-infection » par nouvelle IS

(d'après Siguier et al, FEMS Microbiol Lett 2014)

Caractéristiques des génomes de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. bronchiseptica*

	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. bronchiseptica</i>
Size (bp)	4,086,186	4,773,551	5,338,400
G+C content (%)	67.72	68.10	68.07
Coding sequences	3,816	4,404	5,007
Pseudogenes	358 (9.4%)	220 (5.0%)	18 (0.4%)
Coding density (intact genes)	82.9%	86.6%	91.4%
Coding density (all genes)	91.6%	92.2%	92.0%
Average gene size (bp)	978	987	978
rRNA operons		3	3
tRNA	51	53	55
IS481	238	0	0
IS1001	0	22	0
IS1002	6	90	0
IS1663	17	0	0

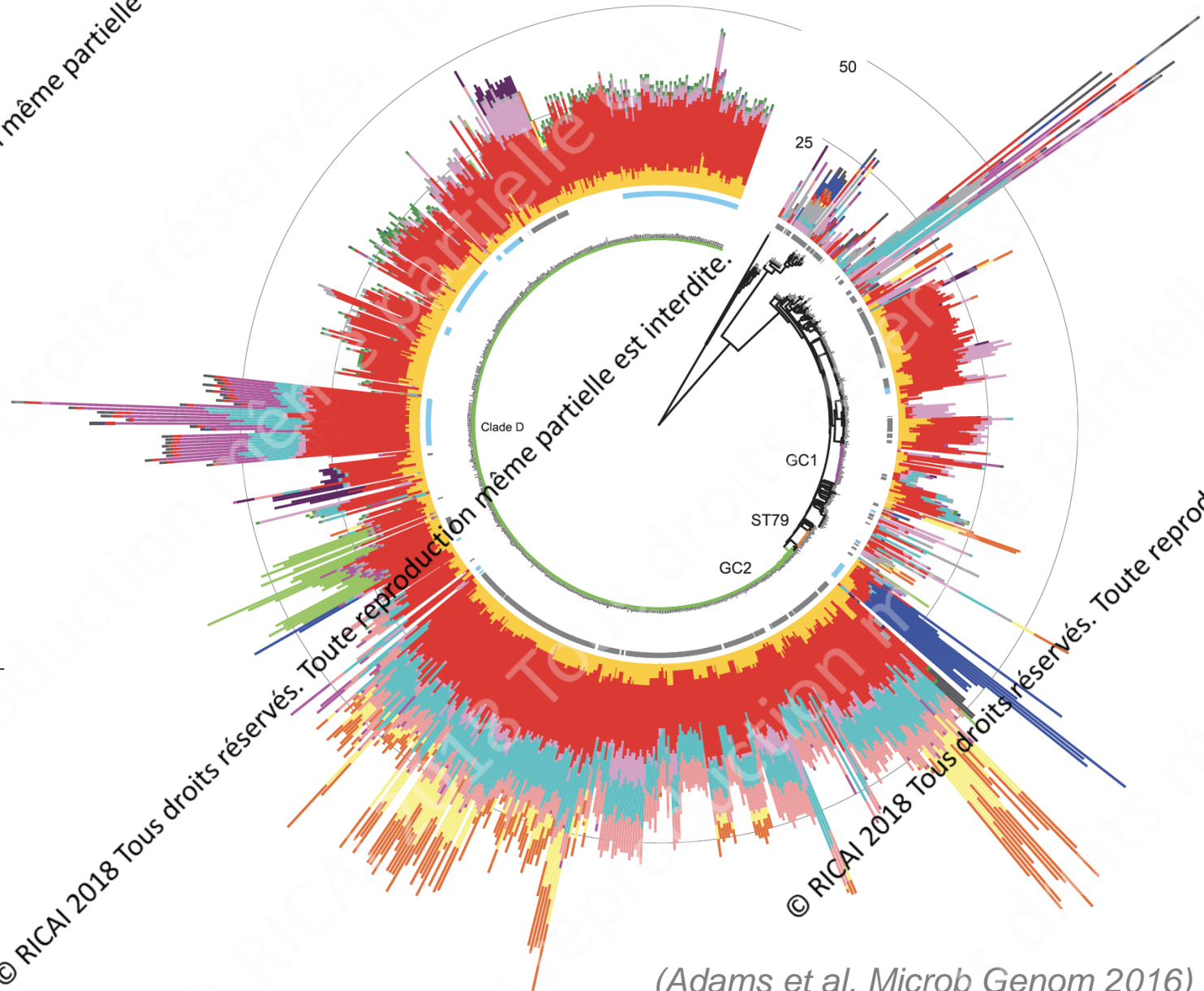
Distribution des copies d'IS de *A. baumannii* en fonction du contexte phylogénétique

A. baumannii

- IS26
- ISAbal
- ISAbal5
- ISAbal3
- ISAbal6
- ISAbal7
- ISAbal0
- ISAbal2
- ISAbal6
- ISAbal9
- ISAbal4
- ISAbal5
- ISAbal7
- ISAbal9
- ISAbal36

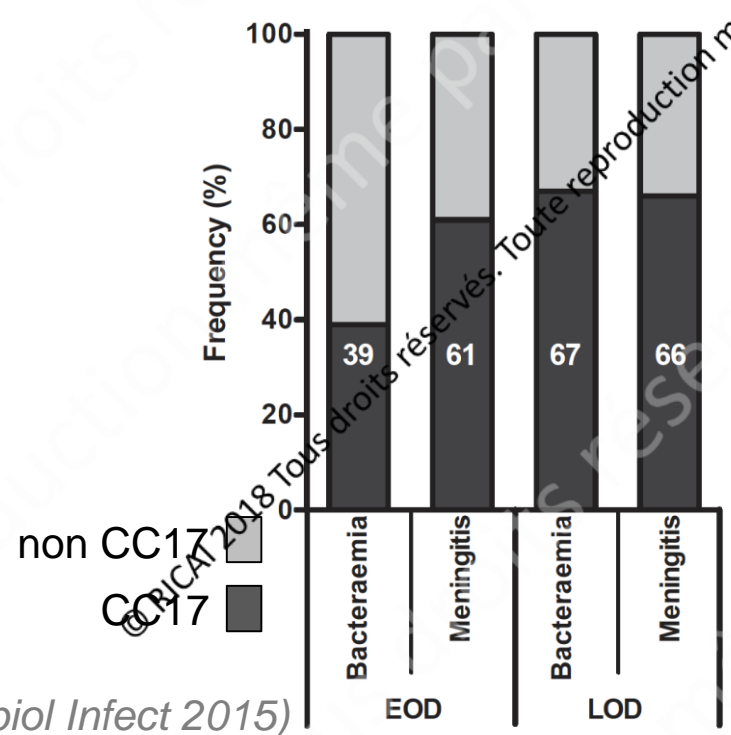
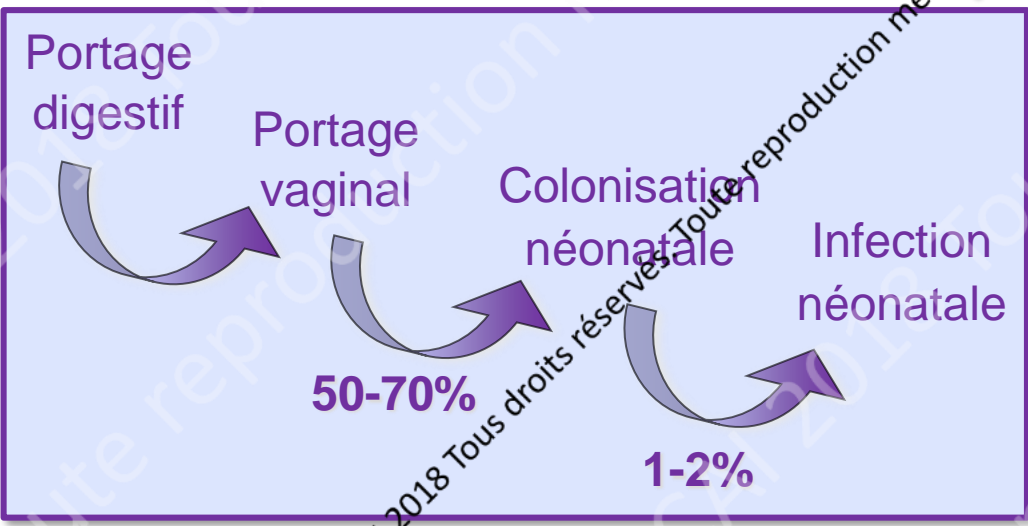
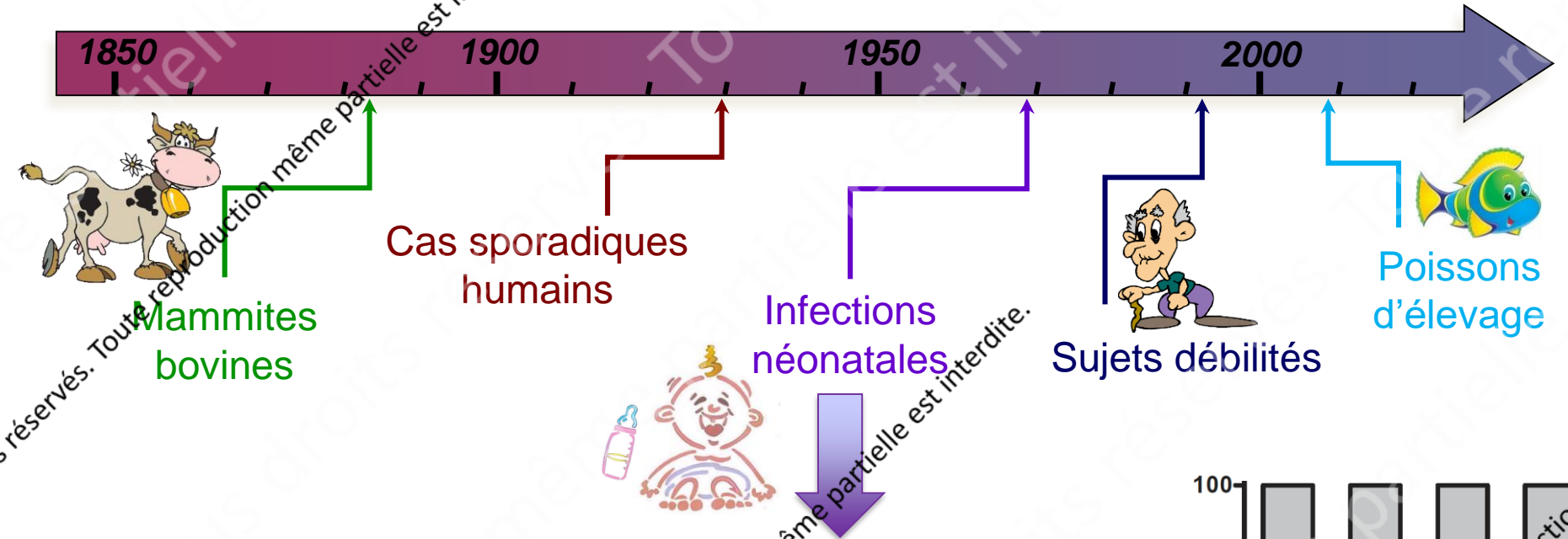
Location

- Maryland
- Ohio

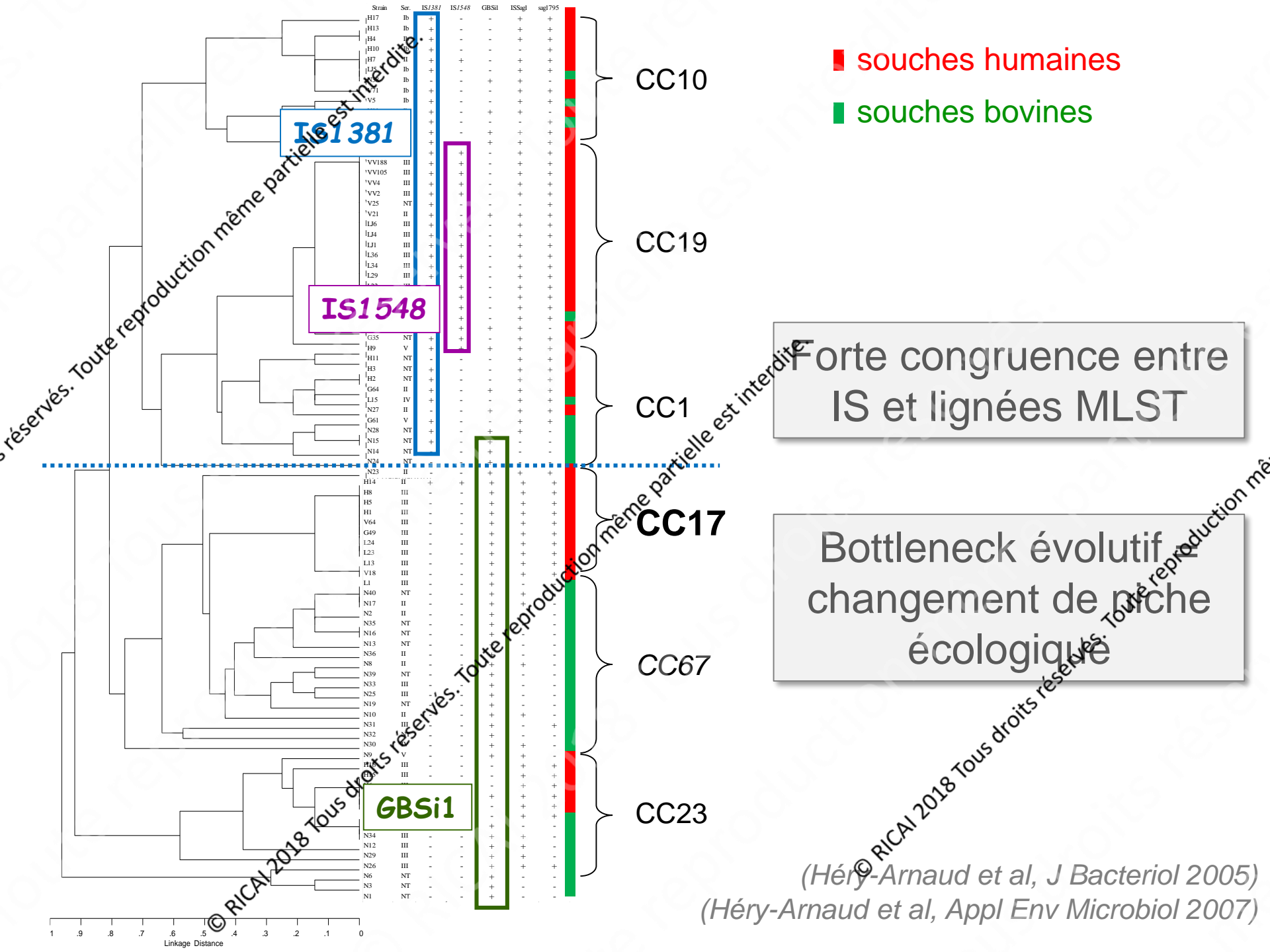


(Adams et al, Microb Genom 2016)

Epidémiologie des infections à *S. agalactiae*



(Joubrel et al, Clin Microbiol Infect 2015)



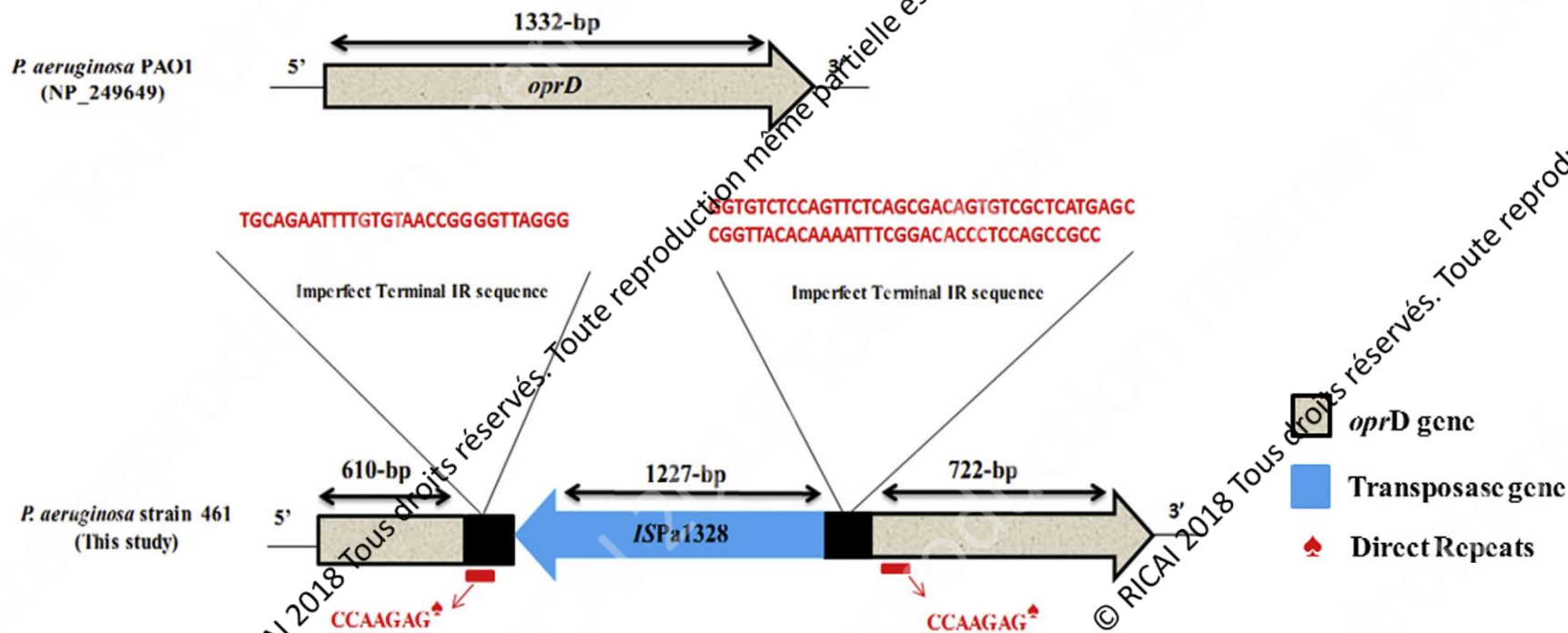
Séquences d'insertion & impact sur la résistance et la virulence

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

● Impact sur la résistance aux antibiotiques (1)

- résistance aux carbapénèmes par insertion IS dans gène *oprD* de *P. aeruginosa*
- ISPa8 (USA), ISPa26 (Afrique Sud), ISPa46 (France), ISPa133 (Espagne), ISPa1328 (Chine et USA)...
- 1^{ère} description en France insertion ISPa1328



● Impact sur la résistance aux antibiotiques (2)

- résistance aux bêta-lactamines chez *P. aeruginosa*
- insertion IS21 dans gène *mexR*

=> dérégulation opéron *mexAB-oprM*

=> augmentation efflux

=> baisse de sensibilité pour ticarcilline et aztréonam



(Boutoille et al, FEMS Microbiol Lett 2004)

● Impact sur la résistance aux métaux

Résistance au zinc chez *Cupriavidus metallidurans*

=> concentrations croissantes de Zn^{2+}

=> augmentation fréquence de transposition

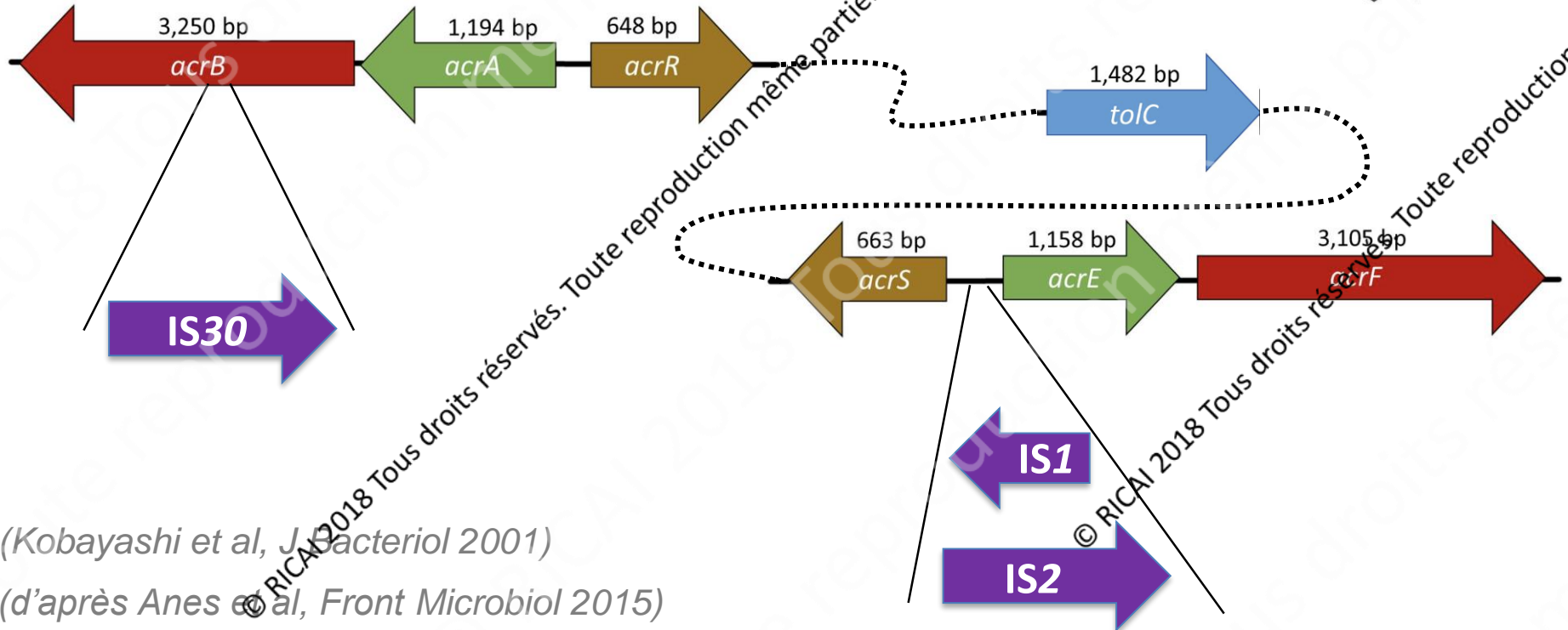
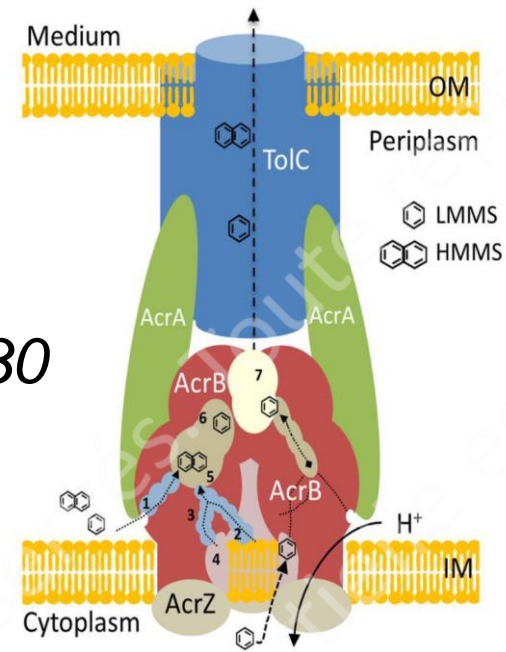
=> insertion IS dans locus de régulation *cnrYX*

=> dépression facteur sigma CnrH

=> induction du système d'efflux *cnrCBA*

● Impact sur la sensibilité aux solvants

- *E. coli* : 6 systèmes d'efflux type RND
- *E. coli* O157:H7 hypersensible aux solvants par inactivation *acrB* suite à insertion IS30
- Insertion IS1 ou IS2 en amont *acrEF* => suppression hypersensibilité



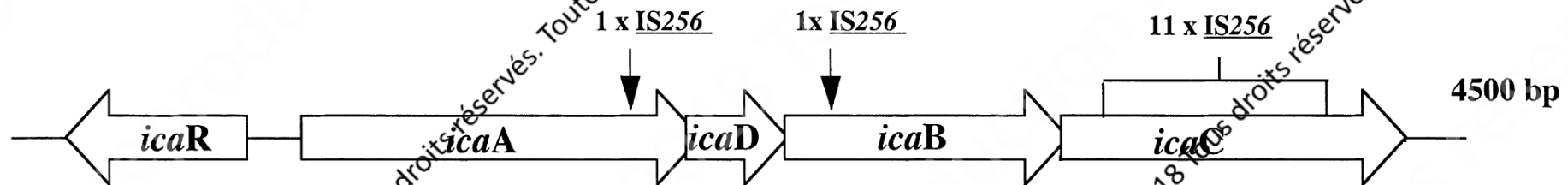
(Kobayashi et al, J Bacteriol 2001)

(d'après Anes et al, Front Microbiol 2015)

© RICAI 2018 Tous droits réservés

● Impact sur la virulence (1)

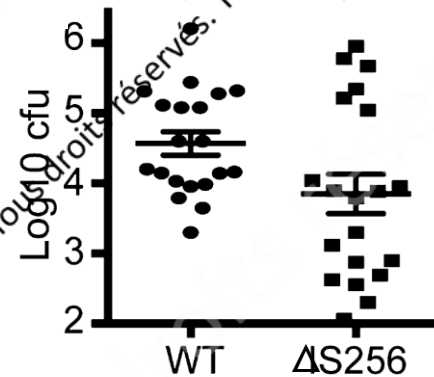
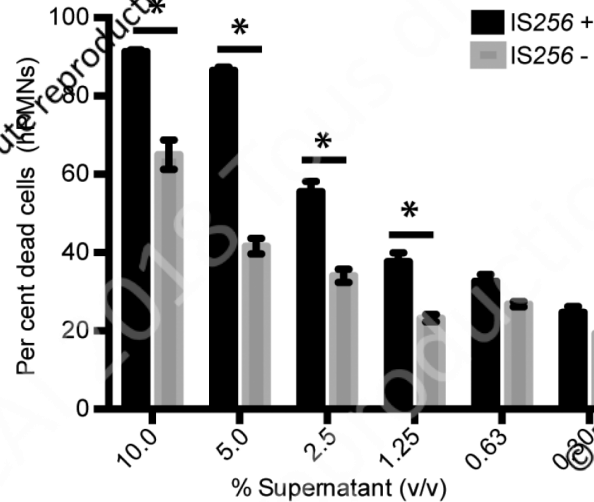
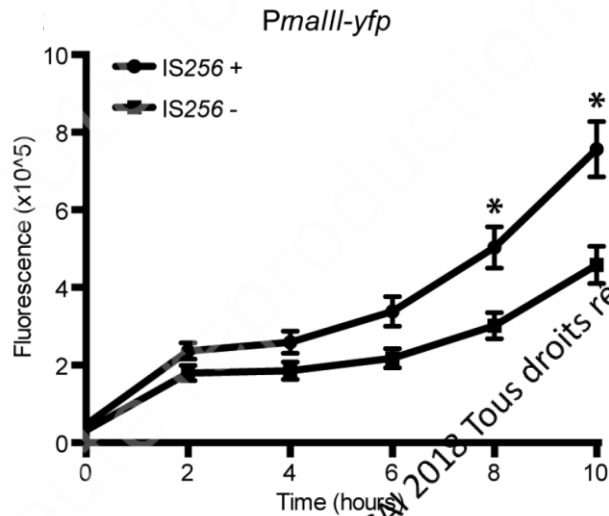
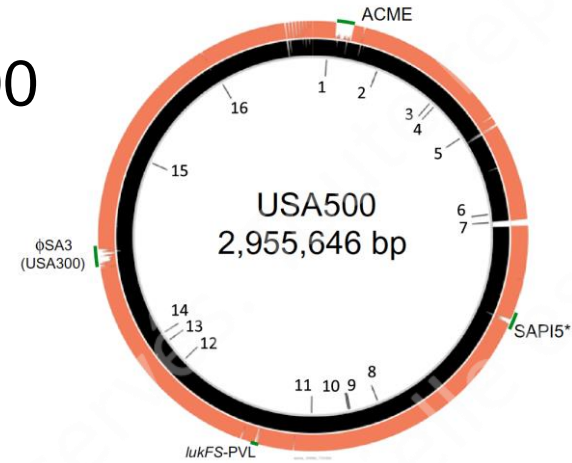
- modulation de la formation de biofilm chez *S. epidermidis*
- opéron *icaADBC* code adhésine PIA (polysaccharid intercellular adhesin)
- adhésine PIA impliquée dans formation biofilm
- insertion de IS256 dans *ica* abolit formation biofilm
- 1/3 des souches de *S. epidermidis* ne produisant pas de biofilm ont IS256 dans *ica*



(Ziebuhr et al, Mol Microbiol 1999)

● Impact sur la virulence (2)

- modulation de la virulence *S. aureus* USA500
- 18 copies d'IS256 (dont une dans promoteur de *rot*)
 - souches IS256+ : activation système *agr*
 - souches IS256+ : plus cytotoxiques
 - souches Δ IS256 : moins virulentes

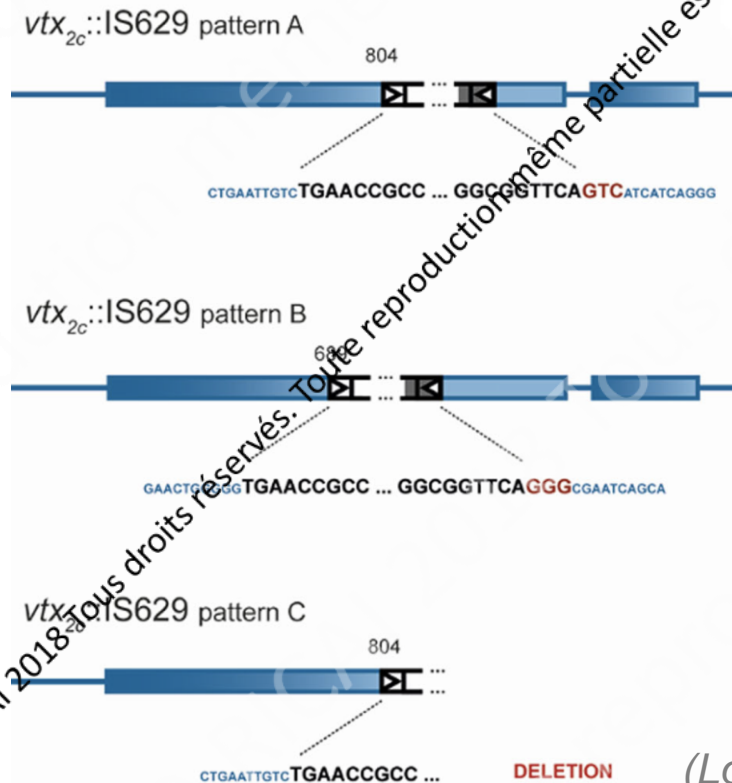


● Impact sur la virulence (3)

- Insertion IS629 dans gènes codant shigatoxines EHEC

- options dans gène *vtx2* :

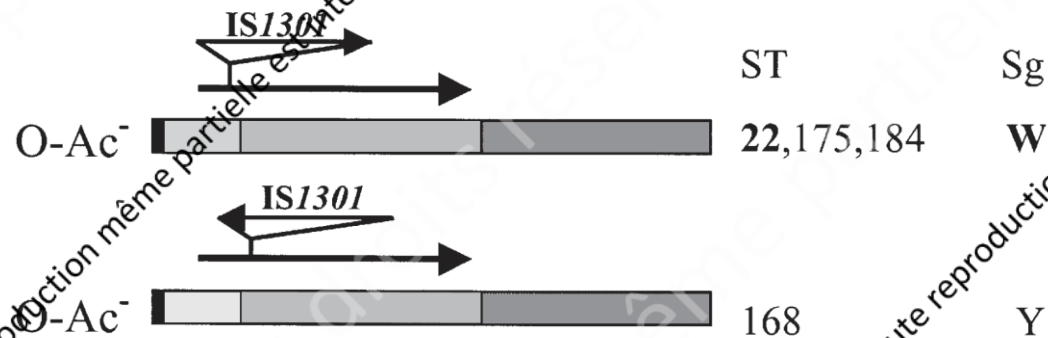
- insertion/inactivation => réversibilité => restauration virulence
- insertion/délétion => irréversibilité



(Loftsdottir et al, FEMS Microbiol Lett 2017)

● Impact sur la virulence (4)

- Chez *N. meningitidis*, insertion IS 1301 :
 - hyper-expression de la capsule
 - perte de sialylation du lipooligosaccharide
 - switch capsulaire



(d'après Claus et al, Mol Microbiol 2004)

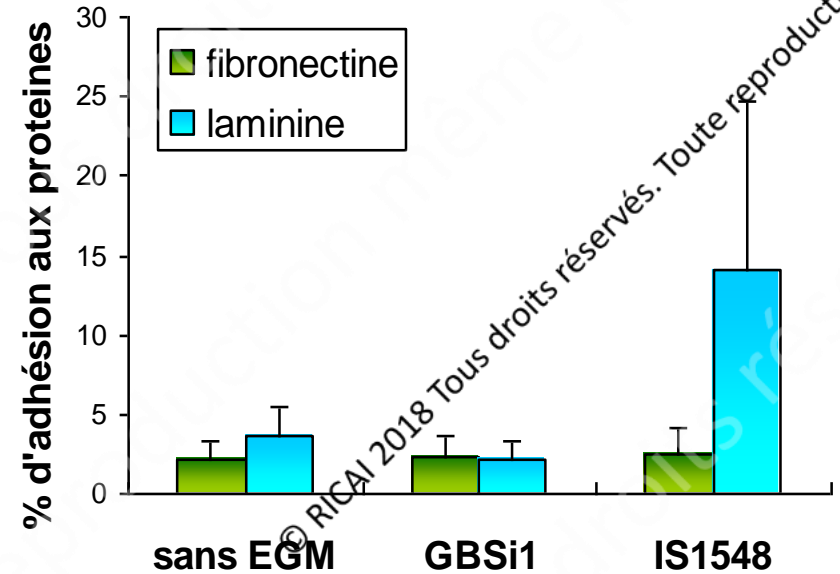
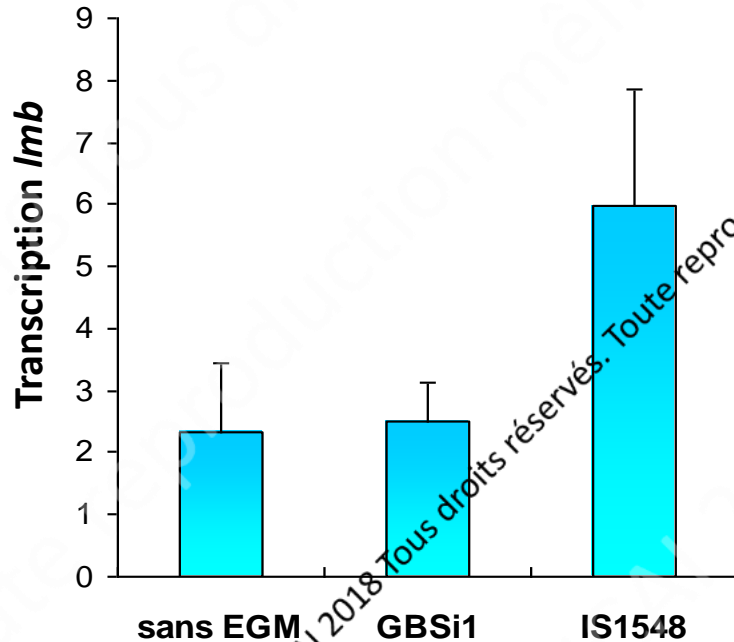
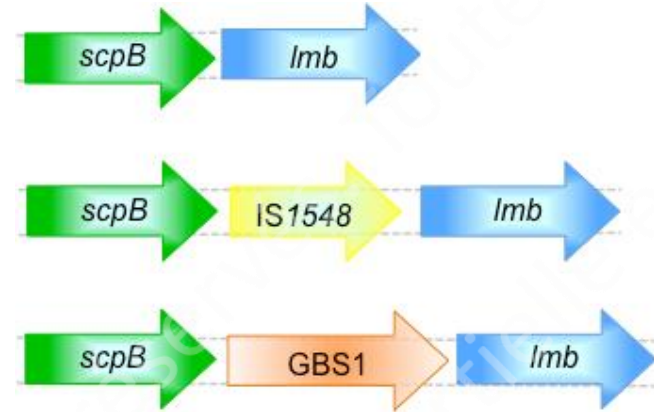
(Tzeng et al, Crit Rev Microbiol 2015)

- Chez *S. pneumoniae*, insertion IS 1515 dans gène *ply* abolit expression de la pneumolysine

(Garnier et al, J Clin Microbiol 2007)

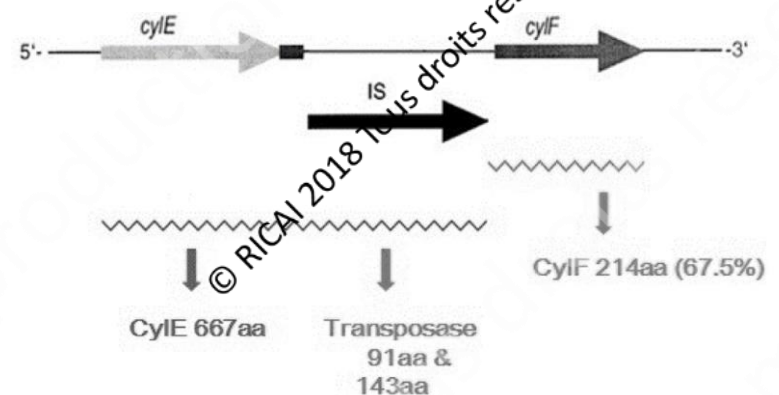
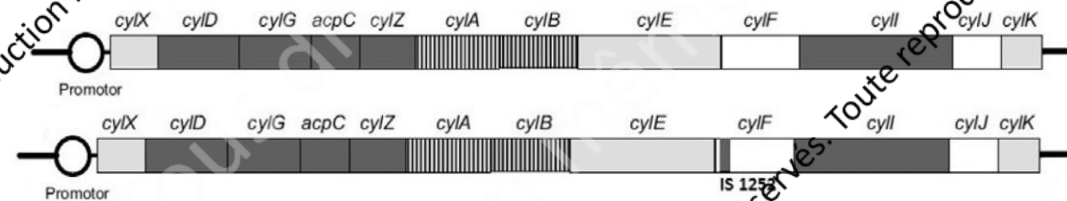
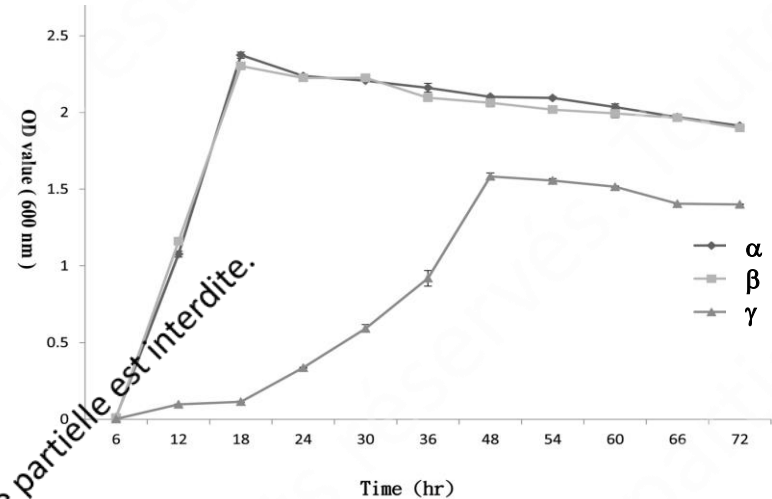
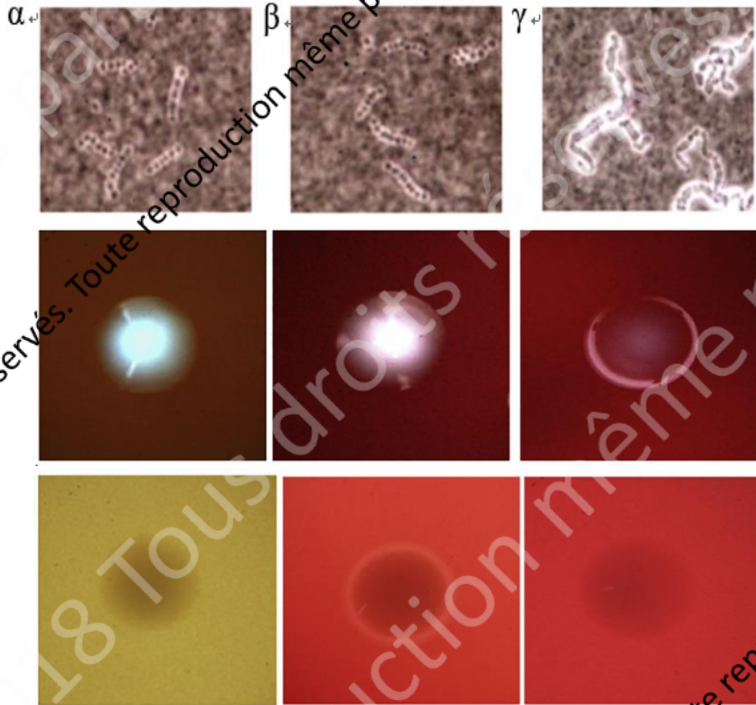
● Impact sur la virulence (5)

- Lmb = protéine de liaison à la laminine chez *S. agalactiae* (glycoprotéine membrane basale)
- seulement chez souches humaines
- impact variable selon EGM inséré



● Impact sur la virulence (6)

- Modification hémolyse et morphologie de *S. agalactiae*



- Insertion IS 1252 dans gène *cylF*
- Impact sur la virulence ?

(Chen et al, Infect Genet Evol 2019)

Remerciements

• Bactéries et Risque Materno-Fœtal – UMR1282 INRA – Université Tours

• Laboratoire de Bactériologie – CHU de Tours



• Signalisation, Portage et Virulence Bactérienne – INRA Nouzilly

• Pathogénie de la Colibacillose Aviaire – INRA Nouzilly



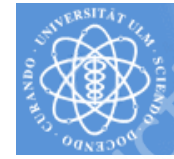
• Laboratoire Inflammation, Tissus Epithéliaux et Cytokines
Université Poitiers



• Biologie des Bactéries pathogènes à Gram positif – IP



• Institute of Medical Microbiology and Hygiene
Ulm University



• The Methodist Hospital Research Institute - Houston



© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.