

RICHARD Egill

Genome and Genetics Department, Bacterial Genome Plasticity Unit, Institut Pasteur, Paris.

Le Super-Intégron de *Vibrio cholerae* : caractéristiques d'un réservoir génétique.

Les intégrons sont des systèmes de recombinaison bactériens agissant comme une plateforme capable de capturer, stocker, exciser et réordonner des éléments mobiles appelés cassettes. Bien qu'ayant été initialement identifiés comme des éléments majeurs de l'émergence de la multi-résistance aux antibiotiques, il est désormais admis que ces structures présentes dans 9% des génomes actuellement séquencés jouent un rôle plus global dans l'évolution des bactéries. Les intégrons partagent tous la même organisation générale avec une plateforme stable et un réseau variable de cassettes. La plateforme stable de l'intégron contient i) le gène de l'intégrase (*intI*) sous le contrôle de son promoteur *P_{intI}*, ii) le site d'intégration *attI* et iii) le promoteur de la cassette *P_C* conduisant l'expression des gènes du réseau de cassettes situé en aval. La partie variable consiste en un réseau de cassettes, dont chacune est généralement composée d'un gène sans promoteur associé à un site de recombinaison appelé *attC*. Seules les premières cassettes (les plus proches du promoteur *P_C*) peuvent être exprimées, tandis que le reste représente une mémoire à faible coût de fonctions précieuses pour la cellule. Lors de l'expression de l'intégrase, les cassettes peuvent être excisées puis réintégrées au niveau du site d'intégration *attI* et donc être exprimées. La combinaison de l'excision et de l'intégration des cassettes, en d'autres termes leur brassage, permet aux bactéries de cribler l'ensemble des fonctions qui optimisent leur survie dans un environnement donné. L'expression de l'intégrase étant associée à divers stress, une bactérie portant un intégron peut donc cribler un ensemble de cassettes qui peuvent lui permettre d'y échapper. Pour cette raison, les intégrons sont parfois décrits comme des systèmes d'adaptation "à la demande".

Certains intégrons peuvent facilement stocker des dizaines de cassettes (jusqu'à 217 chez *V.vulnificus*), or nous ne savons pas comment des structures aussi massives et silencieuses peuvent être stabilisées dans les génomes bactériens. Nous proposons que leur orientation au sein des génomes puisse être un des facteurs de leur stabilité, et ce du fait d'une particularité de l'intégrase *IntI*. En effet, alors qu'elle reconnaît le site *attI* sous sa forme double brin, ce n'est pas le cas pour les sites *attC* qui sont reconnus par leur structure secondaire. Bien que les deux brins du site puissent former une hairpin, seul le brin inférieur est recombinogène. Nos récentes analyses *in silico* ont révélé que la plupart des intégrons (83%) ont une orientation spécifique par rapport à la réplication, de sorte que le brin recombinogène des sites *attC* dans le réseau de cassettes est porté par la matrice du brin précoce. Le brin inférieur des sites *attC* est moins accessible à l'intégrase sous forme simple brin lorsqu'il se trouve sur ce brin que s'il était situé sur la matrice du brin retardé, où la réplication discontinue laisse des espaces de simple brin qui pourraient faciliter le repliement. Ainsi dans l'orientation inverse, nous supposons que le taux d'excision des cassettes devrait être plus élevé, ce qui entraînerait une diminution du nombre de cassettes dans les intégrons. Dans ces conditions, il ne serait peut-être pas possible de réaliser des réseaux aussi grands et le rôle des intégrons en tant que réservoir génétique serait limité. Cependant, les preuves directes pour appuyer ce modèle font encore défaut.

Nous abordons ici les contraintes liées à l'orientation des intégrons en utilisant celui de *Vibrio cholerae*, appelé Super-Intégron (SI), que nous avons inversé. Nous montrons que le taux d'excision des cassettes est considérablement augmenté au sein du SI lors de son inversion alors que l'intégration ne semble pas affectée, altérant ainsi sa capacité génétique. Nous montrons également que l'inversion du SI est associée à un défaut de croissance. Ce défaut de croissance n'est pas dû à une déficience de la progression de la fourche de réplication mais plutôt à l'excision accrue des cassettes, notamment de systèmes Toxine-Antitoxine présents au nombre de 19 dans le SI. Nous soutenons que ces cassettes TA agissent comme des capteurs du taux d'excision empêchant toute condition où ce taux devient trop élevé pour soutenir le rôle de stockage du SI. Nos résultats suggèrent le rôle des cassettes TA dans la contrainte de l'orientation des intégrons afin d'optimiser sa capacité génétique.