

# Les éléments transposables bactériens

Christophe Merlin, Ariane Toussaint

## Société Française de Génétique

### Président

Jean Génomont, Université Paris XI, Orsay

### Président d'honneur

François Jacob, Institut Pasteur, Paris

### Vice-présidents

Alain Bernheim, Institut Gustave-Roussy, Villejuif

Claude Chevalet, INRA, Centre de Recherches de Toulouse

### Membres du bureau

David Bouchez, INRA, Versailles

Gabrielle Gendrel, Institut Curie, Paris

Lionel Larue, Institut Curie, Orsay

Marc Lipinski, Institut Gustave-Roussy, Villejuif

Gérard Loison, Sanofi-Labège

Micheline Misrahi-Abadou, INSERM, Paris

Michel Solignac, CNRS, Gif-sur-Yvette

### Secrétaire général

Michel Werner, CEA Saclay, Gif-sur-Yvette

### Trésorière

Cécile Fairhead, Institut Pasteur, Paris

*Prière d'adresser toute correspondance concernant le Bulletin de la Société Française de Génétique à Michel Solignac, CNRS, bâtiment 13, avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France.*

### Comité de rédaction

A. Bernheim

M. Bolotin-Fukuhara

M. Fellous

J. Génomont

M.C. Hors-Cayla

R. Motta

A. Nicolas

M. Solignac

S. Sommer

P. Thuriaux

D. de Vienne

### Secrétaire

M.-L. Prunier

A la suite de ses travaux sur l'instabilité génétique chez le maïs, Barbara McClintock proposa, dès le début des années 1950, le concept d'éléments génétiques mobiles. Cette notion était alors totalement en marge des idées dominantes sur la structure des chromosomes. La pertinence de ce concept ne fut reconnue que dans les années 1960, à la suite, entre autres, de la découverte de séquences d'ADN mobiles chez les bactéries. Trois familles d'éléments transposables (c'est-à-dire capables d'être transférés d'un site donneur vers un site cible sous l'effet d'une enzyme de recombinaison spécialisée, ou recombinase) furent alors identifiées [1] : les IS (*insertion sequence*), les transposons et les phages mutateurs. Les transposons furent mis en évidence grâce aux déterminants de résistance aux antibiotiques qu'ils véhiculent entre plasmides et chromosomes. Les IS, plus courtes et sans déterminant phénotypique, ne codent que pour leur fonction de transposition. Elles furent identifiées au travers des effets polaires qu'elles provoquent en s'insérant dans un opéron bactérien, aboutissant à une perte totale de l'expression des gènes localisés en aval dans l'opéron [2]. Le bactériophage Mu était le seul représentant de la troisième catégorie. Dès l'abord, Taylor [3] remarqua l'analogie entre les propriétés mutatrices de ce phage et les éléments mobiles du maïs. Il fallut attendre 1983 pour que les travaux de McClintock soient reconnus par l'attribution d'un prix Nobel.

Au cours des 30 dernières années, le nombre d'éléments transposables

bactériens et eucaryotes identifiés n'a cessé de croître, révélant la grande diversité de leur structure et une remarquable conservation des mécanismes qui assurent leur mobilité ([4-6] pour les éléments bactériens). Notre vision de la dynamique du génome bactérien a été transformée par la compréhension de ces mécanismes. Nous apprécions maintenant la valeur adaptative que ces éléments procurent aux génomes bactériens en leur permettant, entre autres, de faire face à un environnement en constante évolution [7, 8]. Cela vaut même pour une période historique courte : au cours des 50 dernières années, l'homme a rejeté, dans son environnement, diverses substances toxiques comme les métaux lourds, les antibiotiques, les pesticides et autres substances organiques de synthèse (xénobiotiques). Métaux lourds et antibiotiques ont soumis les communautés bactériennes à une forte pression de sélection pour l'acquisition de gènes de résistance [9]. Les pesticides et autres xénobiotiques, souvent toxiques et faiblement biodégradables [10], ont également sélectionné des microorganismes capables de les détoxifier et même de les utiliser comme source d'énergie [7, 8].

Les informations génétiques responsables de la résistance aux antibiotiques ou de la dégradation des xénobiotiques sont très souvent portées par des éléments génétiques mobiles tels que plasmides conjugatifs ou transposons (certains transposons étant conjugatifs par eux-mêmes) ou parfois les deux. Cela assure la dispersion rapide d'information géné-

tique au sein des communautés bactériennes [7].

### Structure et diversité des transposons procaryotes

Malgré leur diversité, les éléments transposables présentent des caractéristiques communes qui ont permis de les regrouper selon des critères structuraux ou fonctionnels. Ces classifications ne cessent d'évoluer alors que de nouvelles données apparaissent dans la littérature. Nous en donnerons quelques aperçus tout en gardant à l'esprit qu'ils pourraient être remis en cause dans le futur (*figure 1*). Les transposons ont été regroupés en trois classes structurales (classe I, II et phages mutateurs). Plus récemment, de nouveaux groupes comme les intégrons ou les transposons conjugatifs ont été découverts. Par ailleurs, la caractérisation plus détaillée des éléments qui appartenaient aux classes I et II a amené à modifier quelque peu la définition de ces deux classes. La classe I comportait tous les IS et les transposons formés de deux séquences IS flanquant un segment d'ADN codant pour les fonctions phénotypiques du transposon (*voir figure 1*). La classe II comportait les transposons ne contenant pas d'IS. Les séquences d'un très grand nombre d'IS et de transposons étant actuellement accessibles, la tendance est maintenant de classer tous ces éléments en fonction des similitudes de séquence des enzymes et des séquences d'ADN impliquées dans la transposition [6].

#### Séquences d'insertion (IS)

Les IS sont les éléments transposables les plus simples. Elles ne contiennent que les informations génétiques nécessaires à leur transposition et sont donc considérées comme phénotypiquement cryptiques. De petite taille (généralement inférieure à 2500 pb), elles sont le plus souvent bordées par des séquences IR (inversement répétées) de 20 à 40 pb qui sont reconnues par la machinerie de transposition. Plus de 500 IS ont été identifiées dans 73 genres incluant 159 espèces

d'eubactéries et d'archaeobactéries [6]. Elles ont été détectées sur tous les chromosomes procaryotes partiellement ou complètement séquencés et sur de nombreux plasmides et bactériophages. Seul le chromosome séquencé de *Bacillus subtilis* n'a révélé aucune IS [11], sans qu'on sache s'il s'agit d'un cas particulier inhérent à la souche utilisée ou d'une caractéristique générale de l'espèce.

Sur la base de données fonctionnelles plutôt que structurales, les IS qui appartenaient à la classe I ont récemment été cataloguées en 17 familles [6]. Les membres de douze d'entre elles contiennent un seul cadre ouvert de lecture qui code pour la transposase, l'enzyme qui catalyse la transposition. A partir de ce même cadre ouvert de lecture, les IS de certaines familles codent pour une seconde protéine, version tronquée de la transposase, qui agit comme régulateur de la transposition. Pour les membres de la famille IS3, la synthèse de la transposase (OrfAB) résulte d'un déphasage programmé de la traduction entre deux cadres ouverts de lecture qui codent pour une protéine régulatrice de la transposition (OrfA) et une protéine de fonction inconnue (OrfB). Enfin, les IS101 et IS1071 forment une 18<sup>e</sup> famille [12] se distinguant des précédentes par les similitudes qu'elles partagent avec les transposons non composites.

#### Transposons composites

Deux IS suffisamment proches l'une de l'autre peuvent agir de concert et mobiliser le segment d'ADN qu'elles encadrent. Ces structures sont appelées transposons composites. 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 codant souvent pour un régulateur de la transposition. C'est le cas chez Tn5 et Tn10 [5]. 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

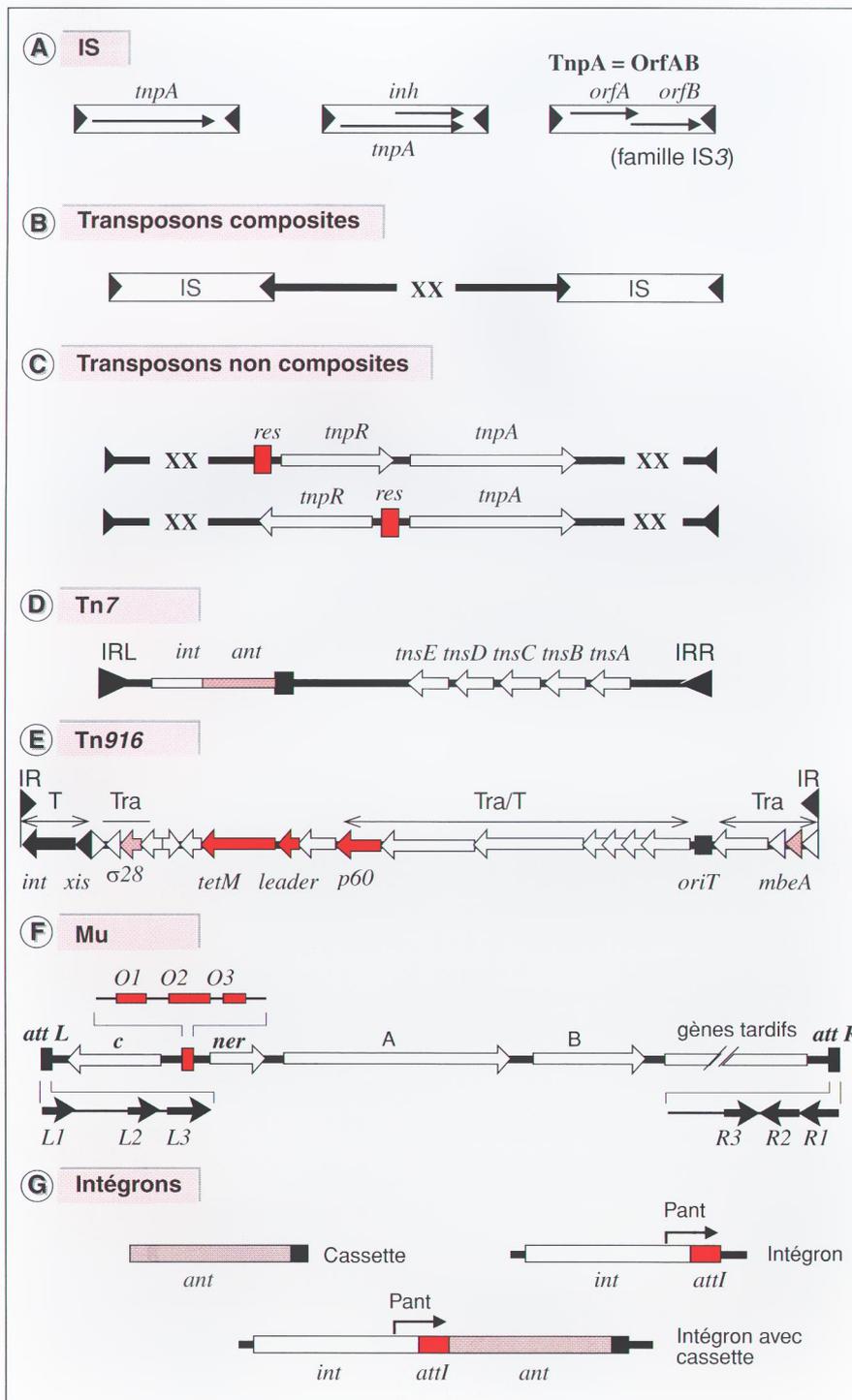
Tn9), ou de gènes cataboliques comme chez Tn3411 (catabolisme du citrate) ou Tn5280 (catabolisme du trichlorobenzène). Notons finalement, qu'un même couple d'IS peut border des segments d'ADN d'origine différente, formant différents transposons composites. C'est le cas de IS1071 qui se retrouve sur différents transposons cataboliques [13] ou de IS1 dont deux copies flanquent un gène de résistance au chloramphénicol dans Tn9 et celui d'une entérotoxine dans Tn1681.

#### 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 [14] et par leurs séquences terminales de 35 à 48 pb, répétées en orientation inverse et reconnues par la transposase. Ces transposons ont des tailles variables (jusqu'à 70 kb dans le cas de Tn4651). Ils contiennent des informations génétiques essentielles à la transposition et des informations dites « auxiliaires » qui peuvent être des gènes cataboliques (Tn4651) ou des gènes de résistance aux antibiotiques (Tn3, Tn1721). Comme nous le verrons plus loin, ils utilisent pour la plupart un mode réplcatif de transposition engendrant des co-intégrats. La plupart de ces éléments codent pour une transposase (TnpA) et une résolvasse (TnpR). Cette seconde recombinase catalyse une recombinaison spécifique du site entre deux copies de l'élément, ce qui résout les co-intégrats et achève la transposition.

Tn7 appartient à une famille de transposons non composites qui se démarque par la nature de son système de transposition. Il fait intervenir les produits de 5 gènes (*tmsA, B, C, D, E*). La transposase peut se composer des protéines TnsA, B, C et E. Elle dirige alors la transposition de l'élément vers des sites d'insertion aléatoires. Lorsqu'elle se compose des protéines TnsA, B, C et D, elle catalyse la transposition en un site unique, *attTn7*, localisé près de l'origine de réplcation de la bactérie hôte [5].

Outre le nombre plus élevé de protéines impliquées dans la transposi-



**Figure 1. Structure des éléments transposables.** **A. Séquences IS.** Les triangles noirs représentent les séquences terminales en répétition inverse (IR). Les IS existent sous une forme simple portant uniquement le gène de la transposase ( $tnpA$ ), ou sous une forme contenant un cadre de lecture qui code pour  $tnpA$  et pour  $inh$ , version tronquée de  $tnpA$  agissant comme inhibiteur de la transposition. Dans la famille IS3, la transposase ( $OrfAB$ ) résulte d'un déphasage programmé de la traduction entre deux cadres ouverts de lecture qui codent pour une protéine régulatrice de la transposition ( $OrfA$ ) et une protéine de fonction inconnue ( $OrfB$ ). **B. Transposons composites.** La séquence interne (notée XX) des transposons composites, contenant des gènes de résistance aux antibiotiques ou aux métaux lourds, ou des gènes cataboliques, est localisée entre deux IS. **C. Transposons non composites.**  $tnpA$  et  $tnpR$  codent respectivement pour la transposase et la résolvasse. Les boîtes rouges indiquent le site d'action de la résolvasse ( $res$ ) et les triangles aux extrémités, les IR, sites d'action de la transposase. On distingue deux types de structure selon la position relative de  $tnpA$  et  $tnpR$ . **D. Tn7.** Les flèches représentent les gènes de la transposase. IRL, IRR: séquences terminales en répétition inverse.  $int$ ,  $ant$ : gènes de l'intégron contenu dans ce transposon. **E. Tn916.** Ce transposon conjugatif porte 22 orfs, dont les gènes de l'intégrase et de l'excisionase  $int$  et  $xis$  (en noir), le gène  $tetM$  de résistance à la tétracycline et sa séquence  $leader$  (en rouge), trois orfs (en rose) présentant respectivement des similitudes avec un gène qui code pour une sous-unité  $\sigma_{28}$  de l'ARN-polymérase, une protéine de surface ( $p60$ ) et une protéine impliquée dans le transfert conjugatif ( $MbeA$ ). Les régions nécessaires à la translocation, la conjugaison ou les deux sont indiquées par:  $T$ ,  $Tra$ ,  $Tra/T$ ;  $oriT$ : origine de transfert. Chaque extrémité du transposon porte une IR. **F. Mu.** Représentation discontinue ne prenant en compte que les régions impliquées dans la transposition. A, B, c,  $ner$ : gènes codant pour la transposase ( $pA$ ), la protéine activatrice de la transposition. **G. Intégrons.** L'intégron, constitué d'un gène  $int$  (rectangle blanc) codant pour l'intégrase, d'un site d'action de l'intégrase ( $attI$ ) (rectangle rouge) et d'un promoteur ( $Pant$ ), est représenté séparé ou associé à une cassette (rectangle bistre). Celle-ci contient des gènes de résistance aux antibiotiques ( $ant$ ) et l'élément de 59 paires de base utilisé comme site de recombinaison pour l'intégration (carré noir).

posase ( $pB$ ) et les répresseurs  $Repc$  et  $ner$ .  $c$  et  $ner$  sont séparés par une région régulatrice contenant les opérateurs  $O1$ ,  $O2$  et  $O3$  (en rouge) qui, chez le prophage, sont liés au répresseur  $Repc$ .  $O1$  et  $O2$  constituent la séquence IAS, activatrice de la transposition. Les extrémités  $attL$  et  $attR$  du phage contiennent chacune 3 motifs similaires de 22 pb ( $L1$ ,  $L2$ ,  $L3$  et  $R1$ ,  $R2$ ,  $R3$ ) (flèches noires) reconnus par la transposase. **G. Intégrons.** L'intégron, constitué d'un gène  $int$  (rectangle blanc) codant pour l'intégrase, d'un site d'action de l'intégrase ( $attI$ ) (rectangle rouge) et d'un promoteur ( $Pant$ ), est représenté séparé ou associé à une cassette (rectangle bistre). Celle-ci contient des gènes de résistance aux antibiotiques ( $ant$ ) et l'élément de 59 paires de base utilisé comme site de recombinaison pour l'intégration (carré noir).



tion, les transposons de cette famille contiennent un intégron qui, comme nous le verrons plus loin, leur permet de piéger des informations génétiques auxiliaires, principalement des gènes de résistance aux antibiotiques [15, 16].

#### **Transposons conjugatifs**

Les transposons conjugatifs (TnC) sont des éléments chimériques qui cumulent les propriétés d'intégration des bactériophages et les propriétés de transfert des plasmides conjugatifs. Les TnC ont initialement été identifiés comme agents responsables de la dispersion des résistances aux antibiotiques chez les bactéries à Gram positif en milieu hospitalier [17]. Cependant, la description récente de nouveaux éléments de ce type, chez *Bacteroides* [18] et *Salmonella* [19], suggère qu'ils existent aussi chez les bactéries à Gram négatif.

Tn916, le TnC le mieux caractérisé, a largement contribué à notre compréhension de la structure et de la mobilité des éléments de ce type. Ils peuvent exister sous deux formes : l'une linéaire intégrée au génome de l'hôte, et l'autre circulaire libre, qui est vraisemblablement la forme conjugative [17, 20]. Tous les TnC portent un gène *int*. Généralement localisé à l'une des extrémités de l'élément, il code pour une intégrase qui catalyse l'excision et l'intégration de la forme circulaire du transposon. Les TnC comportent, en outre, une batterie de gènes impliqués dans le transfert conjugatif et une origine de transfert qui ne présentent pas de similitude avec les systèmes de transfert plasmidiques [17, 18] si ce n'est dans le cas du transposon biphényle Tn4371 dont deux gènes de transfert au moins sont apparentés à ceux des plasmides de groupe IncP $\alpha$  [21]. Notons finalement que chez les TnC, la présence de séquences IR aux extrémités est fréquente, mais pas générale.

#### **Bactériophages transposables : cas du phage Mu**

Mu (pour « mutateur ») est le plus connu d'un petit groupe de phages tempérés transposables aussi appelés phages mutateurs en raison des

mutations créées lorsqu'ils s'intègrent au hasard dans le génome de la bactérie hôte [22]. Intégré, Mu peut persister sous forme de prophage latent, comme tout phage tempéré. Son intégration est une transposition, dans laquelle n'est impliquée qu'une petite partie de son génome : les deux extrémités *attL* et *attR*, et deux gènes codant respectivement pour une transposase (pA) et une protéine activatrice de la transposition (pB) (figure 1). A l'état de prophage, la transcription de ces deux gènes est réprimée par un répresseur, lui-même codé par le phage. Lorsque le phage rentre en phase lytique, la transcription des gènes viraux est déréprimée. Le génome de 38,5 kb est amplifié par un mécanisme de transposition répllicative (voir plus loin). Le reste du génome phagique contient les gènes qui interviennent dans la phase tardive du développement lytique (essentiellement la synthèse des protéines d'enveloppe, l'encapsulation de l'ADN dans les particules virales et la lyse de la cellule hôte). Les phages mutateurs partagent avec les TnC la propriété de pouvoir se transférer entre cellules. Le mode de transfert est cependant complètement différent puisque les premiers utilisent la conjugaison alors que les seconds utilisent des cycles de lyse et d'infection.

#### **Intégrons**

Contrairement aux transposons, les intégrons sont plutôt des « éléments mobilisateurs » que des éléments transposables proprement dits. Nous ne les discuterons donc pas en détail ici, sinon pour rappeler qu'ils résident sur les chromosomes, les plasmides ou les transposons, et piègent des séquences d'ADN appelées « cassettes », en aval du promoteur (Pant) situé immédiatement en amont de *att I*. Ce sont les cassettes qui sont mobiles bien qu'elles ne véhiculent pas les gènes qui gouvernent leur mobilité. Les intégrons sont constitués d'un gène codant pour une intégrase et d'un site d'action pour cette enzyme, *att I*. Un autre site d'action de l'intégrase appelé « élément de 59 paires de bases », localisé sur la

cassette, permet à l'enzyme de catalyser l'intégration ou l'excision des cassettes mobiles dans l'intégron [23]. *att I* et l'élément de 59 paires de bases ne partagent que très peu de similitude. Les cassettes contiennent le plus souvent un gène de résistance aux antibiotiques [24].

#### **Mention spéciale : phages tempérés, plasmides intégratifs et îlots de pathogénicité**

Les phages tempérés ont depuis longtemps été considérés par certains auteurs comme des éléments transposables [25]. Ce point de vue se justifie pleinement aujourd'hui, au vu des propriétés structurales et fonctionnelles que ces éléments partagent avec les TnC et les phages mutateurs. En effet, TnC et phages lambdoïdes partagent le même mécanisme d'excision/intégration catalysé par une enzyme de la famille des intégrases (voir plus loin). Phages lambdoïdes et mutateurs partagent quant à eux le même mode de transfert intercellulaire par cycle lytique et infection. On note également des similitudes entre les transposons conjugatifs et les plasmides intégratifs, qui codent tous deux pour une intégrase [26]. Il est d'ailleurs de plus en plus difficile d'établir une barrière entre les TnC et ces plasmides qui ne se distinguent que par le fait que les seconds peuvent résider dans leur hôte, soit intégrés dans le génome, soit sous la forme d'un plasmide alors que les premiers n'ont, à ce jour, jamais été trouvés sous la forme de plasmide.

A ces nouveaux membres de la grande famille des éléments transposables s'ajouteront sans doute prochainement les îlots de pathogénicité. Identifiés dans les chromosomes ou les plasmides de virulence de bactéries pathogènes des animaux aussi bien que des plantes, ces îlots contiennent les gènes codant pour les protéines responsables de l'interaction du pathogène avec sa cellule hôte eucaryote. Ils sont associés, soit à un gène codant pour une intégrase, soit à une ou plusieurs séquences IS, ce qui suggère qu'ils puissent être transposables [27].

## Les mécanismes de transposition

On entend par transposition, tout événement au cours duquel une enzyme de recombinaison spécialisée, ou recombinase, reconnaît spécifiquement les extrémités d'une entité d'ADN et catalyse son transfert d'un site donneur vers un site cible. Trois types de recombinases ont été définis en fonction de leur activité enzymatique : les transposases, les intégrases et les résolvases/invertases. Ces recombinases déterminent le mécanisme de la transposition qui peut se faire par excision/intégration, être conservative ou opérer de façon répllicative [5, 28, 29].

- L'excision/intégration ne fait intervenir aucune synthèse d'ADN et est, en ce sens, un mode de transposition conservatif. Elle opère en deux étapes indépendantes catalysées par la même recombinase, l'intégrase. Au cours de la première étape, l'élément transposable s'excise du réplicon donneur sous la forme d'un intermédiaire circulaire résultant de la liaison covalente des deux extrémités tandis que le réplicon donneur est réparé par ligature des fragments de jonctions. L'intégration quant à elle, correspond au processus inverse de l'excision (figure 2).

- La transposition conservative implique que l'élément transposable quitte le réplicon donneur pour se réinsérer au site cible (figure 2). Le départ du transposon laisse une brèche dans le réplicon donneur qui, de ce fait, sera perdu à moins qu'une autre copie du réplicon ne soit présente dans la cellule hôte et ne puisse servir de réplicon modèle pour une conversion génique. Celle-ci permettra alors de réparer la brèche à partir de la copie du transposon présente sur le réplicon modèle [30]. Après transposition et réparation, il y aura donc deux copies du transposon dans la cellule, l'une dans le réplicon donneur, l'autre dans le réplicon cible.

- La transposition répllicative se distingue de la précédente par le fait que l'élément transposable ne s'excise pas du réplicon donneur. Il y a formation d'un « co-intégrat » où réplicons donneur et cible sont fusionnés

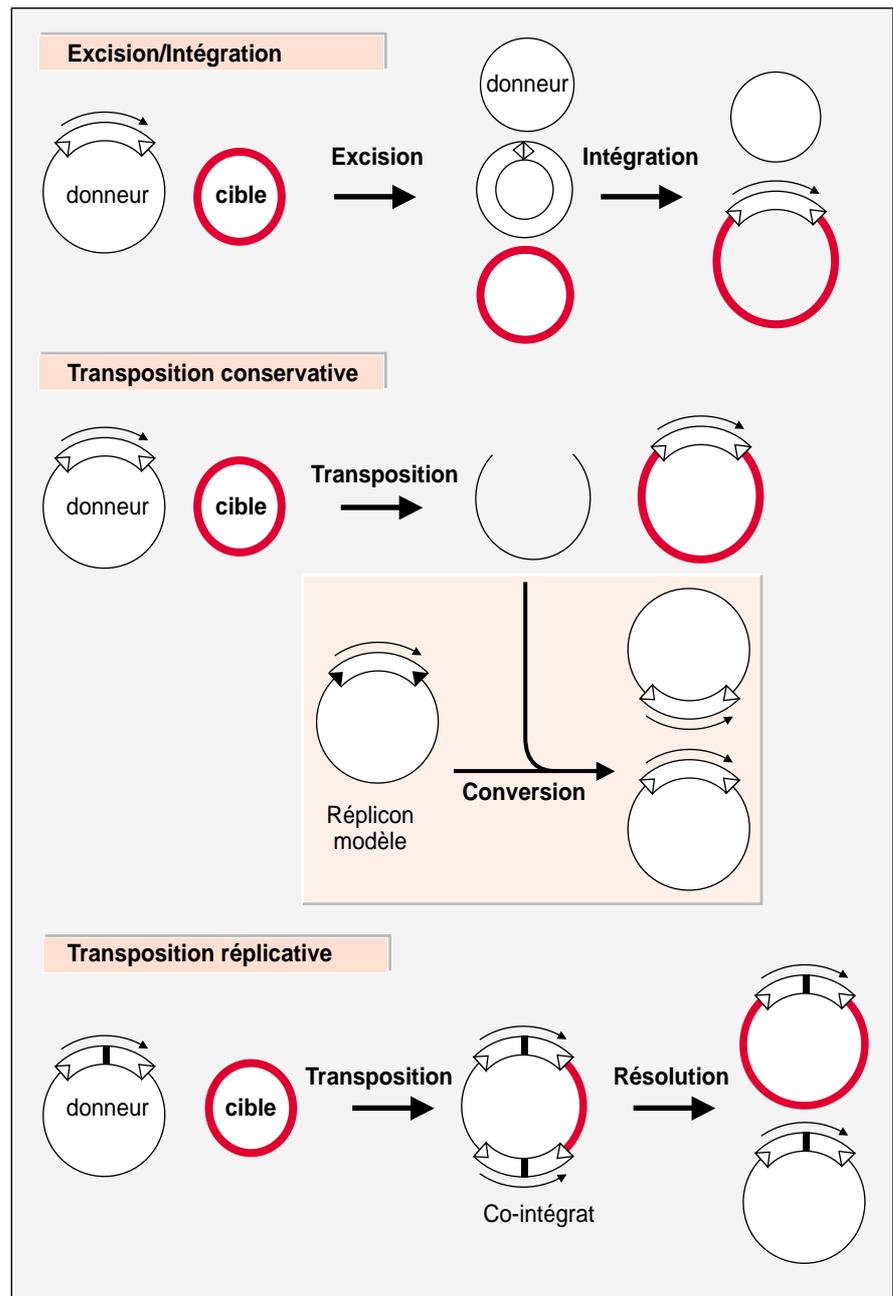


Figure 2. **Les différents modes de transposition : excision/intégration, transposition répllicative et transposition conservative.** Les réplicons cibles peuvent correspondre à des plasmides ou des chromosomes. L'élément transposable présent initialement sur le réplicon donneur est représenté par un cadre bordé de deux triangles et son orientation est arbitrairement définie par une flèche. L'encart illustre la réparation du réplicon donneur par conversion génique lors de la transposition conservative. Les barres noires représentent les sites res qui interviennent dans la résolution de co-intégrat lors de la transposition répllicative. Voir figure 4 pour une présentation du mécanisme moléculaire des transpositions conservative et répllicative.

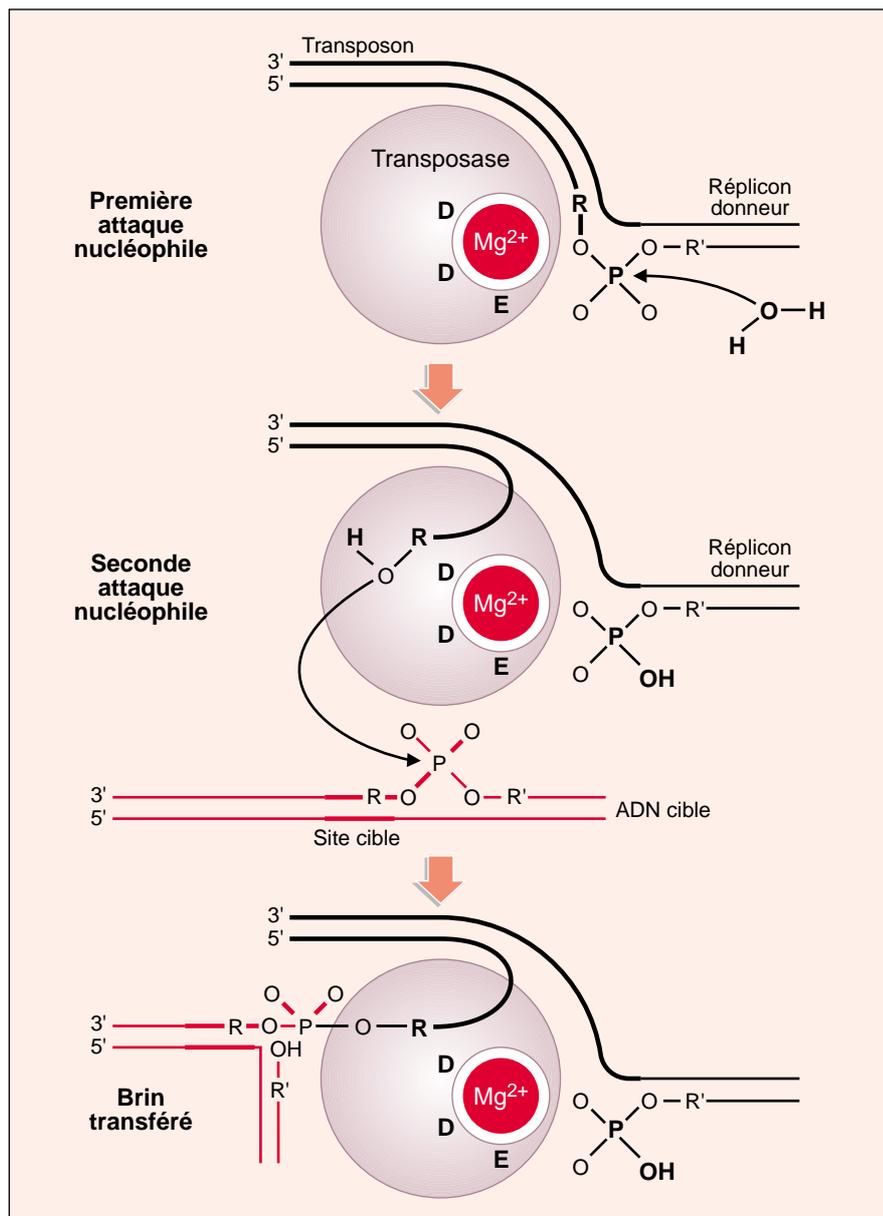


Figure 3. **Mécanisme du transfert de brin catalysé par les transposases.** Une jonction transposon/réplicon cible est représentée liée à un monomère de transposase (cercle bistre) avec son motif DDE liant des ions  $Mg^{2+}$ . Une molécule d'eau agit comme nucléophile pour rompre une liaison phosphodiester et libérer l'extrémité 3'-OH du transposon. Cette extrémité 3'-OH conduit une deuxième attaque nucléophile, de transestérification, au niveau du site cible. L'extrémité 3'-OH libérée au niveau du site cible sert de point de départ pour une réparation (transposition conservative) ou une duplication (transposition répllicative).

deux résidus aspartate (D) par 35 acides aminés. Ce motif fut originellement identifié au sein des intégrases de rétrovirus qui appartiennent à cette famille d'enzymes. Il est impliqué dans la liaison de deux ions métalliques bivalents et fait partie du site catalytique de l'enzyme [31].

Le mécanisme d'action de la transposase est particulièrement bien étudié dans le cas du bactériophage Mu. Sous forme monomérique, la transposase MuA se lie à l'ADN phagique, au niveau des extrémités et d'une séquence activatrice de la transposition (IAS) pour former un complexe nucléoprotéique appelé « transpososome ». Cependant, la transposase n'est active pour le transfert de brin que sous la forme tétramérique [32]. Le  $Mg^{2+}$  piégé par le motif DD-E interagit alors avec les extrémités de l'élément et fragilise un pont phosphodiester qui devient sensible à une attaque nucléophile par une molécule d'eau (figure 3). La réaction libère les extrémités 3'-OH de l'ADN phagique qui lancent une seconde attaque nucléophile contre les ponts phosphodiester de l'ADN cible y libérant des extrémités 5'-P sortantes. A l'issue de cette seconde réaction, les deux extrémités 3' de Mu sont liées aux deux extrémités 5' du site cible. Ce scénario de coupures et transestérifications se retrouve pour toutes les transposases à motif DD-E [5, 31, 33]. Toutes initient la réaction de transfert de brin en libérant les extrémités 3'-OH du

par l'intermédiaire de deux copies du transposon dans la même orientation. Généralement, cette structure ne persiste pas et une recombinaison entre les deux copies du transposon « résout » le co-intégrat en un réplicon donneur identique à l'original avant transposition, et un réplicon cible alourdi d'une copie du transposon (figure 2). Cette résolution fait le plus souvent intervenir une recombinaison spécifique du site catalysée par une résolvasse codée par le transposon et qui agit au niveau d'un site

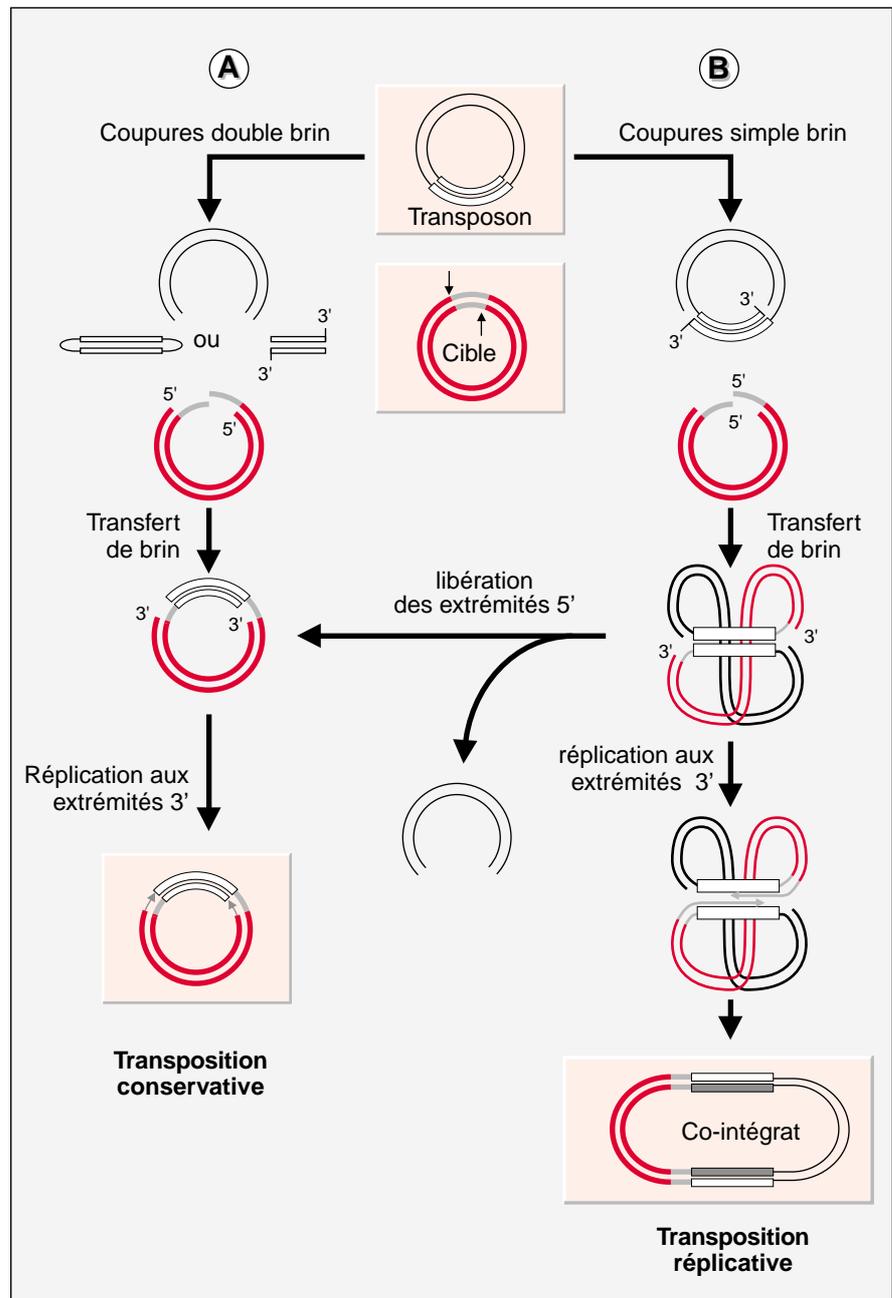
également porté par le transposon [29]. Dans certains cas, une intégrase qui reconnaît et agit sur un site *att*, remplace cette résolvasse [12]. La résolution peut aussi être assurée par les enzymes de recombinaison homologues de la bactérie hôte.

#### Transposase et transposition

Les transposases sont peu conservées dans leur séquence primaire, mais contiennent très souvent un motif conservé DD-E, où le résidu glutamate (E) est généralement séparé des

Figure 4. **Transposition conservative et répllicative.** A. **Transposition conservative.**

Les deux brins du transposon, le réplicon donneur et le réplicon cible sont respectivement représentés par des rectangles blancs, des traits fins (noirs) et des traits épais (rouges). La transposase clive chaque jonction entre transposon et réplicon donneur, ce dernier étant libéré sous la forme d'une molécule linéaire. Selon les cas, le 2<sup>e</sup> brin est clivé à chaque extrémité du transposon qui est alors libéré sous une forme linéaire, ou les extrémités 3'-OH se lient aux brins opposés du transposon qui se retrouve sous la forme d'une épingle à cheveux. Dans le premier cas, les extrémités 3'-OH attaquent et se lient à la cible en libérant des extrémités 3' rentrantes. Dans le second, les épingles sont ouvertes aux extrémités, avec formation d'extrémités 3'-OH qui attaquent la cible comme dans le premier cas. Les séquences d'ADN simple brin correspondant au site cible et qui flanquent l'élément sont réparées par réplication, ce qui génère une courte répétition directe à chaque extrémité du transposon. B. **Transposition répllicative.** La transposase introduit une coupure simple brin au niveau des jonctions transposon/réplicon donneur. Comme précédemment, les extrémités 3'-OH de l'élément attaquent et clivent le site cible en engendrant des extrémités 5' sortantes et se lient à ces dernières. La structure qui en résulte est le complexe de transfert de brin ou STC (pour strand transfer complex). Une réplication semi-conservative initiée aux extrémités 3'-OH de la cible se propage à travers le transposon engendrant un co-intégrat qui contient une duplication du site cible. La résolution du co-intégrat (voir figure 2) laisse une copie du transposon sur le réplicon donneur et l'autre, flanquée de la duplication, sur le réplicon cible.



transposon. En revanche, dans certains cas (IS10 et IS50, de la famille IS4, dont deux copies bordent respectivement les transposons Tn10 et Tn5), la seconde attaque nucléophile ne se fait pas sur l'ADN cible mais bien sur le 2<sup>e</sup> brin de la double-hélice qui a subi la première coupure, libérant ainsi le transposon sous forme libre. A chaque

extrémité de l'élément, une nouvelle attaque nucléophile libère à nouveau une extrémité 3'-OH qui attaque la cible. Ce mécanisme est tout à fait semblable à celui des recombinaisons VDJ au sein des gènes codant pour les immunoglobulines [33, 34]. Chez d'autres transposons, enfin, le second brin de l'extrémité est clivé, libérant

une extrémité 5'-P (figure 4A). C'est par exemple le cas chez Tn7. Au sein de l'hétéromultimère qui constitue la transposase (voir plus haut) la protéine TnsB produit l'extrémité 3'-OH et c'est la protéine TnsA qui engendre l'extrémité 5'-P [5].

Une caractéristique constante des transpositions répliquatives et conser-

vatives catalysées par les transposases, est la duplication, de part et d'autre de l'élément intégré, de quelques paires de bases définissant le site cible [35]. Celui-ci subit une coupure décalée 5'sortante à la suite de la liaison covalente des extrémités 3'-OH du transposon, libérant des extrémités 3'-OH au site cible. Comme elles servent d'amorce à la réplication de l'ADN par la machinerie de l'hôte, les trous laissés par la coupure décalée de la cible sont comblés, engendrant cette duplication. En revanche, selon que la transposase a ou n'a pas clivé l'extrémité 5' du transposon, la transposition sera conservative ou répliquative (figure 4). Dans le premier cas, les deux brins d'ADN du transposon sont simultanément désolidarisés du site donneur et la synthèse d'ADN s'arrête au niveau du transposon qui n'est pas répliqué (transposition conservative). Si en revanche, le second brin du transposon n'est pas clivé, la synthèse d'ADN débute à l'extrémité 3'-OH de la cible se poursuit à travers le transposon et le duplique, engendrant un co-intégrat (transposition répliquative). Ce mécanisme, proposé à l'origine par Shapiro [36], est utilisé par le phage Mu [22, 37], par les transposons non composites qui constituaient la classe II [38] et par Tn7 lorsque sa protéine TnsA est inactivée [5].

#### Intégrases et intégration

Les intégrases interviennent dans l'excision et l'intégration des transposons du genre conjugatif (figure 2). Selon un modèle initialement proposé pour Tn916 [20], ce processus est analogue à celui qu'utilisent les bactériophages tempérés de type  $\lambda$  lorsqu'ils s'intègrent ou s'excisent du génome bactérien [39]. Tout comme les transposases, les intégrases forment une famille d'enzymes aux séquences primaires faiblement conservées mais dont quatre résidus, qui forment le site catalytique, sont pratiquement invariants. Ces quatre résidus sont localisés dans deux domaines de la moitié carboxy-terminale de l'enzyme [40]. Le domaine I contient une arginine (R) et le

domaine II une histidine et une arginine (HxxR) séparées d'une tyrosine (Y) par 34 à 40 acides aminés. Quatre protomères d'intégrase sont nécessaires pour catalyser une recombinaison spécifique du site entre deux molécules d'ADN (figure 5A). Chacun d'eux se lie à la moitié d'un site de recombinaison pour former un complexe synaptique. Les résidus RHR du site actif de deux des quatre protomères fragilisent une liaison phosphodiester de l'ADN qui devient sensible à une attaque nucléophile par la tyrosine catalytique. Il en résulte un premier clivage de brin à l'issue duquel le résidu tyrosine est lié à l'extrémité clivée 3' de l'ADN par une liaison 3'-phosphotyrosyl (figure 5B). L'autre extrémité, libérée sous forme 5'-OH, met en route l'attaque nucléophile d'un phosphotyrosyl sur un complexe intégrase/ADN adjacent, reformant ainsi une liaison phosphodiester ADN/ADN et une jonction de Holliday (figure 5C). Ensuite, les deux autres protomères d'intégrase se mettent (peut-être par l'isomérisation de la jonction de Holliday) en position d'effectuer un second échange de brins par un processus identique (figure 5D). Les quatre protomères d'intégrase se dissocient alors du complexe et libèrent la structure d'ADN recombinante (figure 5E). L'intégration d'une structure circulaire catalysée par l'intégrase est un phénomène réversible, la réaction inverse étant l'excision de l'élément intégré.

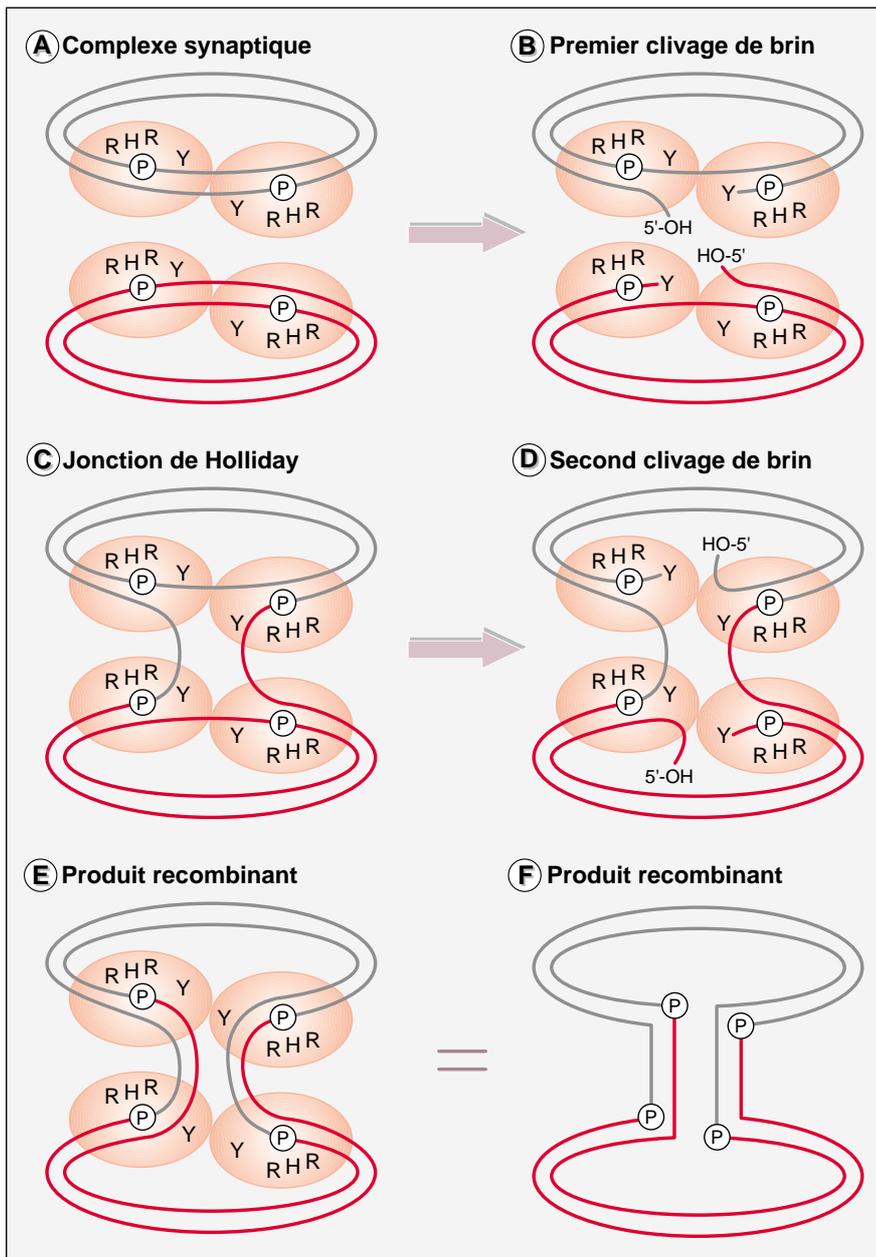
Toute intégration/excision catalysée par une intégrase met en jeu un site d'ADN de 20 à 30 pb appelé « site cœur » dont l'organisation est illustrée dans la figure 6. Riche en AT, il se compose généralement de deux domaines de liaison pour l'intégrase, arrangés en répétition inverse autour d'un site de clivage appelé « région de chevauchement » chez  $\lambda$  ou « séquences associées » chez Tn916. Comme l'illustre Tn916, cette courte séquence de 6 à 8 pb n'est pas systématiquement identique entre le site cœur de l'élément et celui de la cible bien qu'elle le soit dans le cas du phage  $\lambda$ . D'autres sites de liaison pour l'intégrase et les protéines accessoires participant à la recombi-

naison flanquent le site cœur. Chez le phage  $\lambda$  par exemple, on compte trois sites supplémentaires pour la liaison de l'intégrase et trois sites de liaison pour la protéine IHF. Celle-ci courbe l'ADN, permettant le positionnement correct des protomères d'intégrase (figure 6A, B). Le site cœur et l'ensemble des sites de fixation de l'intégrase et de IHF constituent le site d'attachement *attP*.

Chez Tn916, l'excision débute par des coupures, décalées de 5 à 6 nucléotides à chaque jonction entre l'élément et son site d'insertion. Les séquences associées, non homologues, se retrouvent en vis-à-vis dans l'intermédiaire circulaire où elles forment une courte région non appariée (figure 7). Au niveau de l'ancien site d'insertion, les deux séquences simple brin, engendrées par la coupure décalée, sont réunies et ligaturées, formant, elles aussi, une courte zone non appariée. La réplication rétablit les appariements mais produit deux types de molécules, l'une contenant la séquence initiale, l'autre contenant une séquence différente. Un phénotype muté peut donc persister dans 50 % de la descendance de la cellule qui a subi l'excision de l'élément [20].

Quand Tn916 s'intègre, séquences associées et séquences cibles sont de nouveau clivées de manière décalée (5 à 6 nucléotides) et liées les unes aux autres. Deux nouvelles zones de non appariement apparaissent entre les séquences cibles et les séquences associées apportées par le transposon (figure 7). Ici encore, une réplication de l'ADN pourra restaurer l'appariement. Parce que les séquences associées ne sont complémentaires ni entre elles ni de la séquence cible, l'insertion de Tn916 (ou de transposons apparentés) n'engendre pas de « duplication » du site cible, contrairement à ce qui se passe avec les réactions catalysées par les transposases.

La différence entre le phage  $\lambda$  et les transposons conjugatifs tient à la capacité de leur intégrase de tolérer les mauvais appariements au niveau des séquences qui recombinent. La variation de la spécificité d'insertion entre éléments qui utilisent un intégrase pourrait être directement liée à



**Figure 5. Mécanisme du transfert de brin catalysé par les intégrases.** **A.** Les deux molécules d'ADN intervenant dans la recombinaison spécifique du site sont respectivement représentées par des lignes grises et rouges. Un dimère d'intégrase est lié à chaque site cœur. Chaque monomère contient un site catalytique RHR<sub>Y</sub> et catalyse le transfert d'un brin d'ADN. **B.** L'attaque nucléophile d'une liaison phosphodiester (P) par la tyrosine du site actif (Y) conduit au clivage d'un brin sur chaque molécule d'ADN. Deux liaisons phosphotyrosyles sont formées et des extrémités 5'-OH sont libérées. **C.** Ces extrémités initient une nouvelle attaque nucléophile, au niveau des liaisons phosphotyrosyles du brin opposé, reformant des liaisons phosphodiester et créant une jonction de Holliday. **D et E.** Deux autres attaques nucléophiles, au niveau des deux autres protomères d'intégrase, conduisent au second échange de brin comme décrit en B et C, générant la structure recombinante finale ou les deux molécules d'ADN initiales sont fusionnées.

cette tolérance, les éléments les moins spécifiques ayant les intégrases les plus permissives. En outre, la similitude des sites cœur des séquences recombinées lors de l'intégration va de pair avec celles des séquences flanquant l'élément inséré. La présence de séquences répétées de part et d'autre de certains TnC pourrait donc refléter le degré d'identité nécessaire entre les deux sites impliqués dans la recombinaison. Outre leur richesse en AT, les sites de différents éléments utilisant une intégrase ne présentent pas de similitude.

#### Résolvases et invertases

La grande majorité des transposons qui utilisent la transposition répllicative et produisent des co-intégrats résolvent ces derniers en deux molécules, par une recombinaison spécifique du site catalysée par une « résolvase » (figure 2). Les résolvases appartiennent à la même famille d'enzymes que les invertases. Les premières agissent sur des séquences en orientation directe appelées *res*. Les mieux caractérisées sont celles codées par Tn3 et  $\gamma\delta$ . Les secondes recombinaison des séquences en orientation inverse (aussi appelées IR bien qu'elles n'aient rien de commun avec celles qui sont reconnues par les transposases) provoquant l'inversion du segment d'ADN qui les sépare. Ce type de recombinaison, qui se produit indépendamment de toute transposition, peut connecter ou déconnecter un gène de son promoteur, permettant ainsi l'expression alternative de deux gènes. L'invertase de Mu (Gin) assure par exemple l'expression alternative de deux couples de gènes impliqués dans la synthèse des protéines qui forment les fibres de la particule virale, ce qui étend le spectre d'hôte du virus. Une autre invertase (Hin) détermine le changement sérotypique de *Salmonella* [42]. La recombinaison spécifique du site ne se borne donc pas à promouvoir la mobilité de séquences d'ADN. Elle intervient dans d'autres fonctions biologiques (pour plus de détails, voir [12]).

Contrairement aux transposases et aux intégrases, les résolvases et les invertases ont des séquences en acides aminés semblables. Toutes contiennent

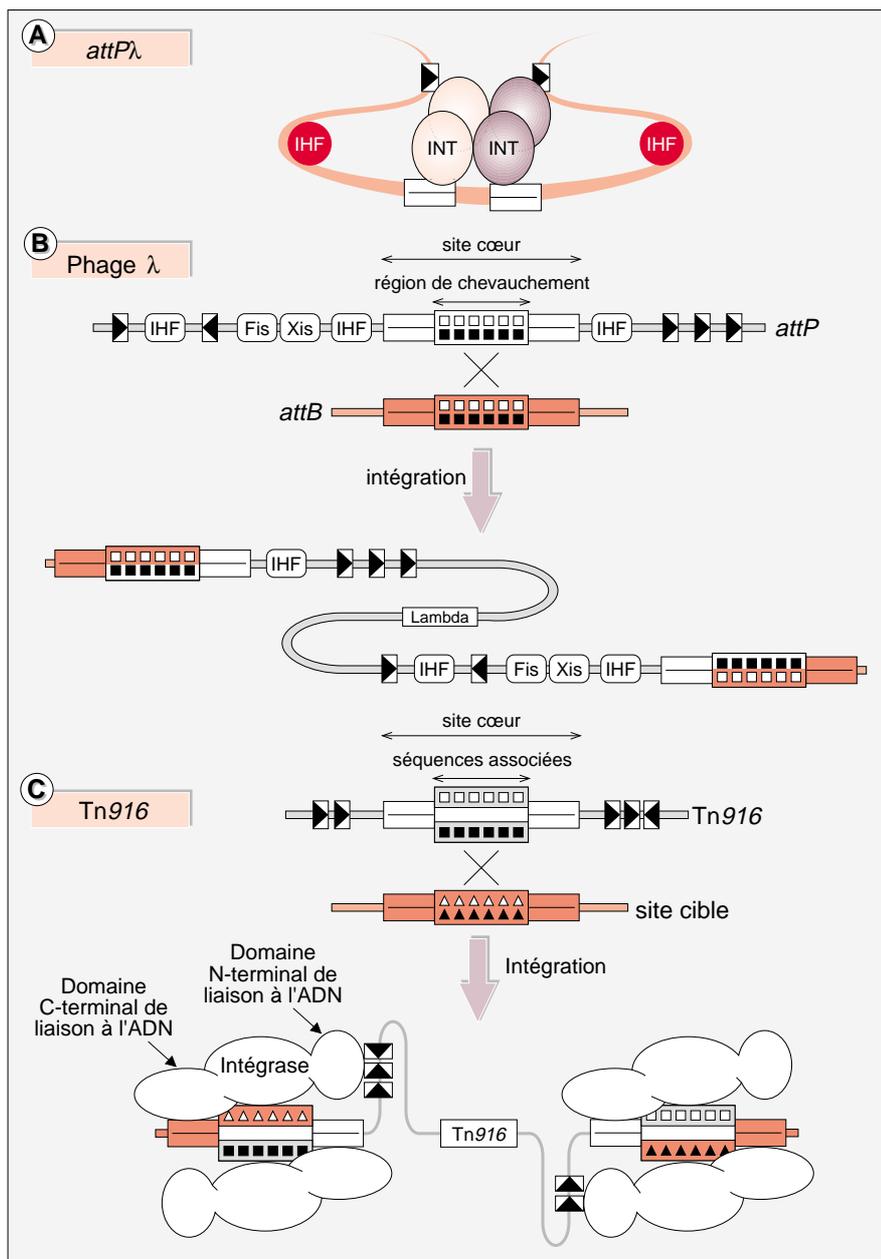


Figure 6. **Structure des sites att du phage  $\lambda$  et du transposon Tn916.** **A.** Structure des ADN substrats de la recombinaison par l'intégrase du bactériophage  $\lambda$ . Le site minimum de recombinaison est le site cœur (20 à 30 pb), qui constitue le site spécifique d'insertion du génome de  $\lambda$  sur le chromosome de *E. coli* K12, attB. **B.** Sur le génome du phage, la région impliquée dans la recombinaison, attP, contient de nombreux sites permettant la liaison des protéines accessoires IHF, FIS et Xis. Les rectangles blancs ou rouges et les triangles noirs représentent respectivement les sites de fixation des domaines carboxy- et amino-terminaux de l'intégrase. **C.** Chez Tn916, comme chez  $\lambda$ , il existe deux types d'interactions ADN/intégrase. Ces interactions mettent en jeu des domaines différents de l'intégrase et des séquences différentes sur l'ADN. Les symboles sont les mêmes que dans la section B.

la liaison 5'-P-Ser du double-brin partenaire, libérant la recombinase et terminant la réaction d'échange de brin [29].

Le mode d'action des invertases est semblable à celui des résolvas, à la différence près que l'inversion n'implique que deux dimères d'invertase. Chacun d'eux se lie à l'un des sites IR qui doivent aussi être sur le même ADN circulaire pour pouvoir se recombinaison. L'assemblage du complexe d'inversion est optimisé par la présence de protéines qui courbent l'ADN, FIS dans le cas de l'invertase Gin de *Mu*, FIS et HU dans le cas de l'invertase Hin de *Salmonella* [29].

#### La transposition : variation sur le thème couper-coller

Les recombinaisons catalysées par les transposases, les intégrases ou les résolvas/invertases partagent des caractéristiques communes tout en ayant des mécanismes d'action différents. Toutes catalysent des réactions de transestérification, au cours desquelles l'énergie libérée par la première attaque nucléophile est conservée pour effectuer le transfert de brin. Intégrases et résolvas/invertases catalysent une réaction en deux

ment une sérine catalytique en position 10 et, à l'extrémité carboxy-terminale, un motif de liaison à l'ADN par lequel elles se fixent respectivement aux sites *res* ou IR. Ceux-ci sont aussi apparentés par leur séquence nucléotidique et leur organisation. Les sites *res* sont constitués de trois sous-sites. La réaction de transfert de brin se fait au sein du site I (figure 8). L'assemblage du complexe de résolution met en jeu 6 dimères de résolvas, et deux

sites *res* dans la même orientation et localisés sur la même molécule d'ADN (figure 8A). Lors de l'échange de brin, le radical hydroxyle de la sérine catalytique initie une attaque nucléophile sur l'ADN et introduit une cassure double-brin décalée de 2 paires de bases. La sérine forme un lien covalent 5'-phosphosérine avec l'ADN, libérant des extrémités 3'-OH sortantes (figure 8C). Celles-ci servent ensuite de nucléophile pour rompre

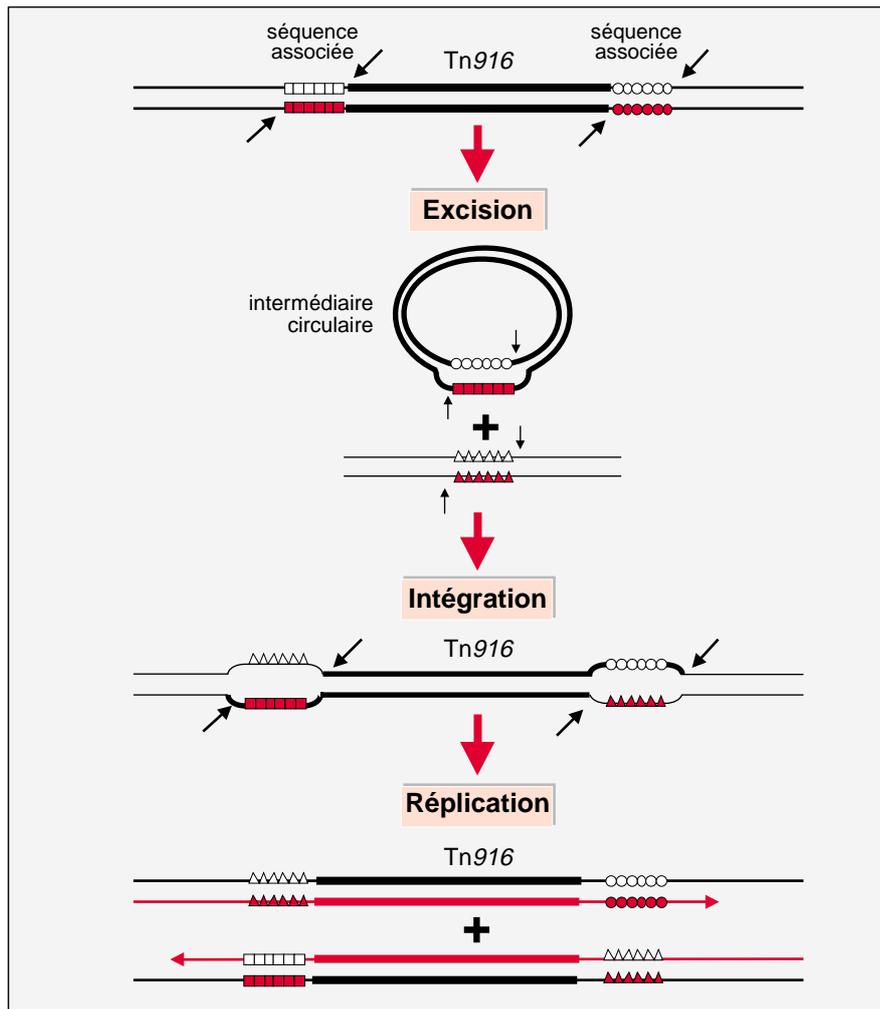


Figure 7. **Modèle d'excision et intégration du transposon Tn916.** Deux coupures décalées surviennent 6 bases au-delà de chaque extrémité de transposon (carrés et cercles). Ces six bases constituent les séquences associées. Les deux extrémités du transposon sont ligaturées pour former un intermédiaire circulaire. Les renflements indiquent des zones non appariées (cercle blanc, carrés rouges). Deux nouvelles coupures décalées ouvrent la structure circulaire et le site cible (triangles). La ligature du transposon dans sa cible produit à nouveau deux zones non appariées (triangles-carrés) qui sont résolues lors de la réplication de l'ADN. Lors de son excision, le transposon laisse derrière lui une courte séquence non appariée, complémentaire de celle qu'il a emportée (cercles rouges, carrés blancs). Elle est résolue par la réplication, engendrant deux types de séquences dont l'une seulement est la séquence sauvage avant l'insertion. Un gène peut donc rester muté après l'excision du transposon.

étapes et assurent la conservation de l'énergie entre les étapes en formant un intermédiaire covalent avec l'ADN. Les transposases, en revanche, assurent la transestérification en une étape. Les transposases et les résolvases/invertases engendrent des extrémités 3'-OH, alors que les inté-

grases produisent des extrémités 5'-OH. Les résolvases effectuent des coupures décalées de 2 paires de bases et transfèrent deux brins d'ADN simultanément alors que les intégrases comme celle du phage  $\lambda$  transfèrent un brin pour produire une jonction de Holliday, le second

transfert de brin ne s'effectuant qu'après une migration de branche au sein de cette jonction.

Au sein des trois familles de recombinases, on trouve cependant des enzymes qui sont très spécifiques dans le choix de leur site d'action (la transposase de Tn7 et l'intégrase de  $\lambda$  par exemple), et d'autres qui le sont beaucoup moins (la transposase de Mu ou l'intégrase de Tn916). L'évolution semble donc avoir joué de la même manière sur ces familles de protéines, peut-être pour tendre à un équilibre entre le fardeau que représente, pour la cellule hôte, la persistance de l'élément qui modifie et mute son génome et le bénéfice que cette cellule peut tirer de la présence de l'élément.

### Conséquences génétiques de la mobilité des transposons

A côté de leur rôle adaptatif dans l'amplification et la dispersion de gènes ou groupes de gènes à forte valeur sélective (résistances aux antibiotiques, voies cataboliques, toxines, gènes de virulence, etc.), les éléments transposables ont inéluctablement des effets mutateurs sur les génomes cibles. Comme ils contiennent des signaux d'arrêt de la traduction et de la transcription, ils inactivent le gène cible et tous ceux du même opéron localisés en aval du site d'insertion, phénomène qui a été à l'origine de leur découverte. En outre, ces éléments contiennent des promoteurs dont certains dirigent l'expression des gènes de l'élément et d'autres pointent vers l'extérieur de l'élément et peuvent transcrire l'ADN de l'hôte localisé en amont ou en aval du site d'insertion. Certains gènes cryptiques de l'hôte peuvent donc être activés lorsqu'un IS ou un transposon s'insère en amont, comme c'est le cas pour l'opéron *bgl* de *E. coli* [42]. De même, des gènes cryptiques localisés sur l'élément peuvent être exprimés à partir d'un promoteur de l'hôte situé aux abords du site d'insertion.

Présents à plus d'une copie sur un génome, les éléments transposables (et plus particulièrement les

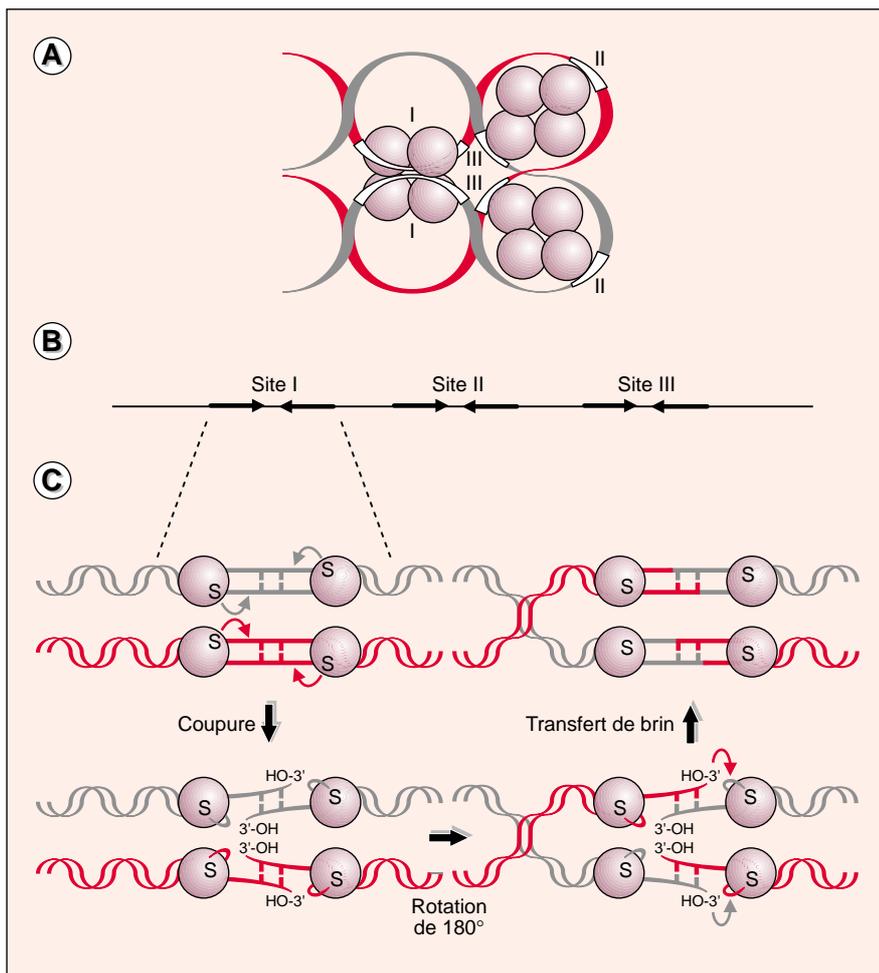


Figure 8. **Recombinaison catalysée par les résolvases.** **A.** Topologie de l'ADN lors de l'association de 6 dimères de résolvase et de deux sites res. I, II et III : sites de fixation d'un dimère de résolvase (voir texte pour plus de détails). Chaque boule bistre représente un monomère de résolvase. **B.** Organisation des sites I, II et III sur l'ADN linéaire. **C.** Détails de la réaction de recombinaison au site I. La sérine catalytique de chaque monomère de résolvase lance une attaque nucléophile sur un brin d'ADN, libérant une extrémité 3'-OH sortante et forme avec l'ADN clivé un complexe covalent 5'-phosphosérine. Les extrémités 3'-OH lancent ensuite une attaque nucléophile sur la liaison phosphosérine de l'autre ADN, réalisant le transfert de brin. La réaction entraîne une modification du superenroulement de l'ADN recombiné.

séquences IS) engendrent de ce fait des zones d'ADN homologues. Au sein d'un même réplicon, le système de recombinaison homologue de l'hôte, en agissant sur ces zones d'homologie au niveau de deux copies placées dans la même orientation, provoquera une délétion et donc la perte d'information génétique. En revanche, une recombinaison entre deux copies en orientation

inverse d'un même élément provoquera l'inversion de la séquence d'ADN comprise entre ces éléments, ce qui peut avoir une incidence sur l'expression de certains gènes qui se retrouveraient par exemple connectés à un nouveau promoteur. La transposition répliquative, lorsqu'elle s'effectue entre deux réplicons (réaction intermoléculaire) passe par la formation d'un co-inté-

grat au sein duquel les deux réplicons sont fusionnés (figures 2 et 4). La même réaction, lorsqu'elle se produit entre un transposon et un site cible du même réplicon (réaction intramoléculaire), provoque la perte ou l'inversion d'un segment de ce réplicon. La transposition répliquative s'accompagne donc d'un remaniement profond de la structure du génome de la bactérie hôte.

Les transposons ont donc d'importants effets délétères pour l'hôte qui les héberge et leur pérennité nécessite une régulation drastique de leurs activités. Ce ne sont cependant pas des éléments génétiques purement « égoïstes », dans la mesure où l'acquisition de nouveaux gènes sous la forme d'éléments transposables est une voie majeure d'adaptation des bactéries à l'accumulation de substances toxiques dans leur environnement.

On sait aussi depuis peu que des populations bactériennes clonales subissent des modifications de leur génome même lorsqu'elles sont cultivées pendant de très nombreuses générations dans un même milieu. Des populations dominantes, qui diffèrent par leur phénotype et leur génotype, se succèdent dans ces cultures à long terme [43]. Les séquences IS endogènes semblent jouer un rôle dans les restructurations du génome qui produisent ces types dominants [44]. Les éléments transposables seraient donc une source de flexibilité génomique considérable, mise à profit par les cellules hôtes pour répondre aux stress liés à l'environnement ■

#### Remerciements

Nous remercions M. Chandler, J. Mahillon et C. Wyndhal pour de nombreuses discussions. Notre travail expérimental est subventionné par un programme Tournesol (France/Flandres), par le ministère de l'Éducation nationale, de l'enseignement supérieur et de la recherche (UPRES 2023) et par le Fonds pour la recherche scientifique médicale (Belgique).

## RÉFÉRENCES

1. Bukhari AI, Shapiro JA, Adhya SL. DNA insertion elements, plasmids and episomes. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1977: 275-85.
2. Starlinger P. Mutations caused by the integration of IS1 and IS2 into the *gal* operon. In: Bukhari AI, Shapiro JA, Adhya SL, eds. *DNA insertion elements, plasmids and episomes*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1977: 25-30.
3. Taylor AL. Bacteriophage-induced mutation in *E. coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1963; 50: 1043-51.
4. Wyndham RC, Cashore AE, Nakatsu CH, Peel MC. Catabolic transposons. *Biodegradation* 1994; 5: 323-42.
5. Craig NL. Transposition. In: Neidhart FC, ed. *Escherichia coli and Salmonella, cellular and molecular biology*, 2nd ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1996: 2339-62.
6. Mahillon J, Chandler M. Insertion sequences. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62: 725-74.
7. Van der Meer JR, De Vos WM, Harayama S, Zehender AJB. Molecular mechanisms of genetic adaptation to xenobiotic compounds. *Microbiol Rev* 1992; 56: 677-94.
8. Chakrabarty AM. Microbial degradation of toxic chemicals: evolutionary insights and practical consideration. *ASM News* 1996; 62: 130-7.
9. Davies JE. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. Ciba Foundation Symposium. Amsterdam: Elsevier, 1997; 207: 15-27 et 27-35.
10. Bourquin AW. Bioremediation of hazardous waste. In: Les micro-organismes au secours des sites pollués. *Biofutur* 1990; 93: 24-35.
11. Kunst CB, et al. The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature* 1997; 390: 249-56.
12. Merlin C, Springael D, Toussaint A. Tn4371: a modular structure encoding a phage-like integrase, a *Pseudomonas*-like catabolic pathway and RP4/Ti transfer functions. *Plasmid* 1999; 41: 40-54.
13. Di Gioia D, Peel M, Fava F, Wyndham C. The structures of homologous composite transposons carrying *cbaABC* genes from Europe and North America. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 1940-46.
14. Yurieva O, Nikiforov V. Catalytic center quest: comparison of transposases belonging to the Tn3 family reveals an invariant triad of acidic amino-acid residues. *Biochem Mol Biol Int* 1996; 38: 15-20.
15. Radström P, Sköld O, Swedberg G, Flensburg J, Roy PH, Sundström L. Transposon Tn5090 of plasmid R751, which carries an integron, is related to Tn7, Mu and the retroelements. *J Bacteriol* 1994; 176: 3257-68.
16. Oppon JC, Sarnovsky RJ, Craig NL, Rawlings DE. A Tn7-like transposon is present in the *glmUS* region of the obligately chemolithotrophic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. *J Bacteriol* 1998; 180: 3007-12.
17. Clewell DB, Flanagan SE, Jaworski DD. Unconstrained bacterial promiscuity: the Tn916-Tn1545 family of conjugative transposons. *Trends Microbiol* 1995; 3: 229-36.
18. Salyers AA, Shoemaker NB, Stevens AM, Li LY. Conjugative transposons: an unusual and diverse set of integrated gene transfer elements. *Microbiol Rev* 1995; 59: 579-80.
19. Hochhut B, Jahreis K, Lengeler JW, Schmid K. CTnscr94, a conjugative transposon found in enterobacteria. *J Bacteriol* 1997; 179: 2097-102.
20. Scott R, Churchward GG. Conjugative transposition. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 367-97.
21. Merlin C, Mahillon J, Nesvera J, Toussaint A. Gene recruiters and transporters: the modular structure of bacterial mobile elements. In: Thomas CM, ed. *The horizontal gene pool: bacterial plasmids and gene spread*. Amsterdam: Academic Publishers, 1999 (sous presse).
22. Haniford DB, Chaconas G. Mechanistic aspects of DNA transposition. *Curr Opin Gen Dev* 1992; 2: 698-704.
23. Hall RM, Collis CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol Microbiol* 1995; 15: 593-600.
24. Recchia GD, Hall RM. Origins of the mobile gene cassettes found in integrons. *Trends Microbiol* 1997; 5: 389-94.
25. Campbell A, Berg D, Botstein D, et al. Nomenclature of transposable elements. In: Bukhari AI, Shapiro JA, Adhya SL, eds. *DNA insertion elements, plasmids and episomes*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1977: 15-22.
26. Bocard F, Smokvina T, Pernodet JL, Friedmann A, Guerneau M. Structural analysis of loci involved in pSAM2 site-specific integration in *Streptomyces*. *Plasmid* 1989; 21: 59-70.
27. Hacker J, Blum-Oehler G, Mühlendorfer I, Tschäpe H. Pathogenicity islands of virulent bacteria, structure, function and impact on microbial evolution. *Mol Microbiol* 1997; 23: 1089-97.
28. Nash HA. Site-specific recombination: integration, excision, resolution, and inversion of defined DNA segments. In: Neidhart FC, ed. *Escherichia coli and Salmonella, cellular and molecular biology*, 2nd ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1996: 2339-62.
29. Hallet B, Sherratt D. Transposition and site-specific recombination: adapting DNA cut-and-paste mechanisms to a variety of genetic rearrangements. *FEMS Microbiol Rev* 1997; 21: 157-78.
30. Bender J, Kuo J, Kleckner N. Genetic evidence against intramolecular rejoining of the donor DNA molecule following IS10 transposition. *Genetics* 1991; 128: 687-94.
31. Polard P, Chandler M. Bacterial transposases and retroviral integrases. *Mol Microbiol* 1995; 15: 13-23.
32. Craigie R. Quality control in Mu DNA transposition. *Cell* 1996; 85: 137-40.
33. Kennedy AK, Guhathakurta A, Kleckner N, Haniford DB. Tn10 transposition via a DNA hairpin intermediate. *Cell* 1998; 95: 125-34.
34. Agrawal A, Eastman QM, Schatz DG. Transposition mediated by RAG1 and RAG2 and its implications for the evolution of the immune system. *Nature* 1998; 394: 744-51.
35. Grindley ND, Sherratt DJ. Sequence analysis at IS1 insertion site: models for transposition. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1979; 43: 1257-61.
36. Shapiro JA. Molecular model for the transposition and replication of bacteriophage Mu and other transposable elements. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 1933-7.
37. Mizuuchi K. Transpositional recombination: mechanistic insights from studies of Mu and other elements. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 1011-51.
38. Sherratt D. Tn3 and related transposable elements: site-specific recombination and transposition. In: Bergs DE, Howe MM, eds. *Mobile DNA*. Washington DC: American Society for Microbiology, 1989: 163-84.
39. Campbell A. Episomes. *Adv Genet* 1962; 11: 101-45.
40. Blakely GW, Sherratt DJ. *Cis* and *trans* in site-specific recombination. *Mol Microbiol* 1996; 20: 233-8.
41. Stark WM, Boocock M. Topological selectivity in site specific recombination. In: Sherratt DJ, ed. *Mobile genetic elements*. Oxford: IRL, 1995: 101-29.
42. Reynolds AE, Mahadevan S, LeGrice SF, Wright A. Enhancement of bacterial gene expression by insertion elements or by mutation in a CAP-cAMP binding site. *J Mol Biol* 1986; 191: 85-95.
43. Lenski RE, Travisano M. Dynamics of adaptation and diversification: a 10,000-generation experiment with bacterial populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6808-14.
44. Papadopoulos D, Schneider D, Meier-Eiss J, Arber W, Lenski RE, Blot M. Genomic evolution during a 10,000-generation experiment with bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3807-12.

## TIRÉS À PART

A. Toussaint.

**Christophe Merlin**

Docteur ès sciences. Université Joseph-Fourier, Laboratoire de microbiologie, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France.

**Ariane Toussaint**

Directeur de recherche au CNRS, Université Joseph-Fourier, Grenoble et Université Libre de Bruxelles, Laboratoire de génétique des procaryotes, 67, rue des Chevaux, B-1640 Rhodes Saint-Genèse, Belgique.