

Éléments intégratifs et conjugatifs (ICE)

Pr. A. TOUATI

Définition

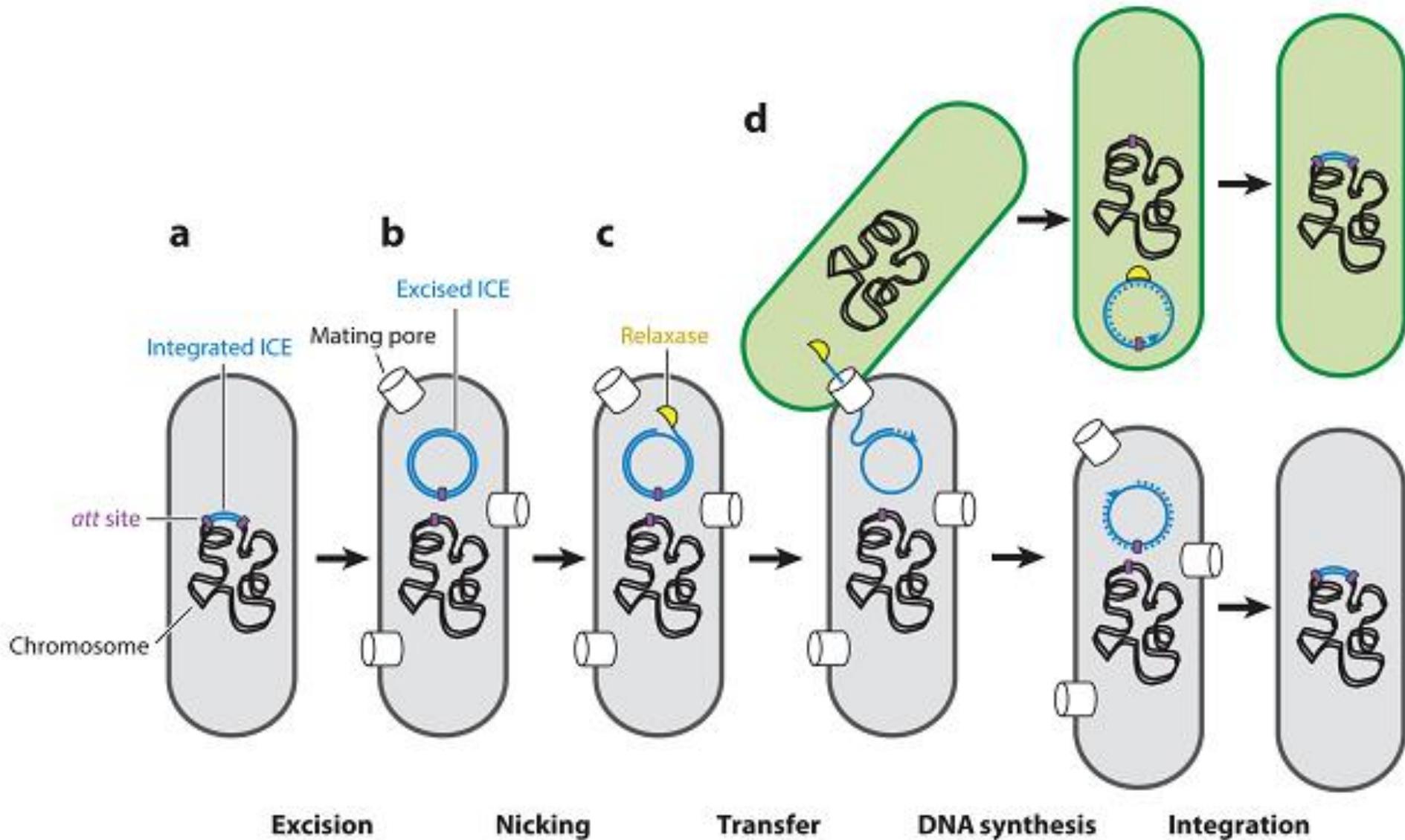
- Les ICE et les plasmides conjugatifs sont des EGM qui portent des gènes codant pour la machinerie nécessaire à la conjugaison.
- Les ICE sont généralement intégrés dans le chromosome (gènes nécessaires à l'intégration et à l'excision).
- Ils se propagent passivement pendant la réplication chromosomique, la ségrégation et la division cellulaire.
- Les plasmides conjugatifs existent en tant qu'éléments extrachromosomiques.
- Sauf que, plusieurs ICE, sont capables de réplication autonome de type plasmide, ce qui brouille la ligne séparant ces deux classes d'éléments

Caractéristiques

- Les ICE sont typiquement mosaïques et modulaires, allant de ~ 20 kb à > 500 kb.
- Les ICE contiennent des gènes et des sites nécessaires pour le transfert de leur AD dont la plupart de ces gènes ne sont pas exprimés lorsque l'ICE est intégré dans le chromosome.
- Dans certaines conditions, ou peut-être spontanément, l'expression des gènes ICE nécessaires pour l'excision et la conjugaison est induite, et l'ICE excise du chromosome de l'hôte.
- Les cellules ont alors la capacité de transférer l'ICE à travers la machine de conjugaison codée par ICE à un receveur approprié.
- Les mécanismes d'intégration et d'excision sont similaires à ceux des phages et des transposons.
- Le traitement de l'ADN d'ICE pour le transfert conjugal est similaire à celui des plasmides conjugatifs et analogue à la réplication en cercle roulant de certains plasmides et virus

- La machinerie de conjugaison codée par ICEs est un système de sécrétion de type IV, homologue à celle codée par les plasmides conjugatifs.
- Dans certains cas, les ICE peuvent mobiliser des éléments non conjugatifs à de nouveaux hôtes.
- Comme avec certains plasmides, la conjugaison peut être régulée par la signalisation cellulaire.
- Comme avec les plasmides et les phages, de nombreux ICE portent des gènes accessoires (considérés avantageux aux cellules hôtes).

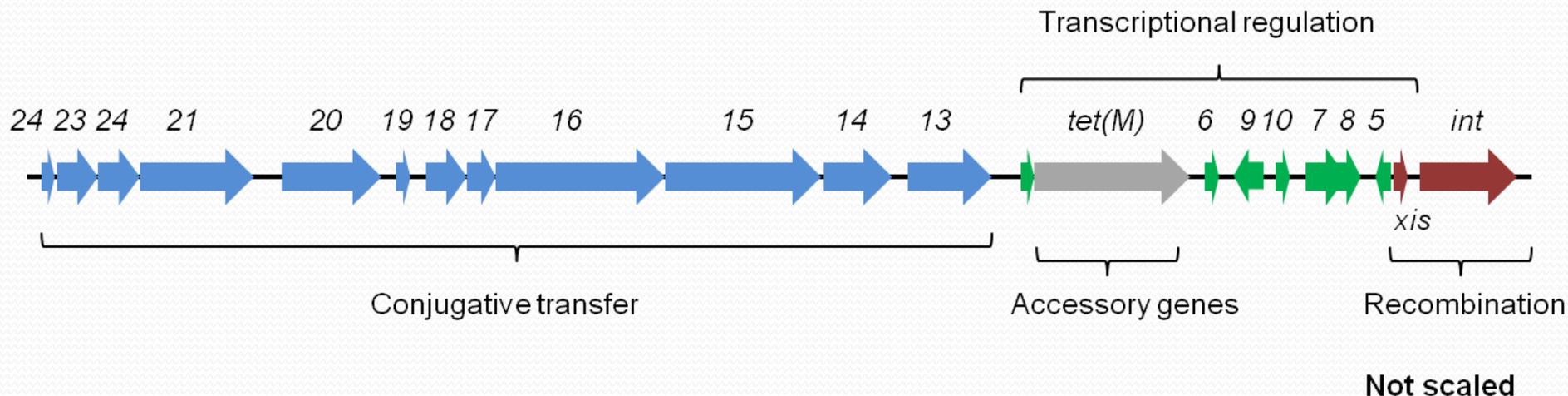
Le cycle de l'ICE



Modèle de la conjugaison d'un ICE

LES GÈNES CARGO ET LA DÉCOUVERTE DES ICE

- La découverte et les premières études sur les ICE résultent de l'intérêt pour les résistances aux antibiotiques et aux métaux lourds.
- Déterminants de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds chez *E. faecalis*, *Bacteroides*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *P. rettgeri* et *Clostridium* qui ont été transférés par conjugaison, mais sont situés de manière transitoire ou permanente sur le chromosome et non sur un plasmide stable.
- Des preuves concluantes d'un élément de conjugaison intégré dans l'ADN proviennent d'études sur le Tn916 chez *E. faecalis*.



ICE conférant d'autres phénotypes

- **ICE_{clc}**: Dégradation des chlorocatéchols et leur utilisation comme source de carbone chez *Pseudomonas* sp. souche B13.
- Les gènes qui permettent la fermentation du saccharose ont été déterminés sur l'ICE **CTnScr94** chez *Salmonella* et sur l'ICE **Tn5276** chez *Lactococcus lactis*.
- Les gènes qui permettent à *Pseudomonas putida* de métaboliser les biphényles et le salicylate sont situés sur l'**ICE_{bph-sal}**.
- Ilots de pathogénicité, PAPI-1 chez *Pseudomonas aeruginosa* est un ICE.
- Les gènes qui permettent aux espèces de *Mesorhizobium* de former des nodules sur les espèces du Lotus se trouvent sur un îlot de symbiose, **ICEMISymR7A**.

Détection des ICE

db-mml.sjtu.edu.cn/ICEberg/index.php

BACTERIOWEB - Bibli Facebook www.google.com Asian Pacific Journal ScholarOne Manuscri ScholarOne Manuscri Elsevier Editorial Syst

<http://db-mml.sjtu.edu.cn/ICEberg>

ICEberg

Home

Browse

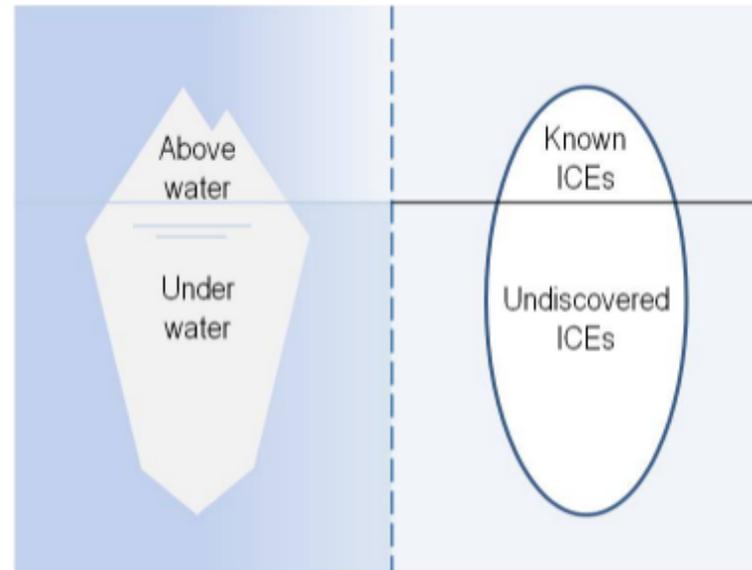
Search

Tools

Download

References

ICEberg: a web-based resource for integrative and conjugative elements found in Bacteria



Iceberg vs ICEs

Integrative and conjugative elements (ICEs) are a diverse group of mobile genetic elements found in both Gram-positive and Gram-negative bacteria. ICEs are self-transmissible elements that encode a full complement of machinery for conjugation as well as intricate regulatory systems to control excision from the chromosome and onward conjugative transfer [Wozniak and Waldor, 2010; Burrus, 2004]. These multi-talented entities can promote their own mobilization and potentially that of other 'hitch-hiking' genetic elements and thus contribute to horizontal transfer of virulence determinants, antibiotic-resistance genes and other bacterial traits [Hastings, et al., 2004].

Génération de la diversité parmi les ICE

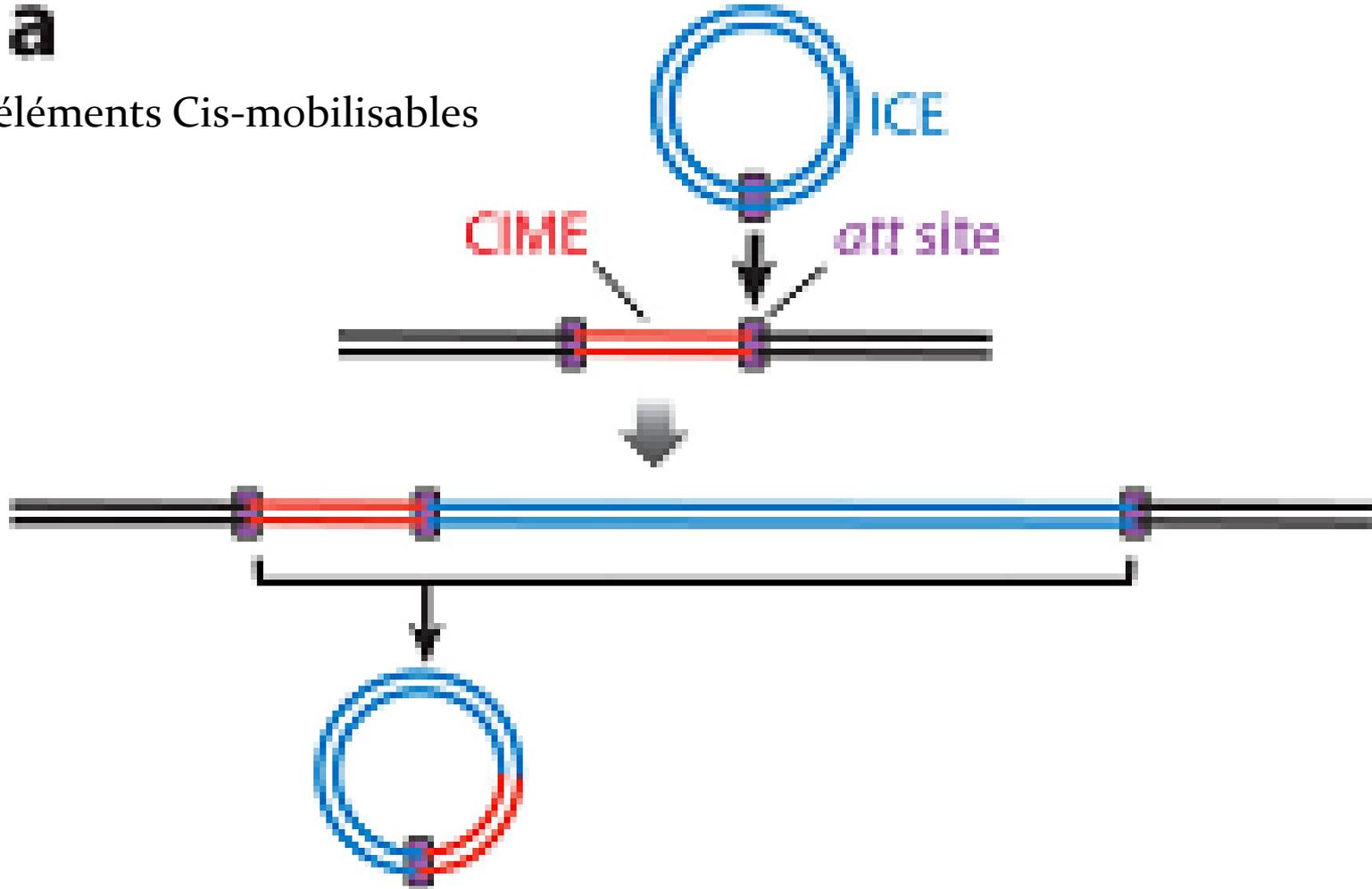
- Les ICE sont largement modulaires.
- Les gènes responsables des fonctions connexes, y compris la conjugaison, la recombinaison et la régulation, et les gènes accessoires sont souvent regroupés.
- Les gènes de conjugaison sont généralement les plus conservés, mais l'ordre génétique spécifique peut varier entre des ICE étroitement apparentés du fait de l'insertion d'autres gènes.
- Plusieurs mécanismes générant cette diversité ont été décrits

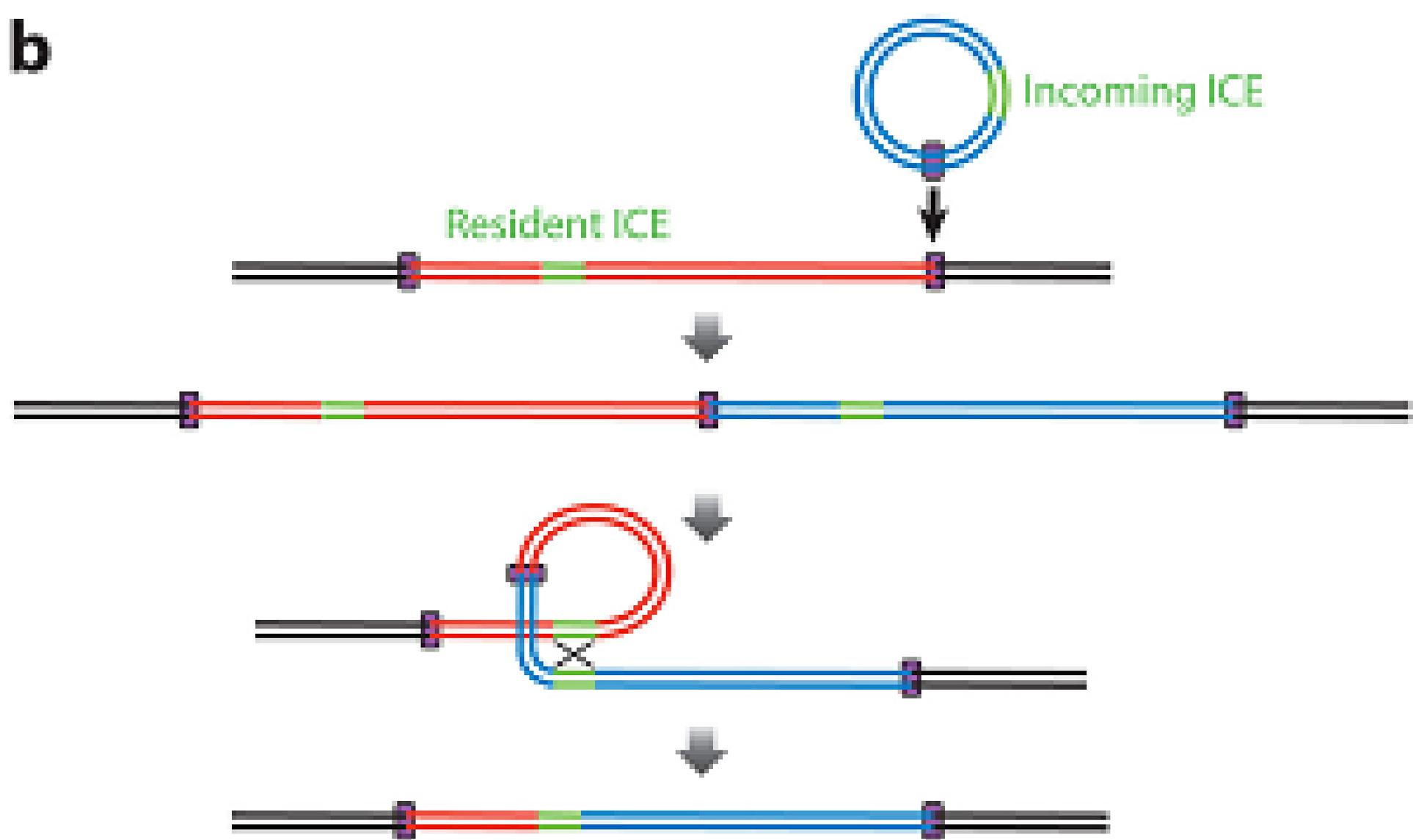
Génération de la diversité parmi les ICE

Insertion en tandem et accumulation sur le site att

a

CIME: éléments Cis-mobilisables

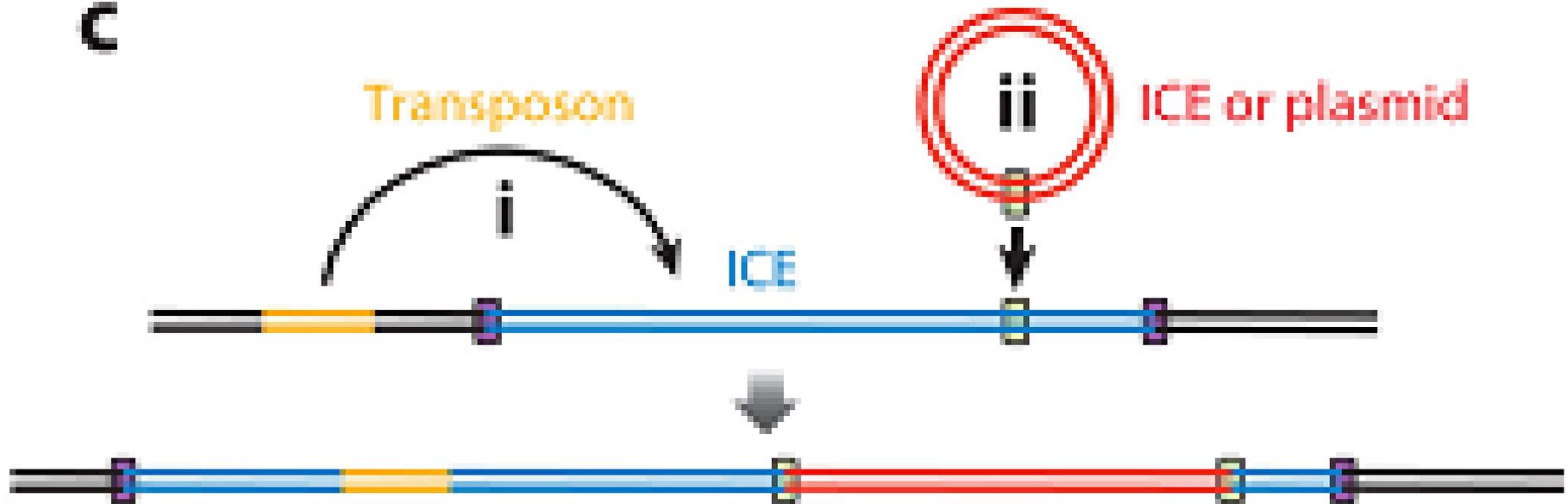


b

Génération de la diversité parmi les ICE

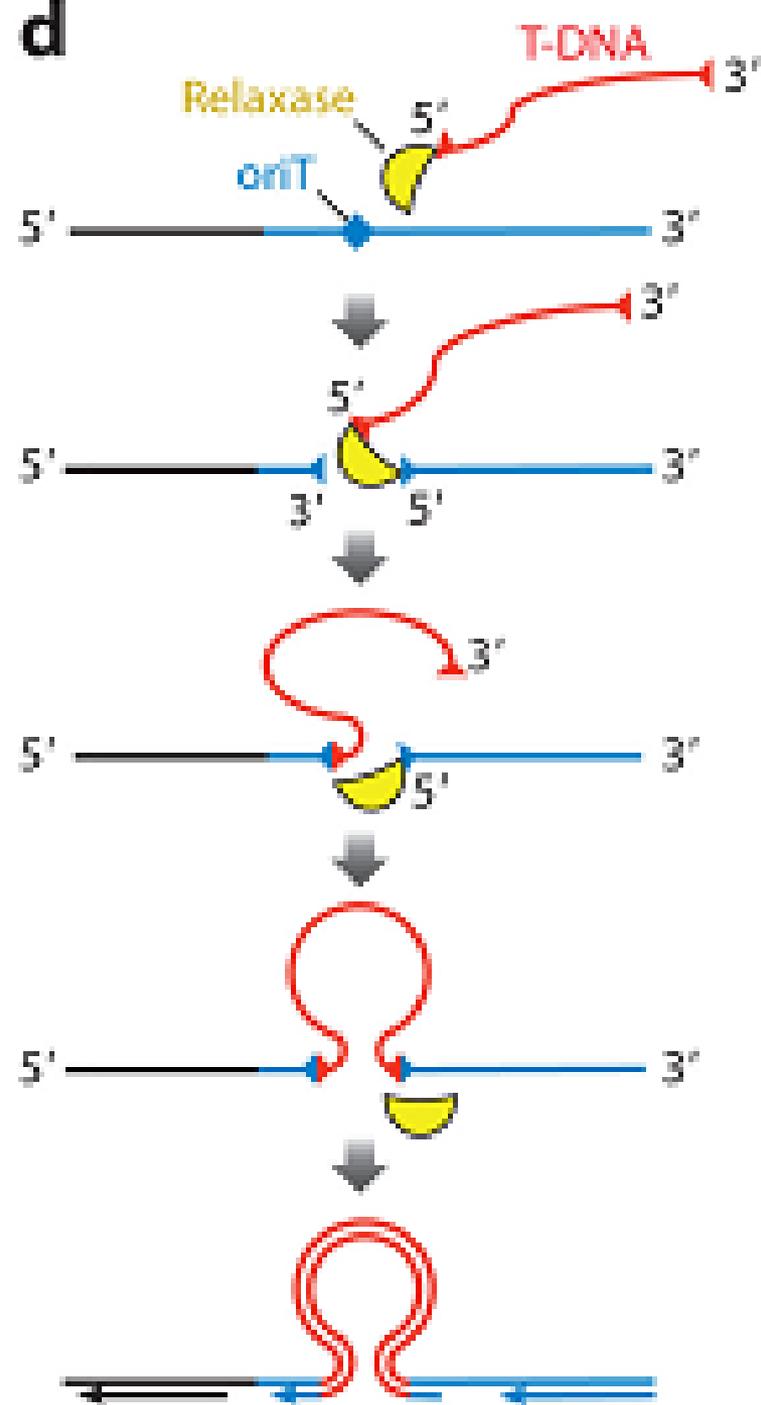
Recombinaison dans un ICE existant

C



Génération de la diversité parmi les ICE

La recombinaison médiée par
la relaxase



Génération de la diversité parmi les ICE

Excision imprécise

- Excision imprécise d'un ICE pourrait entraîner des gènes flanquants, analogues aux excisions imprécises qui génèrent des phages transducteurs spécialisés de type lambda.
- L'acquisition de séquences flanquantes pourrait également se produire si plusieurs séquences ressemblant à un site de fixation sont présentes au-delà des extrémités d'un ICE.
- Une excision imprécise peut être plus fréquente avec les ICE qui ont des sites d'intégration de proximité (par exemple, Tn916) plutôt qu'un seul site préféré.
- Il pourrait également être plus fréquent avec les ICE qui utilisent des recombinases DDE qui ont généralement une faible spécificité de séquence.

Fonctionnement des ICE

- Pour s'intégrer dans le chromosome hôte, les ICE utilisent des intégrases homologues à celles codées par le phage et certains îlots génomiques.
- Pour médier la conjugaison, la plupart des ICE codent pour un système de sécrétion de type IV et des protéines de traitement de l'ADN homologues à celles utilisées par les plasmides conjugatifs.
- Certains ICE subissent une replication du cercle roulant autonome

Intégration et excision des ICE

- L'intégrase (Homologue aux intégrases phagiques) est nécessaire à la fois pour l'intégration et l'excision.
- De nombreux ICE insèrent à un site de fixation spécifique dans le chromosome bactérien (*attB*) qui est souvent dans un gène d'ARNt.
- Le site de rattachement sur un ICE est appelé *attP* ou *attICE*.
- De nombreuses intégrases des ICE sont des recombinases à tyrosine, mais certaines ICE utilisent des sérines ou des recombinases DDE.

- De nombreux ICE ciblent un seul site att dans le chromosome de l'hôte qui est similaire au site att de l'ICE.
- Si le site att normal n'est pas disponible, certains ICE ciblent des sites alternatifs avec une efficacité moindre.
- D'autres ICE ont une spécificité plus faible pour un site att spécifique. Par exemple, CTnDOT insère à plusieurs sites qui correspondent à une séquence consensus, et l'insertion de Tn916 n'est pas spécifique au site dans la plupart des organismes.

Vue d'ensemble de la conjugaison des ICE

- Les ICE codent pour un système de sécrétion de type IV, pour le transfert de l'ADN dans une autre cellule.
- Les systèmes de sécrétion de type IV ont été largement étudiés chez les bactéries à Gram négatif.
- Des systèmes homologues de sécrétion de type IV d'éléments conjuguatifs ont été identifiés dans la plupart des phylums bactériens.
- Certains détails du mécanisme de transfert sont susceptibles de varier, car le nombre et la composition des protéines dans les systèmes de conjugaison varient considérablement.
- Il existe également différents défis dans le transfert à travers la paroi cellulaire dans les bactéries Gram-positives par rapport aux défis rencontrés dans le transfert à travers les membranes internes et externes des bactéries Gram-négatives

Vue d'ensemble de la conjugaison des ICE

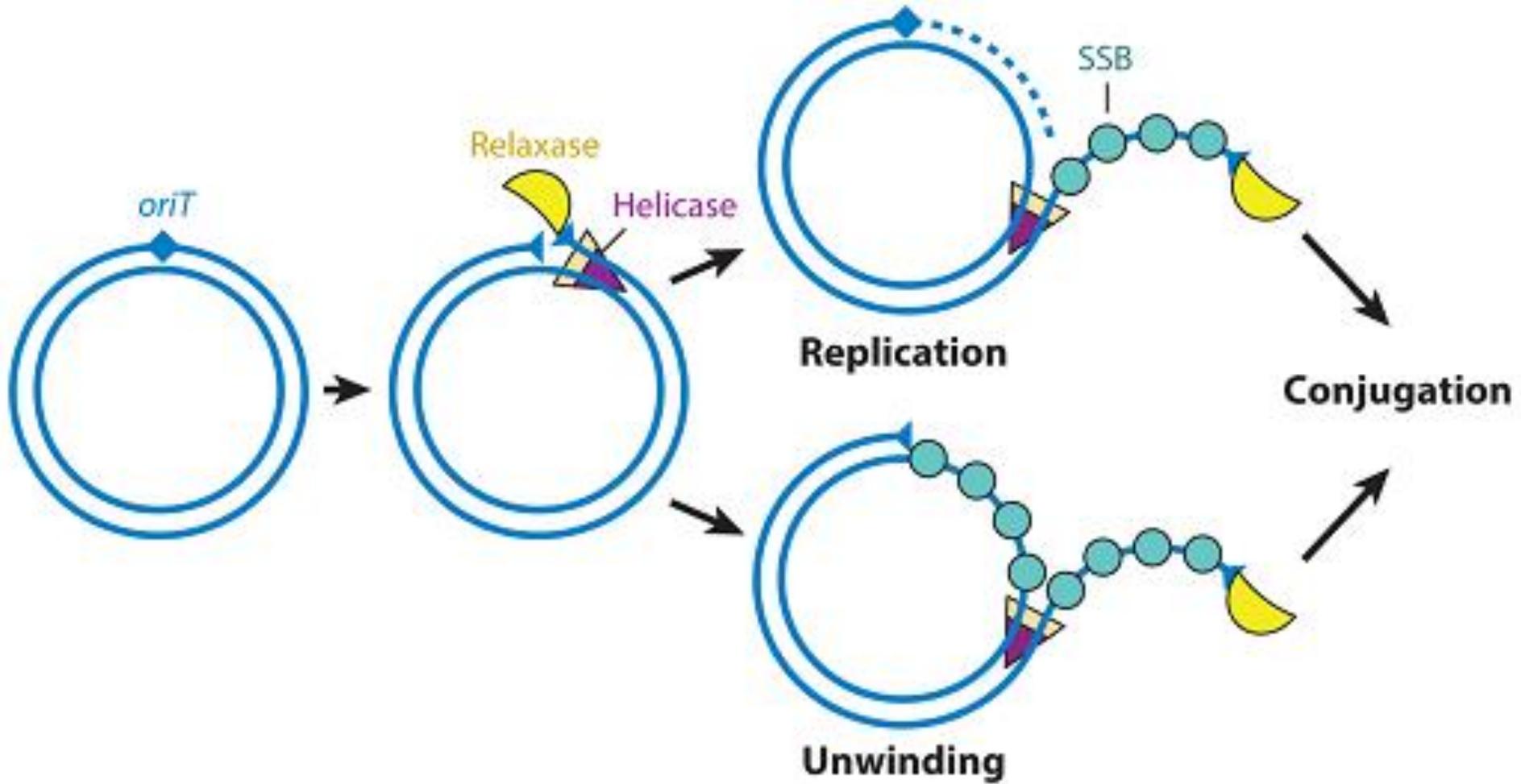
Traitement de l'ADN par une relaxase

- La relaxase reconnaît son oriT apparenté et fait une coupure sb et reste attachée de manière covalente à l'extrémité 5' pour former l'ADN-T.
- Les facteurs de l'hôte et ICE aident tous deux à dérouler les deux brins d'ADN, et une protéine de couplage de type IV codée par l'ICE (une ATPase) engage l'ADN-T avec le système de sécrétion de type IV.
- Le système de sécrétion de type IV permet alors la translocation de l'ADN-T dans la cellule receveuse, où l'ADN est recircularisé par la relaxase.
- L'ADNsb est vraisemblablement converti en ADNdb. *
- De nombreux plasmides conjugatifs utilisent des origines de protéines distinctes pour la réplication et le transfert. En revanche, certains ICE utilisent la même origine et les mêmes protéines pour la conjugaison et la réplication.

Vue d'ensemble de la conjugaison des ICE

Réplication autonome de certains ICE

- Les études sur ICEB₁ fournissent les preuves les plus directes qu'un ICE peut se répliquer de manière autonome.
- La réplication est unidirectionnelle, débute à ori^T et nécessite la relaxase conjugative NickK, le facteur de processivité helicase HelP codé par l'ICE, l'ADN translocase de l'hôte et l'hélicase PcrA, la sous-unité catalytique de l'ADN polymérase PolC et le clamp β (DnaN)



Conjugation resembles rolling-circle replication.

Vue d'ensemble de la conjugaison des ICE

Mobilisation des éléments non conjugatifs

- Les éléments mobilisables peuvent exister en tant que plasmides à réplication libre ou en tant qu'îles génomiques intégrées (îlots génomiques mobilisables) qui s'accumulent avant la mobilisation.
- CTnDOT-ERL, Tn916, SXT et ICEBs1 sont capables de mobiliser des plasmides.
- CTnDOT-ERL peut mobiliser des îlots génomiques connus sous le nom d'unités Bacteroides non réplicatives (NBU), et la famille des ICE SXT-R391 est capable de mobiliser des îlots génomiques d'espèces de Vibrio et d'organismes apparentés.
- Ces îlots génomiques codent pour leur propre intégrase, mais l'excision est régulée par l'ICE mobilisatrice et le transfert dépend de la machinerie de conjugaison de l'ICE.
- Une fois dans un nouvel hôte, ces îles génomiques mobilisables sont capables de s'intégrer indépendamment dans le chromosome.

Vue d'ensemble de la conjugaison des ICE

Distinction entre les relaxases conjugatives et répliquatives

- Les relaxases sont fréquemment classées comme conjugatives ou répliquatives.*
- Cependant, cette distinction est devenue floue, comme en témoigne la capacité de certaines relaxases de plasmides et d'ICE retrouvées chez les Firmicutes à fonctionner à la fois en répliquant et en conjugaison.
- Les séquences des relaxases conjugatives de ICEBs1 (NickK) et Tn916 (Orf20) ressemblent plus étroitement à des relaxases répliquatives que d'autres relaxases conjugatives.
- La relaxase conjugative de ICEBs1 soutient la répliquant de la forme extrachromosomique de cette ICE. **

Vue d'ensemble de la conjugaison des ICE

Synthèse du brin retardé

- Pendant la conjugaison, l'ADNsb est transféré dans le receveur. *
- ICEBs₁ de *Bacillus subtilis* possède un sso**, situé sur le brin transféré, qui permet sa conversion de l'ADNsb en l'ADNdb.
- Le sso de ICEBs₁ est homologue aux ssos de plasmides de bactéries Gram-positives qui se reproduisent par un mécanisme de cercle roulant.
- Ces ssos se replient dans une structure reconnue comme un promoteur par l'ARN polymérase, qui synthétise ensuite un ARN leader qui est utilisé pour amorcer la synthèse de l'ADN.
- D'autres ssos utilisent la primase DnaG pour la synthèse de l'ARN.
- Une fois qu'une amorce est générée au niveau du sso, la machinerie de répllication de l'hôte est recrutée pour achever la synthèse du second brin

Régulation de l'activation des ICE

- Normalement, les ICE sont maintenues en tant qu'éléments quiescents dans le chromosome de l'hôte.
- Les gènes d'excision et de conjugaison ne sont pas exprimés, souvent à cause de la répression active de la transcription.
- Dans certaines conditions, l'ICE peut être induit, entraînant une dé-répression (ou activation) de l'expression des gènes ICE, ce qui conduit à l'excision de l'ICE et potentiellement sa conjugaison.
- Les signaux qui induisent l'expression des gènes de l'ICE et les mécanismes de répression ne sont pas universellement conservés, mais il existe des points communs.

Régulation de l'activation des ICE

Pressions contre l'activation de l'ICE

- En général, l'expression des gènes de conjugaison est susceptible de créer un fardeau métabolique sur l'hôte.
- Il a été montré que l'activation constitutive de SXT (soit par délétion du répresseur de type CI SetR ou surexpression des activateurs de la transcription SetC et SetD) est délétère pour l'hôte.
- Pour sa part, un ICE excisé ne peut plus compter sur la répllication chromosomique pour assurer l'hérédité verticale. Même les ICE qui se répliquent sont perdues par une population si elles sont constitutivement activées.
- En plus de ces considérations générales, l'activation de l'ICE peut être délétère pour un hôte pour des raisons spécifiques.*

Régulation de l'activation des ICE

Induction par une variété de signaux

- Les signaux inducteurs varient pour chaque ICE, mais il existe des stimuli communs connus pour activer plusieurs ICE.
- Ceux-ci comprennent l'induction de la réponse SOS dépendante du recA, les molécules sécrétées des récepteurs potentiels, la phase de croissance de l'hôte et les mécanismes liés aux avantages sélectifs .
- Certains ICE sont connus pour répondre à plus d'un signal.
- La réponse SOS aux dommages à l'ADN induit de nombreux phages lysogéniques à entrer dans le cycle lytique.
- La signalisation cellule-cellule régule la conjugaison de certains plasmides.

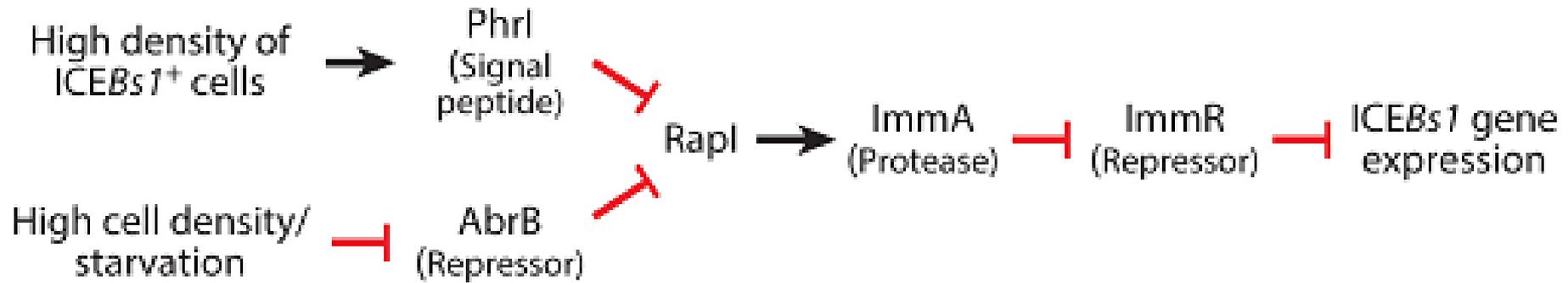
Induction pendant la réponse SOS

- Pendant la réponse SOS, RecA est activée et provoque l'auto-clivage du répresseur LexA, du répresseur CI du phage lambda et des répresseurs apparentés.
- SXT, ICEBs1 et ICESt3all contiennent des gènes homologues aux répresseurs de phages et sont induits par la réponse SOS.
- L'induction des ICE par la réponse SOS indique probablement que l'hôte est confronté à une provocation potentiellement létale et que l'ICE doit se baser sur une transmission horizontale plutôt que verticale pour se propager

Contrôle par la signalisation cellulaire

- Certains ICE sont activés en réponse à la signalisation des cellules (détection de quorum), devenant induits à de fortes densités de population.
- L'utilisation de voies de détection de quorum signale probablement aux cellules contenant des ICE la présence de receveurs potentiels. *
- L'îlot de symbiose de *Mesorhizobium loti* ICEMlsymR7A est induit par des signaux de quorum.
- Il spécifie la production d'au moins une et peut-être deux acyl homosérine lactones, ainsi qu'un facteur de transcription, TraR, qui conduit à l'expression des gènes nécessaires à la conjugaison.
- TraR est activé par plusieurs AHL différentes, ce qui permet probablement à cet élément de répondre à une variété de destinataires potentiels

ICEBs de *B. subtilis* est contrôlé par la signalisation cellulaire de deux façons



Cell-cell signaling induces ICEBs1

Induction pendant la phase stationnaire

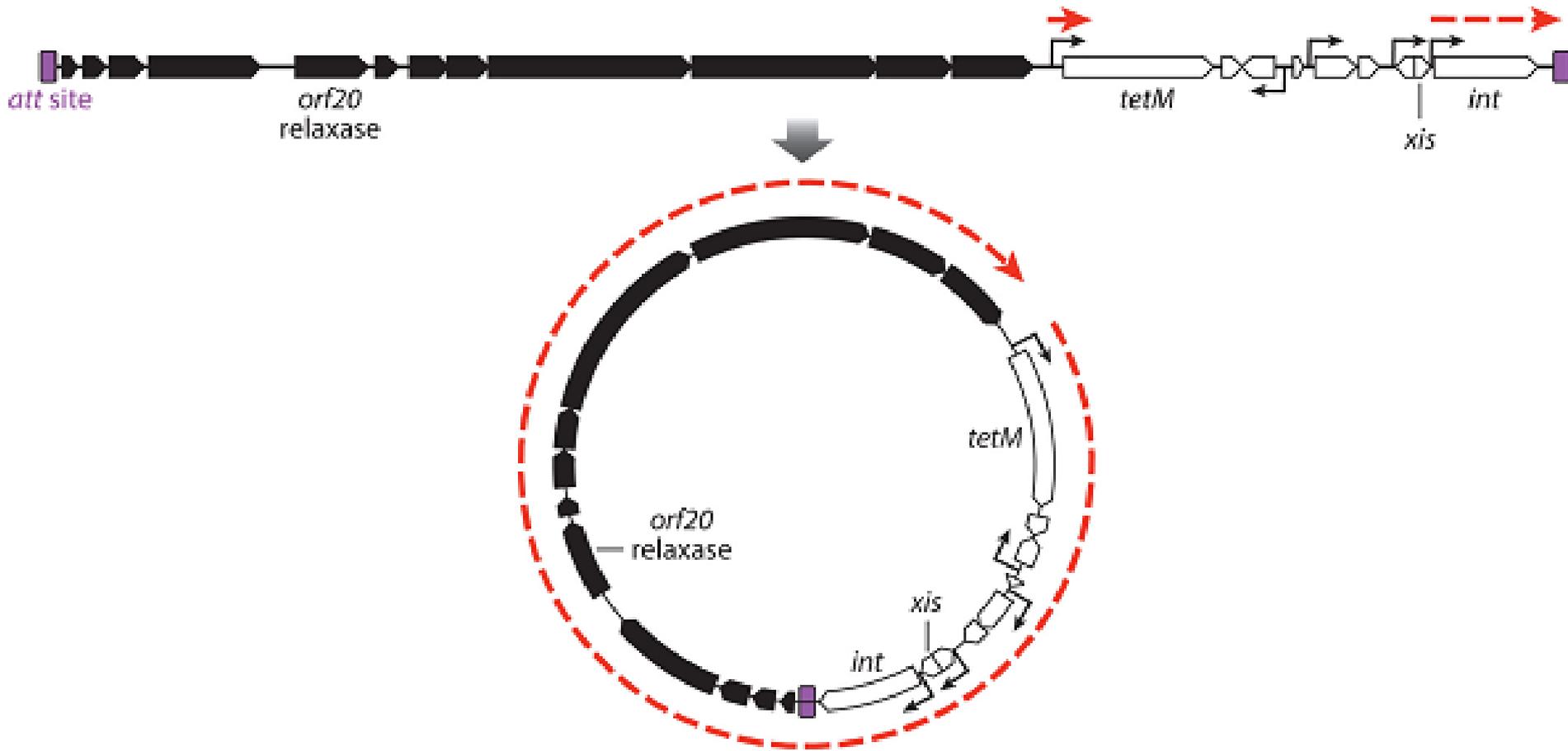
- Dans ICEclc, l'expression des gènes qui régulent la conjugaison est dirigée par le facteur sigma RpoS de la phase stationnaire codé par l'hôte.
- L'induction d'un ICE pendant la phase stationnaire ne conduit pas nécessairement à une conjugaison.*
- La phase stationnaire peut également servir d'indicateur que l'hôte est mal adapté pour croître dans les conditions actuelles. **

Induction phénotypique

- Dans plusieurs cas, l'induction d'un ICE est liée à un avantage sélectif que l'ICE fournit à l'hôte.
- La tétracycline induit la conjugaison de Tn916, qui est initialement régulée au niveau de l'atténuation.

Induction lors de l'entrée dans un nouvel hôte

- Lorsque ICEBs1 est introduit dans un nouveau destinataire, il est capable de se propager rapidement à d'autres cellules d'une manière qui nécessite la machinerie de conjugaison. Cette activité ne nécessite pas rapI, qui est nécessaire pour l'activation de ICEBs1 en réponse à la densité cellulaire.



L'excision de Tn916 permet l'expression des gènes de conjugaison. Alors que l'élément est dans le chromosome, il existe un faible niveau de transcription (flèches pointillées en rouge) de gènes dans la région de régulation (flèches blanches), y compris *xis* et *int*. Les gènes en amont de *tetM*, y compris les gènes de relaxase et de conjugaison, ne sont pas exprimés. Excision et circularisation de Tn916 permet à l'*orf20* (relaxase) et l'opéron de conjugaison contigu et codirectionnel avec la région régulatrice, permettant à tous ces gènes d'être transcrits.