



HAL
open science

Caractérisation des séquences d'insertions ISCR bactériennes impliquées dans la résistance aux antibiotiques

Claire Lallement

► **To cite this version:**

Claire Lallement. Caractérisation des séquences d'insertions ISCR bactériennes impliquées dans la résistance aux antibiotiques. Médecine humaine et pathologie. Université de Limoges, 2018. Français. NNT : 2018LIMO0035 . tel-02306486

HAL Id: tel-02306486

<https://theses.hal.science/tel-02306486v1>

Submitted on 6 Oct 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université de Limoges
École doctorale n°615 - Sciences Biologiques et Santé
Inserm UMR 1092 : Anti-infectieux

Thèse pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Limoges
Immunologie, microbiologie, virologie, parasitologie

Présentée et soutenue par
Claire LALLEMENT

Le 05 octobre 2018

Caractérisation des séquences d'insertions ISCR bactériennes impliquées dans la résistance aux antibiotiques.

Thèse dirigée par Monsieur le Docteur Thomas Jové et Mme la Professeure Marie-
Cécile Ploy

JURY :

Rapporteurs

Mme la Professeure Corinne Arpin, UMR-CNRS 5234, Université de Bordeaux

Mr le Docteur Ivan Matic, UMR 1001, Université de Paris V

Examineurs

Mr le Professeur Vincent Cattoir, Université de Rennes

Mme la Docteure Chantal Jayat-Vignoles, CNRS 7275, Université de Limoges

Mme la Professeure Marie-Cécile Ploy, directrice de thèse, UMR 1092, Université de
Limoges

Mr le Docteur Thomas Jové, directeur de thèse, UMR 1092, Université de Limoges



À ma famille,

À tous ceux qui m'ont accompagnée sur mon chemin,

À Éric et Marion,

À mes parents adorés,

Every great drug discovery (and every modern technological advance) carries with it,[...] two opposing qualities : one positive, healing, and helpful ; one negative, often unintended, sometimes deadly.[...] We must remember that.

Thomas Hager
The Demon under the Microscope

Remerciements

Je souhaiterais remercier Mme la Professeure Corinne Arpin et Mr le Docteur Ivan Matic d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse et mon manuscrit en tant que rapporteurs. J'aimerais remercier le Professeur Vincent Cattoir et la Docteure Chantal Jayat-Vignoles d'avoir accepté de juger mon travail de thèse en tant qu'examinateurs. Merci à tous les membres du jury, pour le temps que vous allez consacrer à ces trois ans de travail de thèse.

J'aimerais remercier aussi la Professeure Marie-Cécile Ploy et le Docteur Thomas Jové d'avoir accepté ma candidature, il y a trois ans. Merci pour votre encadrement, votre soutien et pour votre accompagnement tout au long de ma thèse et surtout sur la fin, où chaque heure été compté. Merci pour tout, recevez toute ma gratitude.

C'est, il y a trois ans, que j'ai entamé mon long périple jusqu'à ce jour 5 octobre, le jour tant attendu de la soutenance. Au cours de ces trois années, j'ai rencontré de nombreuses personnes qui m'ont accompagné, pendant un plus ou moins long moment dans ce séjour au cœur des ISCR. Au delà de mes encadrants, les premières personnes à avoir accueilli cette Nordiste, à l'accent picard qui ne faisait que parler de son ancien laboratoire et de la magnifique ville de Caen (je sais, je ne suis pas du tout objective) furent Margaux, Mélissa, Yohann, Déborah et Elena. Margaux et Mélissa, toujours le sourire, toujours le rire, à parler de bébé, de Quotidien et de Hugo Clément (+ de Martin Weill). Malgré une absence prolongée pour l'une comme l'autre (faut s'occuper de bébé!), c'est toujours avec plaisir et joie que j'entamais la conversation (même quand c'était pour demander à Margaux comment on refaisait les dilutions pour les marqueurs de tailles!!). Merci pour vos mots d'encouragement et votre bonheur humeur si communicative (le midi sans Mélissa, c'est triiiiiste).



Mon Yo, mon Yo. Je pense que je devrais écrire une seconde thèse pour exprimer toute la gratitude que j'ai envers toi, toute l'affection que je te porte. Je devrais, je pense graver tous les conseils que tu m'as donné pendant ma thèse sur les murs du laboratoire, pour les prochains doctorants. Alors, à qui aura le courage de lire ma thèse, suivez ces conseils (Yohann Lacotte Copyright Please) :

- Le Plan (The HoLy OnE) de thèse doit être rédigé 1 an avant la fin de la thèse
- La Rédaction (The Annoying One) doit être commencée au maximum 6 mois avant la fin de la thèse
- La Soutenance (The Liberating One) : pas trop de stress !

Cette liste est une liste non exhaustive. Les conseils de Yohann ne sont absolument pas dangereux pour la Santé, à consommer sans aucune modération.

Un grand merci à toi, pour ton temps, pour nos conversations sur le mystère complet que restent les ISCR, sur tes propres projets de recherche, sur l'avenir de la recherche, sur nos avenir respectifs (mes dieux!) mais aussi par rapport à d'autres sujets, la K-pop et nos groupes préférés, à la cuisine et la nourriture (la bouffe, c'est la vie – Chloé Jacquet). Bref, nos conversations me manqueront, donc attends toi à ce que je t'appelle (à n'importe quelle heure de la journée, en fonction de là où je serais) pour faire un brin de thérapie pour la névrosée que je peux être parfois. Mon Yo, nous avons tellement de souvenir sen commun que je ne peux pas les mettre ici, mais sache que tous ce que nous avons vécu m'accompagneront dans ma petite valise, peu importante l'endroit où je la déposerai. 오빠야, 사랑해요. 와이팅 !!

Déby, ma petite et discrète Déby. Ma coiffeuse personnelle, la gardienne de Saint Yoongi et Grande Prêtresse des vidéos-dont-on-ne-doit-pas-prononcer-le-nom. Les premières approches ont été plus difficiles que prévues, mais c'était sans compter sur mon arrogance Nordiste et mon penchant particulier pour l'érémisme. Bref, une fois la



glace brisée, j'ai découvert une personne incroyable, avec qui j'avais beaucoup, beaucoup en commun. Tes goûts en matière de soins naturels (la nature tout court tu me diras), pour les écrits et la Fanfiction (je pense qu'on peut monter un fanclub à nous deux, tu me diras;)) et bien d'autres. Ta présence m'a toujours relaxée, que ce soit grâce à tes doigts de fée pendant nos soirées henné-cheveux-bouse mais aussi au cours ces quelques week-end passés dans ton havre de paix (avec Monsieur Drogo aussi). Encore plein de bons souvenirs que je conserve jalousement dans ma petite valise. Je voulais aussi te remercier de tes conseils pour la thèse et surtout pour la fin de thèse. Ils s'ajouteront à la longue liste que Yo m'a déjà donnée ! Un autre merci, pour m'avoir redonné envie d'écrire. Je me mets au NaNoWriMo cette année et on va bien voir ce qu'il va en découler.

To Elena, next. My sweet Elena who gave me so much. That's why I'm taking the time to write you this part in English, because first, you deserve it and second, you know how much I love practising my English. First of all, you are the most relaxed/relaxing person that I know. Despite all the stress you can carry around (and this stress is truly normal, regarding how much you do have to manage), you always have the right word. The right way to explain things. The way right argument to cool me down. You helped me focus on the most important things in my thesis which included my well and balanced being, my stable mindset and you also prevented a lot of breakdowns. I'm also happy that you found in me someone you can relay on and you can trust. All your advices for my future career were very effective and I hope that I can manage to develop a blooming career thanks to all your kind words. I'll cherish our freindship the longest that I can. Thank you so much for all the time you waste on my troubles and just for being there in general, always caring, always smiling.

Puis, ce fut le moment où mon homonyme arriva ! Ma Clairounette, mon rayon de soleil, la maman du labo qui prend toujours soin de nous (c'est ton côté médecin), qui vérifie



que tout le monde mange bien équilibré etc. Au fil des mois suivants notre rencontre, j'ai appris tellement de choses sur toi et sur la vie en général. Tu es une personne incroyable, pleine de motivation, qui ne se laisse pas abattre et surtout pleine d'énergie ! Je crois que pour ce dernier point, tu me complètes bien (je t'écris ça de mon lit, où je suis enroulée sous trois couches de plaid, en mode burrito!). Encore merci pour ta présence, ton soutien et ton sourire rayonnant ! Je te souhaite bon vent, sur les Terres de Jonzac.

Puis, patatra, c'est le moment, au fin de ma première année, où THE couple est entré dans ma vie. Oui, oui, c'est à vous que je parle, Murielle et Florence, ne vous cachez pas derrière vos téléphones. Quoi dire de mes deux entertainers préférés. Vous les laissez toutes les deux cinq minutes, et vous assisterez à la plus fascinante des querelles de couple. Mon vieux couple. Vous êtes même capables de vous chamailler à 500 km d'écart, en vidéo conférence sur Skype. Vous me surprendrez toujours ! Alors, Murielle, nos débuts ont été un peu mouvementés, voir même retardés par des circonstances bien malheureuses mais je suis contente que toi comme moi, avons su passer outre et je suis fière d'avoir pu construire une amitié solide avec toi. Toujours à me rassurer, à m'écouter et à m'encourager. Les derniers mois de ma thèse n'auront pas été les mêmes sans tes gentils mots quasi quotidiens et ce, même si tu étais bien loin! Encore merci pour ton temps et ton soutien, I heart you very very much ! Bon, la suivante sur la liste, est la Flo, non non, je ne t'ai pas oubliée, ne t'en fais pas. Ma Flo, d'abord, avant tout, je tiens à te dire ces mots, qui me viennent vraiment du fond du coeur : mais POURQUOI m'as-tu fais découvrir la K-Pop !?! Je suis tombée dans cette abysse sans fond qu'est cet univers !

...

C'est faux, hein ? Je serais à jamais reconnaissante que tu m'y ais un peu forcée ^^ ! Comment aurais-je pu survivre à l'écriture de ma thèse sans BTS, ni NCT (j'y reviendrais plus tard) ?! Enfin, ma Flo, notre Unicorn Nationale, au-delà de tes talents pour

l'embrigadement, ta présence a toujours été pour moi un boost de bonne humeur. Ton côté « cute », ta curiosité et ta franchise ont toujours été pour moi une source de réconfort. Je me suis sentie toujours à l'aise avec toi, malgré le fait que tu sois parfois un peu farouche (un chouïa promis!). Tes encouragements, et ton soutien tout au long de ma thèse m'ont beaucoup touché. J'espère que les Ch'tis prennent bien soin de toi. I heart you very very much too:)(Je t'envoie des Donghae et des Jungkook par la même occasion).

Mais il y a aussi Chloé ? Malgré le fait que tu sois arrivée au laboratoire avant moi, on a vraiment appris à se connaître quand tu es arrivée en thèse. Chloé, la boule d'énergie qui réveille tout le monde tous les matins, avec un « Bonjour » dopé au magnésium et le bruit de ses talons. Chloé, la dose de caféine nécessaire pour réveiller l'instinct du scientifique ! Bref, merci pour tous ce que tu as fait pour moi, ton soutien, tes encouragements (et tes talents de taxiwoman sur la fin). Je te souhaite beaucoup de courage pour la fin de la thèse, même si je sais que tu vas très bien t'en sortir. Rappelle - toi des conseils de Yo et de Déby !!

À mon stagiaire, Anthony. Qui malgré son incroyable capacité à râler H24, m'a épaulé pendant 2 mois d'un point de vue technique, et pendant plus d'un an d'un point de vue psychologique. Merci mon petit, je te souhaite plein de bonnes choses pour la suite !

Aux prémices de ma troisième année, une nouvelle arrivée a permis à ma thèse de prendre un nouveau tournant. Au matin du 29 août 2017, une autre Picarde a envahi le laboratoire : Cécile. Ma petite Cécile, tout d'abord, je savais que ton arrivée au laboratoire était du pain béni pour mes travaux de thèse, mais je t'avoue que je n'aurais jamais imaginé que notre relation de travail tourne comme ça. Je chéris tous les moments que nous avons passé ensemble cette année, qu'ils soient positifs ou négatifs. Professionnellement comme personnellement, tu as été un vrai soutien pour moi. Tes qualités de pédagogue, ton expertise et tes qualités de diplomate m'ont permis d'avoir



un regard plus critique sur mon travail et de prendre un peu de recul sur ma thèse. Tu as toujours été présente pour moi, même lorsque ton emploi du temps était un peu bousculé. Tu n'as pas idée à quel point tout ce que tu as fait pour moi, ta présence et ton soutien comptent pour moi. Je te souhaite plein de bonheur pour ta carrière à Limoges, et beaucoup de réussite (même si je m'en fais pas pour ça!).

La suivante à être arrivée au laboratoire fut notre belle Linda ! Après avoir été privée de co-bureau pendant presque 4 mois, tu m'as été attribuée comme colocataire. J'ai découvert en toi une personne pleine de vie, au grand sourire, un brin romantique et surtout tellement ouverte d'esprit. J'ai adoré nos conversations sur les visions que l'on portait sur nos cultures, les religions, le rapport homme-femme avec nos expériences personnelles et nos cultures si différentes. Tu as toujours été là, malgré mes plaintes incessantes pendant l'écriture, mes raps impromptus en coréen (enfin plutôt en yaourt), mes breakdowns nerveux, mes gigotements intensifs. Merci pour tous les moments partagés, dans notre bureau, devant le bain-marie, à râler parce que les poubelles débordent . Je te peux donc te laisser le trône du Royaume des Essais B-gal désormais. Tu me manqueras, ma sœur.

Merci Merci à Emmanuelle, qui malheureusement, n'a pas été présente longtemps mais ton passage au laboratoire nous as fait énormément de bien à tous. Merci pour ton soutien et j'espère – je sais- que la suite se déroulera comme tu le souhaites ! Ta choupie t'envoie beaucoup de courage et plein de bisous.

Un grand merci à Sandra, avec qui nous avons longuement discuté de mes travaux, de régulation et qui m'a apporté beaucoup d'aide à la fin de ma thèse.

Merci à tous les gens qui sont passés au laboratoire (voire qui y traînent encore) et avec qui j'ai créé de bons moments : Thibault, Michaël, Raphaëlle, ma nouvelle co-bureau Camille, Wadad, Carmen, Charlotte, Lilian et bien d'autres. Si je vous ai oublié, ne m'en



voulez pas, s'il vous plaît. En tous cas, un grand merci à toute l'équipe de l'UMR 1092, au soutien inconditionnel et à votre accueil. Ces trois ans seront à jamais graver dans ma mémoire.

Assez parlé de l'UMR 1092, il y a des gens de l'autre côté qui m'ont aussi accompagnés pendant un bon moment.

Ma Clo, mon petit chat. Tu te rends compte que tu te marrais quand on parlait de K-Pop, tout en soupirant comme des jeunes filles en fleurs, et que tu es revenue de Corée avec plein d'étoiles dans les yeux (d'ailleurs, je te boude encore un tout petit peu). Ma Clotilde, tu as été mon autre rayon de soleil, ma dose de vitamine D journalière. Ton soutien, ton aide précieuse, ton sourire et ta douceur m'ont fait énormément de bien. Toute cette bienveillance a été salvatrice pour moi. Merci, mille merci pour tout ce que tu as fais, dis pour moi et pour ta présence rassurante. Coeur-Coeur-Love.

Une petite pensée pour Azra. Notre temps ensemble a été relativement court mais sache que j'ai apprécié toutes nos conversations (surtout orientées Corée), et un grand merci pour tes encouragements et tes gentils mots. Ils m'ont donné un peu de carburant pour continuer mon chemin. Je t'en envoie maintenant pour la fin de thèse. Je t'embrasse fort !

À ma poulette Héloïse, avec qui je poursuis mon chemin de scientifique depuis presque 7 ans. Il ne te reste plus grand-chose à parcourir pour arriver au bout, courage. Je t'embrasse fort et je te dis à bientôt, au pied du Château de Caen, même heure, même endroit.

À tous ces gens qui m'ont accompagnée sur le chemin qui m'ont mené jusqu'au 5 octobre 2018. Je pense tout naturellement à mes professeurs qui m'ont enseigné la



biologie depuis maintenant 11 ans. À tous ceux qui m'ont encouragés, à tous ceux qui m'ont donné le goût de la recherche. À mes encadrants de stages, François, Nicolas, Clara, Sandrine. À mes anciens collègues du laboratoire de microbiologie du CHU de Caen, qui ont cru en moi et qui m'encouragent encore, à chaque fois que je leur rends visite. À tous ceux qui ont cru en moi et qui m'ont donné une chance, merci, mille fois merci. Cette thèse est la dernière pièce à l'édifice auquel vous avez tous contribué.

À ma famille, de près ou de loin, votre soutien s'est révélé moteur pour ma thèse.

Bien sûr, un énorme merci à mes deux personnes, Éric et Marion. Vous quitter a été une réelle épreuve pour moi, surtout après les 4 années chargées de merveilleux souvenirs et moments. Malgré la difficulté de me voir partir, vous m'avez toujours encouragé à foncer, à faire le bon choix pour ma carrière. On a souvent rigolé sur le fait que vous êtes mes parents adoptifs, mais vous vous êtes réellement comportés comme tel. Un soutien inconditionnel, toujours présent, toujours rassurant. Je vous ai toujours dit que Caen était ma vraie maison et c'est surtout car vous êtes là. Pour tout vous avouer, je n'arrive même pas à trouver les mots pour vous dire à quel point je suis reconnaissante. Vous m'avez donné tant. Vous m'avez aidé à devenir celle que je suis aujourd'hui et sachez que je suis très fière de la personne que je suis devenue. Je vous aime très très fort. Votre petite.

Enfin, à mes parents. Premièrement, sachez que si je suis là aujourd'hui, devant mon écran à écrire mes remerciements, 5 jours avant de soutenir ma thèse de Sciences, c'est surtout grâce à vous. Je me rends pas toujours compte de la chance que j'ai, à vous avoir, vous deux, mes parents adorés. Tous ce que vous avez sacrifié pour m'aider à arriver là



où je suis aujourd'hui. Je vous avouerai que cette thèse est certes pour moi, mais elle surtout pour vous, pour vous rendre fiers. Durant ces trois ans de thèse, vous avez été non seulement mes thérapeutes, mes cheerleaders, mes conseillers financiers et administratifs, mais surtout mes parents. À me remettre les idées en place quand il le fallait, à me rassurer dans les coups durs, à m'écouter parler des heures sur mes dernières découvertes, même si vous n'y comprenez rien, à me laisser râler pour un rien. Merci pour tous, mille fois pour votre soutien continu, jusqu'à la dernière minute. Je vous aime. Votre fille.

Merci pour tout,

Thank you for everything

정말 감사합니다

Ps : Merci à BTS, NCT et bien d'autres pour m'avoir permis d'écrire tout en écoutant de la bonne musique. Vive la K-pop !



Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Sommaire

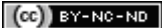
Liste des abréviations.....	17
Index des tableaux.....	18
Introduction bibliographique.....	21
Préambule : L'antibiorésistance, le mal du XX ^{ème} siècle.....	22
I. Les antibiotiques.....	23
I.A. Inhibition de la synthèse protéique.....	24
I.B. Déstabilisation de la paroi bactérienne.....	24
I.C. Inhibition de la synthèse d'acides nucléiques ou des processus liés à l'ADN.....	24
II. Le revers de la médaille : l'apparition des résistances.....	25
Chapitre I. Les Éléments Génétiques Mobiles.....	28
I. Définition et diversité.....	28
II. Les séquences d'insertion.....	32
II.A. Historique.....	33
II.B. Structure.....	33
II.C. Diversité.....	36
III. Impact des IS chez les procaryotes.....	39
III.A. Mobilisation de gènes et de segments d'ADN.....	40
III.B. Expansion, élimination et rationalisation des génomes.....	41
III.C. Choix de la cible.....	42
III.D. Interruption de gènes.....	43
III.D.1. Modulation de la résistance aux antibiotiques (ATB) ou aux xénobiotiques.....	44
III.D.2. Modulation de la virulence.....	46
III.D.3. Modulation du métabolisme.....	47
III.D.4. Contribution des éléments IS à l'expression des gènes.....	47
Chapitre II. Les ISCR.....	50
I. Historique.....	50
II. Structure.....	52
II.A. La transposase RCR.....	53
II.B. Les extrémités bordant l'élément.....	55
III. Mécanisme de transposition des transposases HUH.....	57
III.A. Transposition des membres de la famille IS200/IS605.....	58
III.B. Transposition de IS91 (famille IS91).....	59
III.C. Les ISCR sont-elles mobiles ?.....	62
IV. Diversité.....	62
IV.A. ISCR1.....	63
IV.A.1. Structure.....	63
IV.A.2. Environnement génétique.....	64
IV.A.3. Formation des intégrons complexe de classe 1 selon le modèle de Tolesman <i>et al.</i> , 2006.....	65
IV.B. ISCR2.....	67
IV.B.1. Structure et prévalence.....	67
IV.B.2. Environnement génétique.....	68
IV.C. ISCR8.....	69
IV.C.1. Structure.....	69
IV.C.2. Environnement génétique.....	69
IV.D. ISCR3 et apparentés.....	70
IV.D.1. Généralités.....	70
IV.D.2. Environnement génétique.....	71
IV.D.3. Modèle proposé par Cattoir <i>et al.</i> , pour la mobilisation du gène <i>qepA2</i> par ISCR3.....	72
V. Origine des ISCR.....	74
Chapitre III. L'expression et la régulation des gènes chez les procaryotes.....	75
I. La transcription.....	75



I.A. Les éléments essentiels au processus de transcription.....	75
I.A.1. Le promoteur.....	75
I.A.2. L'ARN polymérase.....	76
I.A.3. Les facteurs σ	78
I.B. Déroulement de la transcription.....	80
I.B.1. L'initiation.....	80
I.B.2. L'élongation.....	80
I.B.3. La terminaison.....	81
II. Facteurs modulant l'expression des gènes.....	81
II.A. Petites molécules.....	81
II.A.1. ppGpp.....	81
II.A.2. ARN 6S.....	82
II.B. Protéines de régulation de la transcription.....	82
II.B.1. Mécanismes de modulation de l'expression.....	82
II.B.1.1. Activation.....	82
II.B.1.2. Répression.....	85
II.B.2. Les différents types de régulateurs.....	87
II.B.2.1. Régulateurs globaux.....	88
II.B.2.2. Régulateurs via un système à deux composants.....	92
II.B.2.3. Autres régulateurs.....	94
III. Régulation de l'expression des gènes de transposases.....	95
Objectifs de thèse.....	97
Matériel et Méthodes.....	99
I. Bactéries, plasmides et milieux de cultures.....	100
II. Clonages.....	101
III. Transductions.....	102
IV. Préparation de cellules électrocompétentes.....	103
V. Essais β -galactosidase.....	103
VI. Induction de stress.....	104
VII. Retard sur gel.....	104
VIII. Outils bioinformatiques et tests statistiques.....	104
Résultats.....	106
Première partie : Étude <i>in silico</i> de la diversité des ISCR et leurs caractéristiques fonctionnelles. .	107
I. Panorama de la famille des ISCR.....	108
II. Caractéristiques des ISCR.....	109
II.A. La transposase.....	109
II.B. Taille de l'élément.....	112
II.C. Région <i>terS</i> et <i>terS</i>	113
II.D. Région <i>oriS</i> et <i>oriS</i>	113
Deuxième partie : Comprendre l'implication de l'élément ISCR1 dans l'expression des gènes en aval	117
Troisième partie : Étudier les mécanismes de régulation de l'expression du gène de la transposase	
<i>rcr1</i>	133
I. Caractérisation du promoteur du gène de la transposase RCR1 de ISCR1.....	134
II. Régulation SOS du promoteur de la transposase <i>rcr1</i>	136
III. Rôle des autres régulateurs transcriptionnels dans l'activité de <i>Prcr1</i>	139
III.A. Étude <i>in silico</i>	139
III.B. Impact des régulateurs globaux.....	142
III.B.1. Influence du régulateur global IHF.....	143
III.B.2. Influence de la protéine CRP.....	148
III.C. Bilan des régulations.....	151
III.D. Le dénominateur commun : la protéine régulatrice OmpR.....	153
Discussion.....	162



Conclusions et Perspectives.....178
Références bibliographiques.....181
Annexes.....217



Liste des abréviations

A	Adénine
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ARN	Acide Ribonucléique
ATB	Antibiotique
C	Cytosine (acide nucléique) ou Cystéine (acide aminé)
CR	Common Région
CRP	Protéine Réceptrice à l'AMPc
CS	Segment Conservé
CTX	Céfotaxime
D	Aspartate / Acide aspartique
E	Glutamate / Acide glutamique
EBP	« Enhancer Binding-Protein »
EGM	Élément Génétique Mobile
F	Phénylalanine
Fis	Facteur d'inversion de phase
FNR	Fumarate et nitrate réduction protéine
G	Guanine (acide nucléique) ou Glycine (acide aminé)
H	Histidine
HK	Histidine Kinase
HLH	Hélice-Boucle-Hélice
HNS	Protéine de structure Histone-Like associée au nucléoïde
HTH	Hélice-Tour-Hélice
ICE	Élément Intégratif et Conjugatif
IHF	Facteur d'intégration à l'hôte
IR	Séquence Inversée Répétée
IRL	Séquence Inversée Répétée gauche
IRR	Séquence Inversée Répétée droite
IS	Séquence d'Insertion
ISCR	Séquence d'Insertion de Région Commune
K	Lysine
L	Leucine
Lrp	Protéine de réponse à la Leucine
MITE	Élément transposable miniature avec des répétitions inversées
NAP	Protéine Associée au Nucléoïde
OH	Groupe hydroxyle
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
orf	Cadre ouvert de lecture
PABA	Acide Para-aminobenzoïque
Pc	Prometteur de Casette
Pout	Promoteur dirigé vers l'extérieur
R	Arginine
RCR	Réplication en Cercle Roulant
RR	Régulateur de Réponse
SARM	Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline
SGI	Îlot Génomique de <i>Salmonella</i>
SOS	« Save Our Souls »
SXT	Co-trimoxazole (Association triméthoprimine + sulfaméthoxazol)
T	Thymine
TE	Éléments transposables
tIS	Séquence d'insertion transportant un gène
TCS	Système à deux composants
Tn	Transposon
U	Acide aminé hydrophobe
Y	Tyrosine



Index des tableaux

Tableau 1: Gènes de résistance aux antibiotiques décrits en aval de <i>ISCR1</i>	64
Tableau 2: Gènes de résistance présents dans l'environnement direct en aval de <i>ISCR2</i>	68
Tableau 3: Gènes présents dans l'environnement direct en aval de <i>ISCR8</i>	69
Tableau 4: Familles des facteurs σ . Adapté d'après (J. D. Helmann 2002).....	79
Tableau 5: Souches utilisées pour cette étude.....	100
Tableau 6: Plasmides utilisés lors de cette étude	101
Tableau 7: Répertoire des logiciels et banques de données utilisés lors de cette étude.....	105
Tableau 8: Caractéristiques des éléments <i>ISCR</i> décrits lors de notre étude.....	114
Tableau 9: Activité β -galactosidase du promoteur <i>Prcr1</i> et de ses dérivés mutés.....	135
Tableau 10: Impact des mutations du site de fixation de LexA sur l'activité de <i>Prcr1</i>	138
Tableau 11: Régulateurs déterminés lors de l'étude <i>in silico</i> et leurs fonctions.....	141
Tableau 12: Impact de la délétion du gène <i>ihfA</i> sur l'activité du promoteur <i>Prcr1</i>	145
Tableau 13: Impact de la délétion du gène <i>ihfA</i> sur le promoteur <i>Prcr1</i> et ses dérivés.....	145
Tableau 14: Impact de la délétion du gène <i>crp</i> sur l'activité du promoteur <i>Prcr1</i> et ses dérivés.....	149
Tableau 15: Récapitulatif des résultats obtenus au cours de cette étude.....	151
Tableau 16: Impact de la délétion du gène <i>ompR</i> sur l'activité du promoteur <i>Prcr1</i> et ses dérivés	155
Tableau 17: Impact de la croissance en milieu minimum sur l'activité de <i>Prcr1</i> dans différents fonds génétiques.....	158
Tableau 18: Impact de mutations dans les sites OmpR sur l'activité du <i>Prcr1</i>	160



Table des illustrations

Figure 1: Chronologie de la mise sur le marché des familles d'antibiotiques.....	22
Figure 2: Représentation schématique des différents mécanismes d'action des antibiotiques et leurs cibles.....	23
Figure 3: Chronologie d'apparition des antibiotiques sur le marché et des résistances associées..	26
Figure 4: Représentation schématique des différents mécanismes impliqués dans la résistance aux antibiotiques.....	27
Figure 5: Mécanismes de transferts horizontaux de gènes.....	29
Figure 6: Diversité des éléments génétiques mobiles.....	32
Figure 7: Représentation schématique des séquences d'insertion et de leurs différentes organisations.....	35
Figure 8: Distribution des familles d'IS retrouvées dans la base de données ISfinder (P. Siguier et al. 2006).....	39
Figure 9: Rationalisation du génome par expansion et élimination des séquences d'insertions.....	42
Figure 10: Effets possibles de l'insertion d'une IS.....	44
Figure 11: Activation de l'expression des gènes par l'insertion d'une IS.....	49
Figure 12: Représentation schématique de l'environnement génétique de ISCR1 lors de sa découverte au sein des intégrons In6 et In7.....	50
Figure 13: Chronologie de la découverte des différents éléments ISCR.....	52
Figure 14: Représentation schématique d'un élément ISCR.....	53
Figure 15: Alignement des séquences en acides aminés des transposases RCR pour ISCR1, ISCR2, ISCR3, ISCR4 et ISCR5.....	55
Figure 16 : Alignement représentant les différents <i>oriS</i>	56
Figure 17 : Alignement des séquences du <i>terIS</i> pour les éléments ISCR4, ISCR2 ainsi que les trois membres de la famille IS91, IS1294, IS91 et IS801.....	57
Figure 18: Mécanisme de transposition simple-brin de IS608 d' <i>Helicobacter pylori</i>	59
Figure 19: Modèles de transposition pour les membres de la famille IS91.....	61
Figure 20: Identité entre les 12 premières ISCR après alignement des séquences en acides aminés de la transposase RCR.....	63
Figure 21: Génération des intégrons complexe de classe 1 par l'intervention de ISCR1.....	66
Figure 22: Arbre phylogénétique du groupe des ISCR3 avec ISCR2 et ISCR1 basée sur la séquence en acides aminés.....	71
Figure 23: Modèle proposé pour la mobilisation du gène <i>qepA</i> et la génération de la protéine fusion $\Delta groEL/ES-\Delta int1$ par l'ISCR3.....	73
Figure 24: Structure de l'ARN polymérase bactérienne.....	77
Figure 25: Interactions entre les différents domaines du facteur $\sigma 70$ et les séquences promotrices.....	79
Figure 26: Mécanismes d'activation de la transcription par des facteurs de transcription.....	83
Figure 27: Mécanismes de répression de la transcription par des facteurs protéiques de transcription.....	86
Figure 28: Réseau de régulation chez <i>Escherichia coli</i>	88
Figure 29: Représentation d'une système à deux composants.....	92
Figure 30: Schéma représentatif de la réponse SOS au sein d'une cellule de <i>Escherichia coli</i>	95
Figure 31: Arbre phylogénétique des séquences protéiques des transposases RCR.....	109
Figure 32: Alignement des régions promotrices du gène de la transposase des membres de la famille ISCR.....	111
Figure 33: Séquence complète de la région <i>terIS</i> de l'élément ISCR1, contenant la région promotrice du <i>Prcr1</i>	135
Figure 34: Activité de <i>Prcr1</i>	137
Figure 35: La protéine LexA se fixe au promoteur <i>Prcr1</i>	139
Figure 36: Séquence complète de la région <i>terIS</i> de l'élément ISCR1, contenant la région promotrice du <i>Prcr1</i> avec les opérateurs potentiels CRP et IHF.....	143
Figure 37: Séquence consensus du site de fixation à la protéine IHF, régulateur global.....	144
Figure 38: Influence de la protéine régulatrice IHF sur l'activité du promoteur <i>Prcr1</i>	146

Figure 39: Séquence consensus du site de fixation à la protéine CRP, régulateur global.....	149
Figure 40: Impact de la protéine Crp sur l'activité du promoteur <i>Pcr1</i>	150
Figure 41: Diagramme de Venn des régulons, IHF, CRP et LexA chez <i>E. coli</i> K-12.....	152
Figure 42: Sites opérateurs OmpR et consensus.....	154
Figure 43: Influence de la protéine OmpR sur l'activité du <i>Pcr1</i>	156
Figure 44: Modèle de régulation connu pour l'expression du gène <i>ompR</i>	158
Figure 45: Impact de la croissance en milieu minimum sur les promoteurs <i>Pcr1</i> , <i>PompF</i> et <i>PompC</i>	159
Figure 46: Impact de la délétion du gène <i>lexA</i> sur des promoteurs de transposases de différents sous-groupes de la famille ISCR.....	168
Figure 47: Profil de régulation des promoteurs des gènes <i>ompF</i> et <i>ompC</i> par la protéine OmpR selon les conditions osmotiques du milieu.....	173
Figure 48: Modèle de régulation pour le promoteur du gène de la transposase de l'élément ISCR1	176



Introduction bibliographique



Préambule : L'antibiorésistance, le mal du XX^{ème} siècle

Les épidémies bactériennes sont connues à travers l'Histoire pour avoir causé la mort de millions de personnes. Parmi les plus meurtrières, la peste de Justinien a décimé 25 millions de personnes majoritairement autour du bassin méditerranéen (Harbeck et al. 2013) et au XIV^e siècle, la peste noire a tué entre 25 et 50 millions de personnes en Europe sur 5 ans (Haensch et al. 2010).

Ces bactéries pathogènes ont, à travers ces épidémies, créé une angoisse face à laquelle l'Homme était impuissant. Néanmoins, au début du siècle dernier, la découverte des antibiotiques mis à mal ces infections bactériennes incurables.

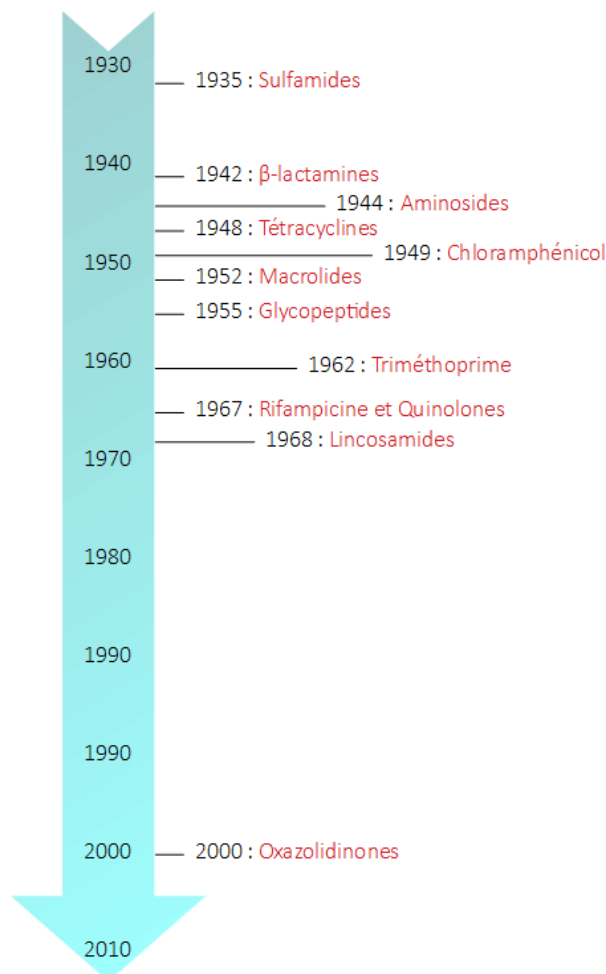


Figure 1: Chronologie de la mise sur le marché des familles d'antibiotiques.

Le premier antibiotique découvert fut la pénicilline. À la fin des années 1920, le docteur Alexander Fleming mis en évidence la capacité d'une moisissure, *Penicillium notatum*, à inhiber la croissance des Staphylocoques. Plus tard, il découvrit la molécule responsable de cette inhibition, produite par le champignon : la pénicilline (Fleming 1929). Il faudra attendre 1942 pour que la pénicilline soit commercialisée car celle-ci présentait des difficultés à être produite à grande échelle. Le premier antibiotique à avoir été commercialisé fut le sulfomanide (Pontosil®), molécule

D'après les données de l'OMS de colorant en 1931 par le pathologiste Gerhard Domagk. Cette molécule va permettre un tournant favorable dans le cadre du

traitement des infections à Streptocoque (Domagk 1935). Par la suite, de nombreux antibiotiques vont être découverts et caractérisés (Figure 1).

I. Les antibiotiques

La définition des antibiotiques a été établie en 1947 par Selman Waksman (Waksman 1947). Il définit l'antibiotique comme une molécule organique capable d'inhiber la croissance bactérienne (antibiotique bactériostatique) ou bien capable de tuer 99,9 % des bactéries (antibiotiques bactéricides). Ces antibiotiques sont majoritairement produits par des microorganismes mais certains sont synthétisés chimiquement. Les antibiotiques d'origine naturelle peuvent être modifiés par voie chimique et ils seront alors héli-synthétiques. Les cibles de ces antibiotiques sont spécifiques et concernent 5 domaines cellulaires: la synthèse protéique, la paroi bactérienne, la membrane plasmique, la synthèse d'acides nucléiques ou les molécules liées à l'ADN (Figure 2).

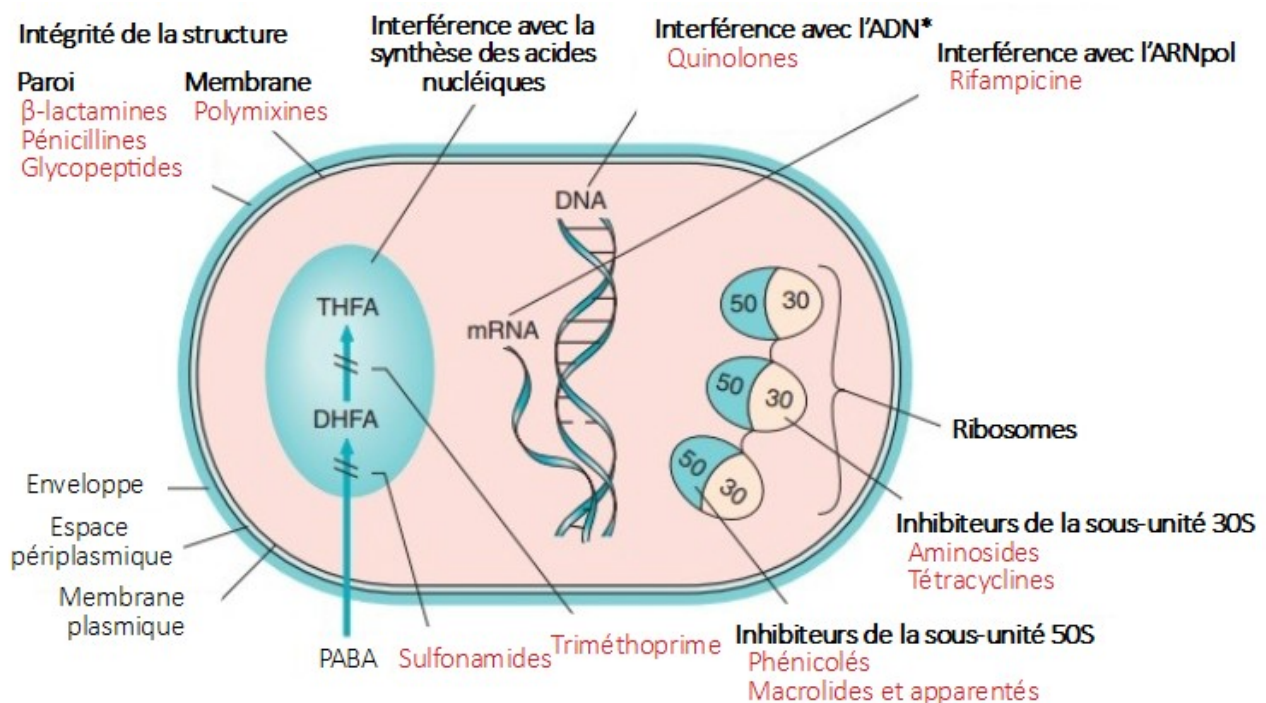


Figure 2: Représentation schématique des différents mécanismes d'action des antibiotiques et leurs cibles

* : Les cibles sont les topoisomérases IV et la gyrase et non pas l'ADN. DNA : ADN mRNA : ARN messagers. Les chiffres 50 et 30 correspondent aux sous-unités 50S et 30S des ribosomes bactériens. DHFA : Acide Dihydrofolique, THFA : Acide tétrahydrofolique, PABA : Acide para-amino benzoïque. TuyenLab – Atlas de Microbiologie sur les antibiotiques (www.tuyenlab.net)

I.A. Inhibition de la synthèse protéique

Les protéines représentent la machinerie cellulaire de toute bactérie. L'inhibition de leur synthèse provoque un arrêt progressif de la croissance pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire. Quatre grandes familles d'antibiotiques ont pour cible la machinerie de traduction, e.g. les ribosomes : les aminosides, les tétracyclines, les macrolides et apparentés et les phénicolés. Ces antibiotiques inhibent la synthèse protéique en bloquant l'activité des ribosomes mais le mécanisme d'action est différent pour chaque famille.

I.B. Déstabilisation de la paroi bactérienne

La paroi protège la bactérie des modifications des conditions environnementales (osmolarité, température etc.). C'est donc un composant essentiel au maintien de l'intégrité de la bactérie dans des environnements hostiles. Les 2 principales familles d'antibiotiques ayant pour cible la paroi bactérienne sont les β -lactamines et les glycopeptides.

I.C. Inhibition de la synthèse d'acides nucléiques ou des processus liés à l'ADN

Atteindre l'intégrité du matériel génétique de la bactérie peut avoir des conséquences létales pour celle-ci. Ceci peut se faire de différentes manières : empêcher la synthèse d'acides nucléiques ou déstabiliser les processus liés à l'ADN. Le triméthoprim et les sulfonamides vont empêcher la synthèse d'acides nucléiques car ils sont des analogues structuraux de précurseurs des bases nucléiques : l'acide para-aminobenzoïque (PABA) pour les sulfonamides (Sköld 2000) et l'acide dihydrofolique pour le triméthoprim (Gleckman, Blagg, et Joubert 1981). Les quinolones vont quant à elles, cibler la gyrase et la topoisomérase de type IV. Leur fixation sur ces molécules nécessaires à la réplication va inhiber leur action (Hooper 2000). La rifampicine agit au niveau de l'ARN polymérase,



en se fixant à la sous-unité β de l'ARN polymérase bactérienne, inhibant ainsi l'initiation de la transcription (E. A. Campbell et al. 2001).

II. Le revers de la médaille : l'apparition des résistances

Le miracle des antibiotiques et du bénéfice sur la santé aura été de courte durée. Seulement douze ans après la découverte de la pénicilline, une enzyme bactérienne capable de cliver la pénicilline et par la même occasion, l'inactiver est découverte (Abraham et Chain 1940). Cette mise en évidence d'une enzyme de résistance est la première parmi une longue série (**Figure 3**). Seulement trois ans après la commercialisation de la pénicilline, plusieurs hôpitaux décrivent des cas cliniques d'infections à des staphylocoques résistants à cette molécule (Barber Mary 1947; Barber et Rozwadowska-Dowzenko 1948). Pour expliquer ces résistances, Fleming propose que les bactéries sont capables de « s'éduquer » face aux antibiotiques.

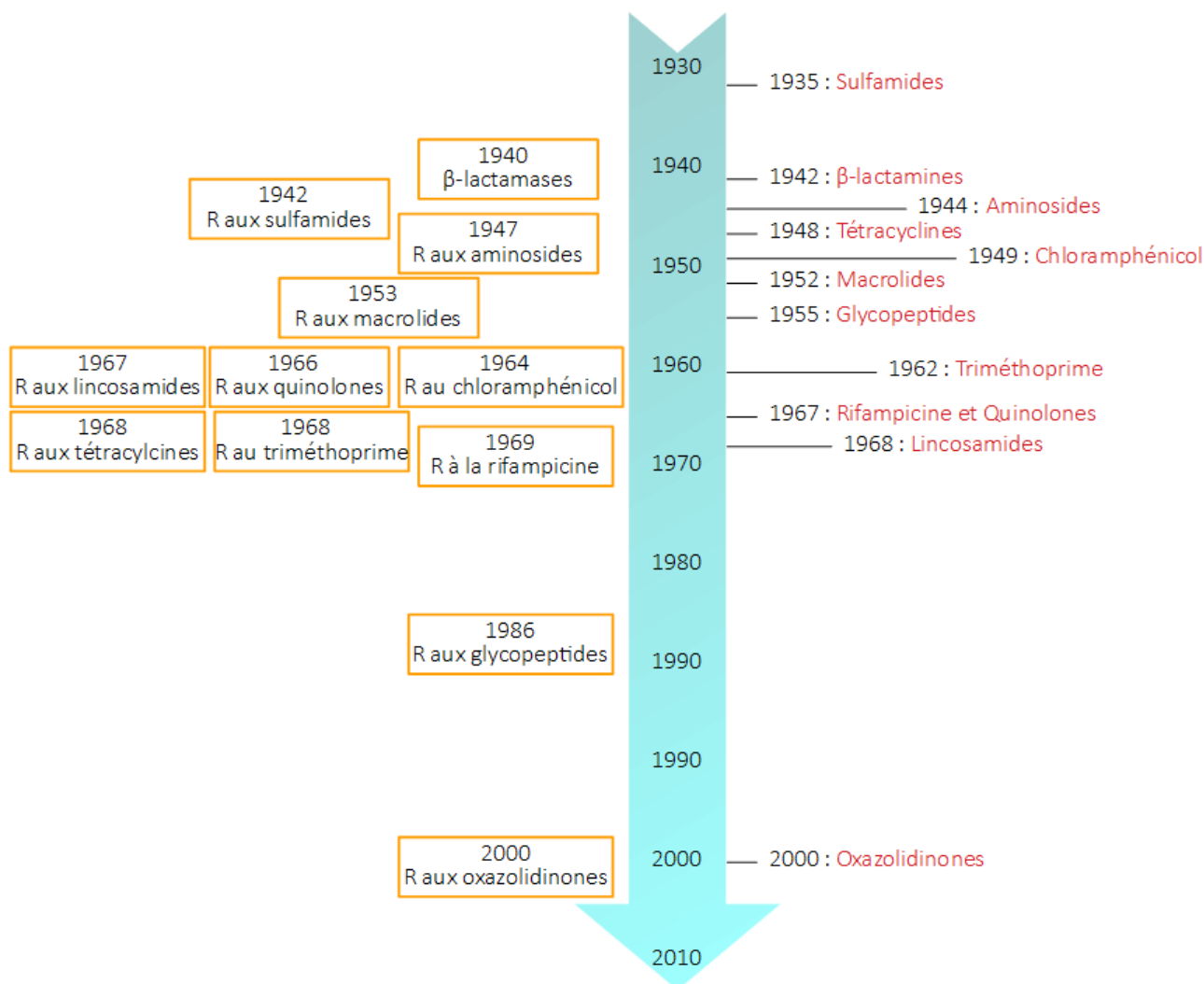


Figure 3: Chronologie d'apparition des antibiotiques sur le marché et des résistances associées.

À droite, le nom des molécules en rouge foncé avec leur date de mise sur le marché. À gauche, l'apparition des résistances avec l'année (encadré orange). D'après les données de l'OMS. R : résistance

Dans les années 50, le Japon subit une épidémie sévère de shigellose. Certains clones bactériens étaient résistants aux sulfonamides mais aussi à trois autres antibiotiques mis récemment sur le marché : la streptomycine, le chloramphénicol et la tétracycline. Ces événements ne pouvaient pas être simplement dus à des phénomènes de mutation et ont poussé les scientifiques à comprendre les mécanismes de résistance et leur acquisition. Ils vont ainsi mettre en évidence la capacité d'échanges de matériel génétique entre des bactéries, notamment entre *Shigella* et *Escherichia coli* (Akiba et al. 1960; Ochiai et al. 1959). Peu après la mise sur le marché d'un nouvel antibiotique, de

nouvelles résistances apparaissent (**Figure 3**), augmentant le risque d'échec thérapeutique (Schmieder et Edwards 2011).

De nombreux mécanismes permettent aux bactéries de lutter efficacement contre les antibiotiques : l'inactivation de l'antibiotique, la modification ou protection de la cible, le remplacement de la cible, l'efflux ou augmentation de l'imperméabilité à l'antibiotique. (**Figure 4**). Ces mécanismes de résistance peuvent apparaître de différentes façons : par acquisition de matériel génétique étranger via des supports variés (voir **Chapitre 1 : Les Éléments Génétiques Mobiles**) ou par mutations ponctuelles au niveau de protéines permettant l'entrée de l'antibiotique dans la cellule ou au niveau de pompes d'efflux.

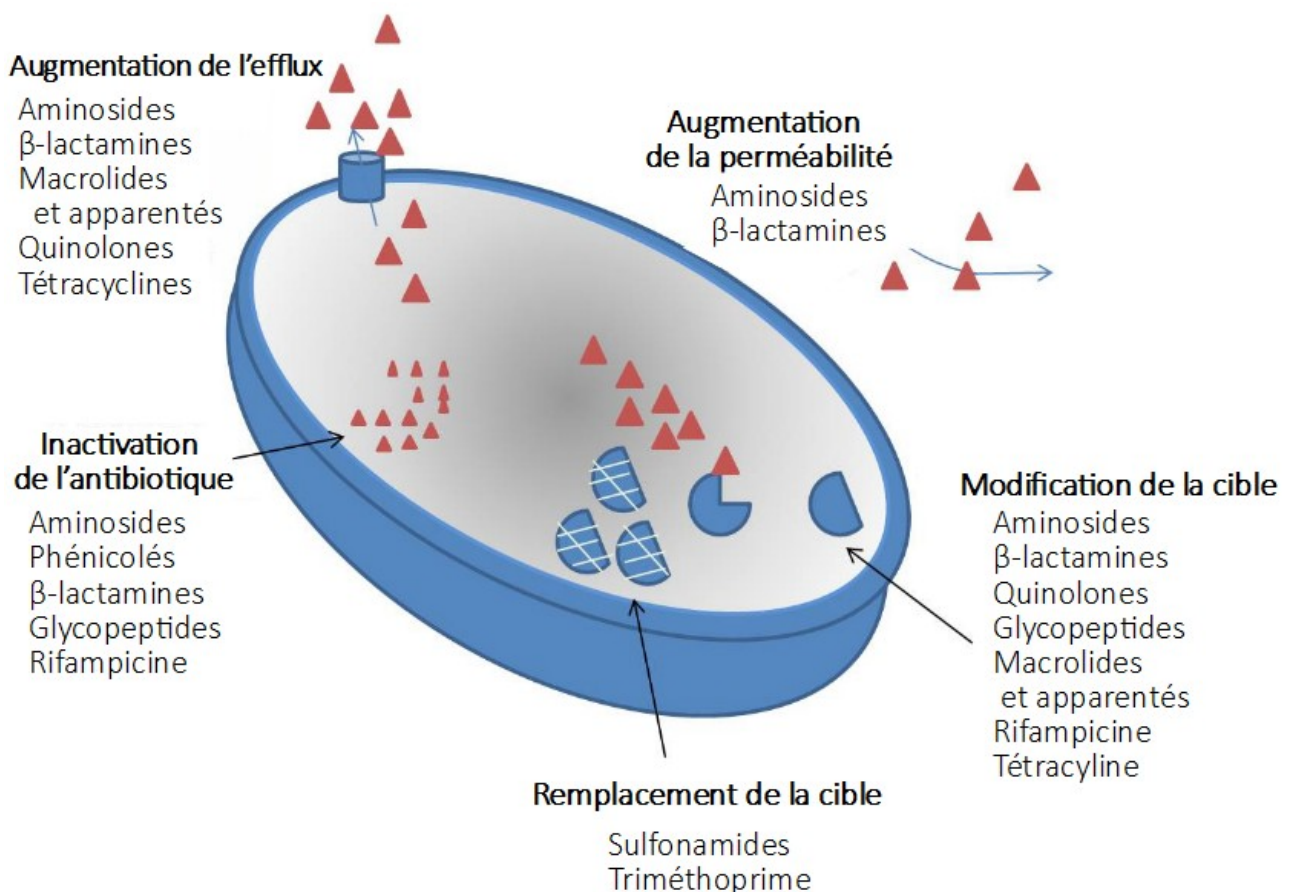


Figure 4: Représentation schématique des différents mécanismes impliqués dans la résistance aux antibiotiques

Les triangles rouges représentent l'antibiotique, les formes bleues, la cible de l'antibiotique. Adaptée de Grasso, Martino, et Alduina 2016

Chapitre I. Les Éléments Génétiques Mobiles

I. Définition et diversité

Les Éléments Génétiques Mobiles (EGM) sont des structures composées d'ADN bactériens qui portent des gènes codant pour plusieurs types de protéines responsables du mouvement de ces EGM au sein d'un génome mais parfois aussi entre bactéries (Frost et al. 2005). Ces EGM sont transmis par des mécanismes de transferts horizontaux, principalement par : transformation (incorporation au sein d'une cellule dite compétente d'un ADN libre circulant), transduction (via un bactériophage) ou conjugaison (transfert d'un élément conjugatif)(**Figure 5**).



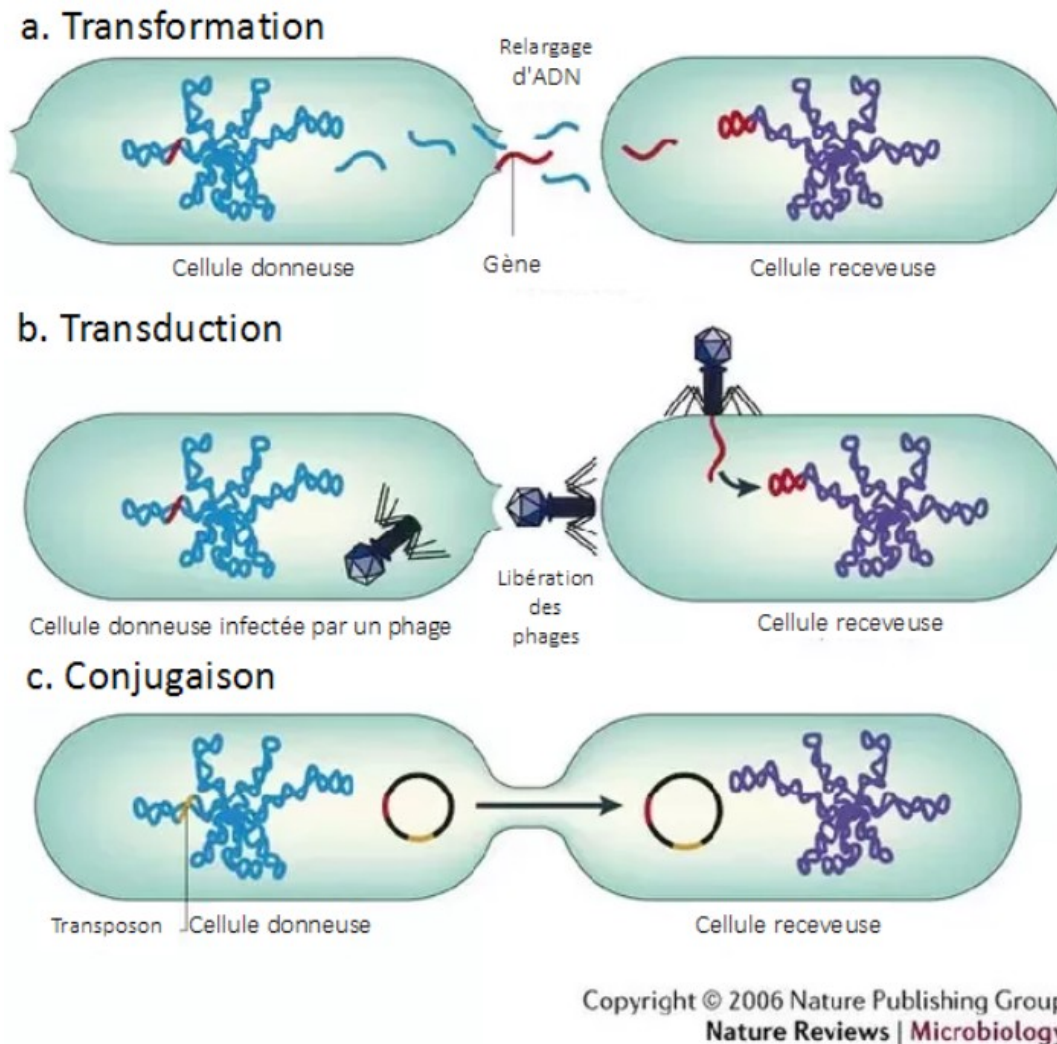


Figure 5: Mécanismes de transferts horizontaux de gènes.

a. Transformation. L'ADN relargué par une bactérie donneuse peut être capté par une bactérie receveuse naturellement compétente et incorporé à son propre génome par recombinaison homologue. **b. Transduction.** Une bactérie donneuse, portant un prophage en son chromosome ou infectée par un phage peut se voir emporter une partie de son génome, lors de l'assemblage des nouveaux virions. Ainsi le nouveau phage peut aller transmettre ces séquences à une nouvelle bactérie, lors de son infection. **c. Conjugaison.** Mécanisme de transfert impliquant un élément conjugatif et/ou mobilisable, qui va ainsi transférer du nouveau matériel génétique à une bactérie receveuse lors de la conjugaison. Adaptée de Furuya et Lowy 2006

Ces EGM sont très diversifiés :

- i. **Les plasmides.** Les plasmides sont des molécules d'ADN extra-chromosomiques, circulaires, linéaires ou intégrées dans le chromosome et capables de se répliquer indépendamment du chromosome (Lederberg 1998). Ces structures sont principalement transmises par conjugaison. Les plasmides conjugatifs codent pour la machinerie nécessaire à leur transfert. D'autres dits « mobilisables » ne

peuvent pas être transférés par eux-mêmes mais seulement à l'aide d'un autre plasmide conjugatif. Les plasmides participent aussi à la dissémination de nombreux autres EGM (transposons, intégrons). Les plasmides sont donc des acteurs majeurs des transferts de gènes et ils peuvent être transmis à la fois par conjugaison ou par transformation.

ii. **Les bactériophages.** Les virus de bactéries ou bactériophages sont des particules intracellulaires obligatoires. Ils s'appuient sur la machinerie cellulaire de la cellule hôte afin d'effectuer les mécanismes moléculaires nécessaires à leur survie et à leur prolifération (réplication, transcription, traduction). Leur génome peut s'intégrer dans le génome de l'hôte sous forme de prophage qui va se répliquer au rythme de la cellule hôte. Sous des conditions particulières, notamment le stress antibiotique pour certains bactériophages (Ulrich et al. 2013), le prophage peut s'exciser du génome et entamer un cycle lytique menant à l'excrétion de nouveaux virions. Ces phages, de par leur intégration dans le génome, peuvent être ainsi les vecteurs de nombreux gènes et, notamment des gènes de résistance et de virulence.

iii. **Les éléments transposables.** Ces éléments sont constitués de façon la plus simple d'une séquence d'insertion (IS) qui est une courte séquence d'ADN, codant une transposase permettant la mobilité d'une IS (Varani et al. 2015). Ces IS sont la base de structures plus complexes telles que les transposons composites qui correspondent à deux IS fonctionnelles pouvant mobiliser un segment d'ADN entier ; ou les transposons unitaires se caractérisant par un ensemble de gènes impliqués dans la mobilisation, le transfert et l'intégration de l'élément (D. Berg et Howe 1989; Craig et al. 2002). Les IS et les transposons sont des éléments retrouvés à la fois chez les eucaryotes et chez les procaryotes. (Voir **II. Les Séquences d'Insertions**).



- iv. **Les éléments conjugatifs et intégratifs (ICE) ou transposons conjugatifs.** Ce sont des éléments chromosomiques capables de s'exciser du chromosome, d'induire leur transfert par conjugaison et leur intégration dans le génome (Burrus et Waldor 2004; Darmon et Leach 2014). Ces éléments portent les gènes nécessaires à la machinerie de conjugaison, par homologie avec les plasmides, mais ils ne sont pas capables de se répliquer de façon autonome, d'où leur intégration nécessaire au sein du chromosome. Ces ICE sont connus pour être des vecteurs de la dissémination de l'antibiorésistance, notamment l'ICE SXT chez *Vibrio cholerae* qui portent la résistance au chloramphénicol, au triméthoprim, aux sulfonamides et à la streptomycine (Waldor, Tschäpe, et Mekalanos 1996; Hochhut et al. 2001)
- v. **Les intégrons.** Cette structure particulière n'est pas mobile de façon autonome mais participe grandement à la plasticité génomique. Ces intégrons sont des plateformes d'acquisition et d'expression de gènes. Ces gènes se présentent sous forme de cassettes que les intégrons mobilisent par leur intégrase et expriment via un promoteur P_c (Gillings 2014). Les intégrons ne sont pas en eux-mêmes des EGM et les intégrons dits « mobiles » sont le plus souvent portés par d'autres EGM tels que les transposons (Hall 2007) ou les plasmides.
- vi. **Les îlots génomiques.** Ce sont des segments chromosomiques acquis par transfert horizontal qui auraient un impact positif sur la physiologie de la bactérie (Bellanger et al. 2014). Ils véhiculent des gènes qui vont permettre à son hôte de s'adapter à une niche écologique particulière (Dobrindt et al. 2004). Les plus connus sont SaPI chez *Staphylococcus aureus* (Lindsay et al. 1998) et l'îlot SGI-1 chez *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* DT104 (D. Boyd et al. 2001).



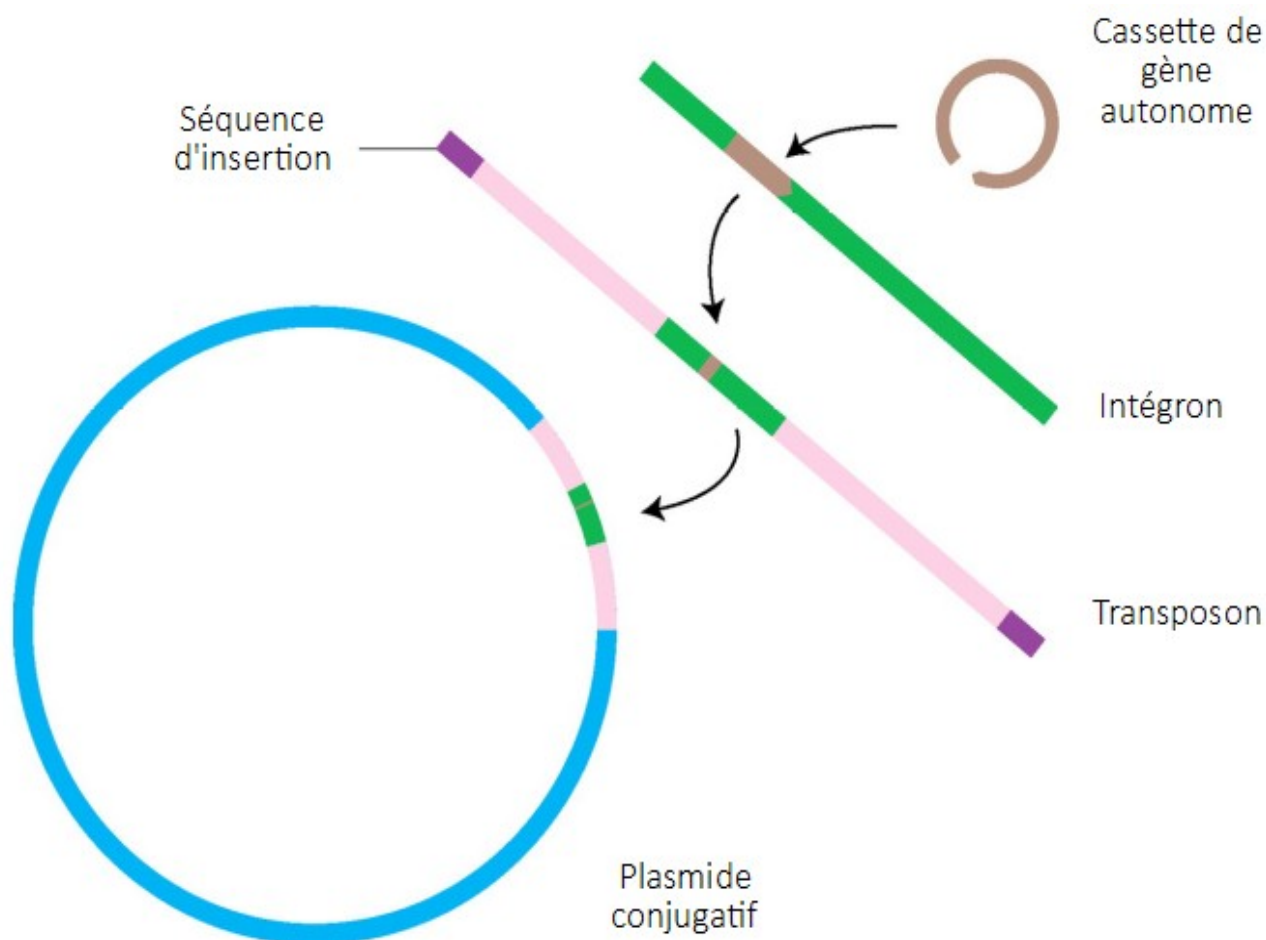


Figure 6: Diversité des éléments génétiques mobiles

Diversité des EGM : plasmides conjugatif (bleu), transposon (rose) et séquences d'insertions (violet), intégron (vert) et cassettes (marron) ; et leur capacité à s'imbriquer telles des « poupées russes ». Adaptée de (Norman, Hansen, et Sørensen 2009)

Tous ces EGM contribuent de différentes façons aux transferts horizontaux de gènes et à la dissémination de gènes notamment impliqués dans la résistance aux antibiotiques ou/et la virulence. Le phénomène de dissémination est accru par la capacité des EGM à s'assembler (**Figure 6**).

II. Les séquences d'insertion

Les séquences d'insertion (IS) sont de courtes régions d'ADN qui incluent uniquement les éléments nécessaires à leur mobilité. En plus d'être impliquées dans la mobilité de nombreux gènes, ces IS sont connues pour avoir un rôle dans l'optimisation des génomes, la modification de l'expression de certains gènes (par inactivation ou par activation) mais aussi des réarrangements de grandes parties de génome etc. La

transposase, codée par les IS et responsable de la mobilité de ces éléments, appartient à la classe fonctionnelle la plus abondante que ce soit chez les procaryotes ou chez les eucaryotes (Aziz, Breitbart, et Edwards 2010).

II.A. Historique

La toute première IS a été décrite il y a plus de 40 ans. Plusieurs scientifiques ont remarqué l'insertion de séquences nucléotidiques dans de nombreux gènes, comme dans l'opéron lactose, au sein du prophage lambda (Fiandt, Szybalski, et Malamy 1972) ou encore dans l'opéron galactose (Fiandt, Szybalski, et Malamy 1972; H. J. Hirsch, Saedler, et Starlinger 1972) chez *Escherichia coli*. Plus tardivement, les études sur ces nouveaux éléments mutationnels ont permis de montrer que les IS étaient des membres à part du patrimoine génétique de *E. coli*. Cela a été démontré pour IS1 et IS2 qui sont retrouvées au sein du chromosome de *E. coli* K-12 mais aussi sur le plasmide F que cette souche porte (Saedler et Hei 1973). Puis, cette découverte s'est étendue à d'autres IS et d'autres plasmides (Hu, Ohtsubo, et Davidson 1975). Ces éléments mobiles ont été décrits comme étant des EGM à part entière et comme étant impliqués dans la transmission de l'antibiorésistance. Des IS ont été impliquées dans la transmission de la résistance à la streptomycine et au triméthoprim (Barth et al. 1976), à l'ampicilline (Hedges et Jacob 1974) et à d'autres pénicillines (Heffron et al. 1975). Enfin, de façon plus globale, de nouvelles études ont mis en évidence que deux copies d'une même IS pouvaient mobiliser des grandes régions d'ADN (Arber et al. 1979; So, Heffron, et McCarthy 1979). Ces différents travaux ont été à la base des connaissances sur les séquences d'insertion et ont permis de rendre compte de leur caractère ubiquitaire mais aussi de leur impact dans le monde bactérien.

II.B. Structure

Les IS classiques sont des structures comprises entre 0,7 et 2,5 kilobases comprenant un gène codant pour une transposase, encadré généralement de deux séquences inversées



répétées (IR)(**Figure 7A**). La transposase catalyse l'excision, l'intégration et/ou la réplication de l'élément. Les gènes de transposase peuvent être traduits dans plusieurs cadres impliquant un phénomène de « Programmed Ribosomal Frameshifting », très répandu dans certaines familles, notamment la famille IS21. Ce processus permet de produire deux protéines de fonctions différentes à partir d'un même gène par décalage de phase, effectué par le ribosome lors de la traduction(Chandler et al. 2015; Patricia Siguier, Gourbeyre, et Chandler 2014; Sharma et al. 2011). En plus du gène de transposase, certaines IS hébergent divers gènes impliqués dans la régulation de la transposition (IS*Nha5*), l'antibiorésistance (IS*Cgl1*) ou d'autres fonctions encore inconnues (IS*Spo8*)(Varani et al. 2015) Ces IS portant des gènes « passagers » sont appelées *tIS* pour « Transporter IS » (**Figure 7B**). Il existe des IS dégénérées qui ont conservées les séquences IR mais dont le gène de la transposase est tronqué ou a disparu. Ces éléments transposables mais non autonomes, nommés MITE pour Miniature Inverted repeat Transposable Elements, peuvent porter des gènes passagers et ne sont mobilisés qu'en *trans* par une transposase reconnaissant les IR conservées (Feschotte, Zhang, et Wessler 2002; Correia, Inouye, et Inouye 1988).

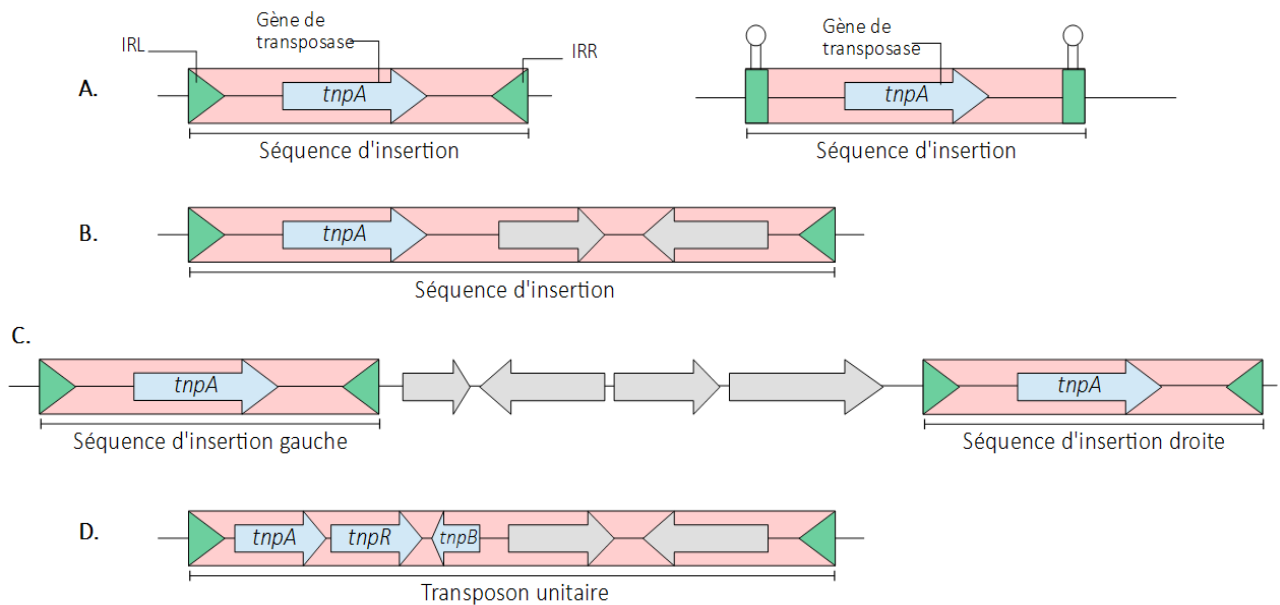


Figure 7: Représentation schématique des séquences d'insertion et de leurs différentes organisations.

A. À gauche, séquence d'insertion au sens le plus simple et à droite, séquence d'insertion correspondant aux familles des IS91, ISCR et IS200/IS605. **B.** Séquence d'insertion de transport ou *tIS*. **C.** Transposon composite, une des deux copies d'IS peut être inactive ou différente de l'autre. **D.** Transposon unitaire de la famille des Tn3 et apparentés. Les séquences inversées répétées des séquences d'insertions sont représentées en vert, IRL : séquence inversée répétée gauche ; IRR : séquence inversée répétée droite ; et peuvent contenir un palindrome pour la famille IS91, ISCR et IS200/IS605. Le gène de la transposase est représentée en bleu clair, ainsi que tous gènes dont la fonction est impliquée dans la transposition. Les gènes d'autres fonctions ou de fonctions inconnues sont représentés en gris.

Les IS peuvent s'associer en structures plus complexes. L'association en tandem de deux IS forme un transposon composite et représente l'une des associations les plus connues. Ces éléments sont la plupart du temps un tandem d'IS identiques encadrant des gènes codant pour un panel de fonctions variables (**Figure 7C**). Dans la littérature, de nombreux exemples sont décrits et des bases de données listent ces transposons et leur contenu (<http://transposon.lstmed.ac.uk/tn-registry>) (A. P. Roberts et al. 2008). Un transposon composite consiste en deux séquences d'insertions fonctionnelles entourant une région de taille variable contenant des gènes variés. Par exemple, le Tn3411 est formé de deux copies identiques de IS3411 (Famille des IS3) encadrant des gènes impliqués dans le métabolisme du citrate (Ishiguro et Sato 1988). D'autres exemples de transposons impliqués dans la virulence (deux copies de IS100 qui entourent l'îlot de pathogénicité chez *Yersinia pestis* (McDonough et Hare 1997)) ou dans

l'antibiorésistance (Tn5091, impliqué dans la mobilisation d'un gène de résistance au triméthoprim par deux copies fonctionnelles d'IS26 (Sundström et al. 1995)) sont très bien décrits dans la littérature. Il arrive que l'une des copies d'IS n'est plus fonctionnelle. Ainsi, la transposase codée par l'élément fonctionnel va agir en *cis* et en *trans*. C'est le cas notamment des transposon Tn10 et Tn5 qui codent respectivement pour la résistance à la tétracycline (Foster et al. 1981) et la résistance à la kanamycine ainsi qu'à la streptomycine (D. E. Berg et Berg 1983). Le transposon Tn4401 qui contient le gène de carbapénémase *bla_{KPC}*, implique deux IS différentes, ISKpn6 (Famille des IS1182) et ISKpn7 (Famille des IS21)(Thierry Naas et al. 2012). Les transposons de la famille des Tn3 et apparentés (appelés transposons unitaires) sont des structures complexes impliquant non seulement le gène de la transposase mais aussi d'autres déterminants codant pour la régulation de la transposition, pour un système de résolution pour la terminaison de la transposition (Nicolas et al. 2015)(**Figure 7D**). De plus des gènes voir des opérons de résistance, de virulence (Liebert, Hall, et Summers 1999) ou même des intégrons de classe 1 (Mazel 2006) peuvent être transférés avec cette seule et unique structure. Ces séquences d'insertions nous proposent un éventail de structures qui concourent à la même fonction : la plasticité génomique et les échanges entre bactéries.

II.C. Diversité

Comme le nombre d'IS est important et qu'il ne cesse d'augmenter, ces éléments transposables ont été classés selon plusieurs critères : (i) la taille et structure des séquences inversées répétées (IR) qui bordent l'élément, (ii) la taille et la nature des séquences générées après l'insertion de l'élément (iii) l'organisation des différents gènes présents, impliqués dans la transposition (iv) les séquences cibles reconnues par la transposase (Mahillon et Chandler 1998). La classification actuellement utilisée se base sur la biochimie de la transposase qui définira ainsi le mécanisme moléculaire de transposition. Cinq types de transposase sont définies en fonction des motifs

catalytiques impliqués dans le clivage de l'ADN et le transfert de l'élément au sein de l'ADN cible après intégration de l'élément : les enzymes DDE, DEDD, HUH, les tyrosines et les sérines transposases.

- i. Les transposases de type DDE sont reconnaissables grâce à leur triade d'acides aminés conservés (Mizuuchi et Baker 2002) : deux aspartates (D) et un glutamate (E) qui sont impliqués dans les réactions biochimiques majeures du mécanisme de transposition. Ces trois résidus vont permettre à la fois l'utilisation d'un nucléophile (OH) pour la réaction de transfert du brin donneur vers le brin receveur mais aussi la capture d'ions métalliques, essentiels à la réaction de transposition. Les transposases DDE sont les plus nombreuses au sein des différentes familles d'IS. La biochimie de ces transposases DDE est la plus simple : en effet, ces enzymes catalysent la réaction de clivage simple brin de l'ADN aux extrémités de l'élément en reconnaissant les IR. Cette réaction va générer un simple brin flottant avec une extrémité 3'OH qui va agir comme élément nucléophile pour l'attaque du brin receveur (Varani et al. 2015). Le transfert du brin peut se faire de différentes façons, provoquant ou non la duplication de l'élément (Curcio et Derbyshire 2003; Turlan et Chandler 2000).
- ii. Les enzymes DEDD, quant à elles, ne concernent que la famille des IS 110. Elles sont proches, d'un point de vue structural, des transposases de type DDE car les acides aminés impliqués dans le mécanisme de transposition sont sensiblement les mêmes : un aspartate (D), un glutamate (E) et deux aspartates (DD). Leur homologie avec les résolvasés de type RuvC suggère qu'elles sont capables de créer des jonctions de Holliday au moment de la résolution. Leur mécanisme de transposition est sans doute proche des transposases de type DDE de par leur site catalytique mais l'ensemble des réactions impliquées dans le processus de transposition reste, à ce jour, à déterminer. De plus, elles ne génèrent pas de



duplication du site cible lors de leur intégration dans l'ADN receveur (Bruton et Chater 1987; Henderson, Lydiate, et Hopwood 1989).

- iii. Les transposases HUH comprennent deux résidus d'histidines (H) entourant un acide aminé hydrophobe U. De plus, elles possèdent un motif Y1 ou Y2, un ou deux résidus tyrosine qui vont cliver l'ADN puis former une liaison covalente avec l'OH libéré, appelé nucléophile. Les résidus HUH sont impliqués dans la fixation d'un ion métallique divalent comme co-facteur de la réaction (Alison Burgess Hickman et al. 2002; Guasch et al. 2003).
- iv. Les transposases à sérine ne sont retrouvées que dans une seule famille d'IS, IS607 (Kersulyte et al. 2000) et possèdent des déterminants catalytiques proches des résolvasés et invertases à sérine (Grindley, Whiteson, et Rice 2006). Ces transposases ne présentent pas de spécificité de séquence (Kersulyte et al. 2004) contrairement à l'intégrase du transposon conjugatif (ICE) Tn5397 (Wang, Smith, et Mullany 2006). Ces transposases utilisent une sérine pour générer un lien 5' phosphosérine entre la transposase et l'ADN receveur clivé par un groupement arginine, présent sur la transposase (Keenholtz et al. 2011, 2013). Cette transposition fait intervenir un intermédiaire circulaire et ne nécessite pas d'ions métalliques ou de co-facteur (Alison B. Hickman et Dyda 2015).
- v. Les transposase à tyrosine sont surtout retrouvées chez les transposons conjugatifs ou ICE. Ces enzymes sont proches des recombinases à tyrosine à la fois d'un point de vue mécanistique comme d'un point de vue structural (Grindley, Whiteson, et Rice 2006; Alison Burgess Hickman et al. 1997; Kwon et al. 1997) comme la protéine Cre (van Duyne 2015). Ces transposases utilisent un résidu tyrosine pour attaquer le brin d'ADN receveur clivé et forme un lien 3' phosphotyrosine, à l'inverse des autres transposases (qui forment un lien 5' phospho-transposase). Cette transposition fait intervenir un intermédiaire

circulaire par recombinaison entre les deux extrémités attL-attP du transposon conjugatif (Alison B. Hickman et Dyda 2015).

De part ces critères : les bordures de l'élément, la génération ou non d'une duplication de séquence à l'intégration, les IS ont été classées en familles. La **figure 8** représente la distribution des familles d'IS en fonction de la biochimie de la transposase et le nombre de membres par famille (**Figure 8**).

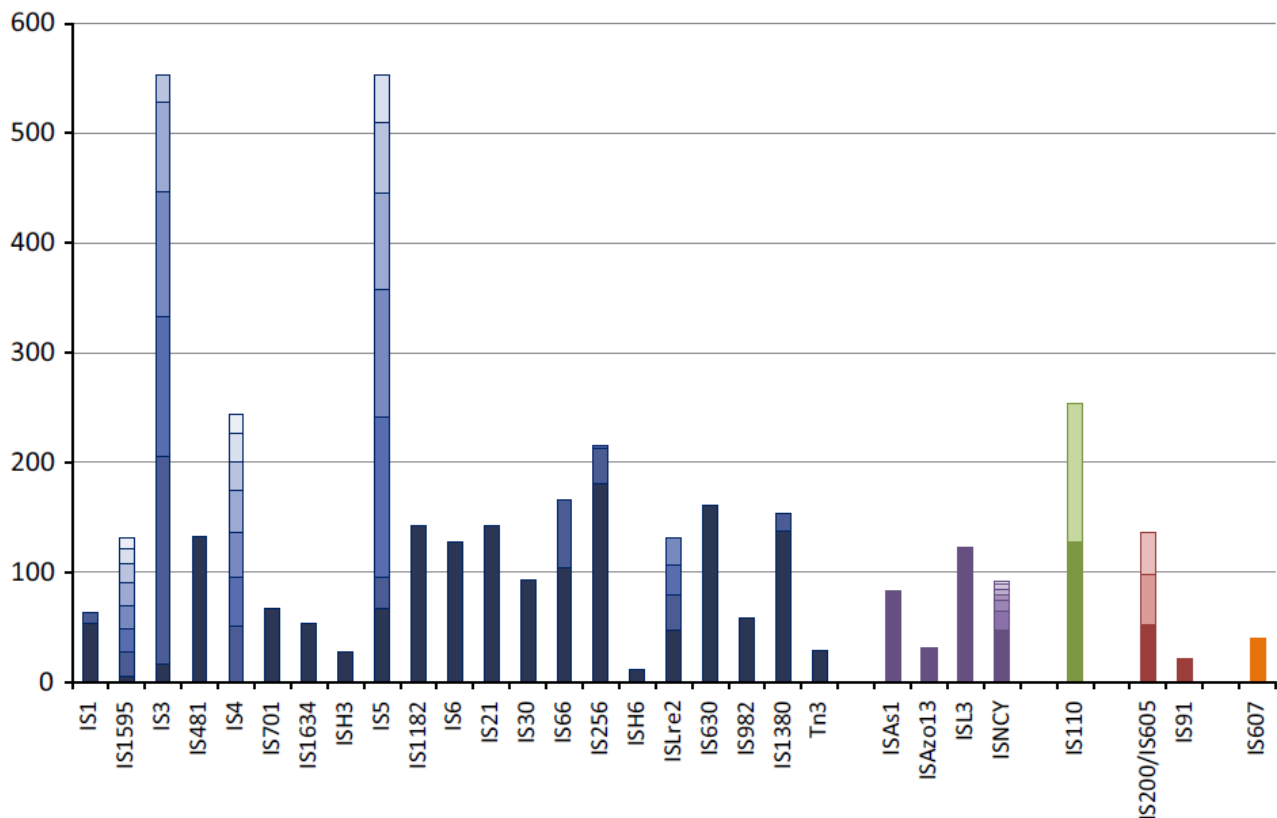


Figure 8: Distribution des familles d'IS retrouvées dans la base de données ISfinder (P. Siguier et al. 2006).

Les histogrammes représentent le nombre d'IS par famille (données de Juin 2013). Les sous groupes de chaque famille sont représentés dans les boîtes verticales. Les différents types de transposases sont représentées : DDE (bleu), DEDD (vert), HUH (rouge), les transposases à sérine (orange) et non déterminées (violet). Adaptée de Patricia Siguier, Gorbeyre, et Chandler 2014

III. Impact des IS chez les procaryotes

Les IS ont longtemps été considérées comme des séquences parasites, interrompant des gènes et envahissant les génomes. Il a été montré plus tardivement que les IS jouent un rôle important dans la plasticité génomique et dans la dynamique de l'expression de

certain opérons ou gènes. Inévitablement, ces éléments transposables sont donc des acteurs majeurs de l'évolution et de l'adaptation chez les bactéries.

III.A. Mobilisation de gènes et de segments d'ADN

Le succès de la dissémination de l'antibiorésistance réside dans la capacité des éléments génétiques mobiles à transporter et à transférer les déterminants de la résistance. Il semblerait néanmoins que cette « spécialisation » dans le transport de gènes soit plus marquée chez certains éléments transposables. Certaines IS sont présentes en très fort nombre de copies et notamment dans des régions riches en gènes de résistance et/ou de virulence. C'est le cas de IS26 (Partridge 2011), qui en plus d'avoir la capacité à capter des régions de multirésistance, peut récupérer un gène adjacent pour former une unité simple de transposition avec une seule copie, telle une *tIS* (Christopher J. Harmer et Hall 2015). Le transposon Tn10, flanqué de deux copies de IS10, a été le premier transposon décrit comme étant un véhicule de l'antibiorésistance (Kleckner et al. 1975). Des auteurs proposent néanmoins l'émergence de mutations au sein d'une des deux copies d'IS d'un transposon, favorisant ainsi la transposition de la structure complète en *trans*, plutôt qu'en *cis* (e.g. l'IS uniquement)(Vandecraen et al. 2017). L'acquisition de gènes au sein même de l'IS, formant ainsi une *tIS*, constitue donc un autre moyen de véhiculer les gènes. Si le mécanisme de capture du gène reste à déterminer, certaines IS se sont spécialisées dans ce type de transport comme IS911 (Prère, Chandler, et Fayet 1990) ou encore IS102 (Machida, Machida, et Ohtsubo 1982). Certaines IS ont aussi développé la capacité à reconnaître une seconde IR au-delà de l'élément, leur permettant de mobiliser un segment supplémentaire lors de la transposition. C'est notamment le cas de *ISEcp1*, membre de la famille des IS1380, qui possède une IR_{alt} (alternative) lui permettant d'emporter des gènes codant pour différentes fonctions et notamment, codant pour des β -lactamases de type CTX-M (Poirel, Decusser, et Nordmann 2003; Poirel et al. 2005; Lartigue et al. 2006). D'autres IS, comme la famille des ISCR



transposeraient par répliation d'un segment d'ADN comprenant l'élément ainsi qu'une région adjacente à celui-ci (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Ce mécanisme sera détaillé dans le **Chapitre II : Les ISCR**.

IS6100, de la famille des IS6, possède la capacité particulière d'inverser de grandes régions du chromosome lors de sa répliation. Cela a notamment été décrit lors de la transposition de IS6100 chez des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* chez des patients atteint de mucoviscidose (Coyne, Courvalin, et Galimand 2010). La transposase va médier la réaction de clivage à la région 3' de l'IS, libérant un groupement OH' qui va attaquer le phosphate en 5' au sein de la séquence d'ADN réceptrice, clivée aussi par la transposase. La répliation de l'élément va résoudre une structure formant un co-intégrat, menant à la duplication de l'élément IS6100 (Chandler et Mahillon 2002) et à l'inversion de la séquence chromosomique. Ces événements vont donc avoir des conséquences sur l'orientation des gènes et donc sur leur expression.

III.B. Expansion, élimination et rationalisation des génomes

De nombreuses études ont montré que des génomes de certaines bactéries ont connu un envahissement d'IS, appelé expansion et que cela semblerait être la première étape dans la réduction et l'optimisation des génomes (Moran et Plague 2004; Touchon et Rocha 2007). Certains auteurs ont remarqué que cette expansion était possiblement influencée par le mode de vie de la bactérie et ce phénomène est assez flagrant dans le cadre d'endosymbiose (Gil García et al. 2008; Plague et al. 2008)(**Figure 9ii**). L'expansion d'IS dans les génomes conduit à des recombinaisons intrachromosomiques résultant en la réduction du génome (Andersson et Andersson 1999; Lawrence, Hendrix, et Casjens 2001)(**Figure 9iii-iv**) et en l'élimination complète ou partielle de ces IS qui ont proliférées. Ce phénomène peut engendrer la symbiose entre deux organismes en favorisant la dépendance de la bactérie à son hôte par l'élimination de gènes essentiels à sa survie à l'extérieur de son hôte (Bordenstein et Reznikoff 2005). Ainsi, un des rôles



des IS, autre que la mobilisation de gènes, serait de faciliter la délétion de l'ADN (Patricia Siguier, Gourbeyre, et Chandler 2014). Certaines IS seraient spécialisées dans ce type d'expansion et de rationalisation (T. Naas et al. 1994, 1995).

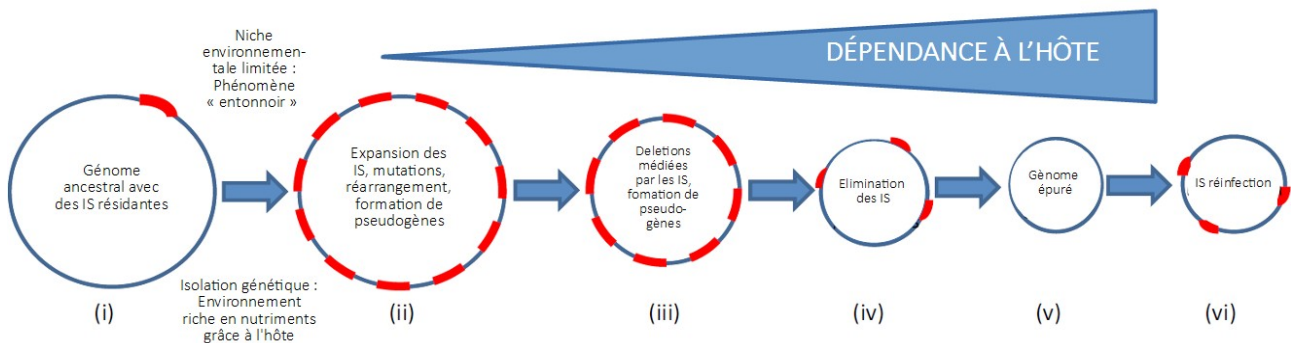


Figure 9: Rationalisation du génome par expansion et élimination des séquences d'insertions.

Ce schéma décrit la relation de cause-effet entre l'optimisation du génome qui concourt à l'augmentation de la dépendance à l'hôte. (i) La souche ancestrale possède peu d'IS. Ces IS peuvent être acquises par transfert horizontal. (ii) Par le phénomène « entonnoir », la population subit une expansion d'IS au sein de l'hôte. Parallèlement à cet événement, surviennent des mutations, des réarrangements chromosomiques qui peuvent prendre la forme de recombinaison homologue et la formation de pseudogènes. (iii) En absence de sélection, les IS sont vouées à disparaître. (iv) Puis par formation de fragments d'IS, ces remnants vont être éliminés. (v) Génome épuré, complètement optimisé à l'hôte/ à l'environnement. Adaptée de Patricia Siguier, Gourbeyre, et Chandler 2014

III.C. Choix de la cible

L'impact des IS sur la plasticité du génome n'est pas uniquement dépendant du niveau d'expression et d'activité de la transposase mais aussi du site cible reconnu par la protéine pour l'intégration dans l'ADN receveur.

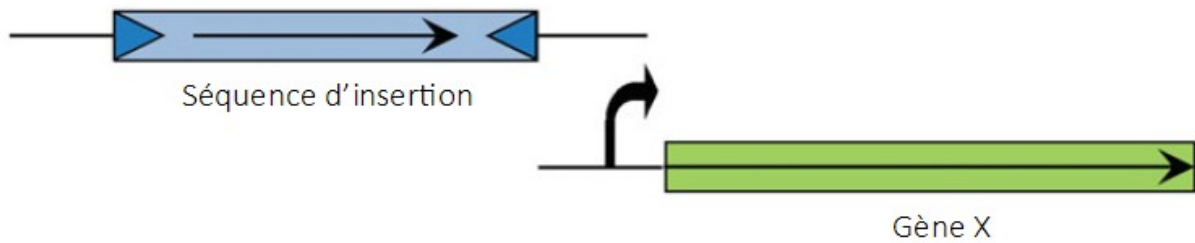
La spécificité pour une séquence cible n'est pas une caractéristique universelle des IS. En effet, certaines IS peuvent s'insérer de façon complètement aléatoire dans le génome. A cause de cette faculté, nombreuses IS sont finement régulées afin d'éviter toute invasion non contrôlée de l'ADN hôte et ainsi mener à la mort cellulaire. Certaines IS ont des affinités pour des séquences précises. C'est le cas des IS200/IS605 qui reconnaissent en 3' un tétra ou pentanucléotide (Ton-Hoang et al. 2010), et celles de la famille des IS630 qui reconnaissent un TA (Feng et Colloms 2007). D'autres IS ont une affinité pour des régions riches en AT (Famille des IS1) (Meyer, Iida, et Arber 1980) ou en GC (IS186)

(Sengstag et al. 1986). Il faut de plus, noter que les séquences d'insertion vont s'intégrer avec une fréquence plus importante sur des plasmides mobilisables et conjugatifs que sur les chromosomes bactériens (Varani et al. 2015). Comme les IS ont naturellement plus d'affinité pour la fourche de réplication (Ton-Hoang et al. 2010), cela expliquerait leur penchant tout particulier pour les plasmides à fort nombre de copies.

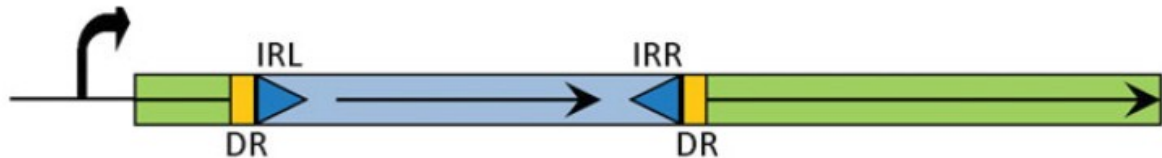
L'orientation topologique de l'ADN ou des structures secondaires peut être aussi la source d'attractivité pour certaines IS. En effet, les *IS1111* (sous-groupe de la famille des *IS110*) ont une affinité particulière pour des structures tige-boucle telles que les sites *attC* des intégrons (Tetu et Holmes 2008; Post et Hall 2009). De plus, certaines IS nécessitent une topologie particulière de l'ADN. La protéine H-NS est notamment impliquée dans la topologie de l'ADN et les *IS903* ainsi que le *Tn 10* voient leur fréquence d'intégration dans le chromosome chuter en absence de celle-ci (Swingle et al. 2004).

III.D. Interruption de gènes

L'un des effets principaux de l'intégration aléatoire ou à site spécifique de ces IS est l'interruption de gènes, ayant pour conséquence l'émergence ou la disparition de certaines capacités métaboliques. Cette interruption peut être causée par l'insertion de l'IS au sein du gène ou au sein de la région promotrice, stoppant ainsi l'expression du gène (**Figure 10**). Il faut tout de même noter que cette capacité à interrompre un gène se fait aléatoirement et indépendamment de la famille, de la biochimie de transposition et de l'affinité pour des sites cibles.



(a) Inactivation du gène X de l'hôte par insertion d'une IS



(b) Inactivation de l'expression du gène X de l'hôte par insertion d'une IS



Figure 10: Effets possibles de l'insertion d'une IS.

Différents moyens d'une IS (bleu et jaune) pour impacter la fonction d'un gène X (vert) **(a)** par insertion au sein de la séquence codante du gène X de l'hôte ou **(b)** par inactivation de la région promotrice du gène X. Adaptée de Vandecraen et al. 2017

III.D.1. Modulation de la résistance aux antibiotiques (ATB) ou aux xénobiotiques

De façon intéressante, l'insertion des IS dans des gènes peut conduire de différentes façons à une modification du phénotype de résistance aux antibiotiques :

- i. **par inactivation de certaines porines.** Ce phénomène va contribuer à l'augmentation de l'imperméabilité à l'antibiotique ou au xénobiotique et ainsi, à la résistance. Le premier exemple est la porine OprD, connue pour transporter l'imipénème dans la cellule (Yoneyama, Yoshihara, et Nakae 1992) chez *Pseudomonas aeruginosa*. Le gène qui code pour cette porine peut être interrompu par une ISPa1328 de la famille des IS256 (Wolter, Hanson, et Lister 2004; Al-Bayssari et al. 2015) ou encore par ISPa45 de la famille des IS4 (Rojo-

Bezares et al. 2014). Cet événement va mener à augmentation de l'imperméabilité aux carbapénèmes et par conséquent, une augmentation de la résistance à ces molécules. Nombreux autres exemples existent tels que l'inactivation du gène *carO*, codant pour une porine, par l'insertion de *ISAb125* ou *ISAb825* chez *Acinetobacter baumannii* augmentant ainsi la résistance aux carbapénèmes (Mussi, Limansky, et Viale 2005) ou l'inactivation du gène *ompK36* par *IS26* chez *Klebsiella pneumoniae* (Hernández-Allés et al. 1999). À l'inverse, l'intégration d'IS peut concourir à une hypersensibilité, ce qui est le cas pour l'insertion d'une *IS30* dans le gène *acrB*, empêchant la formation de la pompe d'efflux tripartite AcrAB-TolC chez *Escherichia coli* (Kobayashi, Tsukagoshi, et Aono 2001).

- ii. **par modification de la cible ou de la synthèse de celle-ci.** Si la cible disparaît ou est modifiée, l'antibiotique n'aura peu voire aucun effet sur la bactérie. C'est notamment le cas de l'inactivation de la voie de synthèse du lipide A par l'*ISAball* et la famille des *IS701* chez *Acinetobacter baumannii* augmentant ainsi la résistance à la colistine (Moffatt et al. 2011). Chez *Staphylococcus aureus*, l'intégration de *IS1182* ou de *IS256* va interrompre le gène *lytH* (biogenèse de la paroi bactérienne) et le gène *tcaA* (protéine de la membrane), induisant une résistance amplifiée à la méthicilline (Fujimura et Murakami 2008) et aux glycopeptides (Maki et al. 2004) respectivement.
- iii. **par inactivation des voies de régulation.** L'inactivation des facteurs de régulations va moduler l'expression de différents déterminants de la résistance. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, l'insertion de *IS21* au sein du gène *mexR* va engendrer la dérégulation constitutive de l'opéron *mexAB-oprM* qui code pour une pompe d'efflux. Par conséquent, l'augmentation du nombre de pompes d'efflux MexAB-OprM va mener à une résistance accrue aux β -lactamines

(Boutoille et al. 2004). Chez *Staphylococcus haemolyticus*, l'insertion de IS431 au sein du gène *mecl* provoque l'apparition d'une résistance hétérogène à la méthicilline (Katayama, Ito, et Hiramatsu 2001). Chez *Cupriavidus metallidurans* AE126, l'inactivation d'un anti-sigma CnrY ou d'une protéine senseur CnrX augmentent l'expression de l'opéron *cnrCBAT* codant pour des pompes d'efflux ce qui va permettre un efflux plus important du zinc (Collard et al. 1993; Grass, Große, et Nies 2000; Vandecraen et al. 2016). L'inactivation par insertion dans le gène *mgrB* gene chez *Klebsiella pneumoniae* (ISKpn26, ISKpn14 et ISKpn13) ou *K. oxytoca* (ISKpn14)(Cannatelli et al. 2014; Jayol et al. 2015; Poirel et al. 2015) augmente la résistance à la colistine. Chez *Enterococcus faecium*, les séquences d'insertion ISEfm1 (D. A. Boyd et al. 2000; Perichon et al. 2000) et ISEfa4 (Depardieu, Reynolds, et Courvalin 2003) interrompent respectivement le gène *ddl* et *vanS_D*, augmentant la résistance de ce germe aux glycopeptides.

III.D.2. Modulation de la virulence

À côté des gènes impliqués dans l'antibiorésistance, l'insertion d'IS dans d'autres types de gènes, notamment dans les gènes de virulence peut rendre rapidement une bactérie pathogène endémique et plus virulente via différents mécanismes :

- i. La modulation de la production de biofilm, notamment chez *Staphylococcus epidermidis*. L'insertion de IS256 au sein du locus *icaADBC*, connu comme étant un marqueur de virulence (Arciola et al. 2004), va avoir pour conséquence une modification de la production de biofilm et de sa structure tridimensionnelle (Ziebuhr et al. 1999; Arciola et al. 2004).
- ii. La modulation de la production des facteurs de virulence par l'insertion de IS 256 chez *Staphylococcus aureus*. L'insertion de cette IS dans le gène régulateur *rot* va



engendrer une dérégulation de l'expression des gènes de toxines et augmenter la virulence (Geisinger et al. 2006; Boisset et al. 2007).

À l'inverse, de nombreux exemples dans la littérature ont montré la capacité de ces IS à diminuer ou à éteindre complètement le caractère pathogène d'une bactérie. C'est le cas de IS256 qui peut provoquer l'inactivation de la fonction de gélatinase chez *Enterococcus faecalis* et engendrer la perte de la capacité à former du biofilm (Perez et al. 2015). D'autres éléments peuvent inactiver des facteurs de virulence précis, comme IS1515 qui inactive le gène *ply* qui code pour la pneumolyse chez *Streptococcus pneumoniae* (Garnier et al. 2007) ou encore IS*Rso4* qui inactive le gène *phcA* (régulateur global de la virulence) chez *Ralstonia solanacearum* (Jeong et Timmis 2000).

III.D.3. Modulation du métabolisme

L'insertion d'IS peut aussi mener à la modification du métabolisme secondaire ou primaire. Chez *Pseudomonas stutzeri*, l'insertion d'IS de la famille de IS*L3* peut inactiver la capacité de la bactérie à se développer sur des composés aromatiques (Bolognese et al. 1999; Christie-Oleza et al. 2008). Chez la bactérie fermentaire *Lactobacillus delbrueckii*, il a été observé une insertion d'une IS dans l'opéron *lac* menant à l'expression constitutive de celui-ci. Dans le cadre de la production de métabolites secondaires, chez *Lactobacillus sakei*, l'insertion de IS1520 (membre de la famille des IS3) inactive la production de la protéine lactocine S, bactériocine appartenant à la famille des lantibiotiques (Morten Skaugen et Nes 2000; M. Skaugen et Nes 1994). Enfin, certaines souches de *Shigella* sp. ont perdu leur capacité de production de l'indole suite à l'interruption de l'opéron *tna* (Rezwan, Lan, et Reeves 2004).

III.D.4. Contribution des éléments IS à l'expression des gènes

Certaines séquences d'insertion portent en leur extrémité 3' un promoteur appelé P_{OUT} pour « outward-oriented promoters » qui est soit complet, c'est-à-dire possédant un

élément -35 et un élément -10, soit contient juste une séquence -35 (**Figure 11**). Ces séquences peuvent contribuer aux gènes en aval à l'aide d'un promoteur complet ou apporter un gain au promoteur déjà pré-existant du gène suivant. Certains cas décrivent même une optimisation du promoteur originel du gène en diminuant/augmentant la distance entre les deux boîtes potentielles -35 et -10 rendant ainsi fonctionnelle une séquence promotrice putative (Hawley et McClure 1983). Dans de nombreux cas, l'insertion d'une IS portant un P_{OUT} permet l'expression de gènes en aval auparavant silencieux. Certaines IS possèdent un hexamère -10 en 5' dirigé vers l'extérieur de l'élément et une boîte -35 en 3', toujours dirigée vers l'extérieur de l'élément. Lors de leur excision et de leur circularisation, les deux boîtes ainsi rapprochées vont créer un promoteur hybride et augmenter l'expression de la transposase pour favoriser son intégration dans le génome receveur (Mahillon et Chandler 1998; Prudhomme et al. 2002; Szeverényi et al. 2003).

i. **Promoteur complet.** Plusieurs cas ont été décrits dans la littérature, relatant l'utilisation d'un promoteur P_{OUT} complet, pour l'expression de gènes en aval de l'IS. L'utilisation d'un P_{OUT} a été décrite pour l'expression :

- gènes de résistance à différents antibiotiques : β -lactamines (dont les carbapénèmes)(Lartigue et al. 2006), aminosides (Jun-ichi Wachino et al. 2006), 5-nitroimidazole (Sóki et al. 2006), fluoroquinolones (Olliver et al. 2005) et tétracycline (Simpson, Skurray, et Firth 2000). Les régions promotrices P_{OUT} étaient amenées par des IS de différentes familles (IS1380, IS3, IS4, IS6 etc.).
- de gènes de métabolisme : gènes de la biosynthèse de l'arginine (Charlier, Piette, et Glansdorff 1982) et de l'histidine (A. Wang et Roth 1988) mais aussi ceux impliqués dans l'utilisation du citrate (Blount et al. 2012) ou de l'acétate (Treves, Manning, et Adams 1998).



- de gènes de virulence, *IS481a* participerait à la surexpression d'une protéine effectrice cytotoxique (type III) chez *Bordetella pertussis* (Han et al. 2011). L'insertion de *ISPst4* favoriserait l'expression du gène *oriV* et ainsi, augmenterait le nombre de copies de plasmides pUC chez *Pseudomonas stutzeri* (Coleman et al. 2014).

ii. **Promoteur hybride.** L'apport d'un promoteur dit hybride repose sur une séquence -35 souvent canonique apportée par l'IS et qui va s'additionner à une séquence -10 native. Lors de l'insertion de l'IS, ce nouveau promoteur hybride (élément -35 de l'IS et élément -10 natif) sera plus efficient pour le recrutement de l'ARN polymérase. De nombreux gènes de résistance aux antibiotiques sont concernés: résistance aux aminosides (*aac(6)-Ij*) (Rudant, Courvalin, et Lambert 1998), aux fluoroquinolones (*acrEF*) (Jellen-Ritter et Kern 2001), à la méthicilline (*mecA*) (Couto et al. 2003), etc. Des gènes d'autres fonctions tirent avantage de cette contribution, notamment le métabolisme, permettant à des bactéries une utilisation constitutive du lactose (Wood et al., 1991), le transport du citrate (Felipe et

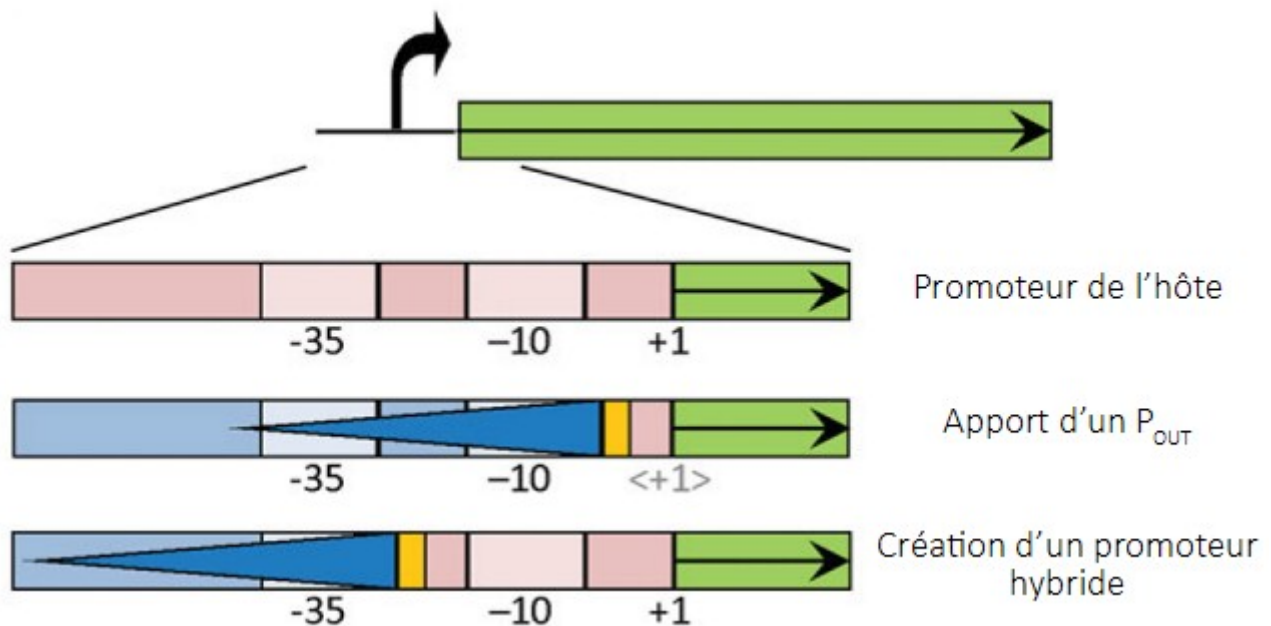


Figure 11: Activation de l'expression des gènes par l'insertion d'une IS

La séquence d'insertion peut soit apporter un promoteur complet appelé P_{OUT} ou apporter un élément -35 pour la création d'un promoteur hybride et optimiser l'expression des gènes en aval. La séquence codante du gène en aval (vert), sa région promotrice (rouge) et son +1 de transcription (jaune) peuvent être influencées par l'insertion d'une IS portant un promoteur dirigé vers l'extérieur (bleu) complet ou non. Adaptée de Vandecraen et al. 2017

al. 1996) ou encore la production de lactate (Bongers et al. 2003).

Chapitre II. Les ISCR

Depuis quelques années, une famille d'IS est de plus en plus mentionnée dans la littérature comme élément prédominant dans la résistance aux antibiotiques et au sein de plasmides endémiques de résistance. Cette famille, appelée ISCR, reste encore très peu caractérisée malgré le nombre croissant de publications la mentionnant.

I. Historique

La première description des ISCR a été publiée dans les années 1990 quand une séquence de 2154 pb a été trouvée en 3' d'intégrons de classe 1, In6 et In7 (Stokes et al. 1993). Une des particularités était la duplication de la région 3' conservée des intégrons de classe 1, les 2 copies encadrant un ou plusieurs gènes de résistance qui n'étaient pas des cassettes d'intégrons de par l'absence de site *attC* (Valentine et al. 1994). Une autre séquence, de fonction inconnue a été retrouvée associée à ces gènes de résistance, et ce, dans les deux intégrons. (Stokes et al. 1993)(**Figure 12**). Cette séquence a été nommée CR pour « Common Region » car la séquence était conservée avec une *orf* de 341 pb, suivi des gènes de résistances.

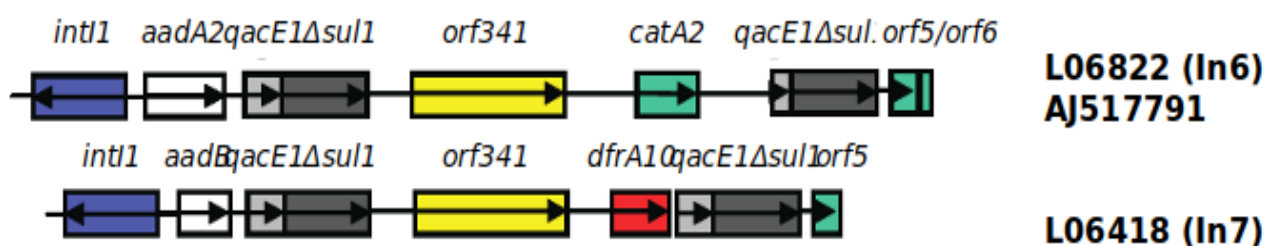


Figure 12: Représentation schématique de l'environnement génétique de ISCR1 lors de sa découverte au sein des intégrons In6 et In7.

Les intégrons de classe 1 In6 (Numéro d'Accession L06822 et AJ517791) et In7 (Numéro d'Accession L06418) contiennent une cassette de résistance aux aminosides (blanc) codée par *aadA2* et *aadB* respectivement. La région 3' conservée de ces intégrons contient une fusion de gène *qacE1Δsul1* (en deux teintes de gris) et s'est retrouvée dupliquée dans ce contexte. Cette duplication encadre un gène de fonction inconnue, *orf341* (jaune) qui correspond à la région CR, et un gène de résistance sans site *attC*: le gène *catA2* (vert) pour In6 et le gène *dfrA10* (rouge) pour In7. Adaptée de M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006

Dans les années 1990, ces séquences CR étaient très rares dans la GenBank. En effet, en 1993, une seule séquence existait en plus que celle décrite en aval des intégrons In 6 et In 7. Cette séquence supplémentaire était présente sur un plasmide du groupe d'incompatibilité IncQ (Stokes et al. 1993). Par la suite, de plus en plus de CR ont été identifiées, uniquement chez des bactéries à Gram négatif d'importance clinique (Arduino et al. 2003). Les CR1 ont été mal annotées au départ, avec un cadre ouvert de lecture de 341 codons. Cette erreur a ensuite été corrigée et les CR1 ont été désignés *orf513* (Partridge et Hall 2003). Les CR1, également appelées *orf513* semblent être présentes à la fois sur le chromosome mais aussi sur les plasmides et ne sont pas spécifiques d'une zone géographique particulière (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Les CR1 ont été quasi exclusivement retrouvées associées à des gènes de résistance, qui provenaient notamment de bactéries environnementales (Arduino et al. 2002; Montserrat Sabaté et al. 2002; Villa et Carattoli 2005) Ceci n'était pas le cas pour d'autres CR décrites : CR2 (Clockaert et al. 2000) puis CR3 (D. Boyd et al. 2001). Ces éléments ont été ensuite identifiés comme étant apparentés aux membres de la famille IS91, de par leur structure et les domaines catalytiques de leur transposase (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Grâce à ces données, Levings *et al.* ont renommé en 2008 le gène de la transposase *rcr* à cause de son mécanisme supposé de transposition par répllication par cercle-roulant et par homologie aux protéines Rep qui sont impliquées dans la répllication de certains phages et plasmides (Levings et al. 2007). Puis, les éléments CR ont été renommés ISCR car ils présentent une structure proche des IS. Par la suite, des nouveaux membres ont été identifiés : ISCR8 (Davis et al. 2000), ISCR4 (Poirel et al. 2004) puis ISCR9 et 10 (Mark A. Toleman et al. 2007), ISCR5 (H. Li, Walsh, et Toleman 2009, 5), ISCR14, ISCR16 (M. A. Toleman et Walsh 2008), ISCR19 (T. Naas et al. 2008), ISCR6 (Coyne, Courvalin, et Galimand 2010), ISCR20 (Bercot et al. 2010) et ISCR22/23 (K. M. Schleinitz, Vallaey, et Kleinstaub 2010), ISCR21 (Poirel et al. 2012) et



ISCR27 (M. A. Toleman et al. 2012), ISCR19-like (Pollini et al. 2013) et enfin, ISCR24 (Mataseje et al. 2016) (**Figure 13**). Malgré la mise en évidence de nombreux membres, aucune étude de leur mobilité et de l'expression du gène *rcr* n'a été publiée.

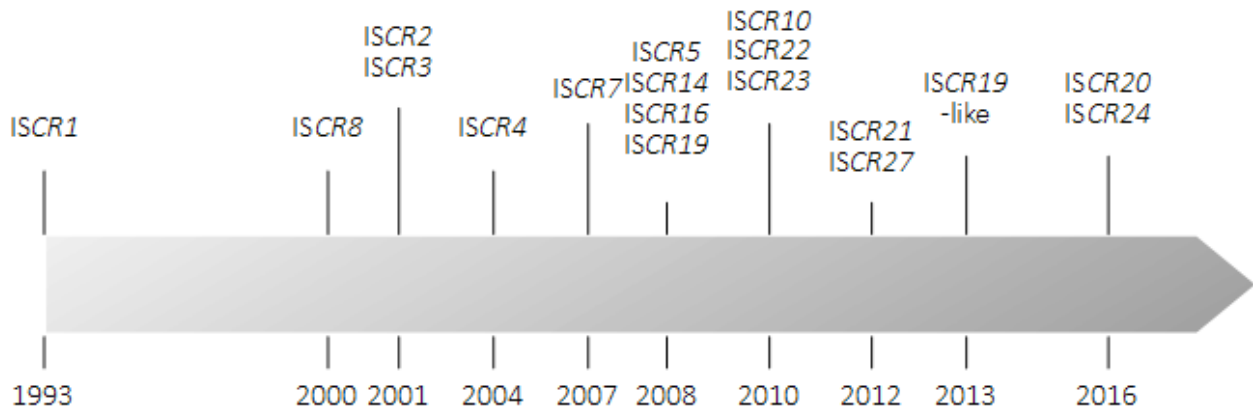


Figure 13: Chronologie de la découverte des différents éléments ISCR

Représentation graphique de la découverte des différents membres de la famille des ISCR. Les publications correspondantes sont dans le texte.

II. Structure

Par homologie aux IS (voir **Chapitre I : Les EGM 1.2 Structure**), les ISCR sont constituées à minima d'un cadre ouvert de lecture codant une transposase de type HUH et de deux éléments *oriS* et *terS*, qui sont respectivement l'origine de réplication et le site de terminaison de la réplication de l'élément (**Figure 14**).

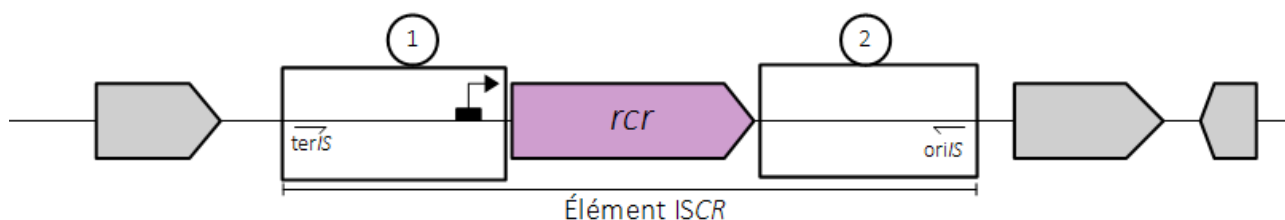


Figure 14: Représentation schématique d'un élément ISCR

L'élément ISCR comprend la région 1 appelée région *terIS*, la séquence codante de la transposase *rcr* (violet) et la région 2 appelée, région *oriIS*. La région *terIS* comprend le motif en structure tige-boucle *terIS*, terminateur de la réplication, et la séquence promotrice de la transposase. La région *oriIS* comprend le motif *oriIS* possédant une structure tige-boucle, qui correspond à l'origine de réplication de l'élément. L'environnement génétique en amont et en aval des membres de la famille ISCR est représenté par des flèches grises.

II.A. La transposase RCR

Le gène *rcr* code une transposase de type HUH proche de celle codée par les membres de la famille IS91 (M. Pilar Garcillán-Barcia et al. 2002) mais aussi proche des protéines Rep de *Staphylococcus aureus*, des protéines de réplication comme celle du coliphage ΦX174 (M V Mendiola et de la Cruz 1992), et des relaxases des plasmides conjugatifs F et R388 (María Pilar Garcillán-Barcia, Francia, et de La Cruz 2009). Cette transposase possède une triade de résidus catalytiques HUH, composée de deux résidus histidines encadrant un acide aminé hydrophobe. Ce domaine est impliqué dans la fixation d'un ion métallique indispensable au mécanisme réactionnel (Chandler et al. 2013). L'alignement des protéines RCR des ISCR a montré que le domaine HUH était constitué d'un tandem d'histidines entourant soit une tyrosine (Y) pour RCR1 ou d'une phénylalanine (F) pour ISCR2, ISCR3, ISCR4 et ISCR5 (**Figure 15**)(M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Les transposases RCR possèdent aussi un domaine catalytique composé d'une ou deux tyrosines encadrant trois autres résidus. Ce domaine permet aux transposases de cette famille d'effectuer le clivage simple brin de l'ADN (Chandler et al. 2013). Il en existe deux types de transposases HUH : les transposases Y1 et Y2.

- i. **Y2.** Ce domaine catalytique possède deux tyrosines. Il est trouvé chez les protéines Rep de certains phages (Odegrip et Haggård-Ljungquist 2001), les

hélicitons (Kapitonov et Jurka 2001) et les transposases de la famille IS91 (M. Pilar Garcillán-Barcia et al. 2002). Le fait qu'il y ait deux tyrosines permet le recrutement d'un monomère de transposase (voir **3. Mécanisme de transposition des transposases HUH**)

- ii. **Y1**. Ce domaine possède une seule tyrosine (Y1) comme ceux retrouvés chez les protéines Rep de plasmides (Gruss et Ehrlich 1989), certains virus d'eucaryotes (Rosario, Duffy, et Breitbart 2012), la famille IS200/IS605 (Ronning et al. 2005) et les ISCR (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). La présence d'une seule tyrosine va avoir pour conséquence le recrutement d'un dimère de transposase, comme cela a été montré pour IS608 (voir **3. Mécanisme de transposition des HUH transposases**)

L'alignement des protéines RCR de la famille des ISCR montre un motif Y1 précédé d'un trio d'acides aminés conservés : leucine (L) leucine ou cystéine (C) et une arginine (R) , derrière soit une arginine (R), soit une lysine (K) séparées (**Figure 15**).



Figure 15: Alignement des séquences en acides aminés des transposases RCR pour ISCR1, ISCR2, ISCR3, ISCR4 et ISCR5

Alignement des transposases de tous les membres caractérisés de la famille des ISCR. Le domaine HUH est encadré en bleu et le domaine Y1 est encadré en rouge. C : Cystéine ; F:Phénylalanine ; H : Histidine ; K : Lysine ; L : Leucine ; R : Arginine ; Y : Tyrosine. Adaptée de M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006

La fonctionnalité de la transposase est indispensable à la mobilité de l'élément mais d'autres déterminants ont été démontrés comme étant nécessaires au mécanisme de transposition de type réplication par cercle roulant que ces transposases sont capables d'effectuer. (Voir 3. Mécanisme de transposition des HUH transposases).

II.B. Les extrémités bordant l'élément

Les extrémités *oriS* et *terS* bordent les éléments de la famille IS91 et ils constituent un site d'initiation et de terminaison de la transposition de l'élément. La reconnaissance de structure tige-boucle est essentielle à l'activité des endonucléases HUH (Boer et al., 2006; Messing et al., 2012; Ton-Hoang et al., 2012) qui vont avoir une spécificité soit pour la tige (Ronning et al. 2005) soit pour la boucle de la structure (Alison B. Hickman

et Dyda 2015). Après la reconnaissance de la tige-boucle aux extrémités de l'élément, la transposase va cliver en 5' ou 3' de la structure secondaire (Chandler et al. 2013). Pour les IS des familles IS91 et ISCR, ces extrémités formées de séquences palindromiques sont appelées *oriS* pour l'origine de réplication et *terS* pour la terminaison de la réplication. Ainsi, chez IS91, le clivage se fait en 5' de l'*oriS* et en 3' du *terS* (M. Pilar Garcillán-Barcia et al. 2002). Pour la famille des ISCR, des *oriS* et *terS* ont été proposés mais leur fonctionnalité n'a pas encore été établie.

- i. **L'*oriS***. Cette séquence correspond à l'origine de réplication de l'élément et grâce à un alignement des extrémités de certains membres de la famille des ISCR (**Figure 16**), un consensus a été établi 5'-GcgTTTgAAcTTCCTATACxx-3' (x : n'importe quelle base nucléotidique)(M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Cette séquence est très proche de l'*oriS* de la famille IS91 (5'-GxtTTTxAAaTTCCTATxCaT-3')(M. Pilar Garcillán-Barcia et al. 2002; M Victoria Mendiola, Bernales, et De La Cruz 1994; Tavakoli et al. 2000). De plus, IS91 et IS801 possèdent une *oriS* avec deux séquences palindromiques (M Victoria Mendiola, Bernales, et De La Cruz 1994) alors que chez la famille des ISCR, il n'y a qu'un seul palindrome dans l'origine de réplication (**Figure 16**).

oriS



Figure 16 : Alignement représentant les différents *oriS*

Alignement effectué pour les élément ISCR1, ISCR2, ISCR3, ISCR4 et ISCR5 et pour certains membres de la famille IS91 (IS1294, IS91 et IS801). La flèche représente le sens de la réplication. Adaptée de M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006)

ii. **Le *terIS*.** Le *terIS* correspond à une séquence palindromique en 5' du gène codant pour la transposase et joue le rôle de terminateur de la réplication. Ce motif est très conservé entre *IS91*, *IS801* et *IS1294* et plus généralement, au sein de la famille *IS91*. Il est caractérisé par une séquence riche en GC, d'environ 17 pb, comprenant un palindrome de 6 paires de bases (M. Pilar Garcillán-Barcia et al. 2002). Chez les *ISCR*, ce *terIS* n'est pas très bien défini. L'alignement de la région 5' des différents membres de la famille des *ISCR* ne met pas en évidence de site conservé. Certains membres ne possèdent pas de *terIS*, comme *ISCR1* dont l'extrémité 5' correspond à la rupture de conservation avec la région 3'CS des intégrons de classe 1 (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006).



Figure 17 : Alignement des séquences du *terIS* pour les éléments *ISCR4*, *ISCR2* ainsi que les trois membres de la famille *IS91*, *IS1294*, *IS91* et *IS801*.

Les séquences soulignées correspondent au palindrome qui va structurer la tige-boucle. Adaptée de M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006

III. Mécanisme de transposition des transposases HUH

Il n'existe aujourd'hui aucune preuve expérimentale de la capacité des *ISCR* à transposer. Néanmoins, au vu des similarités qui existent entre les différentes familles des transposases HUH, il semblerait que les *ISCR* transposent de la même façon que les autres transposases HUH. La difficulté est que la transposase des *ISCR* partage des similarités avec celle de la famille *IS91* (taille de la transposase et organisation des domaines la constituant) et la famille *IS200/IS605* (motif Y1) et que ces deux familles

possèdent des mécanismes de transpositions différents. Ici seront résumés leurs mécanismes respectifs de transposition décrits dans la littérature. Il est probable que les ISCR transposent par l'un ou l'autre mécanisme, voire qu'ils utilisent un mécanisme hybride à ceux des IS91 et des IS200/IS605.

III.A. Transposition des membres de la famille IS200/IS605

Le mécanisme complet de transposition de la famille IS200/IS605 a été décrit pour IS608 de *Helicobacter pylori* (Guynet et al. 2008) et ISDra2 de *Deinococcus radiodurans* (Pasternak et al. 2010). Les transposases de IS608 et ISDra2 nécessitent obligatoirement un substrat d'ADN simple brin pour leur transposition. Après le clivage en 5' de la tige-boucle en amont du gène de la transposase et le clivage en 3' de la tige-boucle en aval, la transposase sous forme dimérique va se lier de façon covalente avec le 5'-phosphate issu du clivage, et un intermédiaire circulaire simple brin est formé (Pasternak et al. 2010). Par la suite, le complexe 5'-phosphate-transposase va attaquer le brin cible au niveau du 3'OH libéré après le clivage de celui-ci au niveau du site de reconnaissance 5'-TTAC-3' (pour IS608) et 5-TTGAT-3' (pour ISDra2). L'intégration de l'élément ne génère pas de duplication du site cible (Ronning et al. 2005). Étant donné que l'IS est insérée sur un seul brin de l'ADN receveur, lors de la réplication, un descendant possédera l'IS sur les deux brins alors que l'autre sera dépourvu d'IS. Il en est de même pour l'ADN donneur (Guynet et al. 2008). Le mécanisme global de transposition pour cette famille est décrit dans la **figure 18**.

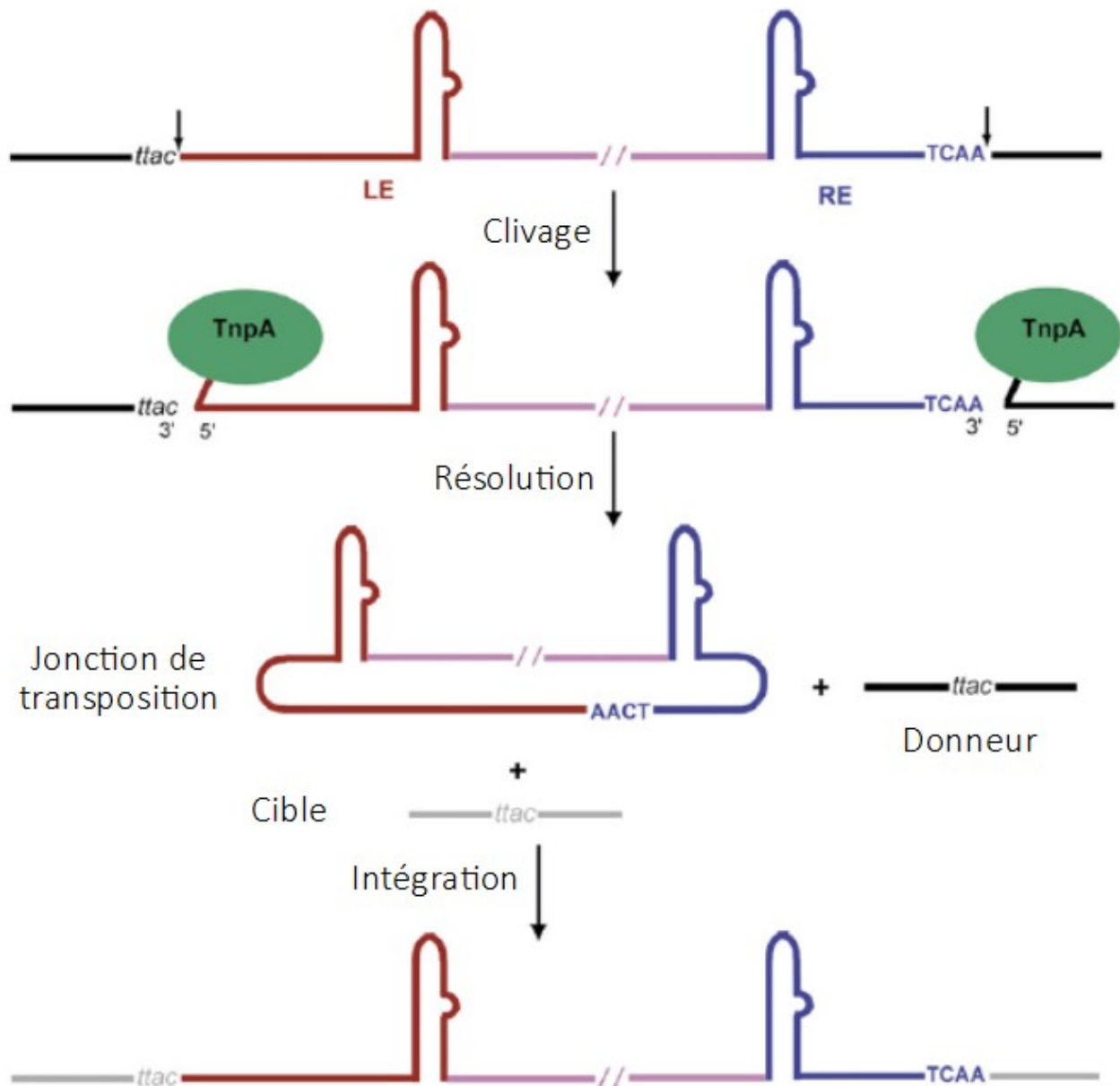


Figure 18: Mécanisme de transposition simple-brin de IS608 d'*Helicobacter pylori*

Les extrémités gauche (LE en rouge) et droite (RE en bleu) sont représentées par des structures tige-boucles. Le reste de l'élément IS a été raccourci (en rose). La transposase TnpA (en vert) va d'abord cliver le brin supérieur (appelé brin actif) de l'ADN donneur (en noir). L'excision précise de l'IS à partir du brin actif génère un intermédiaire circulaire simple brin dans lequel les extrémités LE et RE sont jointes précisément, et le donneur rescellé en préservant le site cible TTAC. Puis, la transposase va intégrer l'intermédiaire circulaire en 3' du site cible dans l'ADN receveur (en gris). Adaptée de Barabas et al. 2008

III.B. Transposition de IS91 (famille IS91)

Les études préalables pour la transposition de la famille IS91 concernent uniquement les éléments IS91 et IS1294, pour lesquels deux modèles de transposition de type RC ont été proposés.

Le premier modèle dit « concerté » a été développé par Mendiola *et al.*, en 1994. Selon ce modèle (**Figure 19A**), un monomère de la transposase catalyse toutes les étapes de la transposition : clivage et transfert de brins, en utilisant ses deux résidus tyrosines. Le premier résidu (Y1) initie un clivage monocaténaire de l'extrémité *oriS* en 3' du tétranucléotide 5'CTTG-3' pendant que le second résidu (Y2) va engager le clivage de l'ADN cible en 3' de la séquence cible 5'-CTTG-3'. Ces événements vont créer un complexe transposase-ADN où la première tyrosine (Y1) sera liée de façon covalente au brin donneur alors que la seconde (Y2) sera complexée au brin receveur. La première tyrosine complexée en 5'phosphotyrosine va attaquer le 3'OH du brin receveur issu du clivage. Simultanément, le brin « leading » de la molécule donneuse est répliqué par la machinerie cellulaire. Lorsque l'extrémité *ter* est atteinte, une seconde réaction de clivage est réalisée par la transposase concourant à la libération du brin. Cette extrémité libre génère un 3'OH qui alors est attaquée par la seconde tyrosine complexée à un 5'phosphate (M Victoria Mendiola, Bernales, et De La Cruz 1994).

Le second modèle, dit « séquentiel », a été décrit pour IS91 et semble faire intervenir un intermédiaire circulaire simple brin (**Figure 19B**). Dans ce modèle, la première tyrosine, impliquée dans le clivage monocaténaire du transposon en *ori* et en *ter*, réalise ces deux événements en premier. Un intermédiaire circulaire est créé puis le clivage monocaténaire par la seconde tyrosine sur le brin receveur est réalisé. L'intégration de l'intermédiaire circulaire peut donc se faire. Pour ce modèle, les événements d'excision du transposon et la réplication en cercle roulant sont réalisés avant l'intégration du transposon au sein de l'ADN cible (del Pilar Garcillán-Barcia et al. 2001).

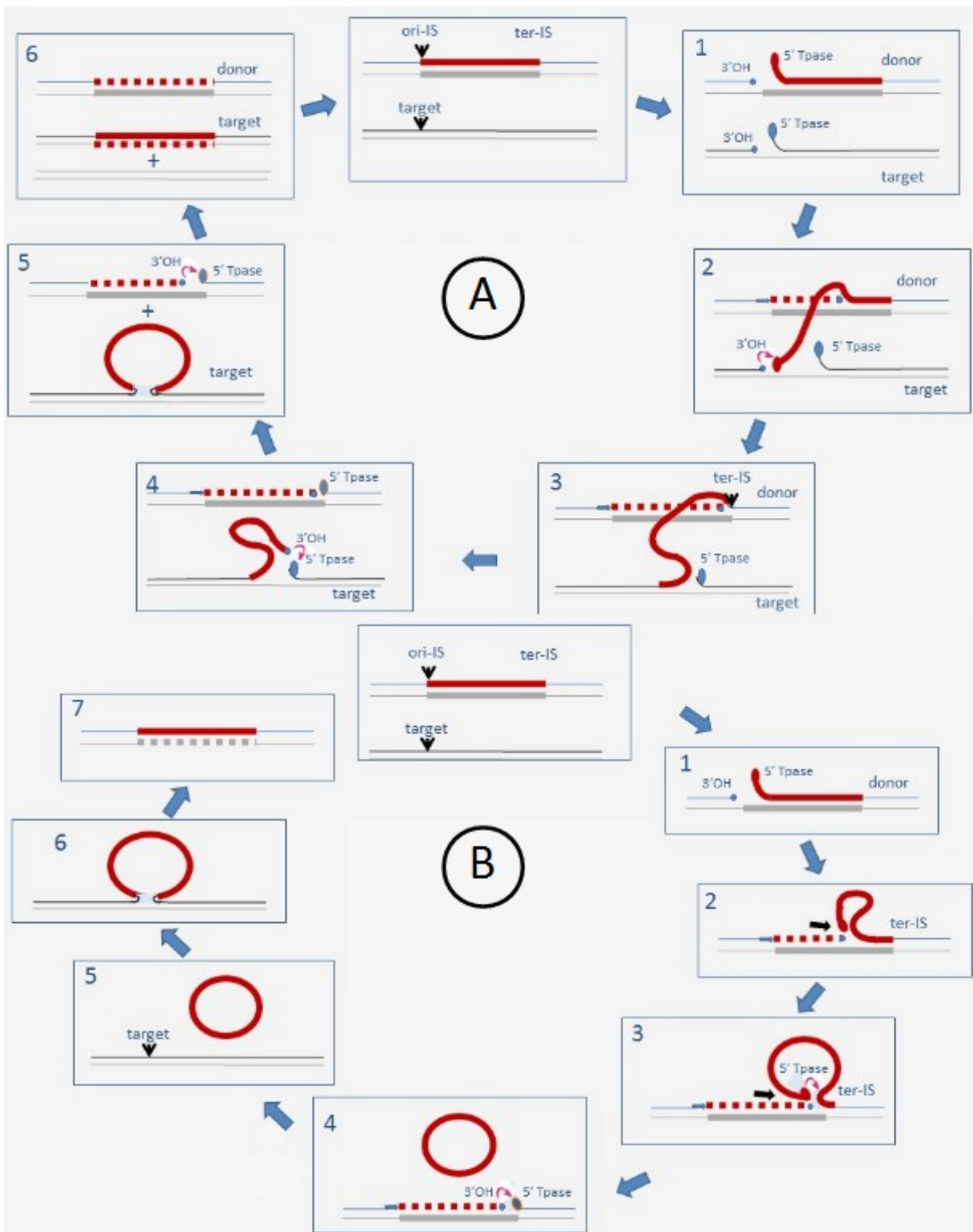


Figure 19: Modèles de transposition pour les membres de la famille IS91

A. Modèle concerté (1) La transposase catalyse les clivages concertés de l'extrémité *oriIS* de l'ADN donneur et de l'ADN cible. (2) Attaque du brin receveur et réplication de l'IS native (3) Clivage en 3' de *terIS* de l'IS native. (4) Fin du transfert en 3' au niveau de l'ADN cible. (5) Terminaison de la réplication de l'IS donneuse (6) La boucle d'ADN SB formée par l'IS au niveau du site cible est résolue par la machinerie de réplication de l'hôte. **B. Modèle séquentiel.** (1) La transposase catalyse le clivage en 3' de l'*oriIS*. (2) Réplication de l'ADN donneur et déplacement du brin clivé. (3) Clivage de l'extrémité *terIS* par la transposase en fin de réplication (4) Formation d'un intermédiaire circulaire simple brin (5) Clivage monocaténaire de l'ADN cible (6) Intégration de l'intermédiaire SB médiée par la transposase au niveau du site cible (7) Réplication par l'hôte après insertion. Adaptée de ISFinder (<https://www-is.biotoul.fr/>)

III.C. Les ISCR sont-elles mobiles ?

Au vu des résidus catalytiques de leur transposase et de leur organisation (en particulier, la présence des structures tige-boucles à leurs extrémités), les éléments ISCR devraient avoir un mécanisme de transposition comparable aux IS de la famille IS91. Cependant, les transposases de ces familles présentent des différences de structure qui pourraient expliquer aussi des divergences dans leur mode de transposition. Aucune étude de la transposition de la famille ISCR n'a été publiée à ce jour. La seule donnée connue provient d'analyses *in vivo* qui ont montré que la transposase RCR1 est capable de cliver l'extrémité *oriS* de l'élément ISCR1. Néanmoins, ces résultats ont été obtenus avec une très forte quantité de transposase purifiée (500 ng) et sans ADN compétiteur (Quiroga et al. 2013).

IV. Diversité

Dans la littérature, 18 éléments ISCR ont été décrits. L'alignement des transposases de ces ISCR a montré qu'elles possèdent toutes environ 500 acides aminés et partagent entre 4 à 88 % d'identité de séquence protéiques (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006)(Figure 20).



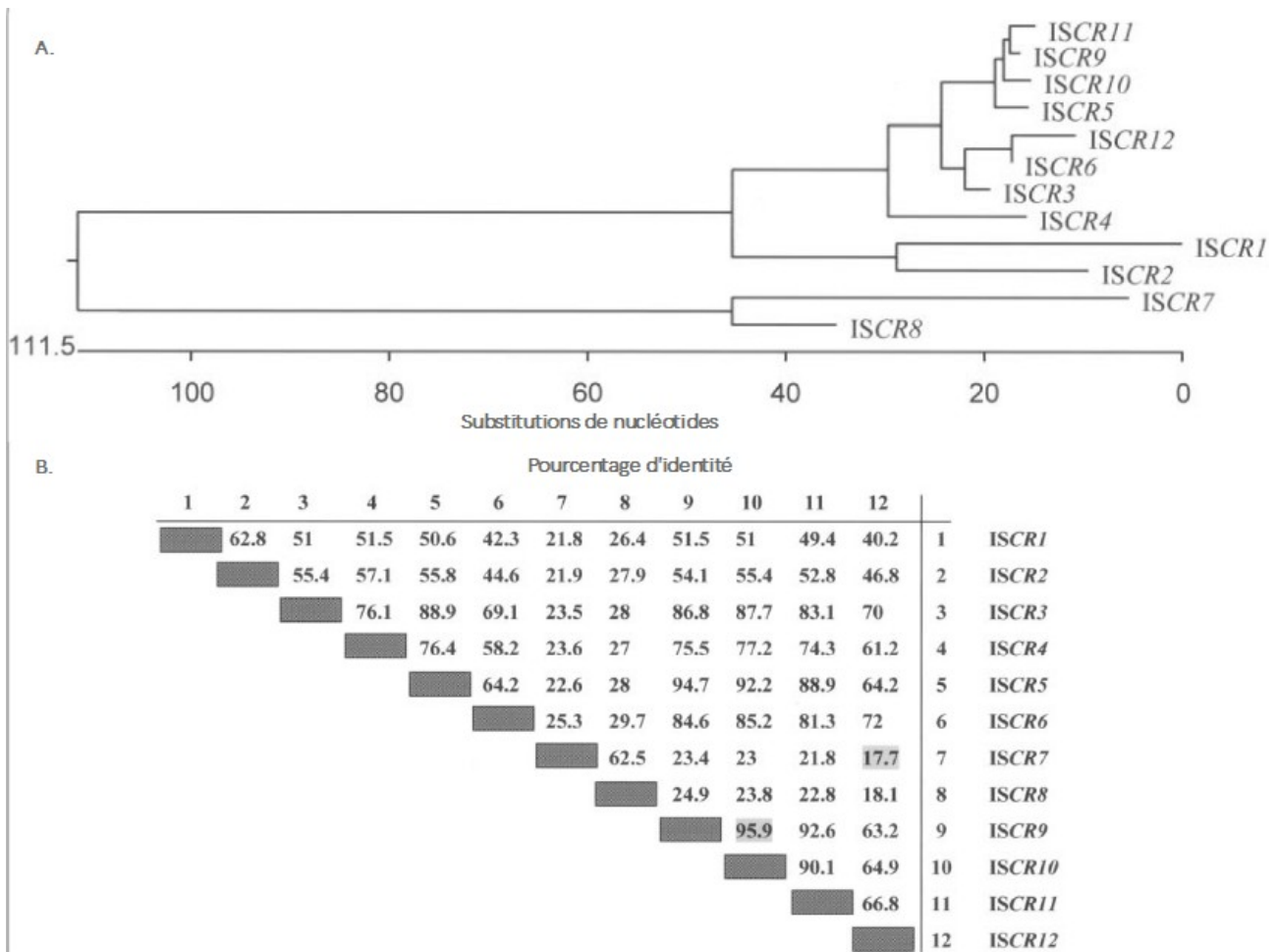


Figure 20: Identité entre les 12 premières ISCR après alignement des séquences en acides aminés de la transposase RCR.

A. Regroupement des ISCR en fonction de l'identité de séquence en acides aminés de leur transposase respective. **B.** Tableau regroupant les pourcentages d'identité de séquences en acides aminés entre les transposases des 12 premiers ISCR. Adaptée de M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006

IV.A. ISCR1

IV.A.1. Structure

ISCR1 est un élément de 2153 pb contenant une ORF *rcr1* de 1542 pb codant la protéine RCR1 de 513 acides aminés précédée d'une région *terIS* de 379 pb contenant le promoteur du gène de la transposase, et suivie d'une région *oriIS* de 232 pb contenant le motif *oriIS*. La protéine RCR1 possède les domaines fonctionnels d'une transposase de type HUH, avec un motif HYH et une tyrosine catalytique dans le motif RLCRY. L'élément ISCR1 se termine par une région palindromique identifiée comme *oriIS* caractérisée par la séquence 5'-GTATAGGAAGTATAAACCA-3'. Deux promoteurs potentiels P_{CR1-1} et P_{CR1-2},

constituant des P_{OUT} ont été décrits dans la région *oriS* (Mammeri et al. 2005; Rodriguez-Martinez et al. 2006) et pourraient donc participer à l'expression des gènes en aval, comme cela est déjà connu chez certaines IS (voir **Chapitre I: Les EGM, 3. Contribution des éléments IS à l'expression des gènes**). Kamruzzaman et al., ont cloné la séquence contenant le promoteur P_{CR1-1} en amont de la GFP (Green Fluorescent Protein) et ont montré que cette région permettait une faible expression de la GFP. Néanmoins, dans cette expérience, la région contenant les deux promoteurs potentiels P_{CR1-1} et P_{CR1-2} n'a pas été testée (Kamruzzaman et al. 2015).

IV.A.2. Environnement génétique

L'élément *ISCR1* est toujours trouvé en aval de la 3'CS (Collis et Hall 1995) des intégrons de classe 1 qui est souvent en deux copies, avec une région 3'CS tronquée pour la seconde copie (Mammeri et al. 2005; M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Les intégrons de classe 1 étant très fréquemment retrouvés dans des isolats cliniques de γ -protéobactéries (Arduino et al. 2003; Quiroga et al. 2013; J.-i. Wachino et al. 2011), de facto la fréquence de *ISCR1* est aussi élevée. Valentine *et al.*, ont montré en 1994 que les gènes en aval de *ISCR1* ne possèdent pas de sites proches des sites *attC* des cassettes d'intégrons. Ils ne peuvent donc pas être mobilisés par l'intégrase de l'intégron en amont (Valentine et al. 1994). Certains gènes en aval de *ISCR1* proviennent de segments chromosomiques bactériens (Humeniuk et al. 2002). La littérature décrit surtout la présence de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement direct en aval de *ISCR1* (**Tableau 1**).

Tableau 1: Gènes de résistance aux antibiotiques décrits en aval de *ISCR1*

Résistance aux antibiotiques	Gène	Références
Triméthoprim	<i>dfrA23</i>	(Villa et Carattoli 2005)
	<i>dfrA3b</i>	(Arduino et al. 2003)



	<i>dfrA10</i>		(Stokes et al. 1993)	
	<i>dfrA19</i> (anciennement <i>dfrA18</i>)		(Garnier et al. 2006; Tosini et al. 1998)	
Quinolones	<i>qnrA1</i>		(Cheng et al. 2016)	
	<i>qnrA3</i>		(Lascols et al. 2008)	
Aminosides	<i>aph(3')-VIa</i>		(T. Naas, Poirel, et Nordmann 1999)	
β-lactamines	β-lactamases de classe A	<i>bla_{CTX-M-1}</i>	(Su et al. 2008)	
		<i>bla_{CTX-M-2}</i>	(Arduino et al. 2002)	
		<i>bla_{CTX-M-9}</i>	(M. Sabaté et al. 2000)	
		<i>bla_{PER-1/3/4}</i>	(Xie et al. 2016)	
		<i>bla_{PER-7/8}</i>	(Tada et al. 2017)	
	β-lactamases de classe B ou métallo-β-lactamases	<i>bla_{NDM-1}</i>		(J. Li et al. 2014)
	β-lactamases de classe C	<i>bla_{DHA-1}</i>		(Verdet et al. 2000)
		<i>bla_{CMY-9}</i>		(Doi et al. 2002)
		<i>bla_{IMP-1}</i>		(Iguchi et al. 2014)
	Phénicolés	<i>catA</i>		(Stokes et al. 1993)

IV.A.3. Formation des intégrons complexe de classe 1 selon le modèle de Toleman *et al.*, 2006

Une particularité de *ISCR1* est l'absence de *terIS*. Toleman *et al.*, ont émis l'hypothèse que le *terIS* natif de *ISCR1* aurait disparu lorsque celui-ci aurait répliqué au-delà du *terIS* vers un second site au sein de l'intégron de classe 1. Cette prolongation de la réplication aurait fait dégénérer le *terIS* originel (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Ce mécanisme appelé « one-ended transposition » permet la mise en place d'une réplication en l'absence de *terIS* et son occurrence est d'environ 10 % de la transposition « sauvage » (M Victoria Mendiola, Bernales, et De La Cruz 1994). Ce premier événement expliquerait ensuite l'association des *ISCR1* aux intégrons de classe 1.

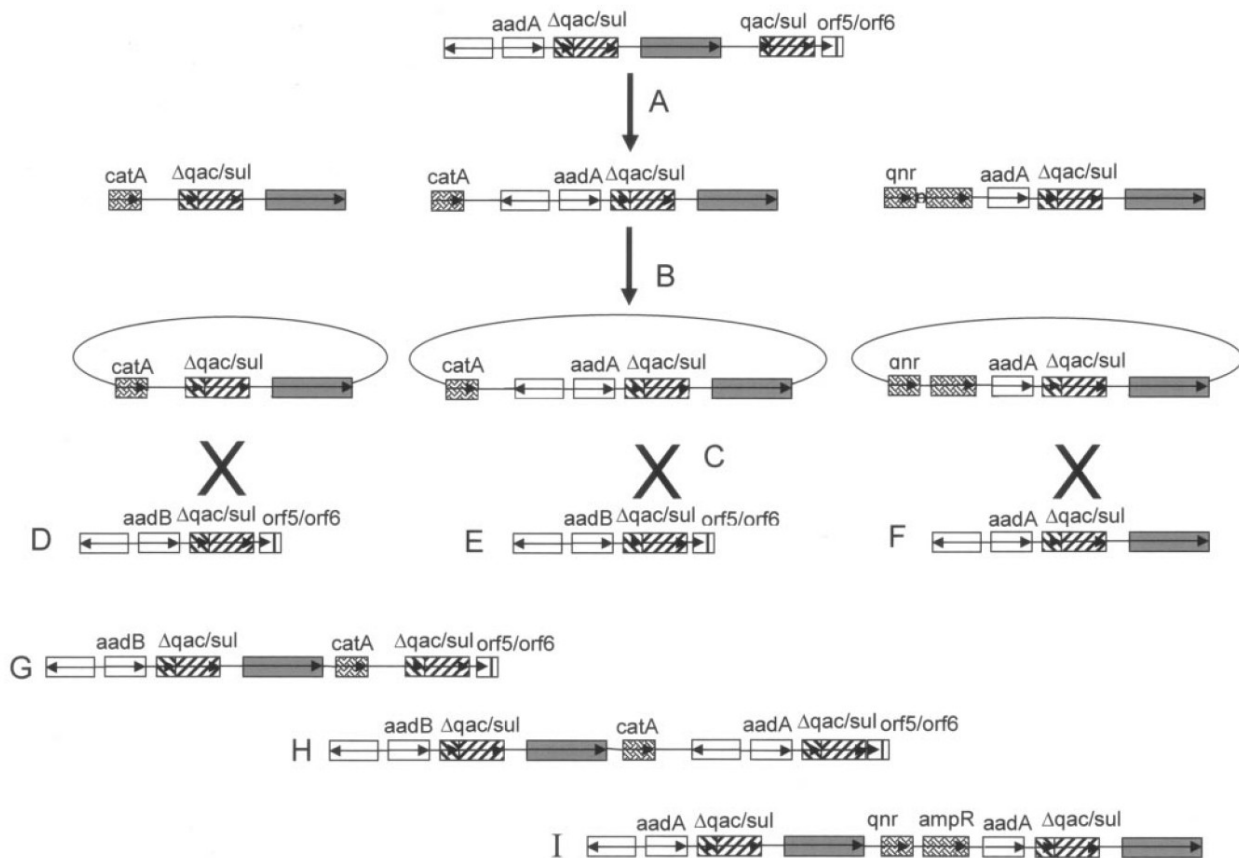


Figure 21: Génération des intégrons complexe de classe 1 par l'intervention de ISCR1

A. Transposition en cercle-roulant aberrante de ISCR1 générant différents intermédiaires **B.** Seconde réplication en RC des différents « ISCR1 » générant des intermédiaires circulaires **C.** Recombinaison homologue entre la copie de 3'CS présente dans l'intermédiaire circulaire et des intégrons de classe 1 (**D** et **E**) ou un intégron complexe de classe 1 (**F**) générant respectivement les intégrons complexes de classe 1 avec une seule copie de ISCR1 (**G** et **H**) ou à deux copies de ISCR1 (**I**). Adaptée de (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006)

Le mécanisme proposé par Toleman *et al.*, se déroulerait en plusieurs étapes et ferait intervenir à la fois le processus de transposition par ISCR1 mais aussi de la recombinaison homologue propre à l'hôte. Le modèle partirait d'un premier évènement où la 3'CS, normalement fusionnée à un intégron de classe 1, serait ici non associée à un intégron. ISCR1 aurait alors transposé en « one-ended transposition » pour générer plusieurs produits de réplication (**Figure 21A**). Un second évènement de réplication aurait généré des intermédiaires circulaires (**Figure 21B**). Des évènements de recombinaisons entre des 3'CS liés à un intégron de classe 1 aurait permis l'intégration de ces intermédiaires en aval (**Figure 21GH**). Si les évènements de recombinaison ont lieu sur un intégron possédant déjà une région 3'CS associée à un ISCR1, l'apparition de

la deuxième copie d'*ISCR1* serait expliquée, comme de nombreux cas le montrent (Figure 11)(M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Néanmoins, Toleman *et al.*, partent du principe que la 3'CS du premier évènement de transposition (**Figure 21**, matrice de départ) ne se trouve pas en aval d'un intégron de classe 1 car lors de la réplication, *ISCR1* aurait emporté et intégré des gènes de cassettes d'intégrons (comprenant les sites *attC*) en aval de l'élément, ce qui n'est pas le cas.

IV.B. *ISCR2*

IV.B.1. Structure et prévalence

ISCR2 est un élément de 1848 pb contenant une ORF de 1494 pb codant une protéine RCR2 de 497 acides aminés, une région *terIS* de 119 pb contenant le promoteur de la transposase et une région *oriIS* de 235 pb contenant le motif *oriIS*. La protéine RCR2 possède les domaines fonctionnels d'une transposase de type HUH, avec un motif HFH et une tyrosine catalytique Y1 dans le domaine RLCRY et possède 65 % d'identité protéique avec la transposase de *ISCR1*. L'élément *ISCR2* contient en 3' un motif *oriIS* 5'-GTATAGGAAGAATAAACGC-3' et en 5' un motif *terIS* défini comme 5'-GCCAGTGCCCGTCACTCCC-3' (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006).

ISCR2 a été découvert pour la première fois chez *Escherichia coli* en amont du gène *floR* dans le cadre d'une étude sur la résistance au florfénicol au sein du bétail en Europe (Cloeckaert et al. 2000) puis a été mis en évidence au sein de l'ICE SXT chez *Vibrio cholerae* O139 (Hochhut et al. 2001). Décrit aussi dans des isolats cliniques, *ISCR2* a aussi été retrouvé dans le microbiote intestinal de l'homme malgré une faible quantité d'éléments génétiques mobiles dans le microbiote (Pal et al. 2016). Les différentes *ISCR2* décrites sont majoritairement plasmidiques ou sont retrouvées sur des îlots de pathogénicité comme *AbaR* chez *Acinetobacter* (Seputiene, Povilonis, et Suziedeliene

2012) ou sur des transposons comme Tn6329 (deux copies d'IS26)(Beyrouthy et al. 2017).

IV.B.2. Environnement génétique

ISCR2 ne semble pas avoir de séquence cible particulière mais il est souvent retrouvé en aval du gène de résistance aux sulfamides *sul2* (Rådström et Swedberg 1988) en image à ISCR1. À la différence de celui-ci, l'environnement génétique direct en amont de ISCR2 est peu caractérisé, et les rares descriptions sont retrouvées dans l'environnement de l'ICE SXT. Le **tableau 2** regroupe les principaux gènes décrits dans la littérature.

Tableau 2: Gènes de résistance présents dans l'environnement direct en aval de ISCR2

Gènes de résistance aux antibiotiques		
Résistance aux antibiotiques	Gènes	Références
Triméthoprim	<i>dfrA18</i>	(J. W. Beaber, Hochhut, et Waldor 2002; Hochhut et al. 2001)
	<i>dfrA9</i>	(Jansson et Sköld 1991)
	<i>dfrA20</i>	(Kehrenberg et Schwarz 2005)
Sulfonamides	<i>sul2</i>	(CloECKaert, Baucheron, et Chaslus-Dancla 2001)
Macrolides	<i>erm(42)</i>	(C. J. Harmer, Holt, et Hall 2014)
Aminosides	<i>rmtH</i>	(O'Hara et al. 2013)
Phénicolés	<i>floR</i>	(R. Wang et al. 2016)
Tétracyclines	<i>tetBtetR</i>	(Vilacoba et al. 2016)
	<i>tetRtetY</i>	(Leclercq et al. 2016)
Gènes autres		
Fonctions	Gènes	Références
Phosphoglucosamine mutase	<i>glmS</i>	(CloECKaert et al. 2000)
Transposase IS26	<i>tnpA</i>	(X.-Q. Liu et al. 2017)

IV.C. ISCR8

IV.C.1. Structure

ISCR8, connu aussi sous le nom *ISPPs1*, est un élément de 1823 pb contenant une *orf* de 1548 pb codant une protéine RCR8 de 515 acides aminés (K. M. Schleinitz, Vallaey, et Kleinsteuber 2010), une région *terIS* de 87 pb contenant le promoteur de la transposase et d'une région *oriS* de 188 bp contenant le motif *oriS*. La protéine RCR8 possède les domaines fonctionnels d'une transposase de type HUH, avec un motif HFH et une tyrosine catalytique Y1 dans le domaine RLLRY. L'élément ISCR8 contient en 3' un motif *oriS* 5'-GATAGGAATTCAACCGC-3' et en 5' un motif *terIS* 5'-ACAAGGCCCGAACCGTCGCCAGTTCGGGCCTTGT-3' (K. M. Schleinitz, Vallaey, et Kleinsteuber 2010). Ces ISCR8 sont le plus souvent retrouvées sur des plasmides, en multi-copies (Davis et al. 2000) mais peuvent être retrouvées aussi sur le chromosome, notamment chez *Acidovorax sp. JS42* (Accession number n° NC_008782).

IV.C.2. Environnement génétique

ISCR8 est retrouvée chez des bactéries Gram à négatif, notamment des α , β et γ -protéobactéries mais aussi chez des bactéries Gram positif comme *Arthrobacter* (K. M. Schleinitz, Vallaey, et Kleinsteuber 2010). La plupart des bactéries hébergeant ISCR8 sont isolées de l'environnement. Le **tableau 3** présente les gènes dans l'environnement direct en aval de l'élément ISCR8.

Tableau 3: Gènes présents dans l'environnement direct en aval de ISCR8

Fonctions	Gènes	Références
2(2,4-Dichlorophenoxy)propionate ¹ dioxygenases	<i>sdpA</i> et <i>rdpA</i>	(Kohler 1999; Kathleen M. Schleinitz et al. 2004)
Hydroxylaminobenzene mutase	<i>habA</i>	(Davis et al. 2000)
Triphenylmethane ² réductase	<i>tmr</i>	(Schlüter et al. 2007)
Hydroxyatrazine hydrolase	<i>atzB</i>	(Mongodin et al. 2006; Sadowsky et al. 1998)

Biphenyl dioxygenase	<i>bphA</i>	(Roy Gross et al. 2008)
Chlorocatechol hydrolase	<i>clcR</i>	(van der Meer JR et al. 1998)
B-lactamase	<i>bla_{MIR-1}</i>	(Papanicolaou, Medeiros, et Jacoby 1990)

¹Herbicides ²Colorants de type cristal violet

ISCR8 est généralement présente en plusieurs copies, notamment sur des plasmides. Comme il est connu chez les IS, cet envahissement ISCR8 aurait provoqué des événements de recombinaison entre copies, provoquant la disparition de nombreux gènes, notamment les gènes *rpdA* et *sdpA* dans des conditions de non-sélection e.g. l'absence de l'herbicide (Kathleen M. Schleinitz et al. 2004; K. M. Schleinitz, Vallaey, et Kleinstuber 2010).

IV.D. ISCR3 et apparentés

IV.D.1. Généralités

ISCR3 appelée auparavant *orf2* possède un gène codant une transposase RCR3 qui présente 55 % et 57 % d'identité protéique avec les transposases RCR1 et RCR2, respectivement (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Il a été mis en évidence dans l'îlot de pathogénicité SGI1 de *Salmonella enterica* dans une région riche en gènes de résistance aux antibiotiques (spectinomycine, streptomycine, sulfonamides, chloramphénicol, florfénilcol, tétracyclines et β-lactamines)(D. Boyd et al. 2002; Briggs et Fratamico 1999). ISCR3 est retrouvée dans certains variants de cet îlot de pathogénicité (Levings et al. 2005). Dans SGI1, ISCR3 peut être au sein du même environnement génétique que ISCR1 du fait de leur association avec les intégrons de classe 1 (Doublet et al. 2004). En effet, ISCR3 est en grande majorité retrouvée en aval d'une fusion entre le gène *groEL/ES* et le gène *intI1* (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Cette fusion serait apparue lors de répliquions successives de l'élément ISCR3 (voir **4.4.3 Modèle proposé pour la mobilisation du gène *qepA* par ISCR3**). D'autres ISCR (ISCR14, ISCR16,

ISCR5 et ISCR4) ont été déterminées à partir de la séquence codante de ISCR3 et ils forment un sous-groupe, appelé ISCR3, de par leur forte identité de séquence nucléotidique (**Figure 22**) mais aussi à cause de leur présence en aval de la fusion entre les gènes *groEL/ES* et *intI1*. L'identité de séquence protéique entre ISCR3 et ISCR4, ISCR5 et ISCR14 est de 69,3 %, 69,2 % et 69,2 % respectivement (M. A. Toleman et Walsh 2008). ISCR3 peut être plasmidique (Béatrice Berçot, Poirel, et Nordmann 2008; Cattoir, Poirel, et Nordmann 2008) ou chromosomique, au sein de l'îlot de pathogénicité de *S. enterica* ou comme chez des isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* (Mataseje et al. 2016).

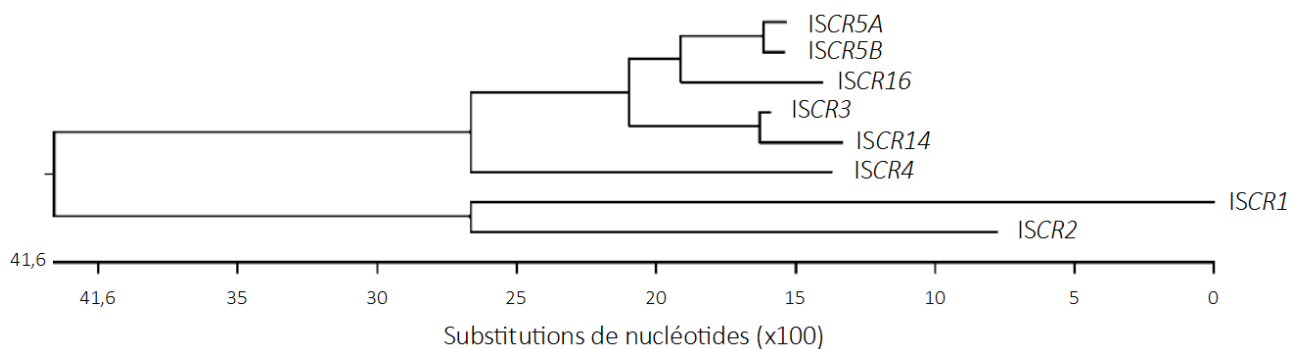


Figure 22: Arbre phylogénétique du groupe des ISCR3 avec ISCR2 et ISCR1 basée sur la séquence en acides aminés.

Adaptée de (M. A. Toleman et Walsh 2008)

IV.D.2. Environnement génétique

ISCR3 est localisée en aval de la fusion de gènes *groEL/ES-intI1* et en amont de soit, la fusion *qac-tetA(G)* chez SGI1 et certains de ses variants, soit du gène *dfrA10* chez SGI1-D (Numéro d'accèsion GenBank KU854986), ou soit d'un gène *qepA* codant pour une pompe d'efflux, impliquée dans la diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones hydrophiles (norfloxacine, ciprofloxacine et enrofloxacine)(Cattoir, Poirel, et Nordmann 2008). D'autres gènes tels que *yieF/yieG*, *yieE* ou des pseudogènes (*orfX*) sont dans l'environnement génétique direct de ISCR3 (Doublet et al. 2004). Au sein de l'îlot génomique SGI1, ISCR3 peut être associée à des éléments transposables comme IS6100,

connue pour effectuer des inversions de larges portions de génomes (Coyne, Courvalin, et Galimand 2010). Ainsi, *ISCR3* peut se trouver à différents endroits de *SGI1* selon ses variants, mais en conservant son environnement génétique direct.

IV.D.3. Modèle proposé par Cattoir *et al.*, pour la mobilisation du gène *qepA2* par *ISCR3*

La présence dans l'environnement génétique direct en aval de *ISCR3*, du gène *qepA* est connue dans de nombreuses souches (Béatrice Berçot, Poirel, et Nordmann 2008; Park et al. 2009). Un modèle a été proposé pour la mobilisation de ce gène par *ISCR3* mais aussi pour l'apparition de la fusion entre *groEL/ES* et *intI1* (Cattoir, Poirel, et Nordmann 2008).

Premièrement, une première transposition par RC de l'élément *ISCR3* concourt à son intégration en aval du gène *groEL/ES* (**Figure 23A**). Une première réplication en « one-ended » jusqu'à un potentiel motif *terS1* au sein de la région codante du gène *groEL/ES* va générer un réplicon possédant une partie de ce gène (**Figure 23B**). Ce réplicon va alors s'intégrer au sein de la séquence codante de l'intégrase de classe 1 (**Figure 23B**). Une seconde réplication en « one-ended » jusqu'à un autre potentiel *terS2* (dans le gène *dfp*) va générer un second réplicon différent du premier qui va aller s'intégrer en amont du gène *qepA2* (**Figure 23C**). Une troisième réplication « one-ended » jusqu'à un troisième potentiel *terS3* (situé en aval de *qepA2*) va se produire, générant un intermédiaire circulaire. Des événements de recombinaisons homologues, propres à l'hôte vont avoir lieu entre la région *ISCR3-groEL/ES-intI1* existante du réplicon et une région *ISCR3-groEL/ES-intI1* déjà pré-existante. (**Figure 23D**).

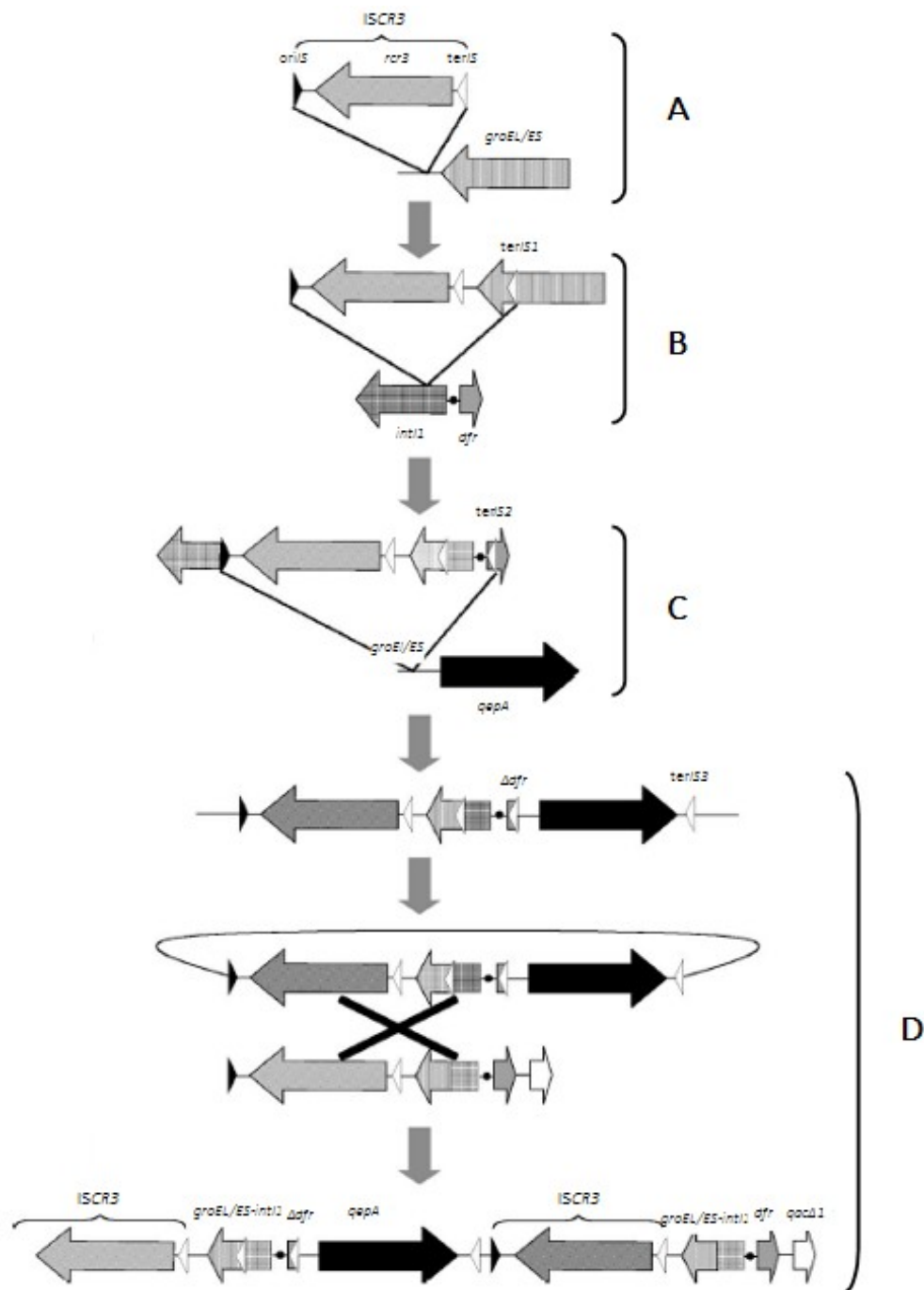


Figure 23: Modèle proposé pour la mobilisation du gène *qepA* et la génération de la protéine fusion $\Delta groEL/ES-\Delta int1$ par l'ISCR3

A. L'élément ISCR3 s'insère en aval du gène *groEL/ES*. **B.** Premier évènement de transposition en « one-ended » jusqu'à un *terS1* alternatif. Le nouvel élément ISCR3 va ensuite s'insérer au sein d'un gène *int1*. **C.** Deuxième évènement de transposition en « one-ended » jusqu'à un *terS2* puis intégration du nouvel élément ISCR3 en amont du gène *qepA*. **D.** Troisième évènement de transposition en « one-ended » jusqu'à un *terS3* menant à un intermédiaire circulaire. Un évènement de recombinaison entre ISCR3 et/ou le gène fusion *int1/groEL/ES* va engendrer la création d'une structure complexe comprenant le gène *qepA* entouré de deux copies d'ISCR3.

Adaptée de Cattoir et al., 2008

V. Origine des ISCR

Plusieurs hypothèses sur l'origine des éléments ISCR ont été émises (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). ISCR1 proviendrait d'environnements aquatiques. En effet, ISCR1 a été trouvée chez une espèce marine, *Aeromonas salmonicida* (Glenn Rhodes et al. 2000). Par ailleurs, le progéniteur du gène *qnrA1* qui est toujours associé à ISCR1 est la bactérie marine *Shewanella algae*. Il semblerait aussi que les gènes de β -lactamases CMY du groupe 1, associées à ISCR1, ont émergé chez des espèces de *Aeromonas* contrairement aux β -lactamases groupe 2, non associées à ISCR1, qui proviennent de *Citrobacter freundii*, une bactérie entérique (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006).

Pour le second membre de la famille ISCR, ISCR2, l'origine du gène *floR* serait le pathogène de certains poissons, *Pseudomonas damsalae* subsp. *piscida* (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006).

Quant au groupe ISCR3, les gènes *groEL/ES* qui se trouvent en amont de ces ISCR possèdent un fort pourcentage d'identité nucléotidiques avec ceux de *Xanthomonas campestris* et *Stenotrophomonas maltophilia*, deux bactéries trouvées dans les sols et les milieux aquatiques. De plus, le contenu en G+C de l'ISCR3 et de l'ISCR4 est élevé et se rapproche de celui de certains organismes associés à la rhizosphère dont ces deux ISCR pourraient provenir (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006).

Bien qu'ils appartiennent tous à la même famille, l'origine des éléments ISCR est différente et ces éléments ne seraient pas, au départ, associés à l'homme ou aux mammifères.

Chapitre III. L'expression et la régulation des gènes chez les procaryotes

La transcription est un processus biologique permettant la synthèse d'un transcrit à partir d'une matrice qui est une molécule d'ADN. Ce transcrit peut être de deux types :

- l'ARN messager (ARNm) qui correspond à l'information génétique portée par les gènes, sera ensuite traduit en protéines par le processus de traduction.
- Les ARN non codants qui regroupent des transcrits ayant d'autres fonctions : ARNt, ARNr et ARNtm impliqués dans la traduction et les petits ARN régulateurs antisens.

I. La transcription

I.A. Les éléments essentiels au processus de transcription

I.A.1. Le promoteur

Le promoteur contient plusieurs séquences essentielles à l'initiation de la transcription : l'élément -35 et l'élément -10 définis par rapport au +1 de transcription. Le +1 de transcription correspond à la première base transcrite lors du processus de transcription et elle est le plus généralement une base A ou G. Ce départ de transcription est environ à 35 paires de base du codon START (ATG ou GTG ou plus rarement CTG) du gène en aval du promoteur. Les séquences -10 et -35 correspondent à des séquences de reconnaissance pour une sous-unité de l'ARN polymérase, le facteur σ (voir **I.A.3 Les facteurs σ**). Il en existe de nombreux mais le plus utilisé par l'ARN polymérase est le facteur σ^{70} qui reconnaît les séquences consensus -10 en TATAAT et en -35 en TTGACA avec un espace optimal entre les deux éléments de 17 paires de bases (pb) (Hawley et McClure 1983) mais qui peut néanmoins varier entre 16 à 18 pb (Shultzaberger et al. 2007).

D'autres éléments, facultatifs à la transcription, peuvent augmenter l'activité de promoteur en favorisant la fixation de l'ARN polymérase. Le premier est connu sous le

nom de séquence UP. Elle présente à une vingtaine de paires de base en amont de l'élément - 35, et sera reconnue par la partie C-terminale de la sous-unité α (définie dans **I.A.2 L'ARN polymérase**) de l'ARN polymérase. Cette séquence va augmenter l'activité du promoteur d'environ 30 fois (Ross et al. 1993). Le second élément est appelé élément TGn et correspond à un motif TG séparé d'un nucléotide de l'hexamère -10. Il est peu courant car retrouvé dans seulement 20 % des promoteurs de *E. coli* (Burr et al. 2000).

I.A.2. L'ARN polymérase

Chez les procaryotes, contrairement aux eucaryotes, une seule ARN polymérase (ARNpol) est responsable de la transcription de tous les gènes. Elle existe sous la forme d'apoenzyme ou de core enzyme associée à un facteur sigma. Ce core enzyme est composé de deux sous-unité β , $\beta\beta'$, deux sous unité α , $\alpha 2$ et d'une sous-unité ω . Le tout forme une protéine fonctionnelle d'environ 450 kDa et permet la transcription ADN en ARN en utilisant le brin complémentaire comme matrice. Une sous-unité ϵ a été décrite au sein de l'ARNpol des bactéries à Gram positif. Non essentielle, elle serait impliquée dans la protection de l'ARNpol de l'attaque de certains phages (Keller et al. 2014).



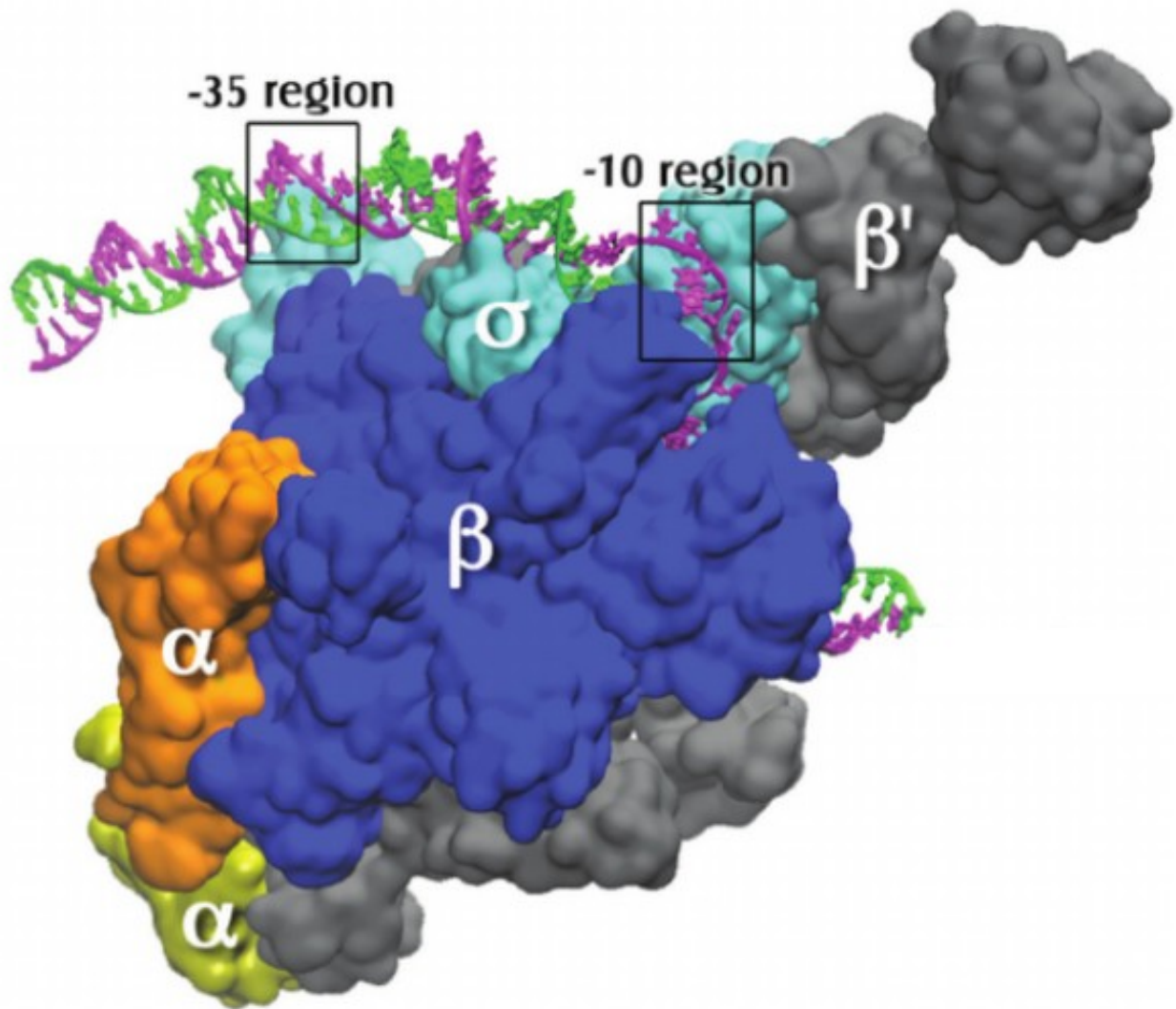


Figure 24: Structure de l'ARN polymérase bactérienne

Représentation schématique de l'organisation de l'ARN polymérase bactérienne autour de la région promotrice représentée par l'élément -10 et -35. Seules les sous-unités α (orange et jaune), β (bleu et gris) et σ (cyan) sont représentées, la sous-unité ω est manquante. La sous-unité σ est responsable de l'ancrage du core enzyme sur la région promotrice. Adaptée de Karpen and deHaseth, 2015

L'ARNpol possède une structure en « pince de crabe », formée par les deux larges sous-unité β et β' qui possèdent les résidus catalytiques pour la réaction de réplication (Borukhov et Nudler 2008; Korzheva et al. 2000). Les deux sous-unité α_2 , liées par une séquence « linker » de 20 acides aminés, permettent la dimérisation des deux sous-unité β et β' (Blatter et al. 1994) alors que la sous-unité ω permet le maintien de tous ces domaines entre eux (Hampsey 2001). Seulement, ce core enzyme ne peut pas s'amorcer

sur les séquences promotrices car elles ne sont pas reconnues par ce complexe. C'est pourquoi, cette apoenzyme nécessite un facteur σ pour reconnaître spécifiquement les promoteurs (C. A. Gross et al. 1998; Wösten 1998)(**Figure 24**).

I.A.3. Les facteurs σ

Le facteur σ est nécessaire à l'ancrage de l'ARNpol au promoteur (Burgess et al. 1969). Cette sous-unité de l'ARNpol est une protéine de 20 à 70 kDa et possède au moins trois domaines qui reconnaissent différemment les éléments du promoteur (C. A. Gross et al. 1998; Murakami et al. 2002) (**Figure 25**):

- Le domaine 4 reconnaît la séquence -35 (C. A. Gross et al. 1998).
- Le domaine 3 reconnaît l'élément TGn (Bown et al. 1997; Murakami et al. 2002; Sanderson et al. 2003).
- Le domaine 2 reconnaît l'hexamère -10 (C. A. Gross et al. 1998).



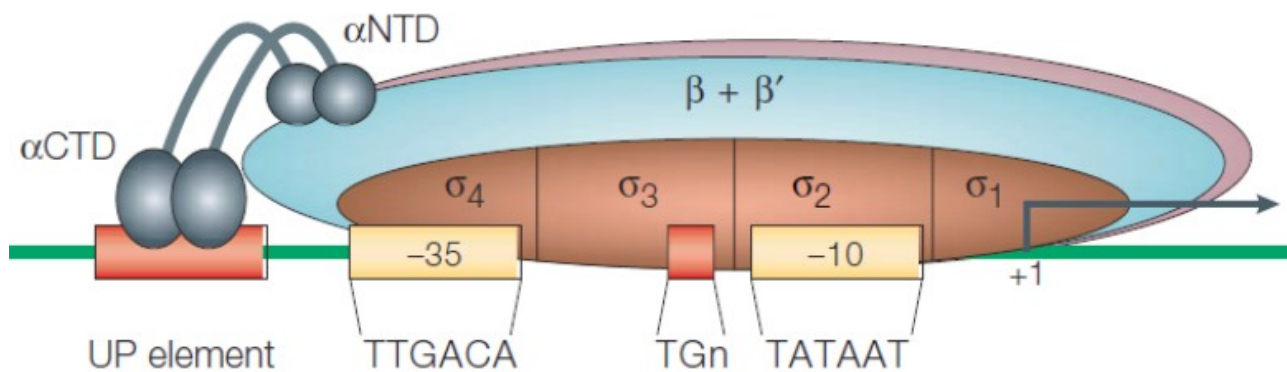


Figure 25: Interactions entre les différents domaines du facteur σ^{70} et les séquences promotrices.

Ici, le domaine 4 du facteur σ^{70} (en marron) interagit avec le motif -35 consensus (en jaune), le domaine 3 reconnaît la TGn (en rouge) et le domaine 2 s'amorce quant à lui sur le motif -10 consensus (en rouge). L'élément UP (en rouge) est quant à lui fixé par la partie C-terminale de la sous-unité α (en gris) de l'ARNpol. Adaptée de Browning and Busby, 2004

Le facteur σ global, appelé σ^{70} possède quant à lui, un domaine supplémentaire (domaine 1) dont la fonction reste encore aujourd'hui inconnue. Ce facteur σ^{70} permet à l'ARNpol de reconnaître la plupart des promoteurs chez *Escherichia coli*.

Le nombre de facteurs σ varie selon les bactéries, de un seul chez *Mycoplasma genitalium* à 65 chez *Streptomyces coelicolor* et ils sont classés dans deux familles différentes d'un point de vue phylogénétique (J. Helmann 1994; J. D. Helmann et Chamberlin 1988), la famille des σ^{70} et la famille des σ^{54} . Le **tableau 4** regroupe les différents groupes de chaque famille, établis par Helmann en 2002 (J. D. Helmann 2002).

Tableau 4: Familles des facteurs σ . Adapté d'après (J. D. Helmann 2002)

Familles	Groupes	Membres	Conditions
Famille des σ^{70}	Groupe 1 : facteur σ global	σ^{70}	Physiologiques (gènes de ménages)
	Groupe 2 : Facteurs σ alternatifs	σ^{38} ou σ^S , HrdA, HrdC, HrdD	Stress nutritif, permet l'entrée en phase stationnaire de croissance
	Groupes 3 : Facteurs σ alternatifs plus divergents	σ^{28} , σ^{32} , σ^F , σ^G	Choc thermique, synthèse des flagelles, sporulation. Possèdent un anti-sigma.
	Groupe 4 : Facteurs σ « ExtraCytoplasmic Function »	σ^{19} , σ^{24} , σ^W , σ^X , σ^{BldN} , CnrH, AlgU/T, CarQ, Vrel	Homéostasie, biodisponibilité du fer, virulence, résistance aux antibiotiques, hyperhalophilie...

	Groupe 5 : TxeR	TxeR	Synthèse de toxines
Familles des facteurs σ^{54}		σ^{54}	Synthèse des flagelles, utilisation du nitrate, chimiotaxisme, métabolisme énergétique.

I.B. Déroulement de la transcription

La transcription se déroule en 3 étapes : l'initiation, l'élongation et la terminaison. La première étape, l'étape d'initiation, la plus régulée du processus de transcription, est l'étape limitante. L'élongation, comme la terminaison sont elles aussi régulées mais de façon moins importante (Washburn et Gottesman 2015).

I.B.1. L'initiation

La première étape de cette initiation est la fixation spécifique des régions σ^4 et σ^2 du facteur σ sur les séquences conservées du promoteur (-10 et -35) respectivement (Elizabeth A. Campbell et al. 2002; Murakami et al. 2002). Le complexe de l'ARNpol et du promoteur est alors dit « fermé » et se positionne à une cinquantaine de paire de bases du (+1) de transcription. Lors de l'ouverture, le complexe change de conformation menant à l'ouverture de l'ADN, rendant celui-ci accessible pour la transcription (Tomsic et al. 2001; Tsujikawa, Tsodikov, et deHaseth 2002). Ensuite, la synthèse d'un petit transcrit d'environ 9 pb va déstabiliser le complexe, permettant la dissociation de l'apoenzyme de son facteur σ (Mooney, Darst, et Landick 2005; Murakami et al. 2002). Ainsi, la transcription va se poursuivre avec un complexe d'élongation correspondant uniquement au core enzyme.

I.B.2. L'élongation

La vitesse de transcription chez *Escherichia coli* est d'environ 50 à 100 nucléotides par seconde (Vogel et Jensen 1994). L'ouverture de l'ADN migre en avant du complexe de la polymérase, ce qui lui permet de toujours avoir accès au brin complémentaire. Au cours de l'élongation, l'assimilation des bases se fait par plusieurs cycles d'addition de nucléotides (Armstrong, Yee, et Eckstein 1979; Gary Rhodes et Chamberlin 1974) et

l'ARNpol va effectuer des pauses réversibles environ toutes les centaines de paires de bases (Kireeva et Kashlev 2009).

I.B.3. La terminaison

L'élongation de la transcription va se poursuivre jusqu'à ce que le complexe de l'ARNpol soit déstabilisé :

- soit par une séquence *rut* qui lorsqu'elle est transcrite par le complexe, va être reconnue par la protéine Rho capable de déstabiliser le complexe de transcription, trop stable pour se détacher spontanément (Richardson 2002).
- soit par une séquence palindromique riche en G/C suivie d'une série de T. Lorsque les deux brins seront séparés par l'ouverture de l'ADN, il y aura formation d'une tige-boucle, puis d'un complexe hybride de A et U (Yarnell and Roberts, 1999).

II. Facteurs modulant l'expression des gènes

II.A. Petites molécules

II.A.1. ppGpp

Le ppGpp ou guanosine 3',5'biphosphate est une petite molécule synthétisée lorsque la disponibilité en acides aminés est limitée : c'est la carence nutritive (Chatterji et Kumar Ojha 2001). Le ppGpp, ou alarmone, déstabilise la liaison du complexe de l'ARNpol au promoteur de nombreux gènes, notamment ceux impliqués dans la machinerie de traduction (Barker et al. 2001; Barker, Gaal, et Gourse 2001). Ces mêmes promoteurs fixent très efficacement l'ARNpol et nécessitent une concentration élevée en ATP et une faible concentration d'alarmone (Douglas F. Browning et Busby 2004). Ce ppGpp engage la dissociation du complexe directement en se liant à la sous-unité β du core enzyme lorsque l'ARNpol est complexée au promoteur, empêchant ainsi la transcription des gènes (Reddy, Raghavan, et Chatterji 1995).



II.A.2. ARN 6S

L'ARN 6S est un petit ARN de 184 nucléotides qui est connu pour se lier à la sous-unité σ de l'ARNpol. L'ARN 6S entre en compétition avec la région -35 des promoteurs pour la fixation du facteur σ . Il est surtout actif lors de la phase stationnaire de croissance (Klocko et Wassarman 2009).

II.B. Protéines de régulation de la transcription

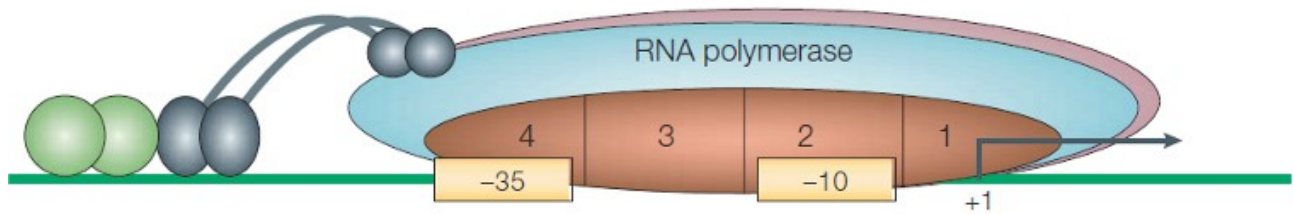
Selon une étude de prédiction de fonctions des gènes, le chromosome de *Escherichia coli* K-12 contiendrait plus de 300 gènes codant pour des protéines avec une fonction de modulation de l'expression des gènes. Ces protéines sont appelées « facteurs de transcription » et ont été d'abord décrites par François Jacob comme des molécules à deux « têtes » constituées d'un domaine d'interaction à l'ADN et d'un domaine d'interaction à des métabolites. Le plus souvent, ces domaines d'interactions sont constitués de motifs HTH (Helix-Turn-Helix) mais aussi d'autres motifs, comme les motifs en doigts de zinc (Rey et al. 1993), feuillet β antiparallèles (Somers et Phillips 1992) ou encore HLH (Helix-Loop-Helix) (Roth A. et Messer W. 1995) et ils ont été décrits pour se lier à l'ADN. Lorsqu'un facteur de transcription interagit avec l'ARNpol au niveau du promoteur, il peut soit réprimer l'expression, soit activer l'expression, ou les deux et ce, selon le promoteur cible. Ainsi, après les prédictions de Pérez-Rueda et Collado-Vidès, parmi ces 300 gènes codant pour des fonctions de régulation 35 % sont des activateurs, 43 % des répresseurs, et 22 % auraient une fonction double (Pérez-Rueda et Collado-Vides 2000).

II.B.1. Mécanismes de modulation de l'expression

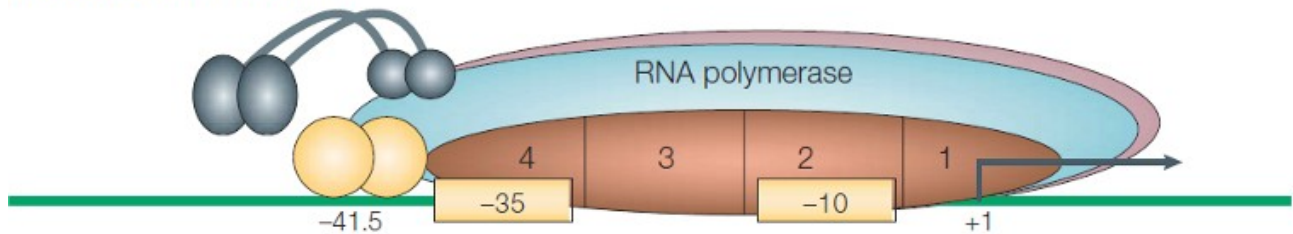
II.B.1.1. Activation

Il existe quatre mécanismes simples d'activation, faisant intervenir un ou plusieurs facteurs de transcription (**Figure 26**).

a Activation de classe I



b Activation de classe II



c Activation par changement de conformation

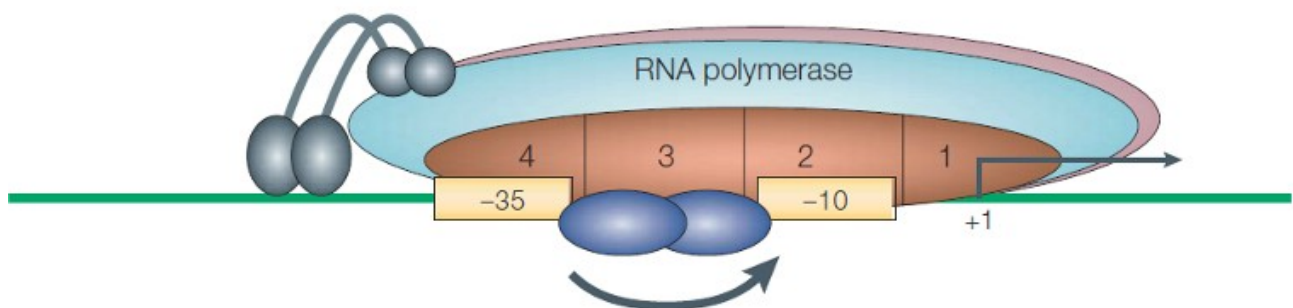


Figure 26: Mécanismes d'activation de la transcription par des facteurs de transcription.

a. Activation de classe I. L'activateur de classe I (en vert) sous forme dimérique interagit directement avec la sous-unité α (en gris) en amont de la région promotrice. **b. Activation de classe II.** L'activateur de classe II (en jaune) sous forme dimérique interagit directement avec le domaine 4 du facteur σ (en marron). **c. Activation par changement de conformation.** L'activateur sous forme dimérique (en bleu) va permettre le rapprochement des deux éléments -10 et -35 (flèche) pour optimiser le recrutement de l'ARNpol. Adaptée de Browning and Busby, 2004.

- i. **Activateurs de classe I (Figure 26a).** La protéine activatrice va se fixer en amont de l'élément -35 sur son site de fixation et interagir avec le domaine N-terminal de la sous-unité α de l'ARNpol. Cette liaison va augmenter le recrutement de l'ARNpol au niveau du promoteur cible. Le site de fixation pour le facteur de transcription peut être très éloigné du promoteur et donc de l'ARNpol, car le

linker entre les parties N-terminale et C-terminale de la sous-unité α est très souple (Douglas F. Browning et Busby 2004). Un exemple bien connu est l'activation de classe 1 par la protéine CRP (cAMP Receptor Protein) au niveau du promoteur de l'opéron *lac* (Ebright 1993).

- ii. **Activateurs de classe II (Figure 26b).** La protéine régulatrice est ici fixée sur une partie séquence -35. Cette fixation va augmenter le recrutement de l'ARNpol, qui va reconnaître le facteur de transcription par son domaine 4 de la sous-unité σ (Dove Simon L., Darst Seth A., et Hochschild Ann 2003). Un exemple connu pour avoir ce mécanisme de régulation est l'activation du promoteur du gène PRM du bactériophage λ par la protéine *ci* (Nickels et al. 2002).
- iii. **Activation par changement de conformation (Figure 26c)** . Les activateurs de ce type ont pour cibles les promoteurs dont la distance entre les deux éléments -35 et -10 n'est pas optimale. Dans ce cas, l'activateur va se fixer entre les deux séquences et va modifier la conformation de l'ADN pour rendre le promoteur le plus optimal possible. Ainsi, le recrutement de l'ARNpol pourra se faire (Sheridan, Benham, et Hatfield 1998). C'est notamment le mode d'action des protéines de régulations de la famille MerR (Brown et al. 2003).
- iv. **Activateurs de classe III.** D'autres promoteurs présentent, en amont de leur élément -35, plusieurs opérateurs pour des régulateurs différents. Ces promoteurs combinent ainsi des activations de type I et de type II qui peuvent avoir des effets additifs ou synergiques. Les protéines CRP et Fis sont capables d'interagir entre elles pour augmenter le nombre de molécules d'ARNpol recrutées, en étant fixées sur deux sites différents et éloignés (Barnard, Green, et Busby 2003; Law, Savery, et Busby 1999).

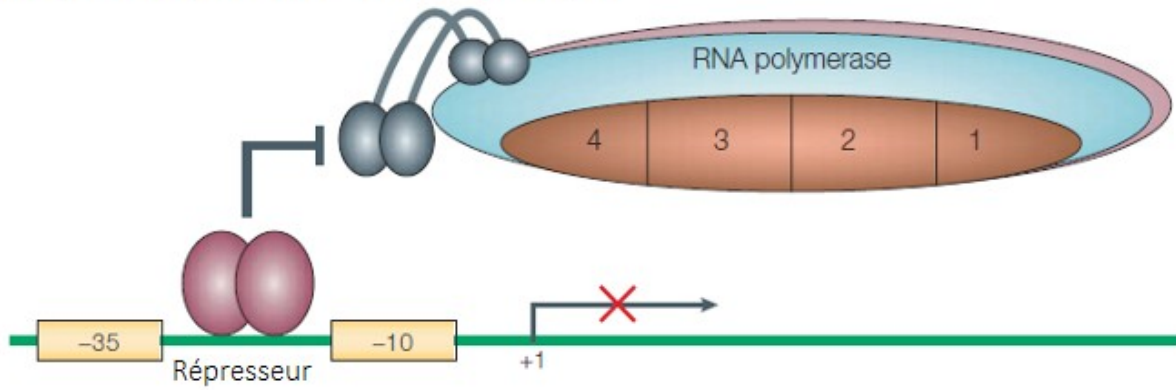
II.B.1.2. Répression

Les mécanismes de répression sont des mécanismes ne faisant intervenir qu'une seule protéine régulatrice (**Figure 27**).

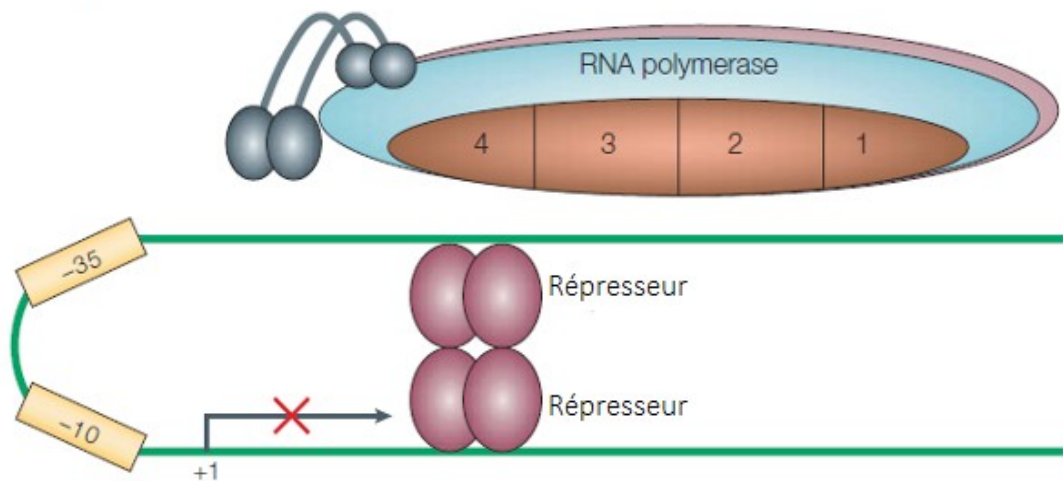
- i. **Répression par encombrement stérique (Figure 27a)**. Le site de fixation pour le facteur de transcription se trouve au sein du promoteur, et le facteur une fois fixé empêche le recrutement de l'ARNpol. De nombreux exemples sont connus comme le répresseur de l'opéron lactose, LacI mais aussi le régulateur global de la réponse SOS, LexA (Little 1991).
- ii. **Répression par courbure de l'ADN (Figure 27b)**. Plusieurs molécules de répresseur se lient au niveau de plusieurs sites de régulation et se complexent entre elles. Cela résulte en un repliement de l'ADN, emprisonnant le promoteur. Ainsi, celui-ci ne peut être reconnu par l'ARNpol. C'est le cas, par exemple, de la régulation négative appliquée sur le promoteur de l'opéron *gal* (Lewis et Adhya 2015).
- iii. **Répression par l'action d'un anti-activateur (Figure 27c)**. Ce mécanisme nécessite au préalable la fixation d'un activateur au niveau de son propre site de fixation pour que le répresseur puisse agir. Cette interaction concourt à un changement de conformation de l'activateur et l'ARNpol ne pourra pas être recrutée efficacement. Les protéines régulatrices de la famille CytR sont considérées comme des anti-activateurs de la protéine CRP. En effet, lorsque la protéine CytR interagit avec CRP, cette dernière perd son rôle d'activateur et ne permet pas la transcription des gènes qu'elle régule (Valentin-Hansen, Søgaard-Andersen, et Pedersen 1996)



a Répression par encombrement stérique



b Répression par courbure de l'ADN



c Répression par anti-activation

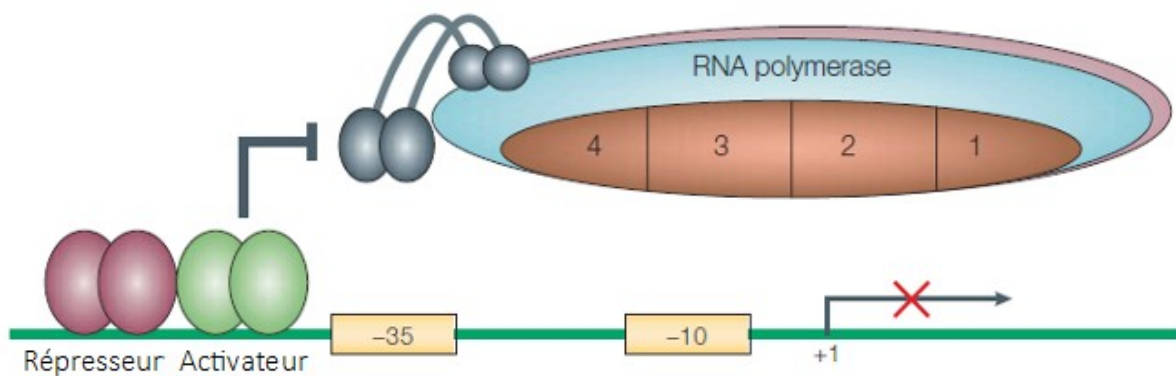


Figure 27: Mécanismes de répression de la transcription par des facteurs protéiques de transcription.

a. Répression par encombrement stérique. Le répresseur (en rose) va se fixer entre les éléments -10 et -35 (en jaune) empêchant l'ARNpol de se fixer au promoteur **b. Répression par courbure de l'ADN.** Le répresseur (en rose) va se fixer à deux endroits au sein de la région promotrice, séquestrant les éléments -10 et -35 (en jaune). **c. Répression par anti-activation.** La fixation du répresseur (en rose) va inhiber l'activité de l'activateur, (en vert) empêchant le recrutement de l'ARNpol. Adaptée de (Douglas F. Browning et Busby 2004).

II.B.2. Les différents types de régulateurs

Historiquement, les régulateurs ont été hiérarchisés en fonction de leur polyvalence au sein du chromosome bactérien mais aussi par rapport au fait qu'ils puissent réguler des gènes codant pour des régulateurs. Ainsi, les niveaux hiérarchiques ont été décrits selon leur caractère pléiotropique et aussi par leur capacité à réguler des voies métaboliques diverses. La machinerie essentielle à la survie cellulaire a été exclue de cette classification (Gottesman 1984) Ainsi, 7 régulateurs globaux ont été mis en évidence en haut de la « pyramide » de régulation (**Figure 28**). Un réseau de gènes régulés par la même protéine régulatrice est appelé régulon.



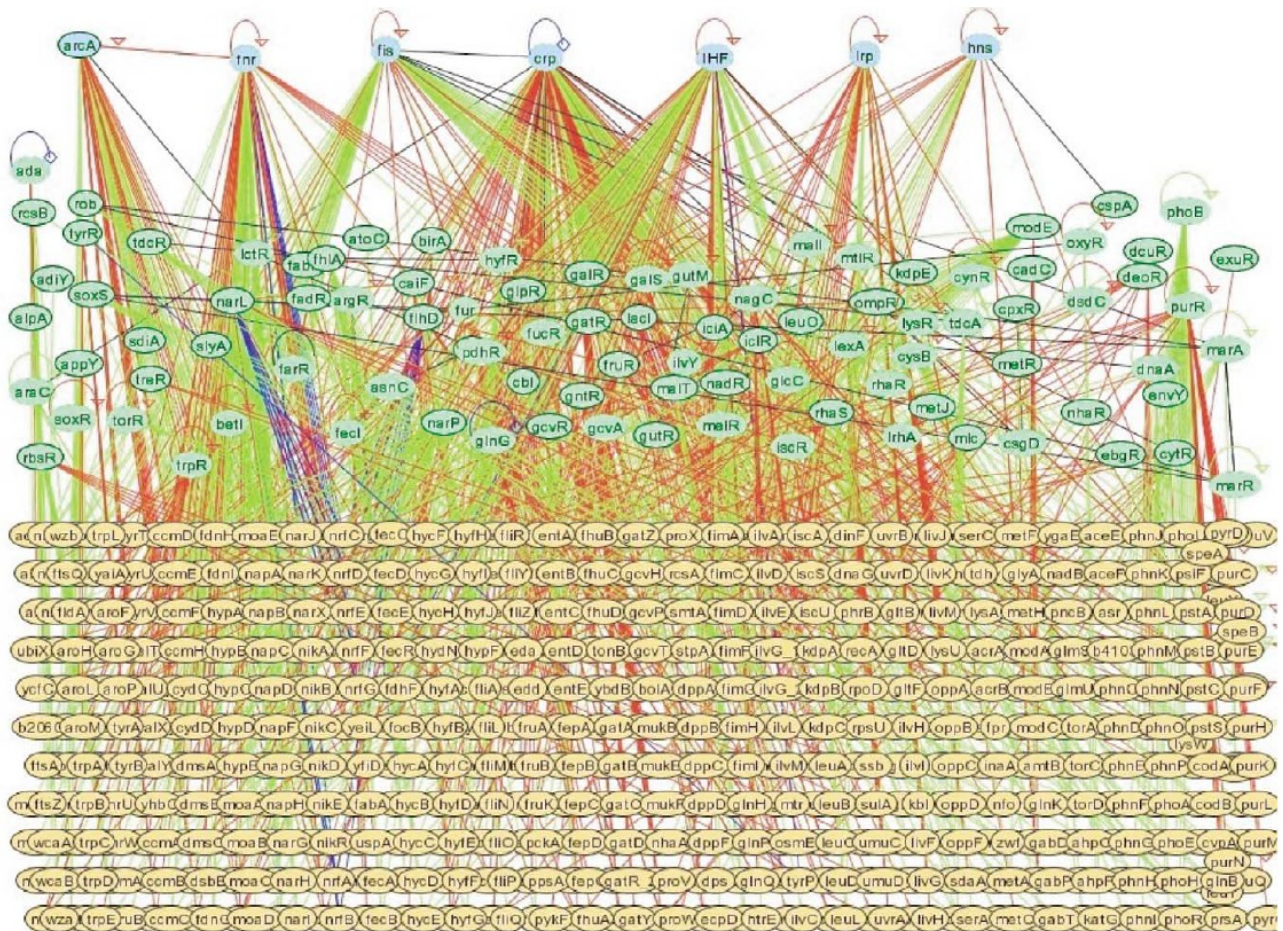


Figure 28: Réseau de régulation chez *Escherichia coli*

Les régulateurs globaux (en bleu) sont au sommet de la hiérarchie de régulation. Ces régulateurs sont au nombre de 7 : ArcA, FNR, Fis, CRP, IHF, Lrp et H-NS. Les régulateurs inférieurs (en vert) sont plus spécifiques d'une réponse. Les gènes régulés par ces régulateurs globaux et spécialisés (en jaune) sont au pied de la « pyramide ». Les régulations positives sont représentées par un trait vert alors que les régulations négatives par un trait rouge. Des régulateurs peuvent avoir une double fonction pour un même gène et peuvent donc être à la fois activateur et répresseur (trait bleu foncé) selon les contextes moléculaires et biologiques. Adaptée de (Martínez-Antonio and Collado-Vides, 2003)

II.B.2.1. Régulateurs globaux

Chez *E. coli*, il existe 7 régulateurs globaux de transcription (CRP, FNR, IHF, Fis, ArcA, NarL, H-NS et Lrp) qui régulent à eux seuls 51 % des gènes (Martínez-Antonio et Collado-Vides 2003). Ils peuvent aussi moduler l'expression de concert avec soit un autre régulateur global soit avec un régulateur plus spécifique dont ils régulent aussi

l'expression. C'est notamment le cas du gène *ansB* qui code pour une enzyme asparaginase II et qui est régulé par deux régulateurs globaux, CRP et FNR (Scott, Busby, et Beacham 1995). De même, le promoteur du gène *proP*, codant pour un transporteur symport (osmolyte/H⁺) est régulé à la fois par le régulateur global Fis et CRP (McLeod et al. 2002).

- i. **CRP (Famille CRP).** CRP (cAMP Receptor Protein) est impliqué dans la régulation de plus de 500 gènes chez *E. coli* (Gama-Castro et al. 2016). Initialement décrit dans la régulation de gènes du métabolisme des sources secondaires de carbone, CRP contrôle aussi l'expression de gènes impliqués dans de multiples voies : osmorégulation (Balsalobre, Johansson, et Uhlin 2006; Landis, Xu, et Johnson 1999), réponse stringente (Johansson et al. 2000), formation de biofilm (Jackson, Simecka, et Romeo 2002), virulence (Balsalobre, Johansson, et Uhlin 2006), résistance aux antibiotiques (Hirakawa et al. 2006; Nishino, Senda, et Yamaguchi 2008), compétence (Sinha, Cameron, et Redfield 2009) mais aussi pour des gènes de co-régulateurs. CRP s'autorégule également (Martínez-Antonio et Collado-Vides 2003).
- ii. **FNR (Famille CRP).** Il a été nommé à partir du phénotype généré quand le gène codant ce régulateur est absent. En effet, le mutant pour ce gène se caractérise par une activité de Réduction pour le Fumarate et pour le Nitrate réduite (Lambden et Guest 1976). Il participe à la transition d'une croissance aérobie à une croissance anaérobie. Il régule négativement son gène et travaille en coopération avec de nombreux régulateurs globaux (Martínez-Antonio et Collado-Vides 2003)
- iii. **Les Protéines Associées au Nucléoïde (NAP). IHF.** La protéine IHF, pour Facteur d'Intégration de l'Hôte est un facteur impliqué dans le maintien de l'architecture

de l'ADN et est une protéine accessoire dans de nombreux mécanismes moléculaires comme la recombinaison, la réplication (Dhavan et al. 2002; Swinger et Rice 2004) mais aussi la transposition (Sewitz, Crellin, et Chalmers 2003). De plus, IHF est impliqué dans la synthèse de la flagelline et du fimbriae de type 1 (C. J. Dorman et Higgins 1987; Freundlich et al. 1992), dans le métabolisme de sources secondaires en carbone (Freundlich et Tsui 1983; Friedman et al. 1984) et dans le stress osmotique (Freundlich et al. 1992). **H-NS**. Cette protéine de structure du nucléoïde « histone-like » est connue pour être impliquée dans l'expression de nombreux gènes dont la fonction réside dans divers processus biologiques : virulence (Charles J. Dorman, Bhriain, et Higgins 1990), adaptation pendant la phase stationnaire (Chib et Mahadevan 2012) et aux modifications de pH (M. Shin et al. 2005). Elle est aussi impliquée dans l'expression des deux facteurs σ^S et σ^F , responsables de l'entrée en phase stationnaire et dans la mobilité chez *E. coli* mais aussi chez certaines bactéries à Gram positif (Kim et Blair 2015). Il joue aussi un rôle important dans le contrôle de l'acquisition de matériel génétique étranger mais aussi dans la régulation des gènes impliqués dans ces phénomènes d'acquisition (Lucchini et al. 2006; Navarre et al. 2006).

- iv. **Fis (Famille des EBP pour « Enhancer Binding Proteins »)**. Cette protéine correspond au facteur de stimulation d'inversion qui a été initialement décrit dans les mécanismes de recombinaison (Johnson, Bruist, et Simon 1986; Koch et Kahmann 1986). Plus tard, il a été décrit comme impliqué dans d'autres voies comme la régulation des gènes *gyrA*, *rpoS* et *gyrB* (M. Hirsch et Elliott 2005; Travers, Schneider, et Muskhelishvili 2001; Weinstein-Fischer et Altuvia 2007), mais aussi dans la virulence (Goldberg et al. 2001; Kelly et al. 2004; Lenz et Bassler 2007) et dans la transcription de gènes d'ARN (ARNr et ARNt)(Appleman et al. 1998).

- v. **ArcA (Famille OmpR)**. Acronyme de Contrôle Redox en conditions Anoxiques, cette protéine réprime de nombreux promoteurs pour l'expression de gènes exprimés en conditions anaérobies mais aussi dans le métabolisme respiratoire (Gunsalus et Park 1994; Iuchi et Lin 1991; Lin et Iuchi 1991). De nombreux gènes régulés par ArcA sont aussi régulés par FNR si bien que les deux réseaux de régulations se superposent pour de nombreux gènes (X. Liu et De Wulf 2004; Perrenoud et Sauer 2005; Salmon et al. 2005). La protéine H-NS est considérée comme son antagoniste (Govantes, Orjalo, et Gunsalus 2000). ArcA appartient à un système à deux composants ArcB-ArcA (Voir **Régulateurs via un système à deux composants**)(Iuchi et Lin 1992).
- vi. **NarL (Famille de LuxR/UhpA)**. NarL est une protéine régulatrice de réponse impliquée dans un système à deux composants (R. Gross, Aricò, et Rappuoli 1989; Henikoff, Wallace, et Brown 1990) et régule les gènes codant pour une fonction de transport des électrons en conditions anaérobies mais aussi de fermentation lors de concentrations élevées en nitrate/nitrite (Stewart 1994; Uden et Bongaerts 1997). NarL induit l'expression de 51 opérons dont certains sont impliqués dans la réponse au nitrate et réprime 41 opérons, notamment participant à l'utilisation de voies respiratoires alternatives (Constantinidou et al. 2006). Beaucoup de promoteurs dont l'expression est dépendante de la protéine NarL nécessitent aussi la présence des régulateurs FNR, IHF, H-NS ou Fis (D. F. Browning, Cole, et Busby 2000; Douglas F. Browning et al. 2002; Douglas F. Browning, Cole, et Busby 2004; Douglas F. Browning et al. 2006).
- vii. **Lrp (Famille AsnC)**. La Protéine de Réponse à la Léucine est un régulateur impliqué dans de nombreux réseaux de régulation, comme pour la biosynthèse et la dégradation des acides aminés, mais aussi le transport de petites molécules et la synthèse des pili (Calvo et Matthews 1994; Faith et al. 2007; Landgraf, Wu, et



Calvo 1996). Lrp affecte l'expression d'environ 75 % des gènes impliqués dans l'entrée en phase stationnaire (Brinkman et al. 2003; Tani et al. 2002).

II.B.2.2. Régulateurs via un système à deux composants

Les systèmes à deux composants ou TCS pour « Two-Components System » sont des systèmes de phosphorelais pour la régulation des gènes chez les bactéries en réponse à un stimulus extracellulaire. Ces systèmes permettent à la bactérie de répondre à ce stimulus afin de recouvrer un état physiologique basal. Ils sont composés au plus simple d'une protéine histidine kinase « senseur » du stimulus et d'une protéine effectrice de réponse qui va aller réguler les gènes impliqués dans la réponse au stimulus. L'histidine kinase va s'autophosphoryler en réponse à un stimulus puis transférer son phosphate à son régulateur de réponse. En réceptionnant le phosphate, le régulateur va s'activer puis aller réguler différents gènes par fixation sur son site cible pour répondre au stimulus de départ (Ann M. Stock, Victoria L. Robinson, et Goudreau 2000)(**Figure 29**)

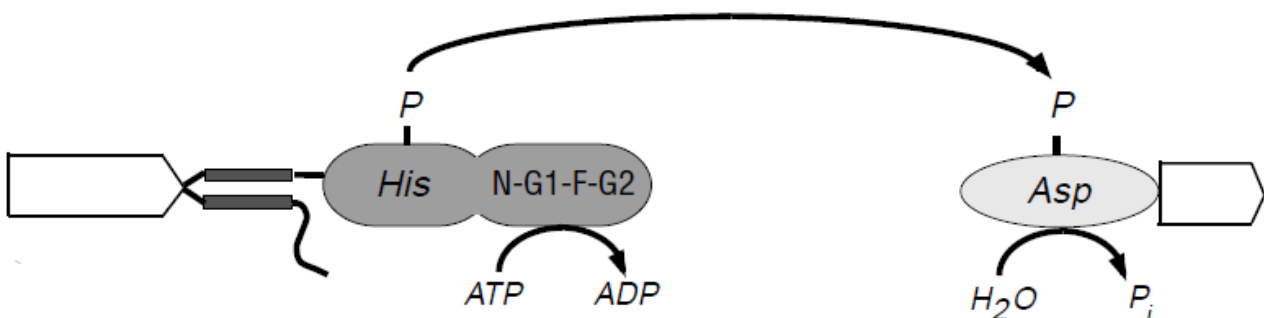


Figure 29: Représentation d'une système à deux composants.

À gauche, la protéine histidine-kinase (HK) qui possède son domaine senseur (en blanc), puis un domaine transmembranaire et enfin, le domaine kinase qui contient la H-box et les 4 acides aminés composants la poche de fixation à l'ATP.

À droite, le régulateur de réponse (RR) qui possède un domaine récepteur qui contient l'aspartate qui va fixer le phosphate, transmis par HK et le domaine effecteur contenant le domaine de fixation à l'ADN (en blanc).

His : Histidine, N : Asparagine, G : Glycine, F : Phénylalanine, Asp : Aspartate, P : Phosphate, ATP : Adénosine TriPhosphate, ADP : Adénosine DiPhosphate, P_i : Phosphate inorganique. Adaptée de Ann M. Stock et al., 2000.

- i. **Histidine kinases (HK).** Le premier composant du système dans le signalement et qui reçoit le stimulus de l'extérieur de la cellule est l'histidine kinase. Cette

protéine est capable à la fois d'autophosphorylation lors de la réception du stimulus extérieur mais aussi de phosphotransfert. Il va en effet transmettre le phosphate au régulateur de réponse entraînant un changement de conformation de la protéine régulatrice vers une forme active. L'histidine kinase est composée d'un domaine variable « senseur » et d'un domaine invariable qui possède la fonction kinase. La nature du signal et la structure de l'histidine kinase est spécifique à chaque protéine histidine kinase et donc à chaque TCS. Le centre catalytique kinase est composé de 5 acides aminés conservés : une histidine (H) au niveau d'une « H-box », une asparagine (N), deux glycines (G1 et G2) séparées par une phénylalanine (F). La H-box va porter le phosphate après autophosphorylation alors que les 4 autres acides aminés (N-G1-F-G2) constituent une poche de fixation à l'ATP (**Figure 29**, gauche)(Ann M. Stock, Victoria L. Robinson, et Goudreau 2000).

- ii. **Régulateurs de réponse (RR)**(**Figure 29**, droite). Le régulateur de réponse est le second composant de ces TCS. Tout comme l'histidine kinase, il est lui aussi composé de deux domaines : un domaine conservé N-terminal, récepteur du signal et d'un domaine variable C-terminal, effecteur qui va être responsable de la réponse spécifique au stimulus et d'un domaine de fixation à l'ADN. Le domaine récepteur possède un acide aminé important, l'aspartate (D) qui va recevoir le groupement phosphate. Cette phosphorylation a comme conséquence l'activation du régulateur. Cet activation peut se faire par dimérisation (Fiedler et Weiss 1995; McCleary 1996), par oligomérisation (Webber et Kadner 1997; Weiss, Claverie-Martin, et Magasanik 1992; Wyman et al. 1997) ou par l'interaction avec d'autres protéines (Blat et Eisenbach 1994; Welch et al. 1993).

II.B.2.3. Autres régulateurs

Certains régulateurs n'appartiennent pas à des TCS et leur activité est modulée par des molécules (allolactoses, acides aminés) ou par des événements intracellulaires. C'est le cas par exemple de l'opéron *lac* dont le répresseur LacI est inactivé par l'allolactose, dérivé du lactose lorsque celui-ci est transporté dans la cellule. D'autres régulateurs comme GalS et GalR répondent respectivement à une faible concentration en galactose et une forte concentration en galactose. En réponse GalR active les gènes impliqués dans le métabolisme du galactose alors que GalS a tendance à réprimer ces mêmes gènes (Geanacopoulos et Adhya 1997). D'autres répondent à des conditions intracellulaires comme des événements d'oxydoréduction (SoxR, OxyR) ou à des dommages à l'ADN comme la protéine LexA, régulateur majeur du système SOS (Little 1991, 1993). Cette réponse SOS (Save Our Souls) un système permettant à la bactérie de protéger son ADN lors de dommages. Lorsque la cellule bactérienne rencontre un stress qui va induire des dommages à l'ADN, ces événements vont créer un signal pour la protéine RecA. Celle-ci va se fixer à des filaments d'ADN simple brin, générés suite à des dommages à l'ADN. Ainsi fixées, les protéines RecA et l'ADN simple brin vont former un nucléofilament. Ce nucléofilament correspond à une forme active de la protéine RecA qui va engendrer l'autoprotéolyse de la protéine LexA. Cette protéine, sous forme dimérique peut se fixer à une séquence cible, CTG-N₁₆-CAG chez les γ et β -protéobactéries et ainsi réprimer l'expression de nombreux gènes, qui constituent un régulon, le régulon SOS. Sous forme monomérique, du fait de son autoprotéolyse, la protéine LexA va libérer les différents promoteurs qu'elle régule, activant de nombreux gènes impliqués notamment dans les mécanismes de réparation à l'ADN (**Figure 30**).

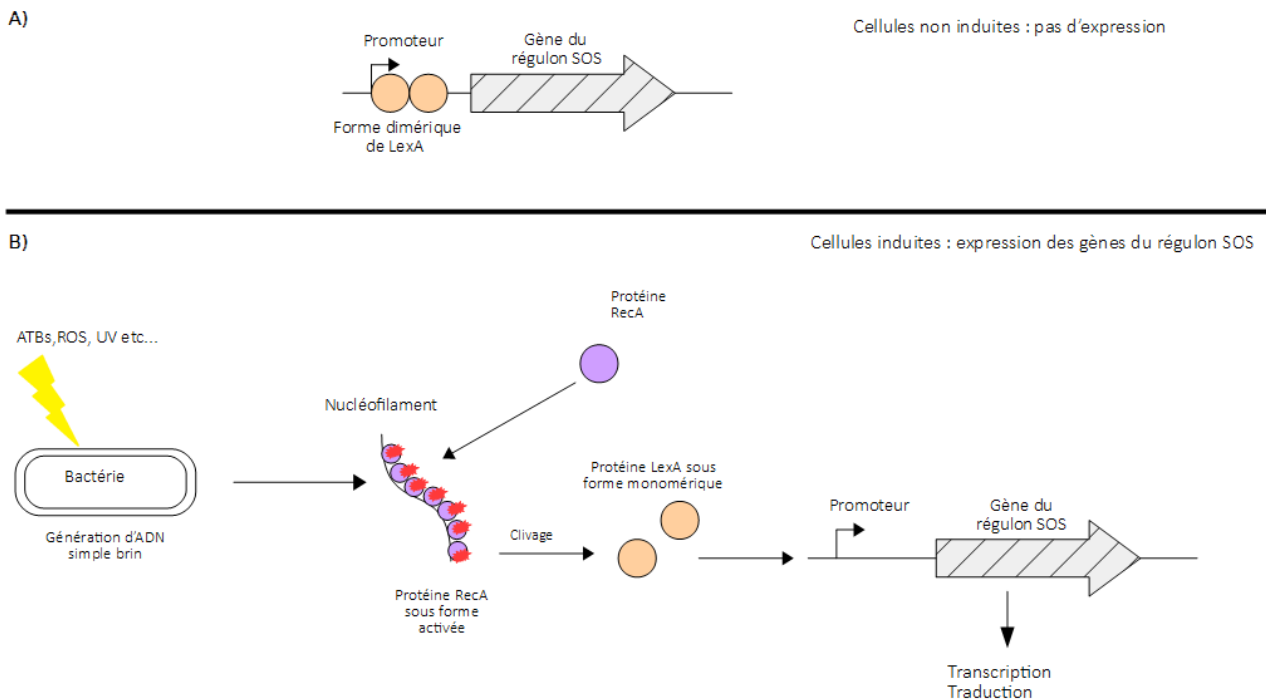


Figure 30: Schéma représentatif de la réponse SOS au sein d'une cellule de *Escherichia coli*

A. Cellules non induites, en conditions physiologiques, les promoteurs régulés par le régulateur central de la réponse SOS, LexA sont réprimés par la fixation de ce régulateur. **B.** Lors d'une induction par différents types de molécules, la protéine LexA est clivée par l'activation de RecA. Sous sa forme monomérique, la protéine LexA libère les promoteurs régulés par la réponse SOS, permettant l'expression de ces gènes. ATBs : antibiotiques ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

III. Régulation de l'expression des gènes de transposases

Il est connu dans la littérature que les gènes impliqués dans les transferts horizontaux de matériel génétique sont régulés par des régulateurs transcriptionnels. Les séquences d'insertions sont elles aussi concernées par cette régulation pour l'expression de leur transposase. En effet, ces transposases, si trop exprimées, vont pouvoir s'insérer de façon complètement anarchique dans le génome de leur hôte portant atteinte à l'intégrité de celui-ci. Ainsi pour des raisons biologiques, les gènes codant pour ces transposases ont besoin d'être très régulés pour limiter les dommages. Même si cette raison paraît tout à fait logique par rapport à la fonctionnalité de la transposase, très peu de données dans la littérature existent sur la régulation de ces gènes. Néanmoins, plusieurs exemples démontrent que les gènes codant pour des transposases peuvent être régulés de différentes façons.

- i. **Promoteurs faibles ou modifiés.** De nombreux promoteurs de gènes de transposases restent des promoteurs faibles. C'est le cas de la transposase de IS21 qui possède un promoteur indétectable (Reimann et al. 1989). Le pourcentage de méthylation du promoteur peut aussi jouer un rôle important dans la régulation du gène de la transposase. En effet, le pourcentage de méthylation des promoteurs des transposases jouent un rôle important sur la fixation de l'ARNpol. Cet effet a été montré pour IS10, IS903 (D. Roberts et al. 1985), IS50 (Yin, Krebs, et Reznikoff 1988), et IS3 (Spielmann-Ryser et al. 1991).
- ii. **Signaux de terminaisons.** Chez certaines IS comme IS1, IS30 etc., il existe des signaux de terminaisons au sein de la séquence codante du gène de la transposase, terminant prématurément la transcription de ces gènes (Galas et Chandler 1989).
- iii. **Facteurs de transcriptions.** Le système SOS, premier rempart contre les dommages à l'ADN, est connu comme étant un inducteur de la transposition de IS50 (CHIEN-TSUN Kuan et Tessman 1991) et de IS1 (Eichenbaum et Livneh 1998; Skaliter et al. 1992). En effet pour IS1, la fréquence de transposition dans une souche déficiente pour le gène *recA* se voit diminuer d'environ 200 fois (Eichenbaum et Livneh 1998; Skaliter et al. 1992). Quant à IS50, l'expression de la transposase augmente en absence des *recA* ou *lexA*, résultats confirmés par un gel retard avec la fixation de la protéine LexA au niveau du promoteur $p2$ du gène de la transposase (CHIEN-TSUN Kuan et Tessman 1991). Ensuite, la protéine IHF est connue pour réprimer l'expression de l'IS10 en se fixant au niveau de la région inversée répétée à gauche de l'élément, proche de l'ATG de la transposase (Gamas et al. 1987). Seulement un mutant IHF ne semble pas avoir d'impact sur la fréquence de transposition. Cela mettrait en avant d'autres mécanismes de régulation, notamment post-transcriptionnels.



Objectifs de thèse



Bien que retrouvée très fréquemment dans des contextes cliniques, la famille des ISCR est peu caractérisée. En effet, peu de données sont disponibles quant à l'expression et la fonctionnalité de leur transposase. Cependant, certains modèles ont établi que *ISCR1* qui est très répandu chez des isolats cliniques pourrait mobiliser et disséminer des gènes de résistance aux antibiotiques (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). Cependant, aucune étude n'a mis en avant les conditions d'expression du gène de la transposase ni montré expérimentalement le mécanisme de transposition. De plus, des études sur l'environnement de *ISCR1* suggèrent que la région située en 3' de l'élément contribuerait à l'aide de deux promoteurs potentiels à l'expression des gènes en aval (Rodriguez-Martinez et al. 2006). Mieux comprendre les caractéristiques des ISCR et leur fonctionnalité permettrait d'expliquer leur rôle dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques et leur maintien dans des contextes cliniques.

Les objectifs de mon travail de thèse étaient donc de :

- Étudier par une approche *in silico* la diversité des ISCR et leurs caractéristiques fonctionnelles
- Comprendre l'implication de l'élément *ISCR1* dans l'expression des gènes en aval
- Étudier les mécanismes de régulation de l'expression du gène de la transposase *rcr1*

Matériel et Méthodes



I. Bactéries, plasmides et milieux de cultures

Les souches et plasmides sont listés dans les **tableaux 5** et **6**. Les bactéries ont été cultivées en milieu Lysogenic Broth (LB) à 37°C avec de la kanamycine, de l'ampicilline ou du chloramphénicol lorsque nécessaire. Les souches portant le plasmide pCP20 (voir **tableau 6**), ont été incubées 30°C.

Tableau 5: Souches utilisées pour cette étude.

AMP : Ampicilline ; CTX : Céfotaxime ; STR : Streptomycine ; SPM : Spectinomycine ; SUL : Sulfaméthoxazole

Souches	Génotype	Référence
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Montevideo C1	AMP ^R , CTX ^R , STR ^R , SPM ^R , SUL ^R et ISCR1+	Collection du laboratoire
<i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655 <i>lacZ</i> -	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> -	(Espéli, Moulin, et Bocard 2001)
MG1655Δ <i>lexA</i> <i>lacZ</i> -	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lexA</i> - <i>lacZ</i> - <i>sfia</i> -	(Guerin et al. 2009)
<i>Escherichia coli</i> BW25113Δ <i>ihfA</i> ::KmFRT	<i>rrnB3</i> Δ <i>lacZ</i> 4787 <i>hsdR</i> 514 Δ(<i>araBAD</i>)567 Δ(<i>rhaBAD</i>)568 <i>rph</i> -1 Δ <i>ihfA</i> ::KmFRT	(Baba et al. 2006) (Collection KEIO)
BW25113Δ <i>ompR</i> ::KmFRT	<i>rrnB3</i> Δ <i>lacZ</i> 4787 <i>hsdR</i> 514 Δ(<i>araBAD</i>)567 Δ(<i>rhaBAD</i>)568 <i>rph</i> -1 Δ <i>ompR</i> ::KmFRT	(Baba et al. 2006) (Collection KEIO)
<i>Escherichia coli</i> TG1Δ <i>cpxR</i> ::KmFRT	Δ(<i>hsdMS</i> - <i>mcrB</i>)5 Δ(<i>lac</i> - <i>proAB</i>) <i>supE</i> <i>thi</i> -1 F' <i>[lac</i> ^l <i>lacZ</i> ΔM15 <i>proAB</i> ⁺ <i>traD</i> 36] Δ <i>cpxR</i> ::KmFRT	(Beloin et al. 2004)
MG1655 <i>lacZ</i> -Δ <i>ihfA</i> ::KmFRT	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> -Δ <i>ihfA</i> ::KmFRT	Collection du laboratoire
MG1655 <i>lacZ</i> -Δ <i>ompR</i> ::KmFRT	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> -Δ <i>ompR</i> ::KmFRT	Cette étude
MG1655 <i>lacZ</i> -Δ <i>cpxR</i> ::KmFRT	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> -Δ <i>cpxR</i> ::KmFRT	Cette étude
MG1655 <i>lacZ</i> -Δ <i>crp</i> ::KmFRT	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> -Δ <i>crp</i> ::KmFRT	Collection du laboratoire
MG1655Δ <i>ompR</i> <i>lacZ</i> -	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> - Δ <i>ompR</i>	Cette étude
MG1655 <i>lacZ</i> -Δ <i>cpxR</i>	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> - Δ <i>cpxR</i>	Cette étude
MG1655 <i>lacZ</i> -Δ <i>crp</i>	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> - Δ <i>crp</i>	Cette étude

MG1655 Δ <i>lexA</i> Δ <i>ompR</i> <i>lacZ</i> -	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lacZ</i> - Δ <i>ompR</i> <i>lexA</i> - <i>sfiA</i> -	Cette étude
MG1655 Δ <i>lexA</i> Δ <i>ihfA</i> ::KmFRT <i>lacZ</i> -	F ⁻ lambda ⁻ <i>ilvG</i> - <i>rfb</i> -50 <i>rph</i> -1 <i>lexA</i> - <i>sfiA</i> - <i>lacZ</i> - Δ <i>ihfA</i> ::KmFRT	Cette étude

Tableau 6: Plasmides utilisés lors de cette étude .

Les amorces utilisées pour ces plasmides sont colligées dans l'**Annexe 1**. KM : Kanamycine ; AMP : Ampicilline CM : Chloramphénicol

Plasmides	Contenu	Référence
pSU38 Δ <i>totlacZ</i>	KM ^R , gène <i>lacZ</i> sans promoteur	(Jové et al. 2010)
pCP20	AMP ^R , CM ^R , contient un gène codant pour une recombinaise de type FLP	(Cherepanov et Wackernagel 1995)
p <i>SfiA</i>	Promoteur du gène p <i>SfiA</i> cloné en <i>EcoRI</i> - <i>Bam</i> HI dans pSU38 Δ <i>totlacZ</i> .	(Strugeon et al. 2016)
p <i>Prcr1</i>	pSU38 Δ <i>totlacZ</i> avec la région <i>terS</i> amplifiée avec pORF513_ <i>Eco</i> RI et pORF513_ <i>Bam</i> HI	Cette étude
p <i>Prcr1</i> -10mut	p <i>Prcr1</i> muté dans l'élément -10 de <i>Prcr1</i> avec les amorces 5 et 6	Cette étude
p <i>Prcr1</i> -35mut	p <i>Prcr1</i> muté dans l'élément -35 de <i>Prcr1</i> avec les amorces 7 et 8	Cette étude
p <i>Prcr1</i> TGNmut	p <i>Prcr1</i> muté dans le motif TGN de <i>Prcr1</i> avec les amorces 11 et 12	Cette étude
p <i>Prcr1lexA</i> *	p <i>Prcr1</i> muté dans l'opérateur LexA de <i>Prcr1</i> avec les amorces 9 et 10	Cette étude
p <i>Prcr1s</i>	pSU38 Δ <i>totlacZ</i> avec un fragment de 80 pb contenant <i>Prcr1</i> amplifié avec les amorces PISCREcoR1-short et pORF513_ <i>Bam</i> HI.	Cette étude
p <i>PompF</i>	pSU38 Δ <i>totlacZ</i> avec la région promotrice du gène <i>ompF</i> amplifiée avec les amorces pOmpF_ <i>Eco</i> RI x pOmpF_ <i>Bam</i> HI	Cette étude
p <i>PompC</i>	pSU38 Δ <i>totlacZ</i> avec la région promotrice du gène <i>ompC</i> amplifiée avec les amorces pOmpC_ <i>Eco</i> RI x pOmpC_ <i>Bam</i> HI	Cette étude
p <i>Prcr1ompR1</i> *	p <i>Prcr1</i> muté dans l'opérateur OmpR1 avec les amorces X et Y	Cette étude
p <i>Prcr1ompR2</i> *	p <i>Prcr1</i> muté dans l'opérateur OmpR2 avec les amorces X et Y	Cette étude

II. Clonages

La séquence promotrice du gène de la transposase *rcr1* a été amplifiée par PCR à partir de la souche clinique *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Montevideo C1. Cette

souche bactérienne possède un intégron de classe 1 et une *ISCR1* en aval. L'amplification a été réalisée à l'aide la Phusion polymérase (Thermo Fisher). Les amorces utilisées sont colligées dans l'**Annexe 1**. Les mutations au sein des séquences -10, -35, motif TGN et de la boîte LexA ont été réalisées par PCR assemblage avec des amorces portant des bases mutées. Les promoteurs ont été amplifiés en prenant en compte soit l'ensemble de la région *terS* de l'élément *ISCR1* contenant la séquence promotrice (*Prcr1*) soit seulement les 80 pb en amont de l'ATG du gène de la transposase *rcr1* (*Prcr1s*). Les produits d'amplification ont été analysés sur gel d'agarose à 0,8 % et purifiés à l'aide du kit NucleoSpin® Gel and PCR Clean Up (Macherey-Nagel). Les fragments amplifiés purifiés ont été clonés en *EcoRI-BamHI* (New England BioLab) dans le vecteur pSu38Δtot*lacZ*, contenant le gène *lacZ* sans région promotrice (Jové et al. 2010). Les plasmides recombinants ont été séquencés par méthode Sanger après transformation par électroporation chez *Escherichia coli* MG1655*lacZ*. Les extractions d'ADN plasmidique ont été réalisées à l'aide du kit PureYield™ Plasmid Miniprep System (Promega).

III. Transductions

Les délétions pour les différents gènes d'intérêt étudiés ont été effectuées par transduction avec le bactériophage P1vir de *E. coli* de la souche donneuse TG1 ou BW25113 (**Tableau 5**) vers MG1655*lacZ*. Les clones après transduction ont été sélectionnés sur LB avec kanamycine (25 µg/mL) et citrate de sodium 0,2 %. Chaque clone sélectionné a ensuite été vérifié par PCR à l'aide d'amorces encadrant le gène d'intérêt (**Annexe 1**, 13-20). La cassette de résistance à la kanamycine qui a permis de déléter le gène d'intérêt a été excisée grâce à une recombinase-excisionase de type FLP dont le gène est porté par le plasmide pCP20 (Cherepanov et Wackernagel 1995). L'excision de la cassette KmFRT a été réalisée à 30°C car le vecteur pCP20 possède une origine de répllication thermosensible. Cette excision a été vérifiée, d'abord par culture sur LB et LB avec kanamycine (25 µg/mL) puis par PCR. Le plasmide pCP20 a été curé de

la cellule par passages successifs sur LB à 37°C. Chaque délétion a été vérifiée par séquençage Sanger.

IV. Préparation de cellules électrocompétentes

Les cellules à transformer ont été rendues compétentes en les cultivant une nuit en LB avec ou sans kanamycine à 25 µg/mL (pour les souches possédant la cassette KmFRT). Après une dilution au 1/100ème, les cellules ont été cultivées à 37°C sous agitation (300 rpm) jusqu'à une DO à 600 nm de 0,6-0,8. La culture a été immédiatement déposée sur glace puis centrifugée pendant 15 minutes à 6000 x *g*. Des lavages successifs à l'eau froide ont ensuite été réalisés. Les cellules électrocompétentes ont été aliquotées par 35 µL avec du glycérol 10 % froid et conservées à -80°C.

Un mélange de cellules compétentes et de plasmides (20 ng) à transformer ou de produit de ligation (1 volume de produit de ligation pour 10 volume de cellules) a été électroporé à 2500 V avec à l'appareil Eporator® (Eppendorf). Les cellules ont été reprises dans du milieu LB pendant 1 heure à 37°C puis étalées sur milieu LB gélosé avec l'antibiotique adéquat. Les transformants ont ensuite été vérifiés par PCR avec la polymérase One-Taq (New England Biolab) puis par migration sur gel d'agarose à 0,8 %.

V. Essais β-galactosidase

Les fusions transcriptionnelles avec le gène *lacZ* ont été transformées dans la souche *E. coli* MG1655*lacZ*- ou ses dérivées délétés des gènes d'intérêts (**Tableau 5**). À partir d'une culture d'une nuit en LB supplémenté en kanamycine (25 µg/mL), une 2ème culture par dilution au 1/100^{ème} en LB avec kanamycine (25 µg/mL) a été réalisée. Lorsque la phase exponentielle (DO à 600 nm entre 0,6 et 0,8) a été atteinte, des essais β-galactosidase ont été réalisés comme décrit par Miller (Miller, 1993) à une température d'incubation de 37°C.

VI. Induction de stress

Des tests de challenge au stress ont été réalisés afin de tester leur impact sur le promoteur de *rcr1*, le *Prcr1* :

- stress à la mitomycine C à une concentration de 1,6 µg/mL,
- stress hypo-osmotique par culture en milieu minimum M63B1 (KH₂PO₄ 100 mM ; (NH₄)₂SO₄ 15 mM ; MgSO₄ 0,8 mM ; vitamine B1 3 µM ; glucose 0,2 %; pH 7,4).

VII. Retard sur gel

La surexpression et la purification de la protéine LexA de *E. coli* avec le plasmide pET15 ont été réalisés comme décrit précédemment (Abella et al. 2004) Les séquences d'ADN utilisées pour le gel retard ont été synthétisées par amplification par PCR à l'aide des amorces 26 à 28 (**Annexe 1**) et purifiées après vérification sur gel d'agarose 0.8 %. Des quantités variables (de 37,5 à 600 ng) de protéine LexA ont été incubées sur glace pendant 20 minutes avec 80 ng de sondes dans un tampon de 10 mM HEPES (pH 8), 10 mM Tris-HCl (pH 8), 50 mM KCl, 1 mM EDTA. Après 20 minutes d'incubation sur glace, 2 µL de la solution "EMSA gel-loading" à une concentration de 6X (Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) Kit, Molecular Probes™ Biorad©) ont été ajoutés à la réaction et l'ensemble a été déposé sur un gel de tris-glycine-polycrylamide à 6% en conditions non dénaturantes. Après 60 minutes à 150 V, l'ADN est visualisé selon le protocole du fabricant (Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA) Kit, Molecular Probes™ Biorad©). Si la taille du fragment est différent en présence de protéine, cela signifie que la migration de l'ADN a été retardée en raison de la formation de complexe ADN-protéines.

VIII. Outils bioinformatiques et tests statistiques

Les outils bioinformatiques et les banques de données utilisés lors de cette étude ont été répertoriés dans le tableau 7 ci-dessous.

Tableau 7: Répertoire des logiciels et banques de données utilisés lors de cette étude

Logiciels	Applications	Adresse web
Prodoric	Détermination <i>in silico</i> des sites potentiels de régulation du <i>Prcr1</i> pour les régulateurs de chez <i>E. coli</i> K-12	http://www.prodoric.de/vfp/
Venny 2.1	Création de diagramme de Venn	http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/
Banques de données	Données concernées	Adresse web
RegulonDB	Régulateurs chez <i>E. coli</i> K-12	http://regulondb.ccg.unam.mx/
Ecocyc	Gènes chez <i>E. coli</i> K-12	https://ecocyc.org/
RegPrecise	Facteurs de transcription dans plusieurs taxons bactériens	http://regprecise.lbl.gov/RegPrecise/collections.jsp

Tous les résultats obtenus en essais β -galactosidase ont été analysés à l'aide d'un test de Mann-Whitney à deux groupes non-appariés et calculés à l'aide du logiciel R Studio.

Résultats



Première partie : Étude *in silico* de la diversité des ISCR et leurs caractéristiques fonctionnelles

La plupart des données connues pour les ISCR sont regroupées dans la revue de Toleman *et al.*, de 2006. Cependant, de nouveaux membres ISCR ont été décrits depuis. De plus, les critères appliqués pour la numérotation des ISCR n'ont pas été correctement définis. C'est pourquoi nous avons fait une mise à jour des ISCR présents dans les banques de données et nous avons correctement définis chaque membre et leurs caractéristiques. De façon intéressante, nous avons remarqué que deux sous-groupes existaient, ISCR1 et ISCR3 après alignement des séquences de transposases et le même regroupement existe lors de l'alignement des régions promotrices. Au sein de ces régions promotrices, nous avons identifiés pour la majorité des éléments une boîte LexA putative. En fonction des sous-groupes, ce site de fixation à la protéine LexA ne se trouvait pas au même endroit : près du codon START pour le sous-groupe ISCR1 et à environ 80 bp du codon START pour le sous-groupe ISCR3. Les régions promotrices sont relativement bien conservées pour le sous-groupe ISCR3 et les membres de ce sous-groupes possèdent de plus, le même codon START en GTG. Quant aux transposases, les domaines catalytiques sont très conservés. Nous avons, grâce à cette analyse, mis à jour les informations disponibles pour la famille ISCR.

La littérature fait état aujourd'hui de 19 membres de la famille ISCR, numérotés de 1 à 27 (certains numéros n'ont pas été attribués). Cependant, les informations concernant leurs extrémités, leurs sites catalytiques, le promoteur du gène de la transposase, la taille de la protéine codée, etc. sont parcellaires. Les rares données sont disponibles dans la revue de Toleman *et al.*, de 2006 (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006) et la liste des ISCR sur le site MARA qui est régulièrement mise à jour par l'équipe de Sally Partridge (<http://mara.aihi.mq.edu.au/mara/feature/list?fview=ISCR>).

Avant de commencer l'étude des fonctionnalités de ISCR1, il fallait avoir une vue exhaustive sur toutes les ISCR existantes et leurs caractéristiques. Nous avons donc entrepris une analyse *in silico* de la diversité des ISCR à partir des séquences présentes dans la GenBank®. Les données présentées ci-dessous proviennent d'une analyse *in silico* effectuée en Juillet 2017.

I. Panorama de la famille des ISCR.

Nous avons d'abord réalisé l'alignement des séquences protéiques des transposases de chaque ISCR (n=19)(**Figure 31**). Nous avons utilisé un seuil de 98% selon les critères utilisés pour les IS (ISFinder : <https://www-is.biotoul.fr/howto.php>) pour définir des transposases différentes.

La première information est la présence d'isoformes malgré une numérotation différente des ISCR. En effet, les ISCR22 et 23, et ISCR16 et ISCR27 sont isoformes. ISCR3 est un isoforme de ISCR6 (98,26%) et ISCR14 (99,61 %) mais ces deux derniers ne sont pas isoformes entre eux (97,83%)(**Figure 31**, accolade bleue). La seconde information est la formation de deux groupes au sein de la famille : le groupe ISCR1 (**Figure 31**, en rouge), qui regroupe les ISCR8, ISCR22/23, ISCR1 et ISCR2 et le groupe ISCR3 (**Figure 31**, en orange), qui regroupe ISCR3/6/14, ISCR24, ISCR5b, ISCR15 et les ISCR19.



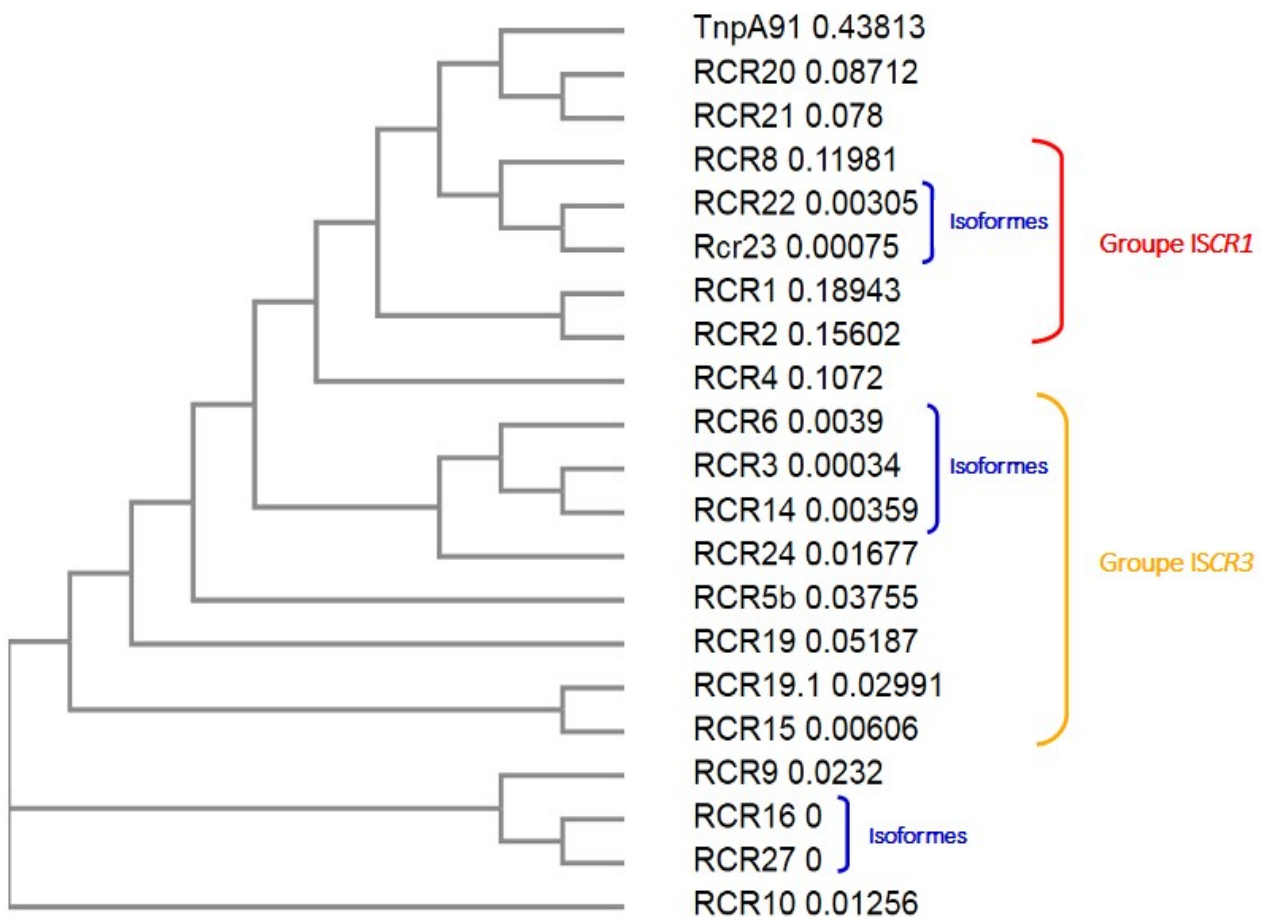


Figure 31: Arbre phylogénétique des séquences protéiques des transposases RCR

Arbre phylogénétique réalisé après alignement des séquences protéiques des transposases RCR dont la séquence codante est disponible dans la GenBank®. Méthode du *Neighbour-joining* sans correction des distances. La valeur après chaque terme RCR correspond à la distance par rapport au voisin le plus proche. Les isoformes (plus de 98 % d'identité protéique) sont représentés par des accolades bleues. Les groupes ISCR1 et ISCR3 sont représentés par des accolades rouges et jaunes respectivement. L'alignement et l'arbre phylogénétique ont été réalisés grâce à ClustalW réalisé sur le site de l'EMBL (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)

II. Caractéristiques des ISCR

Nous avons, lors de cette analyse exhaustive, analysé l'ensemble des caractéristiques spécifiques des ISCR telles que décrites par Toleman *et al.*. Les particularités soulevées par notre analyse sont résumées ci-dessous.

II.A. La transposase

- **Le promoteur du gène de la transposase.** Des promoteurs putatifs σ^{70} ont été déterminés *in silico* (Prodoric) pour ISCR1, ISCR2, ISCR6, ISCR8, ISCR21 et ISCR22/23 (**Tableau 8**, colonne *Prcr*). Ces éléments appartiennent tous au groupe ISCR1, excepté ISCR6 (**Figure 32**). On peut remarquer aussi que la séquence

promotrice du gène de la transposase pour le groupe *ISCR3* est conservée. Nous avons remarqué qu'une séquence de fixation à la protéine LexA (ou boîte LexA) était présente dans la région promotrice de la transposase pour la grande majorité des membres de la famille *ISCR*, à l'exception de *ISCR4*, *ISCR9*, *ISCR19.1*, *ISCR20* et *ISCR21*. De façon intéressante, la position de la boîte LexA semble être groupe dépendant (**Figure 32**). En effet, pour le groupe *ISCR3*, la boîte LexA est éloignée du codon START (**Figure 32**, encadré jaune), à l'inverse du groupe *ISCR1*, où cette séquence se trouve proche du START du gène de la transposase et chevauchant l'élément -10 potentiel (**Figure 32**, encadré rouge).

```

ISCR9 -----CCGCATCTTCAGCCGCTTCGACAAGCTC-----GACGT-----CATGTTTCGCGGCCTTCATCCACTTCC
ISCR4 -----CGCCGATGTGACGGCGTGACCGTGGGCGCAAC--CCTGTG
ISCR19.1 -----TCGGAAAAACGCCGATACAAACCGACGAGGGCAGCCGCAAC--TCTGAG
ISCR10 CGCCCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AAAACGCCGATATGAACGCGTGCTCGCGGGCGCAAC--CCTGAG
ISCR19 CGCCCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AAAACGCCGATATGAACGCGTGCTCGCGGGCGCAAC--CCTGAG
ISCR27 CGCCCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AAAACGCCGATATGAACGCGTGCTCGCGGGCGCAAC--CCTGAG
ISCR14 CGCGCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AACGCACCGATACGAACGTGCGAACACAGGTGCAAC--CCTGAG
ISCR3 CGCGCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AACGCACCGATACGAACGTGCGAACACAGGGCGCAAC--ACTGAG
ISCR6 CGCGCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AACGCACCGATACGAACGTGCGAACACAGGGCGCAAC--ACTGAG
ISCR24 CGCGCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AACGCACCGATACGAACGTGCGAACACAGGGCGCAAC--ACTGAG
ISCR5 GTCGCCGCGGCAATGT CTGACGCGAAGATCAG AACGCACCGATACGAACGTGCGAACACAGGGCGCAAC--ACTGAG
ISCR20 -----AGAAACCCCGGCTACCCGATTAGGTGGCGTCAGTCCA--CATT---TTCCGCT-T-----TTTTCT
ISCR21 -----GAGTCCGCTCGAACCGGTTGTTAGGTGGCGCCAGTCCA--CATT---TTCCATT-A-----TTTTCT
ISCR15 -----GGCGTGGGCATGGAAGCACTACA--CCGACTGGTTCGAGC-G-----CATCCT
ISCR1 -----TATTGCGGGTTAAGCATTTAGCGATGTCTAG-----GGCCAGA-C-----TGACG
ISCR2 -----TG-----GCAATGTCTAGCAACGGCAGG-----CATTTCGGCTGAGG-G-----TAAAAG
ISCR8 -----ACAAG--GCCCGAACTGGCGACGGTTCGGGC--CTTGTGCTTTGC-----GTACCC
ISCR22 -----CCCCAGACAGAGCGCTGGTTTTCGGGCAGGTAAGTGGGCTTAAAGTGCCTTTACT-G-----TTCCAT

ISCR9 GCACTGATC-----GTGCAATCGT-----TGCATAGTGTTAACAG-----GCCCTGGTG
ISCR4 CTGCCGTTCGCTGC-ACAGGAGCGTTCGGTGCAGCTCATCGCACTCCGGCGCGAGCCCGTCCGTG
ISCR19.1 CACCCGTCCTGAGCACCAGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR10 CAGCCGTCCCTGC-AACGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR19 CAGCCGTCCCTGC-AACGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR27 CAGCCGTCCCTGC-AACGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR14 CAGCCGTCCCCGC-ACCGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR3 CAGCCGTCCCCGC-ACCGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR6 CAGCCGTCCCCGC-ACCGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR24 CAGCCGTCCCCGC-ACCGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR5 CAGCCGTCCCCGC-ACCGGAGCGCTGCCGTG-----
ISCR20 TCCAAATTGCCAGTAAATGTTTCGTTTTTCTGCGTATGTATATAT-----ATG---
ISCR21 TCGCAATTGCAAGCAAAATGATCGTTTTCTGCGTATGTATAGGT-----ATG---
ISCR15 CCCCAGACCCCTCACCATCCGCGATGTGCGAGCACTGCCGTGCAGAGAG-----GCTG---GTG---
ISCR1 TCTGAACGCAAGCCGCTGAT ACTGTACATAACCACAGTATCAGCGGAGG-----ATACCCATG---
ISCR2 AACTTTCCGCTAAGCGATAGACTGTATGTAACACAGTATTGCAAGGAC-----GCGGAACATG---
ISCR8 AA--ACAATCGCCGAGAAAT ACTGTGCATTTGTACAGTATTATG-----
ISCR22 TG--CTCCCCGAACCCCAAT ACTGTGTATTGTCACAGTATTATG-----

```

Figure 32: Alignement des régions promotrices du gène de la transposase des membres de la famille ISCR.

Alignement de 100 pb en amont du codon START du gène de la transposase pour tous les membres disponibles dans la GenBank ®. Les séquences de fixation pour la protéine LexA sont encadrées en orange pour le groupe ISCR3 et en rouge pour le groupe ISCR1. Alignement ClustalW réalisé sur le site de l'EMBL (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Les codons START sont en gras.

- **Le codon START.** De façon intéressante, les codons START des gènes des transposases *rcr* sont différents selon les groupes (**Tableau 8**, colonne Codon START). En effet, pour le groupe ISCR1, le codon START est un ATG à l'exception de ISCR21 alors que pour le groupe ISCR3, le codon START est un GTG. Ces deux codons, malgré une occurrence différente chez *Escherichia coli* (90 % pour l'ATG et 8 % pour le GTG), peuvent initier la traduction, sans différence apparente (Laursen et al. 2005).

- **Les domaines fonctionnels de la transposase RCR.**

- **Domaine HUH.** Toleman *et al.*, ont décrit un résidu un résidu phénylalanine (F) pour les cinq premiers membres de la famille ISCR à l'exception de ISCR1 (tyrosine). Dans notre analyse, nous avons identifié ce résidu phénylalanine chez tous les autres membres de la famille ISCR à l'exception de ISCR20 et ISCR21 qui possèdent un résidu tryptophane (W) (**Figure 34A**)(**Tableau 8**, colonne Domaine HUH).
- **Domaine Y1.** Ce domaine catalytique est composé de 4 résidus consécutifs et d'un résidu tyrosine selon le motif YxxxY, des transposases HUH à deux tyrosines. Ce domaine catalytique est responsable de la liaison covalente qui se crée entre le brin donneur et la transposase au cours de la transposition. Pour tous les ISCR, nous avons identifié que le premier résidu est une arginine (R)(n=6) ou une lysine (K)(n=12) suivi de trois acides aminés, LLR (Leucine-Leucine-Arginine) ou LCR (Leucine-Cystéine-Arginine). Enfin, le dernier résidu est la tyrosine conservée du domaine Y1. ISCR20 possède un domaine Y1 atypique avec une combinaison d'acides aminés différente des autres ISCR: alanine (A), lysine (L), glycine (G), glutamine (Q) et tyrosine (Y)(**Figure 34B**) (**Tableau 8**, colonne Domaine Y1).

II.B. Taille de l'élément

La taille des éléments ISCR est comprise entre 1485 pb (ISCR14b) et 2409 pb (ISCR24). En moyenne, les éléments ont une taille de 1900 pb ce qui correspond à la taille moyenne des IS bactériennes (Varani et al. 2015). Il existe de rares ISCR tronquées comme ISCR16 qui ne possède pas de région *terIS* (**Tableau 8**, colonne Taille de l'élément).

II.C. Région *terIS* et *terIS*

La taille de la région *terIS* a été déterminée entre un motif contenant une structure tige-boucle, *terIS*, et le codon START du gène de la transposase. Nous avons déterminé des palindromes putatifs dans cette région *terIS* pour la majorité des éléments à l'exception de *ISCR1*, *ISCR15* et *ISCR19.1*. Pour *ISCR1*, nous avons déterminé l'extrémité 5' de l'élément par la rupture de conservation avec la région 3'CS d'un intégron de classe 1 auquel *ISCR1* est toujours associé. La taille moyenne de la région *terIS* est d'environ 190 pb (**Tableau 8**, colonne Région *terIS* et *terIS*).

II.D. Région *oriIS* et *oriIS*.

La région *oriIS* est comprise entre le codon STOP du gène de la transposase *rcr* et le motif *oriIS*, origine de réplication de l'élément. Pour les éléments *ISCR*, cette région fait en moyenne 250 pb. Le motif *oriIS* contient une séquence palindromique qui va former une structure tige-boucle lorsque l'ADN sera simple brin. Cet *oriIS* a été défini par Toleman *et al.*, comme 5'-GcgTTTgAAcTTCCTATACxx-3' (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006)(x = A, C, G ou T). À l'aide de ce consensus, nous avons pu identifier le motif *oriIS* pour tous les membres de la famille (**Tableau 8**, colonne *oriIS*). La région *oriIS* peut aussi contenir potentiellement un promoteur dirigé vers l'extérieur (P_{OUT}). Des promoteurs putatifs σ^{70} ont été déterminés pour *ISCR1*, *ISCR2*, *ISCR6*, *ISCR8*, *ISCR21* et *ISCR22* (voir **Tableau 8**, colonne P_{OUT}).

Tableau 8: Caractéristiques des éléments ISCR décrits lors de notre étude

ISCR	GenBankN	GenBankKP	Taille élément (pb)	<i>terIS</i>	Région <i>terIS</i> (pb)
ISCR1	AM234698	CAJ84008	2153	?	379
ISCR2	AY055428	AAL59686	1848	AGTGACGGGCACT	119
ISCR3	AY434092	ALU64879	1893	GGGCGGCATGGGCGGCATGGATTCTGATCCGGTTGGCCC	254
ISCR4	AY341249	AKC05761	1948	AAACCTCGAAGCCCGGCCCTGCGCCGGGCTTCGTGCTTT	168
ISCR5	AM849110	CAO91944	2091	CGCGGGGATCCGCGCCGCGCAGGCGACGGATCCCCGCG	319
ISCR6	GQ388247	ACX47991	1900	GGCCCCAAGGACGGGGCC	154
ISCR8	AF028594	AAB94124	1823	ACAAGCCCCGAAGTGGCGACGGTTCGGGCCTTGT	87
ISCR9	AUHT01000004	WP_081677679	1890	CTGGGCCTGGATCCGGTCTGTGCCCCGCATCCGCTGCGGGCCCAG	222
ISCR10	AXRA01000008	ERX05130	1950	CACAAAGCCCGGCCTCGTGCCGGGCTTTGTG	164
ISCR14b	LEUB01000113	KLX45053	1485	AGCCCGGCAGCGATGCCGGGCT	336
ISCR15	AP017302	BAT64998	1646	?	136
ISCR16	HQ416416	AEP32433	1786	Séquence commence au GTG de la transposase	
ISCR19	EU503121	ACJ05190	1943	CACAAAGCCCGGCCTCGTGCCGGGCTTTGTG	164
ISCR20	GU441460	ADM26830	1832	GGGGGCTGGGGGCTAGAAACCCCC	114
ISCR21	CP003022	AET15213	1772	TCAACCTAACTTTCGGTTGA	142
ISCR22	AY831462	AAX38579	1878	CACAAGATGTTGTG	304
ISCR24	CP020703	ARI91782	2409	AGCCCGGCAGCGATGCCGGGCT	134
ISCR27	KC887917	AAX38585	1950	CACAAAGCCCGGCCTCGTGCCGGGCTTTGTG	164
ISCR19.1	JX570731	AFV91535	1859	?	

Tableau 8 (suite): Caractéristiques des éléments ISCR décrits lors de notre étude

ISCR	<i>Prr</i>	RBS	Codon START	Domaine HUH	Domaine Y1
ISCR1	TGGACGTCTGAACGCAAGCCGCTGATACTGT	GGAGGA	ATG	HYH	RLCRY
ISCR2	GGGTAAAGAAGCTTTCCGCTAAGCGATAGACT	AAGGA	ATG	HFH	RLCRY
ISCR3	?	GGAG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR4	?	GAG	GTG	HFH	RLCRY
ISCR5	TCGCCGCGCAATGTCTGACGCGAAGAT	GGAG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR6	TTGCGTACCCAAACAATCGCCGCAGAATACT	GGAG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR8	?	?	ATG	HFH	RLLRY
ISCR9	?	AGG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR10	?	GAGG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR14b	?	GAG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR15	?	GAG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR16			GTG	HFH	KLCRY
ISCR19	?	GGAG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR20	?	?	GTG	HWH	LVRRY
ISCR21	TGGCGCCAGTCCACATTTCCATTATTTT	?	ATG	HWH	KLRRY
ISCR22	TTGCTCCCCGAACCCCAATACTGTGTATTG	?	ATG	HFH	RLLRY
ISCR24	?	GAGG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR27	?	GAGG	GTG	HFH	KLCRY
ISCR19.1	?	GGAG	GTG	HFH	KLCRY



Tableau 8 (suite): Caractéristiques des éléments ISCR décrits lors de notre étude

ISCR	<i>oriS</i>	Région <i>oriS</i> (pb)	POUT
ISCR1	TGGTTTATACTTCCTATACCC	232	TAAACG-N17-TAAGAT; TTCGGA-N16-TGNTTATAC
ISCR2	GCGTTTATTCTTCCTATACGT	235	TTGGAC-N18-TATTCT
ISCR3	GCGTTTGAACCTCCTATACGC	244	?
ISCR4	GCGTTTGAATTCCTATACTC	256	?
ISCR5	GCGTTTGAACCTCCTATACTG	245	?
ISCR6	GCGTTTGAACCTCCTATACCC	255	TTGCGCGGCCGCTTCCTACCCGCCAGACT
ISCR8	GCGTTTGAATTCCTATCCGT	188	TTTCGAGGCCCAAACTCGTGCCATACT
ISCR9	GCGTTTGAACCTCCTATACCC	245	?
ISCR10	GCGTTTGAACCTCCTATACGC	256	?
ISCR14b	GTTTGAACCTCCTATACGC	244	?
ISCR15	GCGTTTGAACCTCCTATACCC	256	?
ISCR16	GCGTTTGAACCTCCTATACCC	256	?
ISCR19	GCGTTTGAATTCCTATACCC	246	?
ISCR20	CTGAAATGACAGTTCCTATC	270	?
ISCR21	GACTTTAAATGACAGTTCCTATA	337	GTTGACGGCAGAAATAGACTGGAATTAC
ISCR22	GCGTTTGGATTCCTATCCTC	197	CTGAGACGCCCCAAACGTGTGCTATACT
ISCR24	GCGTTTGAACCTCCTATACCC	258	?
ISCR27	GCGTTTGAACCTCCTATACCC	256	?
ISCR19.1	GCGTTTGAATTCCTATACCC	256	?

Deuxième partie : Comprendre l'implication de l'élément *ISCR1* dans l'expression des gènes en aval

ISCR1 est le membre de la famille *ISCR* le plus fréquemment retrouvé en contexte clinique. Son environnement génétique est composé en amont d'un intégron de classe 1 et en aval, d'une région variable composée de gènes codant pour de nombreuses fonctions dont la résistance aux antibiotiques. Dans la littérature, une région promotrice putative P_{OUT} comprenant deux promoteurs potentiels P_{CR1-1} et P_{CR1-2} a été décrite au sein de la région *oriS* (Rodriguez-Martinez et al. 2006). Cependant leur rôle dans la transcription des gènes en aval n'avait pas été étudié expérimentalement au début de ce travail de thèse. Nous avons donc commencé par répertorier la diversité des gènes en aval de la transposase *RCR1* et avons identifié 67 gènes différents. De façon intéressante, dans la majorité des cas (84%), la séquence codante était sur le brin « top », c'est-à-dire dans le sens de la transcription des promoteurs P_{OUT} (**Table S4**). Près de la moitié de ces gènes codent pour des résistances à des antibiotiques de différentes familles.

Nous avons ensuite étudié le rôle des promoteurs putatifs P_{CR1-1} et P_{CR1-2} de la région *oriS* dans l'expression de deux gènes de résistance aux antibiotiques *bla_{CTX-M-9}* et *dfrA19* qui sont les plus fréquemment présents dans la Genbank® en aval de *ISCR1*. Nous avons montré par des études avec un gène rapporteur *lacZ* que, la présence de la région *oriS* (donc des promoteurs P_{CR1-1} et P_{CR1-2}) augmentait l'expression de *lacZ* d'un facteur 15 et 13 fois respectivement pour les P_{OUT} en amont des gènes *bla_{CTX-M-9}* et *dfrA19*.

Nous avons vérifié par étude des CMI que la région *oriS* en amont du gène *bla_{CTX-M-9}* était effectivement essentielle pour exprimer un phénotype de résistance au céfotaxime. Ce travail a fait l'objet d'un manuscrit soumis avec révisions favorables à *Frontiers in Microbiology*.

The role of *ISCR1*-borne P_{OUT} promoters in the expression of antibiotic resistance genes

Claire Lallement¹, Cécile Pasternak¹, Marie-Cécile Ploy¹ and Thomas Jové*¹

Univ. Limoges, INSERM, CHU Limoges, RESINFIT, U1092, F-87000 Limoges, France.

Running title: The contribution of *ISCR1* to antibiotic resistance

Correspondence:

Thomas Jové

thomas.jove@unilim.fr

Abstract

The *ISCR1* (Insertion sequence Common Region) element is the most widespread member of the *ISCR* family, and is frequently present within γ -proteobacteria that occur in clinical settings. *ISCR1* is always associated with the 3' Conserved Segment (3'CS) of class 1 integrons. *ISCR1* contains outward-oriented promoters P_{OUT}, that may contribute to the expression of downstream genes. In *ISCR1*, there are two P_{OUT} promoters named P_{CR1-1} and P_{CR1-2}. We performed an *in silico* analysis of all publically available *ISCR1* sequences and identified numerous downstream genes that mainly encode antibiotic resistance genes and that are oriented in the same direction as the P_{OUT} promoters. Here, we showed that both P_{CR1-1} and P_{CR1-2} significantly increase the expression of the downstream genes *bla*_{CTX-M-9} and *dfrA19*. Our data highlight the role of *ISCR1* in the expression of antibiotic resistance genes, which may explain why *ISCR1* is so frequent in clinical settings.

Introduction

Antimicrobial resistance is often mediated by the dissemination of antibiotic resistance genes (ARG) that are carried by mobile genetic elements (MGEs) including plasmids, insertion sequences (IS), transposons (Tn) and integron gene cassettes (Partridge, 2011) which are harboured by bacteria across all phyla and environments (Aminov, 2011). In addition, some MGEs may carry promoters that ensure or increase expression of downstream ARG. Several IS including *IS1999*, *ISEcp1*, *ISKpn23* (reviewed in (Vandecraen et al., 2017)) display a complete outwardly oriented functional promoter usually referred as P_{OUT} that enhances expression of downstream ARGs. Other IS like *IS1* or *IS257* only contain the -35 element that generates a hybrid functional promoter when associated with a downstream putative -10 element (Goussard et al., 1991; Simpson et al., 2000). Most often, these IS-borne promoters allow sufficient expression of ARGs to confer the antibiotic resistance phenotype. IS from the *ISCR* family are related to the *IS91* family and display a *rcr* gene encoding a putative RCR transposase belonging to the ubiquitous HUH endonucleases superfamily (Chandler et al., 2013). HUH transposases of the *IS91* family catalyse the transposition of their cognate IS by the rolling-circle replication of the element from one boundary, named *oriIS*, to the other referred to as the *terIS* (del Pilar Garcillán-Barcia et al., 2001; Tavakoli et al., 2000; Yassine et al., 2015). However, so far, there is no experimental evidence for transposition of any of the *ISCR* elements. Four out of the fifteen members of the *ISCR* family are commonly found in γ -proteobacteria, namely *ISCR1*, *ISCR2*, *ISCR3* and *ISCR5*, and *ISCR1* predominates in strains isolated in clinical settings (Toleman et al., 2006). *ISCR1* was first identified as a conserved region disrupting the 3' conserved segment (3'CS) of class 1 integrons (Figure 1A) (Stokes et al., 1993). The region downstream of *ISCR1* (*oriIS* side) is variable and often associated with antibiotic resistance genes (Arduino et al., 2002; Rodríguez-Martínez et al., 2007; Toleman et al., 2006; Wachino et al., 2011). Previous studies identified the presence of two putative promoters located on the *oriIS* side of the *ISCR1*, namely P_{CR1-1} and P_{CR1-2}, suggesting that *ISCR1* could impact the expression of downstream genes (Figure 1B) (Mammeri et al., 2005; Rodríguez-Martínez et al., 2006). To assess the potential function of these promoters in the expression of downstream genes, we first performed an extensive *in silico* analysis of all *ISCR1* sequences publically available (GenBank®) to determine the diversity of putative downstream ARGs. Here, we show experimentally by means of a reporter gene assay that *ISCR1* directly contributes to the expression of different ARGs via these two P_{OUT} promoters.



Material and Methods

Bacterial strains and plasmids

Bacterial strains and plasmids are listed in Table S1. Bacterial strains were grown in Luria-Bertani (LB) broth at 37 °C. Media were supplemented with kanamycin (25 µg/mL) when required.

Plasmid constructions

We used the reporter plasmid pSU38Δ*totlacZ* and three derived plasmids in which *ISCR1* and/or regions adjacent to *ISCR1* were inserted in transcriptional fusion with the reporter gene *lacZ*. Fragments of *ISCR1* and/or regions adjacent to *ISCR1* were amplified from two *Salmonella enterica* subsp. *enterica* strains carrying *ISCR1* followed by either *bla*_{CTX-M-9}, or *dfrA19* genes as they belong to the most prevalent antibiotic resistance gene families found in the variable region downstream *ISCR1*. Primers (Sigma-Aldrich®) used for cloning are listed in Table S2. For each construction, amplifications were performed using the Phusion® polymerase (ThermoFisher). PCR products were loaded and visualized by means of a 0.8 % agarose gel, extracted and purified with the Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, WI, USA). PCR products were cloned into the EcoRI and BamHI unique restriction sites of pSU38Δ*totlacZ*. Transformants were selected on LB medium supplemented with kanamycin. Recombinant plasmids were verified by PCR with primers targeting the insert and by sequencing.

β-galactosidase assays

β-galactosidase assays were performed as previously described (Miller, 1993) for nine independent assays for each construct.

Minimum inhibitory concentration (MIC) determination

MICs were performed by the microdilution method in Muller-Hinton broth in three independent experiments as recommended by the French Antibiogram committee guidelines (http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFMV1_0_MARS_2017.pdf)

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the Mann-Whitney test with two paired groups.

GenBank® *ISCR1* element sequence analysis

The amino acid sequence of the RCR1 transposase encoded by *ISCR1* (Accession Number CAJ84008) was blasted with BlastP (NCBI). The matching sequences were filtered to retain RCR1 peptide sequences with an amino acid identity level (equal or) higher than 98%. Corresponding nucleotide sequences in which the *oriIS* region was partial or truncated were discarded. The remaining nucleotide sequences were sorted out in 93 groups according to the nature of the first gene adjacent to *ISCR1*: non-annotated nucleotide sequences with identified open reading frame (ORF) longer than 150 bp were included into the analysis. To define a novel gene group, we used a cut-off of 95% amino acid identity of the encoded protein, except for antimicrobial resistance genes (ARGs) for which a single amino-acid variation was used as threshold for inclusion into a group. Finally, one nucleotide sequence representing each gene group was submitted to blastN to identify previously non-annotated nucleotide sequences (only 100% identical sequences were kept). This data extraction was performed on 2017-01-19.

Quantification of *bla*_{CTX-M-9} and *dfrA19* transcripts

Total RNA was extracted with the NucleoSpin® RNA extraction Kit (Macherey-Nagel Inc.) . Contaminating DNA was removed from RNA samples by using the Turbo DNA-free kit (Ambion). cDNAs were synthesized from 1 µg of DNase-treated total RNA by using PrimeScript™ RT Reagent kit (Takara Clontech). cDNA was quantified by PerfeCta® SYBR® Green FastMix® kit (QuantaBiosciences™) with adequate oligonucleotides (Table S2). Three independent experiments were performed, each in triplicate. Relative expressions of the *bla*_{CTX-M-9} (Primers 16 and 17) and *dfrA19* (Primers 18 and 19) genes were estimated by normalizing transcript copy number to those of the housekeeping gene *rpoB* (Primer 20 and 21). The impact of *ISCR1 oriIS* has been calculated as ratio between the relative expression of each gene in presence and in absence of the *ISCR1 oriIS*.

Results and discussion

Diversity of the *ISCR1* downstream genes

In this study, 1127 distinct sequences containing the *ISCR1* element extracted from GenBank® were analysed *in silico*. The majority of these sequences was recovered from γ -proteobacteria (99.9%) while others were found to be present in uncultured bacteria (n=4) (Table S3). All *ISCR1* sequences in this study were associated with the 3' CS region of class 1 integrons (left-hand side, Figure 1). In contrast, the downstream region of *ISCR1* was identified to be very variable (right-hand side, Figure 1). Interestingly, a large percentage of the analysed *ISCR1* elements (n= 946,

84%) carried an adjacent gene oriented in the same direction as the *rcrI* encoding transposase gene (top strand). This suggests that these genes might be expressed from the *ISCR1* P_{OUT} promoters (Figure 1). The functions of these top strand genes adjacent to *ISCR1* fell into three categories (Table S4). The most represented genes (n=429) encoded truncated insertion sequence transposases, most often *ISEc28* (n=418), more rarely *ISEc29*, *ISAbal25* or *ISEcp1* (Table S4). The second most important group (n=379) was identified as known or putative ARGs encoding resistance to five families of antibiotics: trimethoprim (n=125), β -lactams (including extended-spectrum β -lactamase, ESBL, genes) (n=121), quinolones (n=113), chloramphenicol (n=12) and aminoglycosides (n=8). For each antibiotic family, different genes or alleles were identified, that may lead to different resistance phenotypes (Table S4). The last group (n=138) includes genes involved in other cellular process or genes of unknown function (Table S4).

***ISCR1* contributes to the downstream expression of ARGs via its P_{OUT} promoters**

To investigate the impact of P_{OUT} promoters on the expression of downstream genes, we focused on the two following ARGs: *bla*_{CTX-M-9} (conferring an Extended-Spectrum Beta-Lactamase resistance phenotype) (Accession Number: AM234698) and *dfrA19* (resistance to trimethoprim) (Accession Number: AF174129), which were the ARG sequences most frequently found in our *in silico* analysis. Their coding sequences are located 94 bp and 532 bp away from the *oriIS*, respectively (Figure 2); this distance is thereafter referred as to the intergenic region or IGR. We cloned each IGR in front of the promoter-less *lacZ* gene in absence or in presence of the *ISCR1 oriIS* region (that contains the P_{OUT} promoters) and compared the resulting β -galactosidase activities. When the *lacZ* coding sequence was preceded by each IGR alone, the level of β -galactosidase activity ranged from 84 MU (Miller Units) to 155 MU for *dfrA19*, and *bla*_{CTX-M-9}, respectively (Figure 3A, pULP1 and Figure 3B, pULP3). These results indicate the presence of a functional promoter in each IGR. Accordingly, a conserved σ 70 promoter sequence was identified in the IGR of *bla*_{CTX-M-9} (TTGCTT-N₁₅-TAATGA) and *dfrA19* (TTGAAG-N₁₅-TGN-AATCAT), which could account for the observed β -galactosidase expression (Figure 2). However, when both the *oriIS* and the IGR were present, the β -galactosidase activity was enhanced by 13- and 15-fold for *dfrA19* and *bla*_{CTX-M-9}, respectively (Figure 3A, pULP2 and Figure 3B, pULP4). These results indicate that the *ISCR1 oriIS* region significantly increases the expression level of downstream genes and confirm that *ISCR1* harbours a functional P_{OUT} promoter. We thus showed that both *ISCR1 oriIS* and IGR are involved in gene expression of *dfrA19* and *bla*_{CTX-M-9}. However, as we observed in our *in silico* analysis (Table S4), the sequence and length of the IGR vary from 0 to 1211 bp. Further analysis with other *ISCR1*

elements with different downstream genes are needed to elucidate to which extent the sequence of the IGR contribute to downstream gene expression.

To determine whether the positive effect of the *ISCR1 oriIS* on the expression of the downstream gene relies on the two P_{OUT} promoters, P_{CRI-1} (TAAACG-N₁₇-TAAGAT) and P_{CRI-2} (TTCGGA-N₁₈-TTTATA), we constructed derivatives of pULP2 (*oriIS-IGR_{CTX-M-9}-lacZ*) in which the putative -10 element, of either P_{CRI-1} or P_{CRI-2} or both promoters was mutated. Mutation of P_{CRI-1} (pULP5) or P_{CRI-2} (pULP6) reduced by 85% and 40% respectively the overall β -galactosidase activity compared to the pULP2 wild-type construction (Figure 2A). Concomitant mutations of both P_{CRI-1} and P_{CRI-2} dropped the expression to the basal level detected in absence of *oriIS* (Figure 3A, pULP7 versus pULP1). These results indicated that both P_{CRI-1} and P_{CRI-2} are functional and, together, are responsible for the contribution of *ISCR1* to the expression of downstream top strand genes. Consistently, several earlier reports mapped transcriptional START sites in the *oriIS* that are compatible with the P_{CRI-1} and P_{CRI-2} (Mammeri et al., 2005; Rodriguez-Martinez et al., 2006). P_{CRI-1} appears also to be stronger than P_{CRI-2} in agreement with its higher conservation degree of its -10 hexamer, with respect to the $\sigma 70$ consensus sequence (4 bases out of 6 versus 3 for P_{CRI-2}). These tandem promoters display a synergistic effect but the exact underlying mechanisms remain to be elucidated.

The *ISCR1 oriIS* is required to confer the *bla_{CTX-M-9}*-mediated resistance

To assess whether the increased level of gene expression due to the *ISCR1 oriIS* region has a phenotypic impact, we measured the level of resistance conferred by *dfrA19* and *bla_{CTX-M-9}* genes in absence or in presence of the *oriIS* region in *Escherichia coli*. For this purpose, each gene was cloned in pSU38 Δ *totlacZ* (Table S1) with its own IGR preceded or not by the *oriIS* region. Subsequently, we determined the MIC of the respective clones in presence of the corresponding antibiotic (cefotaxime or trimethoprim) (see below). The *Escherichia coli* MG1655*lac*-strain harboring the empty plasmid (pSU38 Δ *totlacZ*) was susceptible to both cefotaxime (MIC < 0.5 μ g/mL) and trimethoprim (MIC < 4 μ g/mL). When MG1655*lac*- is transformed with a pSU38 Δ *totlacZ* derivative that harbours the *bla_{CTX-M-9}* coding sequence alone (pULP13) or preceded by its own IGR (pULP12), the MIC for cefotaxime was also < 0.5 μ g/mL. The MIC for cefotaxime significantly increased in pULP11 which contains both IGR and *oriIS* region (MIC > 512 μ g/mL). These findings demonstrated that the *ISCR1 oriIS* region is required for *bla_{CTX-M-9}* to confer a cefotaxime resistant phenotype, most likely mediated by the activity of P_{CRI-1} and P_{CRI-2} . We performed quantification of transcripts and showed that the *bla_{CTX-M-9}* transcript number increased by 99-fold (98.82 ± 8.29) in presence of IGR. These results correlate with MIC findings.

In contrast, when preceded by its IGR, the level of trimethoprim resistance conferred by *dfrA19* was similar in absence or in presence of the *oriIS* region (pULP08 MIC = >2048 µg/mL, pULP09 MIC = >2048 µg/mL), while the *dfrA19* coding sequence alone did not confer any resistance (pULP10, MIC < 4 µg/mL). Susceptibility to higher concentrations of trimethoprim could not be determined since they exceed its solubility in DMSO. The *dfrA19* resistance gene confers a higher level of resistance compared to other *dfrA* alleles, such as *dfrA10* for example (MIC: 500 µg/mL) (Parsons et al., 1991). We observed a similar resistance phenotype (trimethoprim MIC = >2048 µg/mL) in absence or in presence of the *oriIS* region. These results were surprising according to β-galactosidase results obtained with or without the IGR sequence (Figure 3). Quantification of transcripts of *dfrA19* confirmed that the IGR plays a role in the expression of the gene. Indeed, we obtained a 20-fold change of transcript number (20.03 ± 4.1 , *dfrA19*) in presence of IGR. Such dissociation between the resistance phenotype and the level of gene expression has been previously described (Barraud and Ploy, 2015). Furthermore, this might also be explained by the nature of the enzyme encoded by *dfr* genes. Indeed, DFR enzymes are insensitive towards trimethoprim, so neither a high concentration of antibiotic nor the quantity of DFR enzymes will affect the level of resistance. Little is known about the *dfrA19* gene and noticeably, it seems to only occur associated with *ISCR1* element.

Conclusions

Our data highlight the functionality of the two P_{OUT} promoters carried by the *ISCR1* element. The fact that those two functional P_{OUT} promoters contribute to the expression of various downstream genes, including antibiotic resistance genes may explain why *ISCR1* is so frequent in clinical settings. Indeed, *ISCR1* gives an advantage to the bacteria for antimicrobial resistance expression and one can hypothesize that antibiotic selective pressure has promoted the selection of *ISCR1*-carrying bacteria.

Conflict of Interest Statement

The authors declare no conflict of interest.

Author contributions

MCP and TJ conceived the study; TJ coordinated the study; CL, TJ and CP performed the experiments; CL, CP, MCP and TJ analysed the data and wrote the manuscript.

Funding

C. Lallement gratefully acknowledges the Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI) and the Fond Européen pour le développement Régional (FEDER) for

her doctoral training grant. The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

Acknowledgments

The authors thank Amy Gassama for providing us with the *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Keurmassar strain. We thank Elena Buelow for critical reading of the manuscript.



References

- Aminov, R. I. (2011). Horizontal Gene Exchange in Environmental Microbiota. *Front. Microbiol.* 2. doi:10.3389/fmicb.2011.00158.
- Arduino, S. M., Roy, P. H., Jacoby, G. A., Orman, B. E., Pineiro, S. A., and Centron, D. (2002). blaCTX-M-2 Is Located in an Unusual Class 1 Integron (In35) Which Includes Orf513. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 2303–2306. doi:10.1128/AAC.46.7.2303-2306.2002.
- Barraud, O., and Ploy, M.-C. (2015). Diversity of Class 1 Integron Gene Cassette Rearrangements Selected under Antibiotic Pressure. *J. Bacteriol.* 197, 2171–2178. doi:10.1128/JB.02455-14.
- Chandler, M., de la Cruz, F., Dyda, F., Hickman, A. B., Moncalian, G., and Ton-Hoang, B. (2013). Breaking and joining single-stranded DNA: the HUH endonuclease superfamily. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 525–538. doi:10.1038/nrmicro3067.
- del Pilar Garcillán-Barcia, M., Bernales, I., Mendiola, M. V., and de la Cruz, F. (2001). Single-stranded DNA intermediates in IS91 rolling-circle transposition. *Mol. Microbiol.* 39, 494–501.
- Goussard, S., Sougakoff, W., Mabilat, C., Bauernfeind, A., and Courvalin, P. (1991). An IS1-like element is responsible for high-level synthesis of extended-spectrum β -lactamase TEM-6 in Enterobacteriaceae. *Microbiology* 137, 2681–2687.
- Jové, T., Da Re, S., Denis, F., Mazel, D., and Ploy, M.-C. (2010). Inverse correlation between promoter strength and excision activity in class 1 integrons. *PLoS Genet.* 6, e1000793. doi:10.1371/journal.pgen.1000793.
- Mammeri, H., Loo, M. V. D., Poirel, L., Martinez-Martinez, L., and Nordmann, P. (2005). Emergence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in Escherichia coli in Europe. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 71–76. doi:10.1128/AAC.49.1.71-76.2005.
- Miller, J. (1993). *A short course in bacterial genetics: a laboratory manual and handbook for Escherichia coli and related bacteria.*
- Parsons, Y., Hall, R. M., and Stokes, H. W. (1991). A new trimethoprim resistance gene, dhfrX, in the In7 integron of plasmid pDGO100. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 2436–2439.
- Partridge, S. R. (2011). Analysis of antibiotic resistance regions in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 35, 820–855. doi:10.1111/j.1574-6976.2011.00277.x.
- Rodríguez-Martínez, J. M., Velasco, C., García, I., Cano, M. E., Martínez-Martínez, L., and Pascual, A. (2007). Characterisation of integrons containing the plasmid-mediated quinolone resistance gene qnrA1 in Klebsiella pneumoniae. *Int. J. Antimicrob. Agents* 29, 705–709. doi:10.1016/j.ijantimicag.2007.02.003.
- Rodríguez-Martínez, J.-M., Poirel, L., Canton, R., and Nordmann, P. (2006). Common Region CR1 for Expression of Antibiotic Resistance Genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 2544–2546. doi:10.1128/AAC.00609-05.
- Simpson, A. E., Skurray, R. A., and Firth, N. (2000). An IS257-Derived Hybrid Promoter Directs Transcription of a tetA(K) Tetracycline Resistance Gene in the Staphylococcus aureus Chromosomal mecRegion. *J. Bacteriol.* 182, 3345–3352. doi:10.1128/JB.182.12.3345-3352.2000.
- Stokes, H. W., Tomaras, C., Parsons, Y., and Hall, R. M. (1993). The Partial 3'-Conserved Segment Duplications in the Integrons In6 from pSa and In7 from pDGO100 Have a Common Origin. *Plasmid* 30, 39–50. doi:10.1006/plas.1993.1032.
- Tavakoli, N., Comanducci, A., Dodd, H. M., Lett, M.-C., Albiger, B., and Bennett, P. (2000). IS1294, a DNA Element That Transposes by RC Transposition. *Plasmid* 44, 66–84. doi:10.1006/plas.1999.1460.



- Toleman, M. A., Bennett, P. M., and Walsh, T. R. (2006). ISCR Elements: Novel Gene-Capturing Systems of the 21st Century? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70, 296–316. doi:10.1128/MMBR.00048-05.
- Vandecraen, J., Chandler, M., Aertsen, A., and Van Houdt, R. (2017). The impact of insertion sequences on bacterial genome plasticity and adaptability. *Crit. Rev. Microbiol.*, 1–22. doi:10.1080/1040841X.2017.1303661.
- Wachino, J. -i., Yoshida, H., Yamane, K., Suzuki, S., Matsui, M., Yamagishi, T., et al. (2011). SMB-1, a Novel Subclass B3 Metallo-β-Lactamase, Associated with ISCR1 and a Class 1 Integron, from a Carbapenem-Resistant *Serratia marcescens* Clinical Isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 5143–5149. doi:10.1128/AAC.05045-11.
- Yassine, H., Bientz, L., Cros, J., Goret, J., Bebear, C., Quentin, C., et al. (2015). Experimental evidence for IS1294b-mediated transposition of the bla_{CMY-2} cephalosporinase gene in Enterobacteriaceae. *J. Antimicrob. Chemother.* 70, 697–700. doi:10.1093/jac/dku472.



Figures

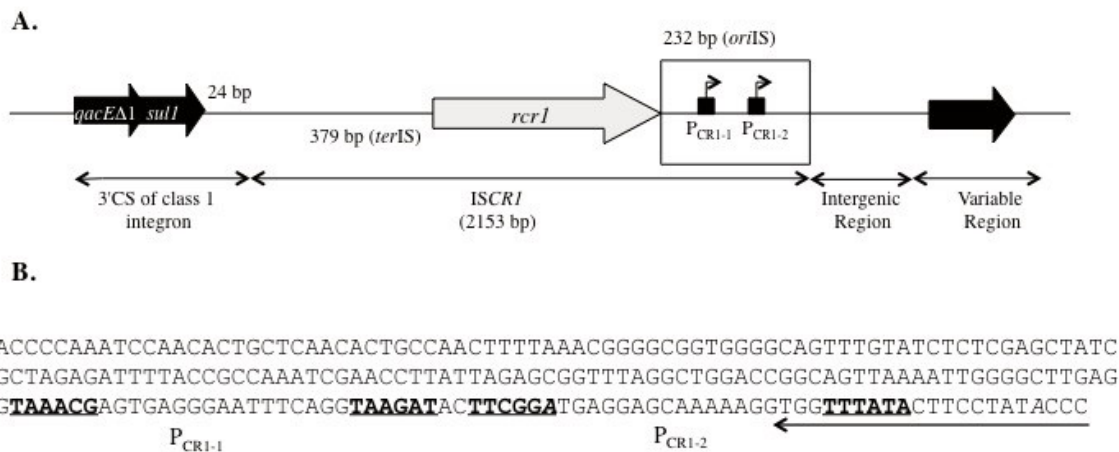


Figure 1: Structure of ISCR1.

A. Schematic representation of the ISCR1 element in its genetic context. ISCR1 is inserted 24 bp downstream of the *sulI* gene (sulfonamide resistance gene) found in the class 1 integrons 3' Conserved Segment (3'CS). ISCR1 is flanked by an *oriIS*- (232 bp) and a *terIS*-containing region (379 bp). It includes a *rcr1* transposase gene, the *Prcr1* promoter for *rcr1* and two putative outward P_{CR1-1} and P_{CR1-2} promoters. A variable region is located downstream ISCR1, separated by an intergenic region. The *oriIS*-containing region is boxed.

B. Nucleotide sequence of the 232 bp *oriIS*-containing region of ISCR1. The *oriIS* sequence that delimitates ISCR1 is highlighted. The -35 and -10 elements of the putative P_{CR1-1} and P_{CR1-2} promoters are written in bold. Their corresponding transcriptional start sites as previously mapped are indicated in italics.

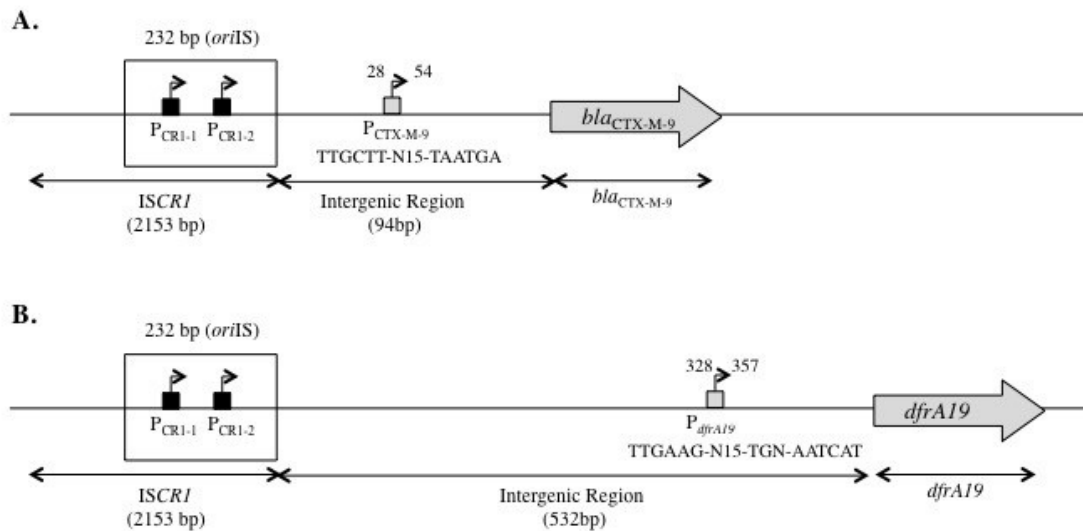


Figure 2. Structure of the genetic context of *bla*_{CTX-M-9} and *dfrA19* genes downstream of ISCR1

A. Schematic representation of the genetic context of *bla*_{CTX-M-9} as found in our *in silico* analysis, located 94bp away from ISCR1 (Accession Number: AF174129). P_{CTX-M-9} indicates a putative promoter for *bla*_{CTX-M-9} located in the intergenic region, 28bp away from ISCR1.

B. Schematic representation of the genetic context of *dfrA19* as found in our *in silico* analysis, located 532bp away from ISCR1 (Accession Number: AM234698). P_{dfrA19} indicates a putative promoter for *dfrA19* located in the intergenic region, 328bp away from ISCR1.

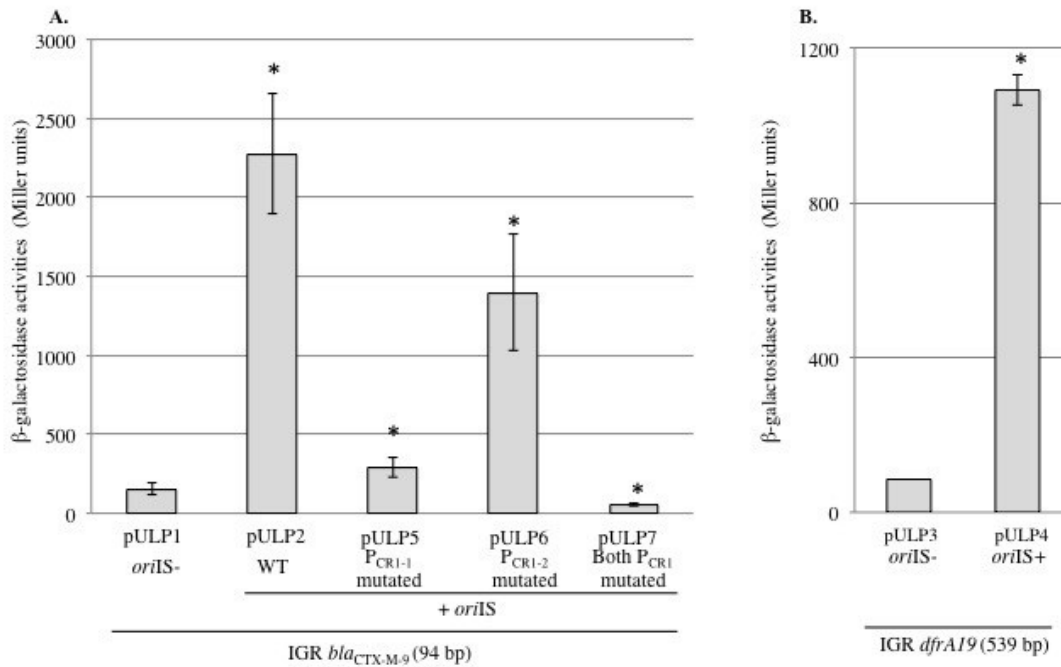


Figure 3: Activities and characterization of the ISCR1 P_{OUT} promoters

β -galactosidase activities were measured from *lacZ*-transcriptional fusions with the intergenic region (IGR) cloned either in absence (*oriIS*-) or in presence (*oriIS*+) of the 232 bp long ISCR1 *oriIS* region. The genes tested were *bla*_{CTX-M-9} (A) and *dfrA19* (B). Derivatives in which one or both P_{CR1} promoters were mutated were also tested for *bla*_{CTX-M-9} (A). Constructions are described in Table S1. The results are the average of at least three independent experiments. *: p<0.001

Supplementary material

Table S1: Strains and plasmids used in this study.

Strains/plasmids	Genotype or description	Source or reference
Bacterial Strains		
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	Clinical isolate carrying	Laboratory
<i>enterica</i> serovar Montevideo C1	ISCR1- <i>bla</i> _{CTX-M-9}	collection
<i>Salmonella enterica</i> subsp.	Clinical isolate carrying	(Garnier et
<i>enterica</i> serovar Keurmassar	ISCR1- <i>dfrA19</i>	al., 2006)
<i>Escherichia coli</i> K-12		(Espéli et al.,
MG1655 <i>lac-</i>		2001)
Plasmids		
pSU38 ^o <i>totlacZ</i>	Vector carrying <i>lacZ</i> coding sequence with no	(Jové et al.,
	promoter.	2010)
pULP1	94bp IGR <i>bla</i> _{CTX-M-9} cloned into pSU38Δ <i>totlacZ</i>	This study
	(primers 2 and 3 from isolate C1).	
pULP2	<i>oriIS</i> and 94bp IGR <i>bla</i> _{CTX-M-9} cloned into	This study
	pSU38Δ <i>totlacZ</i> (primers 1 and 3 from isolate C1).	
pULP3	532bp IGR <i>dfrA19</i> cloned into pSU38Δ <i>totlacZ</i>	This study
	(primers 4 and 5 from <i>S. Keurmassar</i>).	
pULP4	<i>oriIS</i> 532bp IGR <i>dfrA19</i> cloned into	This study
	pSU38Δ <i>totlacZ</i> (primers 1 and 5 from isolate	
	Keurmassar).	
pULP5	pULP2 mutated with primers 6 and 7	This study
pULP6	pULP2 mutated with primers 8 and 9	This study
pULP7	pULP6 mutated with primers 8 and 9	This study
pULP8	<i>oriIS</i> , 532bp IGR <i>dfrA19</i> and <i>dfrA19</i> cloned into	This study
	pSU38Δ <i>totlacZ</i> (primers 15 and 13 from isolate	
	Keurmassar).	
pULP9	532bp IGR <i>dfrA19</i> and <i>dfrA19</i> cloned into	This study
	pSU38Δ <i>totlacZ</i> (primers 14 and 13 from isolate	
	Keurmassar).	
pULP10	<i>dfrA19</i> cloned into pSU38Δ <i>totlacZ</i> (primers 12	This study
	and 13 from isolate Keurmassar)	
pULP11	<i>oriIS</i> , 94bp IGR <i>bla</i> _{CTX-M-9} and <i>bla</i> _{CTX-M-9} cloned	This study
	into pSU38Δ <i>totlacZ</i> (primers 1 and 10 from	
	isolate C1).	
pULP12	IGR <i>bla</i> _{CTX-M-9} and <i>bla</i> _{CTX-M-9} cloned into	This study

pULP13 pSU38 Δ totlacZ (primers 5 and 10 from isolate C1).
*bla*_{CTX-M-9} cloned into pSU38 Δ totlacZ (primers 11 and 10 from isolate C1) This study

Table S2: Primers used in this study.

Primer	Sequence (5'-3')
1	CCGGAATTCCGACCCCAAATCCAACACTG
2	CCGGAATTCGAGGCGCGACAGAAAAATCG
3	CGCGGATCCATCATCCGTTGCACTCTCT
4	CCGGAATTCAGTAGTGTCCCCTGTCGGTTTG
5	CGCGGATCCTCAAGTTGTGGGTGACTCATTAAACTCCAAACCAGTCG
6	GTGAGGGAATTTTCAGGCGAGGCACTTCGGATGAGGAGCAAAAAGG
7	GCTCCTCATCCGAAGTGCCTCGCCTGAAATCCCTCACTCGTTTAC
8	TGAGGAGCAAAAAGGTCGCTGCTACTTCCTATACCCGAGGCGCGAC
9	GCGCCTCGGGTATAGGAAGTAGCAGCGACCTTTTTGCTCCTCATCC
10	GCGGGATCCTTACAGCCCTTCGGCATGATT
11	CGCGAATTCATGGTGACAAAGAGAGTGCA
12	GCTAGGATCCATGAGTCACCCACAACCTG
13	TGCACTGCAGTTCTCGAGCCAATAATG
14	GATAGGATCCAGTAGTGTCCCCTGTCG
15	TTCAGGATCCGACCCCAAATCCAACACTG

Table S3: Bacterial genera in which complete *ISCR1* along with its adjacent genes were recovered (n=1127, 19/01/2017).

Bacterial genus	Number of hits
<i>Acinetobacter</i>	346
<i>Klebsiella</i>	235
<i>Enterobacter</i>	212
<i>Escherichia</i>	150
<i>Salmonella</i>	36
<i>Vibrio</i>	26
<i>Pseudomonas</i>	20
<i>Citrobacter</i>	17
Autres	17
<i>Proteus</i>	16
<i>Serratia</i>	13
<i>Providencia</i>	11
<i>Aeromonas</i>	10
<i>Shigella</i>	6
<i>Shewanella</i>	6
<i>Morganella</i>	6



Table S4: Diversity of genes located of the top strand downstream *ISCR1* (n=946). Genes are classified according to the function of the encoded protein. Results are detailed for antibiotic resistance genes (n= 379).

Function (strand)	Gene	Distance to	Number (%) of sequences
		<i>ISCR1</i> (bp)	
Insertion sequences		0-229	429 (45.3%)
Other or unknown functions		7-1211	138 (14.6%)
Resistance to antibiotics		24- 983	379 (40.1%)
<i>Resistance to trimethoprim</i>			125 (13.2%)
	<i>dfrA3b</i>	123	9
	<i>dfrA10</i>	149	14
	<i>dfrA19</i>	494-534	101
	<i>dfrA24</i>	261	1
<i>Resistance to β-lactams</i>			121 (12.8%)
	<i>bla_{CMY-9}</i>	114	5
	<i>bla_{CMY-11}</i>	182	1
	<i>bla_{CTX-M-1}</i>	94	1
	<i>bla_{CTX-M-2}</i>	266	47
	<i>bla_{CTX-M-9}</i>	94	25
	<i>bla_{CTX-M-14}</i>	94-377	2
	<i>bla_{CTX-M-131}</i>	266	1
	<i>bla_{CTX-M-165}</i>	266	2
	<i>bla_{PER-1}</i>	80-126	26
	<i>bla_{PER-4}</i>	90-123	3
	<i>bla_{PER-7}</i>	92-93	8
<i>Resistance to quinolones</i>			113 (11.9%)
	<i>qnrA1</i>	24-166	104
	<i>qnrA3</i>	24-77	5
	<i>qnrVC6</i>	30	3
<i>Resistance to chloramphenicol</i>			12 (1.3%)
	<i>catA2</i>	500-983	8
	<i>putative catA</i>	528	3
	<i>floR</i>	403	1
<i>Resistance to aminoglycosides</i>			8 (0.8%)
	<i>aphA6</i>	140-258	7
	<i>rmtB</i>	120	1

Troisième partie : Étudier les mécanismes de régulation de l'expression du gène de la transposase *rcr1*.

Nous avons, dans un premier temps, caractérisé les séquences promotrices du *Prcr1*. Nous avons déterminé les séquences -10 (5'-TACTGT) et -35 (5'-TGGACG) comme celles impliquées dans la transcription du gène de la transposase. Nous avons ensuite montré que le promoteur *Prcr1* était régulé négativement par la protéine LexA. Cependant, la levée de l'inhibition par la protéine LexA n'entraînait qu'une faible expression du gène de la transposase. Nous avons voulu déterminer s'il existait d'autres voies de régulations. Après une étude *in silico* de la région *terS* contenant la région promotrice, plusieurs régulateurs potentiels ont été évoqués pour la régulation de ce promoteur. Nous avons en premier étudié deux régulateurs globaux CRP et IHF qui ont montré un comportement sensiblement identiques vis à vis de *Prcr1*. Nous avons montré que, en conditions d'expression de *Prcr1* via la réponse SOS, CRP et IHF ont un effet répresseur sur l'expression du gène de la transposase RCR1. Ces 2 régulateurs CRP et IHF interviennent aussi dans la régulation de l'expression de la protéine OmpR, régulateur majeur de la réponse au stress osmotique. Dans un mutant $\Delta ompR$, nous avons montré que le promoteur *Prcr1* n'est plus du tout exprimé lors de conditions de dérépression constitutive par la protéine LexA. Cela signifie que la protéine OmpR participe à l'expression du gène de la transposase. Afin de déterminer par quel stimulus la protéine OmpR joue un rôle sur le *Prcr1*, nous avons testé l'activité de celui-ci dans des conditions hypo-osmotiques. Nous avons observé que le *Prcr1* est surexprimé dans ces conditions, tout comme le promoteur du gène *ompF*, membre du régulon OmpR. Cela signifie que l'expression du gène de la transposase de l'élément ISCR1 est à la fois sous la régulation négative de la protéine LexA et sous la régulation positive de la protéine OmpR dans des conditions de stress hypo-osmotiques.



I. Caractérisation du promoteur du gène de la transposase RCR1 de ISCR1

L'étude de la régulation de l'expression du gène *rcr1* codant la transposase de l'élément ISCR1 implique au préalable la localisation de son promoteur. Avant notre travail, aucune séquence promotrice du gène *rcr1* n'avait été identifiée. Des analyses des séquences ISCR1 effectuées avant mon arrivée au laboratoire avaient permis d'identifier, au sein de la région *terIS*, des séquences promotrices -10, -35 et un motif TGN (motif connu pour augmenter le recrutement de l'ARNpol)(Burr et al. 2000) comme pouvant constituer le promoteur du gène *rcr1* (**Figure 33**). Afin de vérifier le rôle de ces séquences dans l'expression du gène *rcr1*, nous avons construit des variants avec des mutations ciblées sur les positions les plus conservées par rapport au consensus $\sigma 70$ de *E. coli*:

- l'élément -10 de 5'-TACTGT→5'-**CGCTGT**
- l'élément -35 de 5'-TGGACG → 5'-**CCGCAG**
- le motif TGN de 5'-TGA → 5'**ACA**

De façon surprenante, nous n'avons pas détecté d'activité du promoteur *Prcr1* (< à 1 unité Miller) que ce soit avec le promoteur natif ou ses dérivés mutés (**Tableau 9**). Comme indiqué dans la première partie de nos résultats, nous avons analysé *in silico* qu'une séquence consensus de fixation de la protéine LexA était présente au niveau de la région promotrice du gène de la transposase *rcr1*. Nous avons donc émis l'hypothèse que l'absence d'activité du promoteur *Prcr1* était due à une répression par LexA. Nous avons donc transformé les différents plasmides *Prcr1*, *Prcr1-10mut*, *Prcr1-35mut* et *Prcr1TGN* dans la souche MG1655*lacZ*- (WT) et dans la souche délétée du gène *lexA*, MG1655 Δ *lexA**lacZ*-.



Figure 33: Séquence complète de la région *terIS* de l'élément ISCR1, contenant la région promotrice du *Prcr1*

La région *terIS* complète qui contient le promoteur du gène *rcr1* de la transposase avec élément -35 (en bleu), -10 (en rose) et le motif TGN (en gras). Sont indiqués le site de fixation du ribosome (RBS en orange) ainsi que le codon START du gène de la transposase (en violet). L'opérateur LexA a été identifié au sein des séquences promotrices du *Prcr1* (en gras et en italique).

Tableau 9: Activité β -galactosidase du promoteur *Prcr1* et de ses dérivés mutés

WT : MG1655lacZ- ; Δ lexA : MG1655 Δ lexAlacZ- ; *p*-value calculée pour 6 valeurs indépendantes.

Constructions	Activité β -galactosidase (uMiller)		
	WT	Δ lexA	<i>p</i> -value
<i>Prcr1</i>	0,51 \pm 0,16	5,1 \pm 1,64	<0,01
<i>Prcr1</i> -10mut	0,3 \pm 0,08	0,27 \pm 0,22	NS
<i>Prcr1</i> -35mut	0,58 \pm 0,02	1,03 \pm 0,06	NS
<i>Prcr1</i> TGNmut	0,35 \pm 0,1	12,13 \pm 2,85	<0,01

En l'absence de la protéine LexA, nous avons effectivement détecté une activité pour le promoteur *Prcr1* mais pas pour les mutants en -10 et en -35. Ces résultats indiquent que *Prcr1* est bien un promoteur actif et que la séquence qui avait été identifiée comme putative est bien fonctionnelle. De plus, les résultats montrent que *Prcr1* est sous la

dépendance de la réponse SOS. Cependant, même en absence de LexA, l'activité, bien qu'augmentée reste faible (5,1 unités Miller)(**Tableau 9**).

Les mutations apportées au motif TGN ne semblent pas avoir eu d'impact pour l'expression du gène *lacZ*. En effet, la construction concernée n'inactive pas l'activité du *Prcr1* (**Tableau 9**). Le motif TGN déterminé *in silico* ne semble pas avoir de réel rôle dans l'expression de la transposase de l'élément *ISCR1*. L'élément TGN, bien que connu pour augmenter le recrutement de l'ARNpol, n'est néanmoins pas essentiel pour l'amorçage de l'ARN polymérase (voir **Chapitre III. L'expression et la régulation des gènes chez les procaryotes**). L'augmentation significative de l'activité de la construction *pPrcr1TGNmut* (p -value $<0,01$) en Δ *lexA* peut être due au fait que cette construction est synthétique et nous n'avons pas d'explications à ce jour.

II. Régulation SOS du promoteur de la transposase *rcr1*

Afin de confirmer les résultats précédents suggérant que *Prcr1* est sous la dépendance de la réponse SOS, nous avons testé l'activité de *Prcr1* dans plusieurs souches en comparaison avec la souche MG1655*lacZ*- (WT) : et MG1655 Δ *lexA**lacZ*-, souche délétée du gène *lexA* engendrant une réponse constitutive de *Prcr1*, MG1655 Δ *recA**lacZ*- délétée du gène *recA* qui est un gène essentiel au déclenchement de la réponse SOS et MG1655*lacZlexAind3malF*- qui ne permet pas l'autoprotéolyse de LexA même en présence d'un inducteur de la réponse SOS. Nous avons dans chacune de ces souches réalisé les expériences avec et sans ajout de mitomycine C qui est un agent inducteur de la réponse SOS.



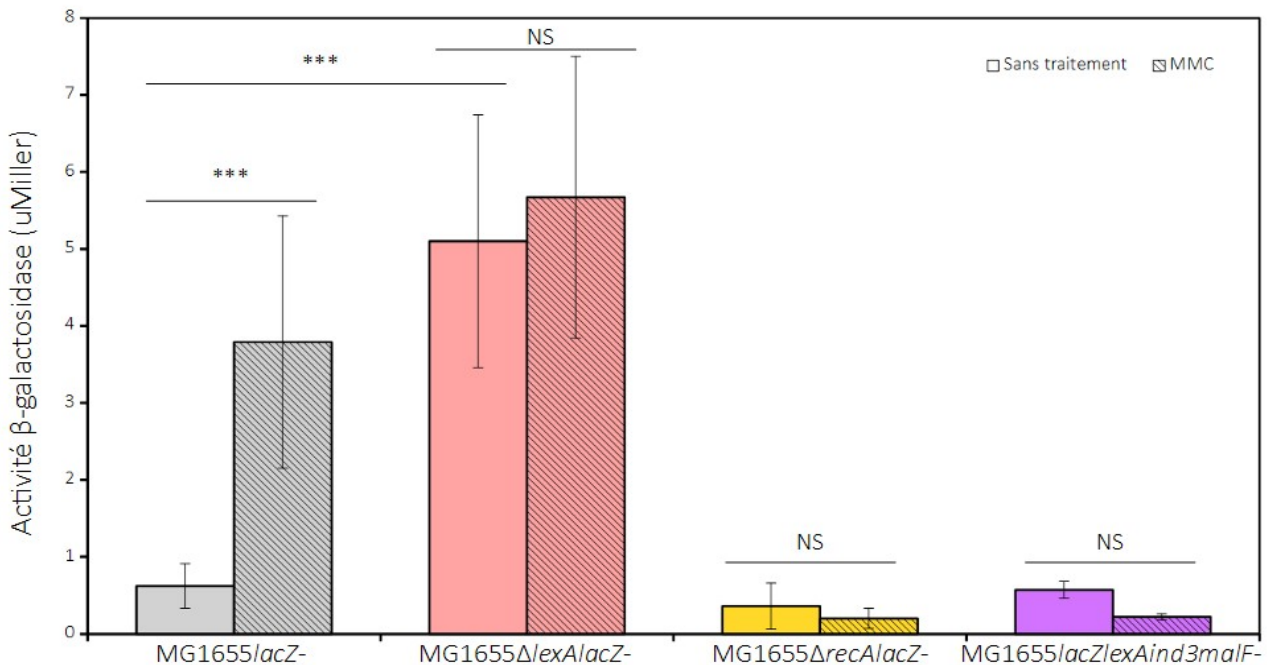


Figure 34: Activité de Pcr1

Moyenne de 6 expériences indépendantes pour le promoteur *Pcr1* du gène de la transposase de l'élément *ISCR1* en conditions non traitées (histogrammes vides) ou traités avec 1,6 μg/mL de mitomycine C (MMC)(histogrammes hachurées) dans les souches MG1655*lacZ*- (gris), MG1655Δ*lexAlacZ*- (rouge), MG1655Δ*recAlacZ*- (jaune) et MG1655*lacZlexAind3malF*- (violet). NS : non significatif ; *** : *p*-value <0,01 ; calculées avec le test de Mann-Whintey.

Les résultats confirment que *Pcr1* est bien sous la dépendance de la réponse SOS. En effet, lors du traitement à la MMC, agent générant des dommages à l'ADN, nous observons une augmentation de l'expression de *Pcr1* de 6 fois dans la souche MG1655*lacZ*- (**Figure 34**). Avec les souches MG1655Δ*recAlacZ*- et MG1655*lacZlexAind3malF*- qui ne permettent pas la levée de la répression par LexA, nous ne détectons pas d'activité β-galactosidase (<1 unité Miller)(**Figure 34**, MG1655Δ*recAlacZ*- et MG1655*lacZlexAind3malF*, *Pcr1*).

Nous avons ensuite muté le site putatif de fixation pour la protéine LexA. Les mutations ont été ciblées sur les positions critiques du palindrome de l'opérateur LexA (*pPcr1lexA**). Ainsi, la protéine LexA ne peut plus se fixer et le promoteur n'est plus réprimé. Nous avons testé l'activité de ce promoteur dans la souche MG1655*lacZ*- (WT) et dans la souche MG1655Δ*lexAlacZ*-.

Tableau 10: Impact des mutations du site de fixation de LexA sur l'activité de *Prcr1*

WT : MG1655*lacZ*- ; Δ *lexA* : MG1655 Δ *lexA**lacZ*- ; *p*-value calculée pour 6 valeurs indépendantes ; NS : non significatif

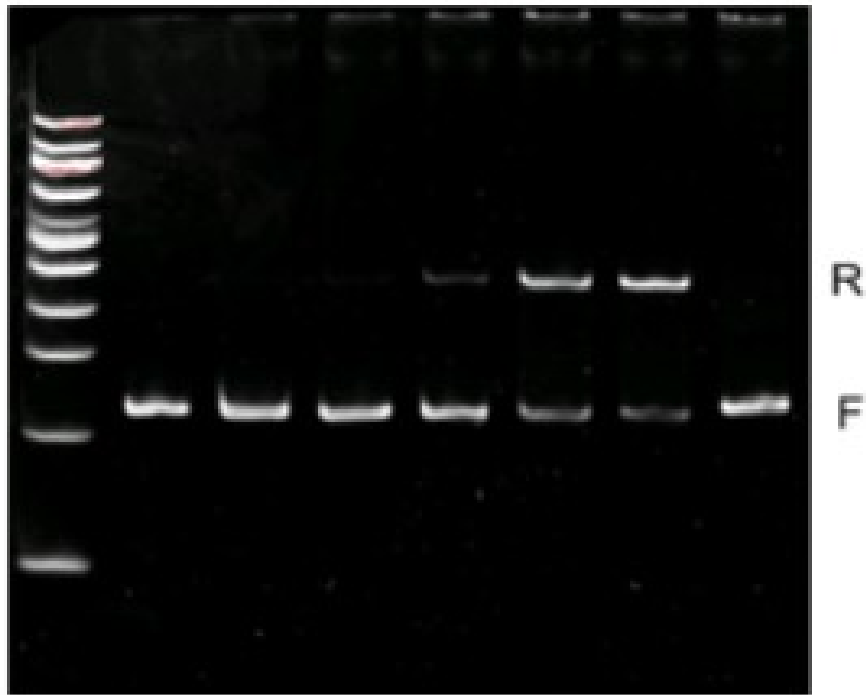
	Activité β -galactosidase (uMiller)		
	WT	Δ <i>lexA</i>	<i>p</i> -value
<i>Prcr1</i>	0,51 \pm 0,16	5,1 \pm 1,64	<0,01
<i>Prcr1lexA*</i>	5,97 \pm 0,25	4,37 \pm 0,25	NS
<i>p</i> -value	<0,01	NS	

Nous observons que lorsque le site de fixation de LexA est muté (*Prcr1lexA**), il y a augmentation de l'activité du promoteur *Prcr1*, avec un facteur identique (5 fois) à ce qui est obtenu pour la différence d'expression de *Prcr1* entre les souches WT et Δ *lexA* (**Tableau 10**). Ceci confirme donc que le promoteur *Prcr1* est réprimé par LexA et qu'il peut être induit (mais à un niveau faible) en présence d'un inducteur de la réponse SOS.

Afin de confirmer le rôle de la protéine LexA dans l'activité du promoteur *Prcr1*, nous avons réalisé des expériences de retard sur gel entre la protéine LexA et la séquence promotrice du gène de la transposase.

Nous pouvons remarquer sur la **figure 35** que la protéine LexA se fixe au promoteur du gène de la transposase à partir d'une concentration de 150 μ g/ μ L (**Figure 35**, puits 5). Cela signifie que la protéine LexA se fixe bien sur le promoteur *Prcr1*. De façon intéressante, la protéine LexA n'est plus capable de se fixer au promoteur lorsque le site de fixation de LexA est muté au sein du palindrome (**Figure 35**, P_{ISCR1*}). Les résultats obtenus confirment ceux obtenus précédemment en essais β -galactosidase qui suggéraient le rôle de la réponse SOS dans l'expression du gène *rcr1*. Nous avons donc prouvé avec cette expérience de retard sur gel que la protéine LexA réprime le promoteur *Prcr1* en se fixant à l'opérateur LexA au sein de la séquence promotrice.





<u>LexA</u>	0	37,5	75	150	300	600	600	ng
<i>Prcr1</i>	+	+	+	+	+	+		80 ng
<i>Prcr1lexA*</i>							+	80 ng

Figure 35: La protéine LexA se fixe au promoteur *Prcr1*

Des quantités variables de la protéine LexA (0 à 600 ng) sont mises en présence d'un fragment d'ADN contenant la région promotrice du gène de la transposase de l'élément ISCR1 (80 ng) natif (*Prcr1*) ou muté au sein de l'opérateur LexA (*Prcr1lexA**).

III. Rôle des autres régulateurs transcriptionnels dans l'activité de *Prcr1*

III.A. Étude *in silico*

Dans les résultats précédents, nous avons vu que même dans la souche MG1655Δ*lexA*lacZ-, lorsque LexA ne réprime plus le promoteur de *rcr1*, le niveau d'expression de *Prcr1* reste très faible (environ 5 uMiller). Nous avons donc voulu étudié si le gène *rcr1* était régulé par d'autres voies. Pour avoir une première idée de quel(s) régulateur(s) pourrai(en)t être impliqué(s) dans la régulation de *Prcr1*, la région complète *terIS* (370 pb) comprenant *Prcr1* a été analysée à l'aide d'une banque de

données de sites de fixation expérimentaux pour des facteurs de transcription: Prodoric 8.1 (<http://www.prodoric.de/vfp/index2.php>)(Grote et al. 2009; Münch et al. 2005). Tous les régulateurs connus chez *Escherichia coli* ont été sélectionnés pour cette analyse. Les critères appliqués à cette analyse étaient une sensibilité de 90 %, un score compris entre la moyenne des scores expérimentaux \pm l'écart-type et la position du site en fonction du rôle du régulateur (activateur et/ou répresseur). Les résultats obtenus sont colligés dans le **tableau 11**.



Tableau 11: Régulateurs déterminés lors de l'étude *in silico* et leurs fonctions

Régulateur	Activateur / Répresseur	Nature des voies de régulation	Nombre de sites trouvés dans la région <i>terS</i> (sur les deux brins)
ArcA	Les deux	Régulateur global. Inhibition en conditions anaérobies	9
CRP	Les deux	Régulateur global. Impliqué dans le métabolisme des sources en carbone secondaire	5
CspA	Les deux	Réponse au stress froid	2
DnaA	Les deux	Initiation de la réplication du chromosome	4
FadR	Les deux	Dégradation des acides gras	3
FlhDC	Les deux	Mobilité « swarming » et synthèse du flagelle	1
FNR	Les deux	Régulateur global. Transition de la respiration aérobie vers anaérobie	1
Fur	Les deux	Homéostasie du fer .	>20
GlnG/ NtrC	Les deux	Assimilation de l'azote.	8
GlpR	Répresseur	Métabolisme du glycérol	2
H-NS	Les deux	Régulateur global. Organisation structurale générale du chromosome.	3
IHF	Les deux	Régulateur global. Maintien de la structure de l'ADN. Impliqué dans les processus de réplication des plasmides, dans la transposition et la recombinaison homologue.	5
IciA / ArgP	Les deux	Transport de l'arginine et réplication de l'ADN	12
MalT	Activateur	Transport et catabolisme du maltose.	1
MetJ	Répresseur	Transport et métabolisme de la méthionine.	4
MetR	Les deux	Biosynthèse de la méthionine et protection contre le stress nitrique.	1
Mlc	Répresseur	Régulation des systèmes phosphotransférase (PTS) et phosphoénolpyruvate (PEP).	3
NarL	Les deux	Régulateur global. Réponse à la disponibilité en nitrates et en nitrites. Transport d'électrons en anaérobiose et voies de fermentations.	>20
OmpR	Les deux	Réponse au stress osmotique.	2
OxyR	Les deux	Réponse au stress oxydatif.	18
PdhR	Les deux	Complexe de la pyruvate deshydrogénase.	2
RcsAB	Les deux	Synthèse de l'acide colanique (capsule) , division cellulaire, synthèse des protéines périplasmique.	1



Les régulateurs Fis et Lrp ont été exclus de cette analyse car ils n'ont pas de sites consensus décrits dans la base de données. Du fait de cette absence de vrai consensus, toute séquence est un site potentiel de fixation de la protéine.

Cette analyse a mis en évidence de nombreux sites de régulations pour l'expression de *rcr1*. Certains sites concernent des régulateurs globaux, impliqués dans de nombreuses voies de régulations, tels que CRP, H-NS, etc. Certains sont impliqués dans la réponse aux stress alors que d'autres concernent la régulation et/ou le transport de molécules nécessaires à la croissance bactérienne. L'observation que l'on peut tirer de cette analyse *in silico* est que tout type de régulateur peut se fixer au promoteur *Prccr1*. L'expression de la transposase pourrait donc être induite en réponse à de nombreuses modifications, que ce soit au niveau du métabolisme, de la structure de l'ADN ou des stress environnementaux.

III.B. Impact des régulateurs globaux

Nous avons décidé d'étudier en premier lieu, deux régulateurs globaux, les protéines CRP et IHF. Lors de l'analyse *in silico*, nous avons déterminé plusieurs sites de fixation pour ces deux protéines (5 pour IHF et 6 pour CRP)(**Figure 36**) Nous avons tout d'abord déterminé l'impact de la délétion des gènes codant pour ces deux régulateurs sur l'activité de *Prccr1* en conditions natives (p*Prccr1*) ou en conditions de dérèpression LexA (p*Prccr1lexA**). Enfin, nous avons déterminé l'impact de la position des opérateurs IHF et CRP sur l'activité du promoteur de *Prccr1* en utilisant une séquence du *terIS* ne contenant pas les sites potentiels de fixation pour les protéines IHF et CRP (p*Prccr1s*).

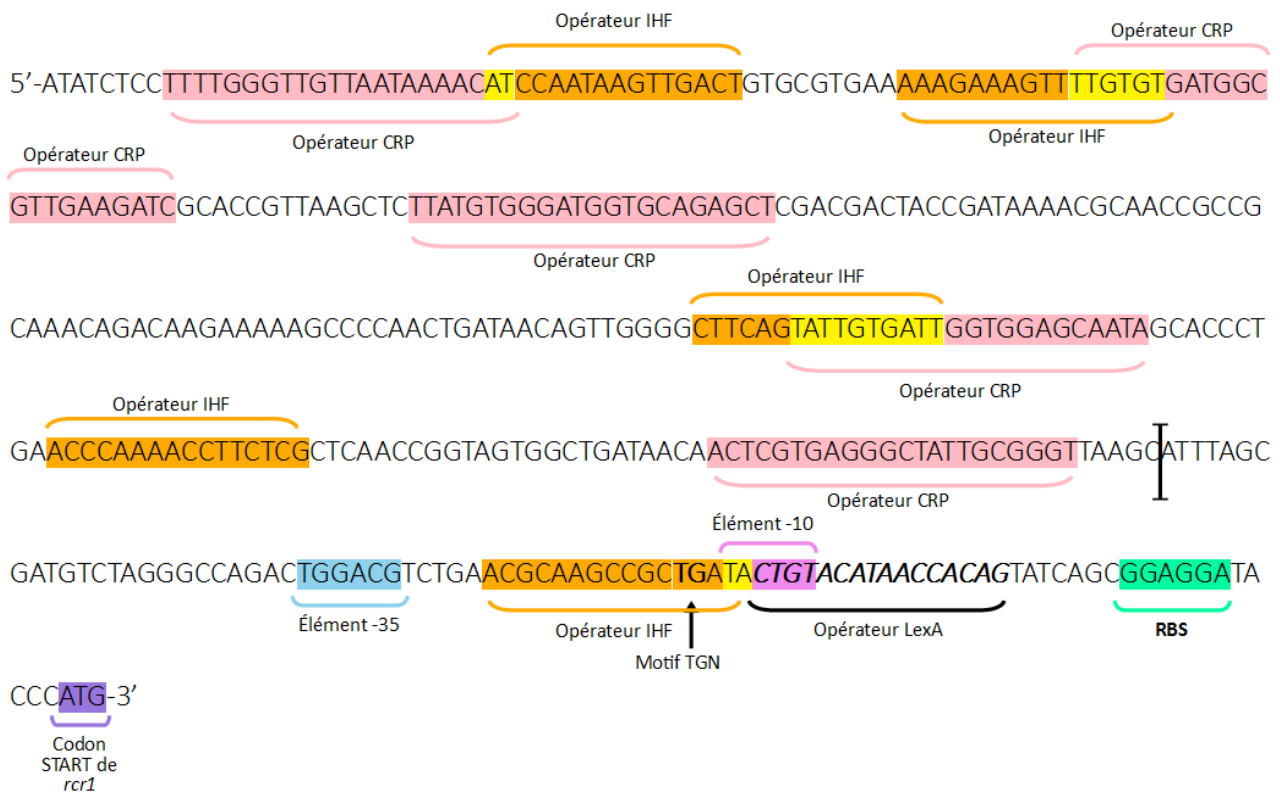


Figure 36: Séquence complète de la région *terIS* de l'élément *ISCR1*, contenant la région promotrice du *Prcr1* avec les opérateurs potentiels CRP et IHF

La région *terIS* complète qui contient le promoteur du gène *rcr1* de la transposase avec élément -35 (en bleu), -10 (en rose) et le motif TGN (en gras). Le site de fixation du ribosome (RBS en vert) ainsi que le codon START du gène de la transposase (en violet) sont indiqués. L'opérateur LexA est représenté en gras et en italique. Les sites putatifs de fixations pour la protéine CRP (en rose, n=6) et pour la protéine IHF (en orange, n=5) ont été identifiés grâce à l'analyse *in silico*. Ces sites peuvent se chevaucher, comme matérialisé en jaune. Le promoteur court (*Prcr1s*) est identifié de l'ATG jusqu'à la ligne épaisse noire alors que le promoteur complet (*Prcr1*) correspond à la région complète.



III.B.1. Influence du régulateur global IHF

Nous avons déterminé *in silico* 6 sites potentiels de fixation du régulateur IHF dans la région *terIS* (Figure 35). La protéine IHF est impliquée dans le maintien global de la structure de l'ADN bactérien. Cette protéine est un hétérodimère de deux sous-unités α et β codées respectivement par les gènes *ihfA* et *ihfB* (Haluzi et al. 1991). Des homodimères peuvent se former (α^2 et β^2) et chez *Salmonella*, des études du transcriptome ont montré que les trois formes ($\alpha\beta$, α^2 et β^2) contrôlent des gènes différents (Mangan et al. 2006). La forme hétérodimère avec une sous-unité α et une



sous-unité β de la protéine IHF possède un site de fixation de 16 pb riche en AT (**Figure 37**). La protéine IHF est surtout décrite pour sa capacité à courber l'ADN. En effet, celle-ci est capable « d'enlacer » l'ADN afin de courber la double hélice jusqu'à environ 160° (Rice 1997). Au delà de cette activité principale, la protéine IHF favorise le processus de transposition des IS (Signon et Kleckner 1995) et est aussi impliquée dans la résistance au stress acide (Bi et Zhang 2014). Selon la base de données RegulonDB (<http://regulondb.ccg.unam.mx/>), la protéine IHF régulerait 225 gènes chez *E. coli* K-12.

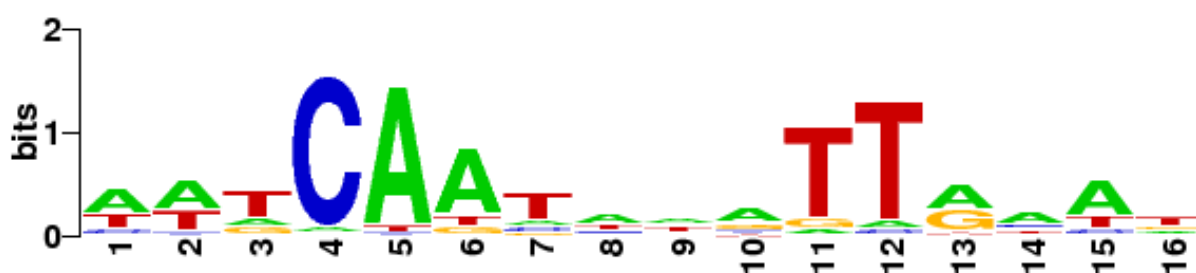


Figure 37: Séquence consensus du site de fixation à la protéine IHF, régulateur global.

Obtenu par alignement de nucléotides de toutes les séquences connues expérimentalement déterminées pour la fixation de la protéine IHF grâce au logiciel WebLogo (Crooks et al. 2004). En ordonnée, les bits correspondants à la conservation de la base à une position donnée et en abscisses, la position des différentes bases dans le motif pour le site concerné. C : Cytosine, T : Thymine, G : Guanine, A : Adénine. Adapté de Prodoric 8.1 (<http://www.prodoric.de/vfp/>).

Afin d'étudier l'impact de ce régulateur sur l'expression du gène de la transposase *rcr1*, nous avons utilisé le mutant MG1655 $\Delta ihfA::KmFRTlacZ^-$ ($\Delta ihfA::KmFRT$) déjà construit au laboratoire, nous avons tenté d'exciser la cassette KmFRT. Cependant, nous avons rencontré des difficultés à transformer le plasmide pCP20, qui contient l'enzyme permettant l'excision. Il semblerait que l'absence de la protéine IHF pose problème pour la transformation avec ce type de plasmides dont l'origine de répllication est thermosensible. En effet, il a été décrit que les mutants $\Delta ihfA$ sont sensibles à la différence de température (Bykowski et Sirko 1998). Nous avons donc conservé la cassette KmFRT.

Comme nous voulions aussi visualiser l'effet de l'absence de la protéine IHF dans des conditions de dérépression SOS (en absence de la protéine LexA), nous avons en parallèle construit un double mutant MG1655 Δ lexA Δ ihfA::KmFRTlacZ- (Δ lexA Δ ihfA::KmFRT). Le promoteur *Prcr1* a été testé dans ces conditions.

Tableau 12: Impact de la délétion du gène *ihfA* sur l'activité du promoteur *Prcr1*

WT : MG1655lacZ- ; Δ lexA : MG1655 Δ lexAlacZ- ; Δ ihfA::KmFRT : MG1655 Δ ihfA::KmFRTlacZ- et Δ lexA Δ ihfA::KmFRT : MG1655 Δ lexA Δ ihfA::KmFRTlacZ-. *p*-value calculée pour au moins 6 valeurs indépendantes. NS : non significatif

Activité β -galactosidase (uMiller)				
	WT	Δ ihfA::KmFRT	Δ lexA	Δ lexA Δ ihfA::KmFRT
<i>Prcr1</i>	0,49 \pm 0,14	0,58 \pm 0,49	4,32 \pm 0,57	4,05 \pm 1,26
<i>p</i> -value		NS		NS

Dans la souche Δ ihfA::KmFRT, l'activité de *Prcr1* reste indétectable (< à 1 unité Miller) comme dans la souche WT (**Tableau 12**). La délétion de IHF ne semble donc avoir aucun effet sur l'activité de *Prcr1*. Dans le double mutant, l'activité de *Prcr1* est la même que dans la souche Δ lexA (**Tableau 12**). Cela signifie que même dans des conditions de dérépression SOS, l'absence de la protéine IHF n'a pas d'impact sur l'activité du promoteur *Prcr1*. Afin de vérifier les résultats obtenus dans le double mutant, nous avons testé l'induction de la réponse SOS par l'ajout de mitomycine C (MMC) et aussi, l'absence de fixation de la protéine LexA, avec la construction p*Prcr1*lexA* dans laquelle le site de fixation de LexA est muté. Enfin, nous avons testé la construction p*Prcr1*s contenant une séquence de 80 pb dans laquelle aucun site de fixation de IHF n'est présent (**Figure 36**). Les résultats des activités β -galactosidase obtenues avec les différentes constructions sont résumés dans le **tableau 13**.

Tableau 13: Impact de la délétion du gène *ihfA* sur le promoteur *Prcr1* et ses dérivés

WT : MG1655 *lacZ*- ; $\Delta ihfA::KmFRT$: MG1655 $\Delta ihfA::KmFRT lacZ$ - ; MMC - : Sans traitement ; MMC + : Traitement à la MMC.

	Activité β -galactosidase (uMiller)			
	WT		$\Delta ihfA::KmFRT$	
	MMC -	MMC +	MMC -	MMC +
<i>Prcr1</i>	0,49 \pm 0,14	3,58 \pm 1,41	0,58 \pm 0,49	2,34 \pm 0,86
<i>Prcr1lexA*</i>	10,42 \pm 1,91	10,99 \pm 1,65	21,87 \pm 2,29	22,59 \pm 2,73
<i>Prcr1s</i>	0,49 \pm 0,37	1,58 \pm 0,51	0,51 \pm 0,35	1,93 \pm 0,21

La **figure 38** représente les ratios des activités β -galactosidase entre la souche $\Delta ihfA::KmFRT$ et la souche sauvage (WT). Lorsque l'activité était $<$ à 1 unité Miller dans les deux conditions, le ratio a été fixé à 1 (**Figure 38**).

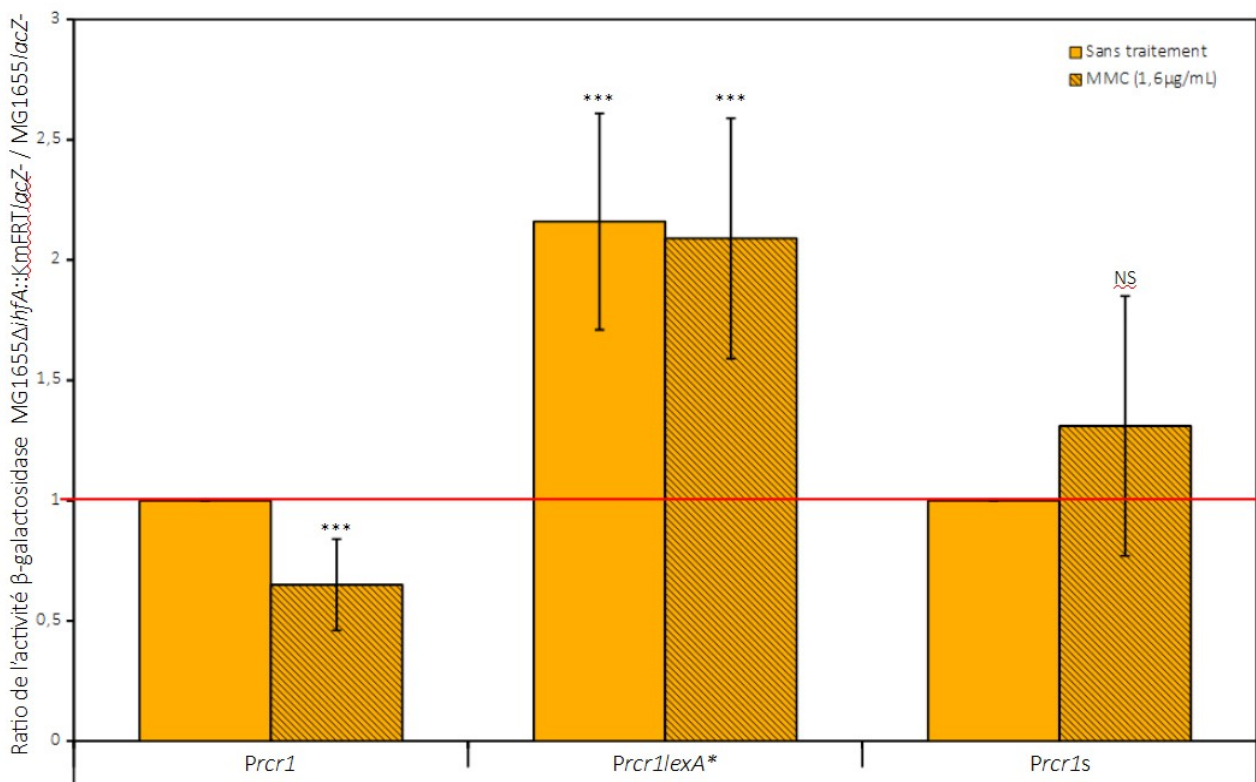


Figure 38: Influence de la protéine régulatrice IHF sur l'activité du promoteur *Pcr1*.

Chaque histogramme présente, pour chaque condition, le rapport entre l'activité mesurée dans la souche MG1655 Δ *ihfA*::KmFRT*lacZ*- (Δ *ihfA*::KmFRT) et la souche sauvage MG1655*lacZ*- (WT). Les ratios ont été moyennés sur 6 expériences indépendantes pour les conditions sans traitement (histogrammes pleins) et avec traitement à la MMC (histogrammes hachurés) pour le promoteur *Pcr1* et ses dérivés (*Pcr1lexA** et *Pcr1s*). La barre horizontale rouge indique un ratio de 1. L'activité des promoteurs *Pcr1* et *Pcr1s* n'étant détecté ni en souche sauvage, ni en Δ *ihfA*::KmFRT*lacZ*-, le rapport a été fixé à 1. NS : non significatif ; *** : p -value <0,01 ; calculées avec le test de Mann-Whintey.

En présence de mitomycine C qui induit la réponse SOS, nous observons une induction de l'expression à partir de *Pcr1* quelque soit le fond génétique de la souche WT ou Δ *ihfA*::KmFRT. Cela signifie donc que la réponse SOS est toujours capable d'être induite en conditions Δ *ihfA*::KmFRT. Cependant, en absence de la protéine IHF (Δ *ihfA*::KmFRT), l'activité du promoteur *Pcr1* est plus faible que chez la souche WT (p -value < 0,01, **Figure 38**). Néanmoins, les activités restent très faibles, entre 2 et 3 unités Miller (**Tableau 13**) et la différence d'activités est donc difficile à interpréter. Afin de voir s'il y a un lien entre une souche délétée de IHF et la réponse SOS, nous avons utilisé un autre gène du régulon SOS, le gène *sfiA* et étudié son promoteur dans les mêmes conditions

que *Prcr1* (p*PsfiA*). Nous n'avons pas observé de différence lors de l'induction à la MMC (1404,04 ± 45 uMiller en WT versus 1496,15 ± 571,04 en $\Delta ihfA::KmFRT$). Ces résultats montrent que l'absence de la protéine IHF ne semble pas influencer la réponse SOS. En revanche, lorsque la protéine LexA ne peut pas se fixer sur le promoteur *Prcr1* (p*Prcr1lexA**), l'activité de *Prcr1* est 2 fois plus élevée chez $\Delta ihfA::KmFRT$ que en conditions WT (**Tableau 13, Figure 38**). Cela suggère que la protéine IHF jouerait un rôle de répresseur sur le promoteur *Prcr1* qui est révélée dans des conditions de dérégulation SOS. De façon intéressante, nous n'avons pas observé ceci lors d'une double délétion $\Delta lexA\Delta ihfA::KmFRT$ (**Tableau 12**). L'absence d'induction du promoteur *Prcr1* dans ce double mutant pourrait être dû à l'effet pléiotropique de la délétion du gène *lexA* dans la cellule. Cependant, nous n'avons pas non plus observé cet effet lors de la levée de la répression par la MMC dans la souche $\Delta ihfA::KmFRT$ (**Tableau 13, Figure 38**). De plus, le niveau d'induction de la réponse SOS étant faible, il y a encore probablement des dimères de LexA fixés sur *Prcr1* alors que dans la construction p*Prcr1lexA**, aucune protéine LexA ne peut se fixer sur le site. Lorsque le promoteur ne possède pas la région qui contient les sites potentiels de fixation de IHF (**Figure 36**), l'effet de la délétion du gène *ihfA* sur l'activité *Prcr1* disparaît (**Tableau 13, Figure 38, Prcr1s**). Cela signifie que la région en amont des promoteurs est impliquée dans une régulation IHF dépendante et que la protéine IHF agirait potentiellement sur cette région de façon directe en se fixant sur les sites potentiels déterminés *in silico*. Néanmoins, au vu de son caractère pléiotropique, il n'est pas impossible que son effet sur *Prcr1* se fasse aussi de façon indirecte via un autre régulateur. Nous avons donc testé un autre régulateur global avec lequel IHF peut avoir des interactions, le régulateur CRP.

III.B.2. Influence de la protéine CRP

CRP L'étude *in silico* des régulateurs potentiels a permis de déterminer la présence de 6 sites potentiels pour la fixation de la protéine régulatrice CRP (**Figure 36**). Ce régulateur CRP est un facteur de transcription global impliqué dans les voies d'acquisition et de métabolisme des sources de carbone secondaires (lactose, arabinose etc.). CRP est connue pour réguler de nombreuses fonctions chez *E. coli* (Voir **Introduction, Chapitre III. Les régulateurs globaux**). La protéine CRP est notamment sensible à la concentration en AdénosineMonoPhosphate cyclique (AMPc). En absence de glucose, l'adénylate cyclase génère de l'AMPc qui sera ensuite complexé à la protéine CRP. Sous cette conformation, la protéine CRP peut réguler de nombreux gènes et notamment l'opéron *lac*: c'est la répression catabolique. Au-delà de son implication dans ce mécanisme, ce régulateur régule ou co-régule plus de 400 gènes chez *E. coli* K-12. Cette protéine CRP possède un site de fixation long de 22 pb et partiellement palindromique (**Figure 39**).

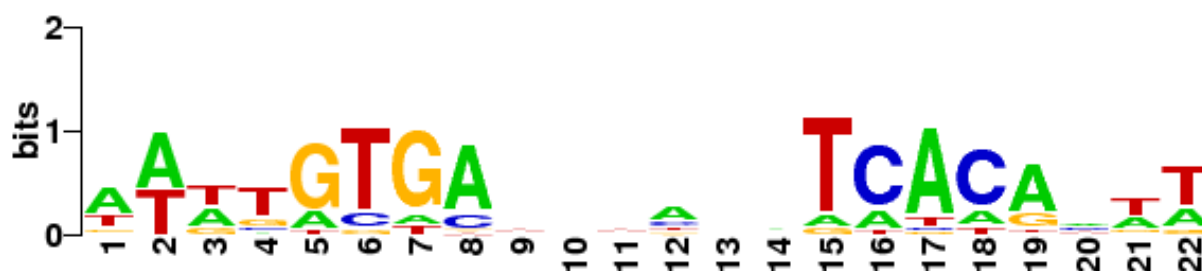


Figure 39: Séquence consensus du site de fixation à la protéine CRP, régulateur global.

Obtenu par alignement de nucléotides de toutes les séquences connues expérimentalement déterminées pour la fixation de la protéine CRP grâce au logiciel WebLogo (Crooks et al. 2004). En ordonnée, les bits correspondants à la conservation de la base à une position donnée et en abscisses, la position des différentes bases dans le motif pour le site concerné. C : Cytosine, T : Thymin, G : Guanine, A : Adénine. Adaptée de ProDoric 8.1 (<http://www.prodoric.de/vfp/>)

Afin de visualiser son implication dans la régulation de l'expression du gène de transposase *rcr1*, nous avons délété le gène codant pour la protéine CRP en procédant de la même façon que pour le mutant $\Delta ihfA$ mais nous avons cette fois-ci réussi à exciser

la cassette KmFRT. Nous avons testé les mêmes constructions dérivées de *pPrcl1* que pour IHF. En revanche, nous n'avons pas réussi à obtenir le double mutant MG1655 Δ *lexA* Δ *crplacZ*.

Tableau 14: Impact de la délétion du gène *crp* sur l'activité du promoteur *Prcl1* et ses dérivés

WT : MG1655*lacZ* ; Δ *crp* : MG1655 Δ *crplacZ* ; MMC - : Sans traitement ; MMC + : Traitement à la MMC.

	Activité β -galactosidase (uMiller)			
	WT		Δ <i>crp</i>	
	MMC -	MMC +	MMC -	MMC +
<i>Prcl1</i>	0,49 \pm 0,14	3,58 \pm 1,41	0,12 \pm 0,10	6,56 \pm 0,74
<i>Prcl1lexA*</i>	10,42 \pm 1,91	10,99 \pm 1,65	40,96 \pm 7,72	45,77 \pm 14,13
<i>Prcl1s</i>	0,49 \pm 0,37	1,58 \pm 0,51	0,32 \pm 0,26	0,85 \pm 0,39

La **figure 40** représente les ratios des activités entre la souche Δ *crp* et la souche sauvage (WT). Lorsque l'activité était $<$ à 1 unité Miller dans les deux conditions, le ratio a été fixé à 1 (**Figure 40**).

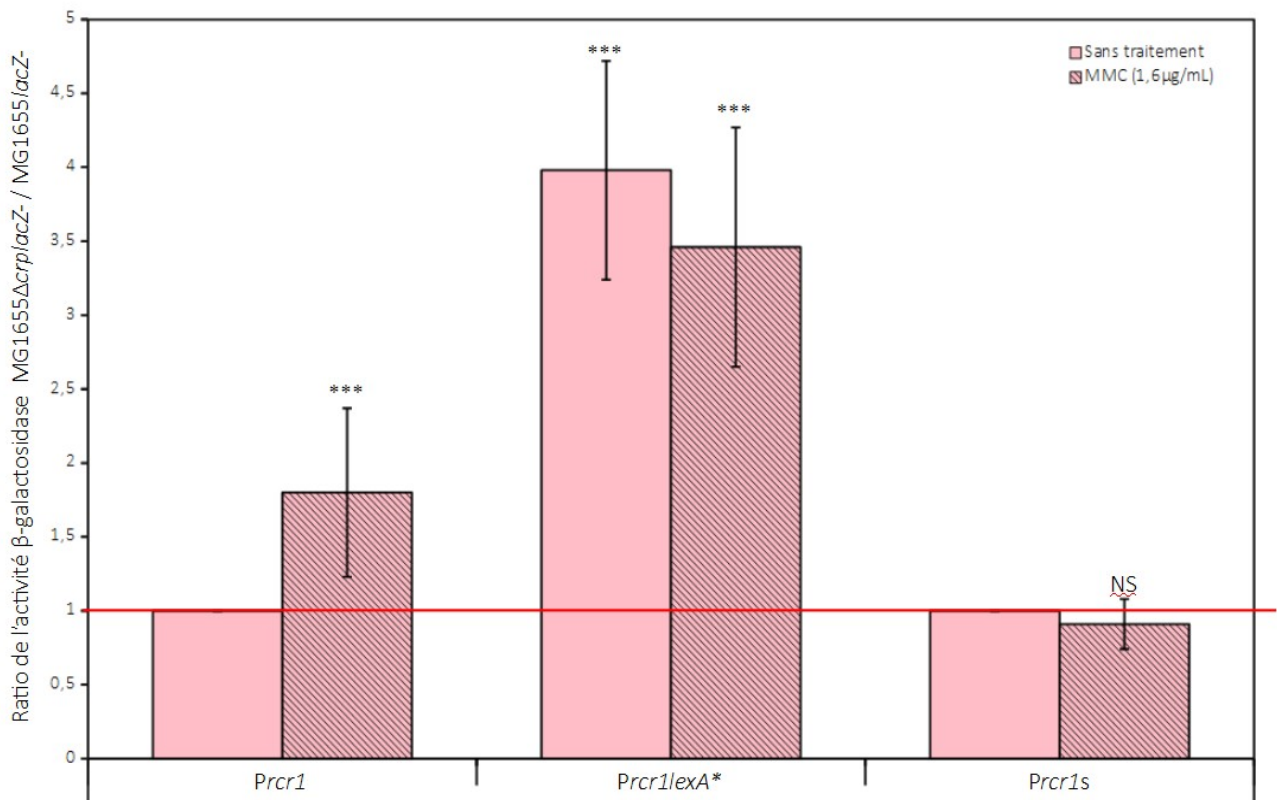


Figure 40: Impact de la protéine Crp sur l'activité du promoteur *Pcr1*

Chaque histogramme présente, pour chaque condition, le rapport entre l'activité mesurée dans la souche MG1655Δ*crp**lacZ*- et la souche sauvage MG1655*lacZ*-. Les ratios ont été moyennés sur 6 expériences indépendantes pour les conditions sans traitement (histogrammes pleins) et avec traitement à la MMC (histogrammes hachurés) pour le promoteur *Pcr1* et ses dérivés (*Pcr1lexA** et *Pcr1s*). La barre horizontale rouge indique un ratio de 1. L'activité des promoteurs *Pcr1* et *Pcr1s* n'étant détecté ni en souche sauvage, ni en Δ*crp*, le rapport a été fixé à 1. NS : non significatif ; *** : *p*-value <0,01 calculées avec le test de Mann-Whitney.

Comme pour IHF, nous observons que la réponse SOS est toujours capable d'être induite en conditions Δ*crp* (Tableau 14, Figure 40). Cependant, a contrario de ce que nous avons observé avec IHF, l'induction à la MMC a un effet significativement supérieur chez Δ*crp* par rapport à la souche WT (Tableau 14, Figure 40). Nos résultats suggèrent donc que la protéine CRP influencerait négativement le *Pcr1*, révélé en conditions de levée de la réponse SOS (Tableau 14, Figure 40). Cela signifie que la protéine CRP agirait aussi sur cette région de façon directe en se fixant sur les sites potentiels déterminés *in silico* comme le montrent les résultats obtenus avec *pPcr1s* pour lequel plus aucune activité n'est détectée, avec ou sans MMC. Nous ne pouvons pas exclure aussi une régulation

indirecte liée à un autre régulateur possédant des sites potentiels dans cette région. Comme la protéine CRP est un régulateur global, il est possible qu'elle régule aussi indirectement le promoteur de *ISCR1* via un régulateur plus spécialisé que CRP régulerait, et ce, potentiellement de concert avec la protéine IHF.

III.C. Bilan des régulations

Tableau 15: Récapitulatif des résultats obtenus au cours de cette étude.

WT : souche sauvage, ST: sans traitement, MMC: traitement à la mitomycine C ; ND : Non déterminé

Activité β -galactosidase	WT		$\Delta lexA$		$\Delta ihfA::KmFRT$		Δcrp	
	ST	MMC	ST	MMC	ST	MMC	ST	MMC
<i>Prcr1</i>	0,51 $\pm 0,16$	3,58 $\pm 1,41$	5,10 $\pm 1,64$	5,67 $\pm 1,83$	0,58 $\pm 0,49$	2,34 $\pm 0,86$	0,12 $\pm 0,10$	6,56 $\pm 0,74$
<i>Prcr1lexA*</i>	10,42 $\pm 1,91$	10,99 $\pm 1,65$	4,37 $\pm 0,25$	ND	21,87 $\pm 2,29$	22,50 $\pm 2,73$	40,95 $\pm 7,72$	45,77 $\pm 14,13$
<i>Prcr1s</i>	0,49 $\pm 0,37$	1,58 $\pm 0,51$	ND	ND	0,51 $\pm 0,35$	1,93 $\pm 0,21$	0,32 $\pm 0,26$	0,85 $\pm 0,39$

Au vu des résultats précédents, il semblerait que les trois régulateurs LexA, CRP et IHF jouent un rôle dans la régulation de l'expression du gène *rcr1* (**Tableau 15**). Ces trois gènes sont impliqués dans des réseaux de régulation mais peuvent, comme c'est le cas pour IHF et CRP, co-réguler les mêmes gènes ou opérons. Afin d'identifier quels gènes ces régulateurs ont en commun, un diagramme de Venn a été établi à l'aide du logiciel Venny 2.1 (disponible sur <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) avec une liste de tous les gènes régulés par IHF, CRP et LexA chez *E. coli*, disponibles dans la base de données RegulonDB (**Figure 41**).

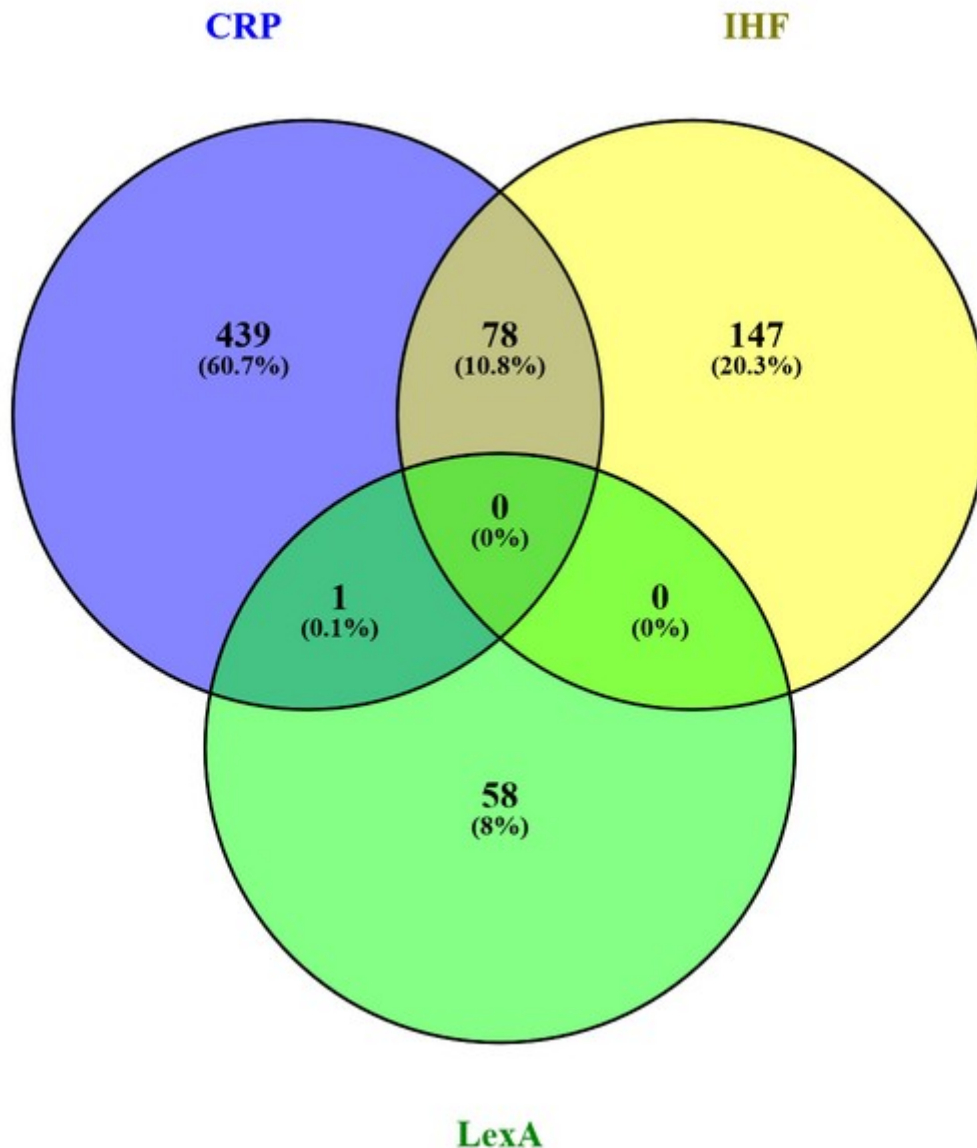


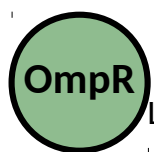
Figure 41: Diagramme de Venn des régulons, IHF, CRP et LexA chez *E. coli* K-12

Obtenu grâce au weblogiciel Venny 2.1 en utilisant les données de RegulonDB faisant état de 518 gènes pour régulon CRP (bleu), 225 gènes pour le régulon IHF (jaune), 59 gènes pour le régulon LexA (vert). Les nombres de gènes partagés ou non, sont aussi affichés en pourcentage.

La première observation est que la protéine LexA semble être isolée, ne partageant qu'un seul gène avec le régulateur CRP. Il s'agit du gène *sbmC* codant pour un inhibiteur de gyrase. La seconde information est que la protéine régulatrice CRP et la protéine IHF co-régulent 68 gènes. Nombreux sont des gènes impliqués dans le métabolisme, tels que l'opéron *paa* impliqué dans le métabolisme des acides gras, l'opéron *sucABCD*,

impliqué dans le cycle de Krebs. D'autres sont des gènes codant pour des régulateurs comme *ompR* et *fis*.

De façon intéressante, le gène *ompR*, connu pour être réprimé à la fois par la protéine CRP et par la protéine IHF (Tsui, Huang, et Freundlich 1991; Huang, Tsui, et Freundlich 1992) est le régulateur principal de la réponse au stress osmotique. Le gène codant pour la protéine Fis est, quant à lui, régulé positivement par la protéine CRP (Zheng et al. 2004) mais aussi par la protéine IHF (William Nasser, Rochman, et Muskhelishvili 2002; T. S. Pratt et al. 1997). Si CRP et IHF régulent négativement indirectement le promoteur *Prcr1* via un autre régulateur ; celui-ci devrait être régulé négativement à la fois par IHF, et par CRP. Nos résultats ont montré un rôle répresseur de IHF et Crp sur *Prcr1*, ce qui pourrait être cohérent avec la régulation de l'expression du gène *ompR*.



III.D. Le dénominateur commun : la protéine régulatrice OmpR

La protéine OmpR est membre du système à deux composants EnvZ-OmpR. Chez *E. coli*, ce système conduit à l'adaptation au changement d'osmolarité (Kanamaru et Mizuno 1992; Cai et Inouye 2002) et à différents impacts sur la physiologie de la bactérie. En effet, la phosphorylation de la protéine régulatrice OmpR par son histidine kinase EnvZ inhibe la synthèse des flagelles en agissant sur les gènes *flhCD* (S. Shin et Park 1995), augmente la formation des biofilms via l'activation de l'expression des gènes *pgaABCD* (Oropeza, Salgado-Bravo, et Calva 2015) mais aussi active l'expression des gènes codant pour la synthèse des curli (Vidal et al. 1998; Prigent-Combaret et al. 2001). Selon nos hypothèses, la protéine régulatrice OmpR pourrait être le dénominateur commun entre les régulations du promoteur *Prcr1* par les protéines CRP et IHF. De ce fait, OmpR serait probablement un activateur du *Prcr1*. De plus, deux sites de fixation à la protéine OmpR ont été déterminés *in silico* (**Figure 42A**). Le site de fixation de la



protéine OmpR est une séquence de 7 pb riche en AT et non palindromique (**Figure 42B**).

A.



B.



Figure 42: Sites opérateurs OmpR et consensus

A. La région *terIS* complète qui contient le promoteur du gène *rcr1* de la transposase avec élément -35 (en bleu), -10 (en rose) et le motif TGN (en gras). Le site de fixation du ribosome (RBS en vert) ainsi que le codon START du gène de la transposase (en violet) sont indiqués. L'opérateur LexA est représenté en gras et en italique. Les sites putatifs de fixations pour la protéine OmpR (en rose, n=6) et pour la protéine IHF (en orange, n=5) ont été identifiés grâce à l'analyse *in silico*. Ces sites peuvent se chevaucher, comme matérialisé en jaune. Le promoteur court (*Prcr1s*) est identifié de l'ATG jusqu'à la ligne épaisse noire alors que le promoteur complet (*Prcr1*) correspond à la région complète. **B.** Obtenu par alignement en nucléotides de toutes les séquences connues expérimentalement déterminées pour la fixation de la protéine OmpR grâce au logiciel WebLogo (Crooks et al. 2004). En ordonnée, les bits correspondants à la conservation de la base à une position donnée et en abscisses, la position des différentes bases dans le motif pour le site concerné. C : Cytosine, T : Thymine, G : Guanine, A : Adénine. Adapté de Prodoric 8.1 (<http://www.prodoric.de/vfp/>)

Pour étudier l'impact de ce régulation sur l'expression du gène de la transposase *rcr1*, nous avons réalisé le mutant *MG1655ΔompRlacZ*. Nous avons réalisé des lysats de

phage P1 ayant infecté la souche portant la délétion, qui provenant de la collection KEIO. Après obtention du mutant MG1655 Δ ompR::KmFRT*lacZ*-, nous avons excisé la cassette de résistance KmFRT à l'aide du plasmide pCP20. Comme pour le double mutant des gènes *lexA* et *ihfA*, nous avons observé aucune différence entre le mutant simple Δ *lexA* et le double mutant Δ *lexA* Δ *ompR*.

Tableau 16: Impact de la délétion du gène *ompR* sur l'activité du promoteur *Prcr1* et ses dérivés

WT : MG1655*lacZ*- ; Δ *ompR* : MG1655 Δ *ompR* ; MMC - : Sans traitement ; MMC + : Traitement à la MMC.

	Activité β -galactosidase (uMiller)			
	WT		Δ <i>ompR</i>	
	MMC -	MMC +	MMC -	MMC +
<i>Prcr1</i>	0,49 \pm 0,14	3,58 \pm 1,41	0,04 \pm 0,04	0 \pm 0
<i>Prcr1lexA</i> *	10,42 \pm 1,91	10,99 \pm 1,65	0,05 \pm 0,04	0 \pm 0
<i>Prcr1s</i>	0,49 \pm 0,37	1,58 \pm 0,51	0,57 \pm 0,36	1,54 \pm 0,48

La **figure 43** représente les ratios des activités entre la souche Δ *ompR* et la souche sauvage (WT). Lorsque l'activité était < à 1 unité Miller dans les deux conditions, le ratio a été fixé à 1 (**Figure 43**).

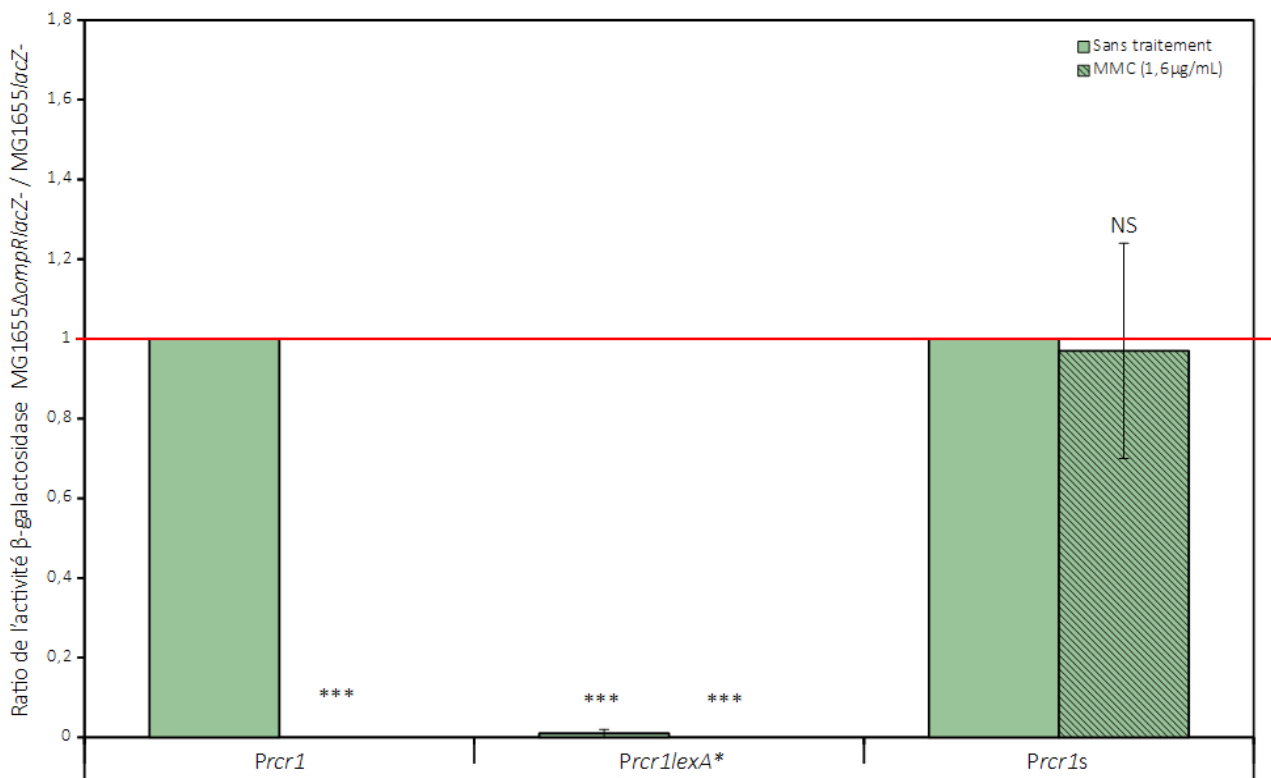


Figure 43: Influence de la protéine OmpR sur l'activité du *Prcr1*

Chaque histogramme présente, pour chaque condition, le rapport entre l'activité mesurée dans la souche MG1655ΔompRlacZ- (*ΔompR*) et la souche sauvage MG1655lacZ- (WT). Les ratios ont été moyennés sur 6 expériences indépendantes pour les conditions sans traitement (histogrammes pleins) et avec traitement à la MMC (histogrammes hachurés) pour le promoteur *Prcr1* et ses dérivés (*Prcr1lexA** et *Prcr1s*). La barre horizontale rouge indique un ratio de 1. NS : non significatif ; *** : *p*-value <0,01 calculées avec le test de Mann-Whintey.

Contrairement à ce que nous avons observé dans les mutants IHF et CRP, le traitement à la MMC ne permet plus en conditions *ΔompR* d'induire l'activité du promoteur *Prcr1*. (**Tableau 16, Figure 43**). Cela suggère que l'induction de la réponse SOS n'est plus possible en conditions *ΔompR*. Ceci se confirme avec la construction p*Prcr1lexA** pour laquelle nous n'observons aucune activité dans la souche *ΔompR*. Cela signifie qu'en conditions de dérèpression constitutive (*Prcr1lexA**) la présence de la protéine OmpR est indispensable à l'expression du promoteur *Prcr1*. Comme pour IHF et CRP, nous remarquons qu'avec la construction p*Prcr1s*, nous n'avons plus d'activité de *Prcr1*, suggérant là aussi, que OmpR agirait directement en se fixant sur les sites OmpR potentiels présents en amont des séquences promotrices (**Figure 43A**)

Les résultats précédents ont été réalisés en LB, milieu riche et isotonique. Or OmpR est un régulateur du stress osmotique. Ainsi, pour déterminer si l'activité du *Prcr1* est induite en conditions de stress osmotique, nous avons mesuré le niveau d'activité du promoteur *Prc1* dans un milieu minimum M63B1, hypo-osmotique. La **figure 44** compare les activités β -galactosidase obtenues en milieu M63B1 versus en LB. Nous avons aussi testé la souche MG1655 Δ *cpxRlacZ*- dans laquelle le gène qui code pour la protéine CpxR est délété. CpxR est impliqué dans la réponse au stress à la paroi mais est aussi connu pour être polyvalent et peut être en interaction avec des histidines kinases d'autres système à deux composants (Yamamoto et al. 2005). CpxR est notamment impliqué dans la réponse au stress osmotique en régulant l'expression des pompes OmpF et OmpC (Batchelor et al. 2005) et via la protéine MzrA qui peut moduler l'activité de EnvZ, histidine kinase du système EnvZ/OmpR (Gerken et al. 2009; Gerken et Misra 2010) (**Figure 44**).



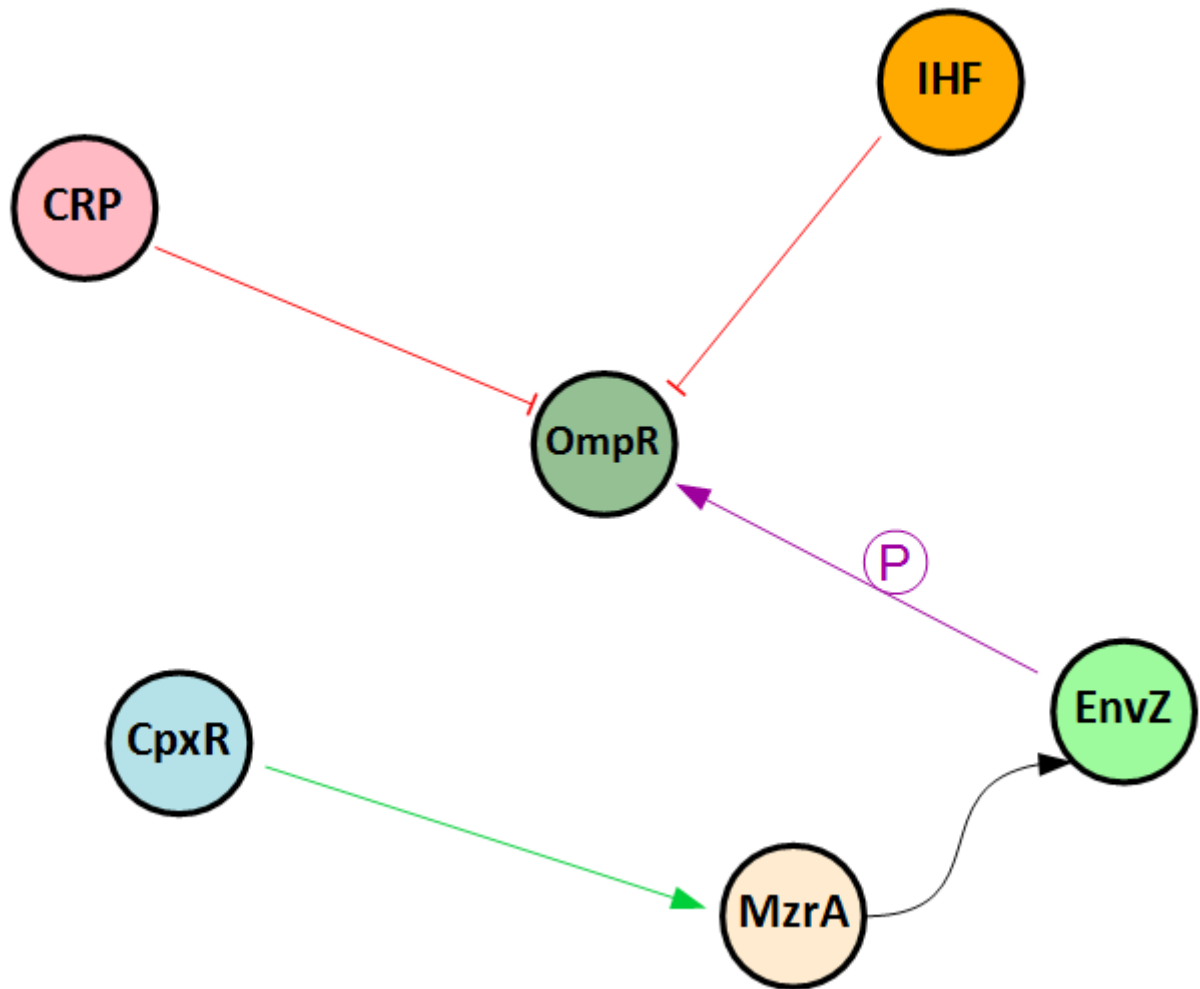


Figure 44: Modèle de régulation connu pour l'expression du gène *ompR*

L'expression de la protéine OmpR est réprimée par les protéines régulatrices globales, CRP et IHF (flèches rouges). La protéine CpxR régule positivement l'expression de la protéine MzrA (flèche verte) qui module l'activité de l'histidine kinase EnvZ, membre du système à deux composants dans lequel est impliqué OmpR. EnvZ va phosphoryler ou déphosphoryler la protéine régulatrice OmpR (flèche violette agrémentée d'un P pour phosphate).

Tableau 17: Impact de la croissance en milieu minimum sur l'activité de *Pcr1* dans différents fonds génétiques

WT : MG1655*lacZ*- ; Δ *lexA* : MG1655 Δ *lexA* ; Δ *cpxR* : MG1655 Δ *cpxR*

	Activité β -galactosidase					
	WT		Δ <i>lexA</i>		Δ <i>cpxR</i>	
	LB	M63B1	LB	M63B1	LB	M63B1
p <i>Pcr1</i>	0,49 \pm 0,14	0,69 \pm 0,17	5,1 \pm 1,64	14,78 \pm 2,07	0,21 \pm 0,2	0,48 \pm 0,07
p <i>Pcr1lexA</i> *	10,42 \pm 1,91	37,88 \pm 4,33	4,37 \pm 0,25	25,84 \pm 5,03	13,72 \pm 2,02	41,76 \pm 3,29
p <i>Pcr1s</i>	0,49 \pm 0,37	0,81 \pm 0,48	4,50 \pm ,75	6,36 \pm 1,22	0,43 \pm 0,13	0,6 \pm 0,19

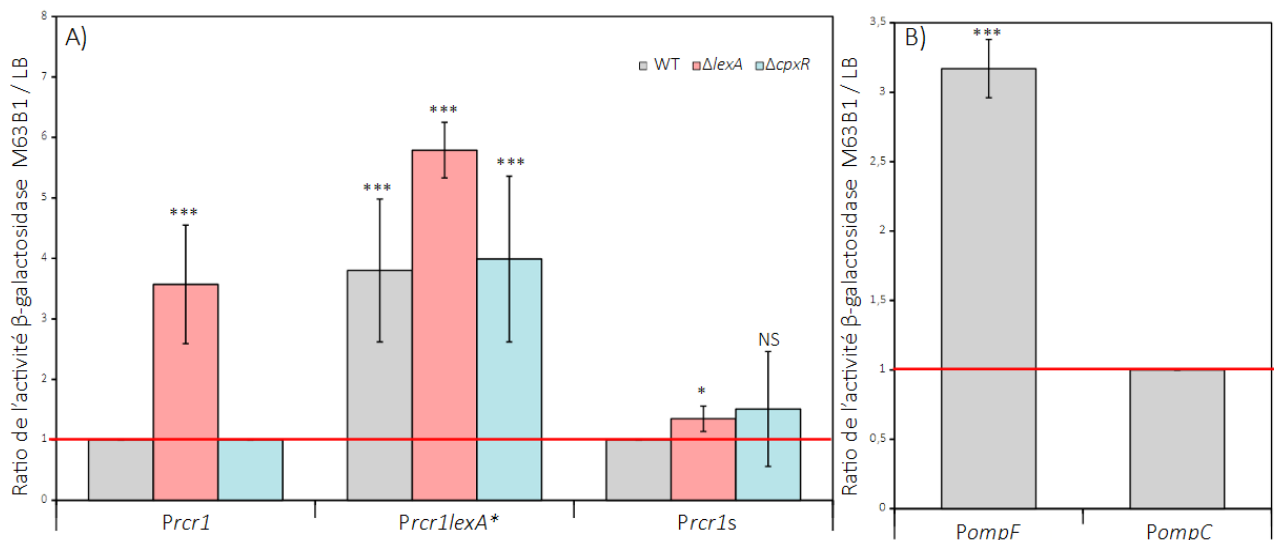


Figure 45: Impact de la croissance en milieu minimum sur les promoteurs *Prcr1*, *PompF* et *PompC*.

Chaque histogramme présente, pour chaque condition, le rapport entre l'activité mesurée en milieu minimum hypo-osmotique M63B1 et le milieu riche isotonique LB pour les souches MG1655 *lacZ*- (WT) (histogrammes gris) MG1655 $\Delta lexA$ *lacZ*- ($\Delta lexA$) (histogrammes rouges) et MG1655 $\Delta cpxR$ *lacZ*- ($\Delta cpxR$) (histogrammes bleus). Les ratios ont été moyennés sur 6 expériences indépendantes pour les pour **A)** le promoteur *Prcr1* et ses dérivés (*Prcr1lexA**, *Prcr1s* et *Prcr1lexA*s*) et pour **B)** les promoteurs des gènes *ompF* et *ompC*. La barre horizontale rouge indique un ratio de 1. L'activité des promoteurs *Prcr1*, *Prcr1s*, *PompC* étant toutes < à 1 unité Miller, le rapport a été fixé à 1. NS : non significatif ; *** : p -value < 0,01 ; * : $0,02 < p$ -value < 0,05 calculées avec le test de Mann-Whitney.

Les résultats montrent que le promoteur *Prcr1* est plus actif dans le milieu minimum et hypo-osmotique M63B1 lorsque la protéine LexA est absente (dans la souche $\Delta lexA$) ou ne peut pas se fixer sur le promoteur *Prcr1* (*Prcr1lexA**) (Tableau 17, Figure 45A). L'effet de la réponse hyp-osmotique n'est donc observable qu'en absence de régulation SOS. De façon intéressante, dans la souche $\Delta cpxR$, nous observons que l'activité du promoteur *Prcr1lexA** est la même qu'en WT (p -value > 0,05) (Tableau 17, Figure 45A). Il semble donc que l'absence de la protéine CpxR ne joue pas un rôle essentiel dans l'activité du promoteur *Prcr1*. Les résultats obtenus avec le plasmide *pPrcr1s* qui contient seulement la séquence 80pb (Figure 45A) montrent que, comme observé avec les résultats précédents, l'activité de la région en amont est importante pour la régulation via OmpR. Afin de déterminer si nos résultats correspondent bien à la réponse à un stress osmotique médiée par la protéine OmpR, nous avons étudié l'expression des gènes *ompF* et *ompC*. Ces deux gènes, tous deux régulés par la protéine

OmpR, possèdent néanmoins des profils de régulation différents. Le gène *ompF* est régulé par la protéine OmpR négativement en conditions hyper-osmotiques mais positivement en conditions hypo-osmotiques. À l'inverse, le gène *ompC* est uniquement activé en conditions hyper-osmotiques et n'est pas régulé en conditions hypo-osmotiques et en milieu isotonique. Ainsi, deux profils sont décrits pour la protéine OmpR, un profil OmpF et un profil OmpC. Nous avons cloné les promoteurs de ces gènes dans les mêmes vecteurs que pour *Prcr1*. Nos résultats vont dans le sens de ce qui est décrit avec, en conditions hypo-osmotiques, une augmentation de l'activité du promoteur de *ompF* et pas de modification de l'activité du promoteur de *ompC* (**Figure 45B, PompF**). Le promoteur du gène *ompF* est induit de la même façon que le promoteur *Prcr1* dans le milieu minimum M63B1 suggérant donc l'implication de la protéine OmpR. Pour déterminer si la régulation de *Prcr1* par la protéine régulatrice OmpR se fait via les opérateurs identifiés *in silico*, nous avons mutés les deux sites de fixation prédits (**Figure 43**)

Tableau 18: Impact de mutations dans les sites OmpR sur l'activité du *Prcr1*

WT : MG1655*lacZ*-; Δ *lexA* : MG1655 Δ *lexA*; MMC : Mitomycine C

	Activité β -galactosidase (uMiller)		
	WT		Δ <i>lexA</i>
	MMC -	MMC +	
<i>Prcr1</i>	0,49 \pm 0,14	3,58 \pm 1,41	5,1 \pm 1,6
<i>Prcr1ompR1*</i>	0,11 \pm 0,08	0,57 \pm 0,15	1,86 \pm 0,07
<i>Prcr1ompR2*</i>	0,13 \pm 0,09	0,63 \pm 0,21	0,13 \pm 0,04

Nous pouvons remarquer que les lorsque les sites OmpR sont mutés indépendamment, l'activité du promoteur reste indétectable même en conditions d'induction de la réponse par la mitomycine C (**Tableau 18, *Prcr1ompR1**, *Prcr1ompR2****). De façon intéressante, lorsque les constructions sont introduites dans la souche MG1655 Δ *lexA**lacZ*, l'activité de *Prcr1* est seulement détectable pour la construction où le

premier site est muté (**Tableau 18**, *Prcr1ompR1**). Cette activité reste néanmoins inférieure à celle observée avec la construction *Prcr1* (**Tableau 18**, *Prcr1*). Ces résultats suggèrent fortement que la régulation OmpR dépendante de l'intégrité de ces deux sites prédits *in silico*.



Discussion



Les ISCR sont des séquences d'insertion qui, bien que fréquemment décrites en contexte clinique sont peu caractérisées. Nos objectifs de travail étaient donc de faire une mise à jour des données connues sur les ISCR mais aussi d'étudier les mécanismes de régulation de l'expression du gène de la transposase de ISCR1. ISCR1 une IS très répandue en contexte clinique et elle héberge en aval de nombreux gènes de résistance aux antibiotiques différents. Comprendre comment la transposase est exprimée, est une étape nécessaire pour pouvoir ensuite étudier sa mobilité. Par ailleurs, comme il est admis dans la littérature, l'élément ISCR1 possède, dans sa région *oriS* deux promoteurs dirigés vers l'extérieur (Rodriguez-Martinez et al. 2006) qui pourraient être impliqués dans l'expression des gènes en aval.

Impact de ISCR1 sur l'expression des gènes en aval : assurer un phénotype ?

Nous avons déterminé que les deux promoteurs P_{cr1-1} et P_{cr1-2} contribuent à l'expression des gènes en aval de ISCR. Deux gènes ont été testés : le gène de β -lactamase $bla_{CTX-M-9}$ et le gène $dfrA19$ qui codent respectivement pour la résistance aux β -lactamines avec un phénotype BLSE et au triméthoprimine. Nous avons montré que la présence des deux promoteurs était nécessaire à l'expression du phénotype de résistance pour le gène $bla_{CTX-M-9}$.

Pour le gène $dfrA19$, nous avons obtenu une CMI du triméthoprimine très élevée ($>2048 \mu\text{g/mL}$) et n'avons pas observé de différence selon la présence ou non des promoteurs dirigés vers l'extérieur. Cette absence de modification du phénotype de résistance peut être expliquée par une grande région intergénique (532 pb)(RIG), dans laquelle nous avons identifié un promoteur potentiel. Cependant, malgré cette distance importante entre ISCR1 et le gène $dfrA19$, la présence des promoteurs P_{cr1-1} et P_{cr1-2} augmentait l'activité β -galactosidase quand toute la région *oriS* ainsi que RIG de $dfrA19$ étaient clonées en amont de *lacZ*, montrant l'implication de ces promoteurs dans l'expression du gène. En revanche, cela ne s'est pas traduit par une modification de phénotype car

les CMI étaient identiques dans les constructions contenant la région *oriS* avec la RIG ou la RIG seule. Une dissociation phénotype-niveau d'expression du gène a déjà été observée. Barraud et Ploy, ont montré chez une souche de *E.coli* hébergeant un intégron avec le gène *catB9*, que les CMI du chloramphénicol étaient identiques, à 256 mg/L alors que le nombre de transcrits était différent, en fonction de la distance entre le gène et le promoteur (Barraud et Ploy 2015). Par ailleurs, cette dissociation peut s'expliquer par l'activité intrinsèque de la protéine codée par le gène *dfrA19*. Cette protéine est une dihydrofolate réductase alternative, insensible au triméthoprim. Il est probable qu'à partir du moment où la fonction de synthèse des folates est assurée, la bactérie peut se développer indépendamment de la quantité de protéines DfrA19 produite et de la concentration en triméthoprim. Les gènes *dfr* sont en effet connus pour permettre à la bactérie des niveaux élevés de résistance (Huovinen et al. 1995), ce que nous avons observé pour nos constructions avec le gène *dfrA19*. Il semblerait donc que potentiellement, le caractère essentiel des promoteurs P_{OUT} pour le phénotype soit lié à la nature de la protéine codée par le gène en aval de l'élément ISCR1. De nombreuses IS sont connues pour contenir des promoteurs dirigés vers l'extérieur et pour exprimer les gènes en aval. La plupart assurent totalement l'expression des gènes en aval alors que d'autres augmentent l'expression de ces gènes (documenté dans (Vandecraen et al. 2017)). Chez *Salmonella* Typhimurium, l'augmentation de l'expression de la pompe d'efflux *acrEF* par les promoteurs P_{OUT} de IS1 est corrélée avec l'augmentation du niveau de résistance (Olliver et al. 2005). Ces résultats sont cohérents avec ceux trouvés pour le gène *bla*_{CTX-M-9}.

Le gène de la transposase RCR1 est sous la dépendance de différents régulateurs.

La région *terS* de l'élément ISCR1 est une région de 379 pb contenant la région promotrice du gène *rcr1*. Un promoteur *Prcr1* putatif a été déterminé *in silico* avec des séquences -35, 5'TACTGT et -10 5'-TGGACG relativement proches du consensus des



boîtes -10 et -35 du facteur σ^{70} (4 bases conservées sur 6 pour l'élément -35 et 3 sur 6 pour l'élément -10). Nous avons montré que, bien que le promoteur soit fonctionnel, nous ne détectons pas d'activité basale (< à 1 unité Miller) en conditions natives. Les transposases sont des éléments mobiles, capable de s'insérer de façon aléatoire et non contrôlée au sein du génome. Pour ces raisons biologiques délétères pour la bactérie, les gènes de transposases sont soit exprimés à partir d'un promoteur peu actif soit fortement réprimés (Nagy et Chandler 2004). Cela expliquerait l'activité basale du promoteur *Prcr1* est < à 1 unité Miller, malgré un degré de conservation assez important de sa séquence promotrice. Nous avons donc ensuite regardé si le gène *rcr1* était sous le contrôle d'un ou plusieurs régulateurs transcriptionnels. Nous avons observé qu'une séquence correspondant au site de fixation de la protéine LexA était présente dans la région promotrice du gène de la transposase. LexA est un effecteur impliqué dans la réponse SOS et lors d'un dommage à l'ADN, l'autoprotéolyse de LexA RecA-dépendante, va alors permettre la transcription des gènes régulés. Ainsi, 40 gènes appartiennent au régulon SOS chez *E. coli* (Courcelle et al. 2001; Fernández de Henestrosa et al. 2000). Nous avons mis en évidence que lorsque la répression par LexA est levée, que ce soit dans un mutant empêchant la fixation de LexA ou par induction à la mitomycine C, le promoteur *Prcr1* pouvait alors s'exprimer, bien que l'activité observée restait faible (5 unité Miller). Ceci confirmait donc le rôle de la réponse SOS dans l'induction de l'expression de *Prcr1*. Le consensus du site de fixation de la protéine LexA CTG-N₁₀-CAG est très conservé chez toutes les protéobactéries. Seule la famille des Xanthomonales présente un site de liaison différent du consensus habituel 5'-TTAGTAGTAATACTACTAA (Yang et al. 2016). Il est intéressant de noter que lors de notre analyse de la distribution des *ISCR1*, quasiment toutes les espèces chez qui *ISCR1* a été décrit appartenaient au taxon des protéobactéries. Seules 2 séquences parmi 1127 concernaient des membres des Xanthomonales. Cela signifie que l'élément *ISCR1* est retrouvé quasi-uniquement

chez des espèces qui possèdent un système SOS avec la séquence consensus de la boîte LexA CTG-N₁₀-CAG. La régulation SOS pourrait donc jouer un rôle dans le maintien de l'élément *ISCR1* au sein d'une bactérie, signifiant que cet élément représente potentiellement un coût pour la bactérie lorsqu'il n'est plus sous la répression de la protéine LexA. L'impact de la réponse SOS dans le maintien d'éléments génétiques mobiles a déjà été décrit. En effet, notre équipe a montré que chez les intégrons de classe 1, la régulation de l'intégrase par la réponse SOS permettait de réduire le coût biologique de la structure intégron (Lacotte, Ploy, et Raherison 2017).

La réponse SOS est déclenchée par différents stimuli et notamment certains antibiotiques comme les β -lactamines (Miller et al. 2003, 2004), le triméthoprim (Lewin et Amyes 1991) et les fluoroquinolones (Pohlhaus et Kreuzer 2005) mais aussi lors de processus cellulaires comme la conjugaison (Gruss et Ehrlich 1989) et la réplication, par génération d'ADN simple brin (Battaglia et al. 1987). *ISCR1* est une IS possédant une transposase de type HUH. Les transposases HUH se répliquent en cercle roulant au cours de leur transposition (Chandler et al. 2013). Cette réplication est connue pour générer des intermédiaires simple brin, stimulant la mise en place de la réponse SOS (Marcucci et al. 1986). De façon intéressante, si la transposase de l'élément *ISCR1* est fonctionnelle et qu'elle transpose selon le modèle des transposases HUH, sa propre transposition induirait l'expression du gène de la transposase. La régulation SOS est connue pour réguler les gènes de transposases des éléments *IS10* (Eichenbaum et Livneh 1998) et *IS50* (CHIEN-TSUN Kuan et Tessman 1991) et la mobilité d'autres éléments génétiques mobiles comme les ICE ou les îlots génomiques (John W. Beaber, Hochhut, et Waldor 2004; Ulrich et al. 2013). Kuan et al., en 1991, ont aussi montré que la mobilité du transposon Tn5 était dépendant de la réponse SOS (Chien-Tsun Kuan, Liu, et Tessman 1991).

De façon intéressante, *ISCR1* est toujours retrouvé en amont de la région 3'CS des intégrons de classe 1 qui sont un marqueur d'antibiorésistance en clinique (Barraud et al. 2014; Gillings 2014) et dont l'intégrase est aussi sous la dépendance de la régulation SOS. De plus, nous avons montré que de nombreux gènes de résistance sont présents en aval de *ISCR1*. Lorsqu'une bactérie possède une *ISCR1*, elle contient donc un élément génétique possédant sur la même structure 2 éléments dépendant de la réponse SOS et impliqués dans l'acquisition de gènes de résistance : l'intégrase de classe 1 qui va catalyser l'acquisition de gènes de résistance sous forme de cassettes (Guerin et al. 2009) et la transposase RCR1 qui serait impliquée dans la mobilisation des gènes de résistance situés en aval de *ISCR1* (M. A. Toleman, Bennett, et Walsh 2006). De plus, la transposition de *ISCR1* pourrait aussi déclencher la réponse SOS. Ainsi, une pression de sélection par un antibiotique, induisant la réponse SOS pourra déclencher 2 systèmes indépendants permettant l'acquisition et la mobilisation de gènes. Cependant, à ce jour, la transposition de RCR1 n'a pas été démontrée expérimentalement.

ISCR1 fait partie du sous-groupe *ISCR1* qui contient notamment les éléments *ISCR2* et *ISCR8* (**Figure 31**). Nous avons identifié des boîtes LexA putatives dans différents sous-groupes de *ISCR* et de façon intéressante, la position de la boîte LexA est différente selon les sous-groupes. En effet, le sous-groupe *ISCR1* possède une boîte LexA proche du codon START de la transposase et la boîte LexA du sous-groupe *ISCR3* en est éloignée (environ 80 bp). Une telle différence de position pourrait avoir un impact dans l'efficacité de la régulation SOS. En effet, nous pouvons supposer que les *ISCR* pour lesquelles la boîte LexA est loin du promoteur ne seraient pas ou mal régulés par la réponse SOS. De plus, les boîtes LexA du sous-groupe *ISCR3* semblent peu conservées par rapport au consensus 5'CTGTATATATACAG. Nous avons donc testé les promoteurs des gènes de transposases *rcr2* et *rcr8* du sous-groupe *ISCR1* et celui du gène *rcr3* et

avons cloné ces régions promotrices contenant les boîtes LexA potentielles en amont de *lacZ* comme ce que nous avons réalisé pour le gène *rcr1*.

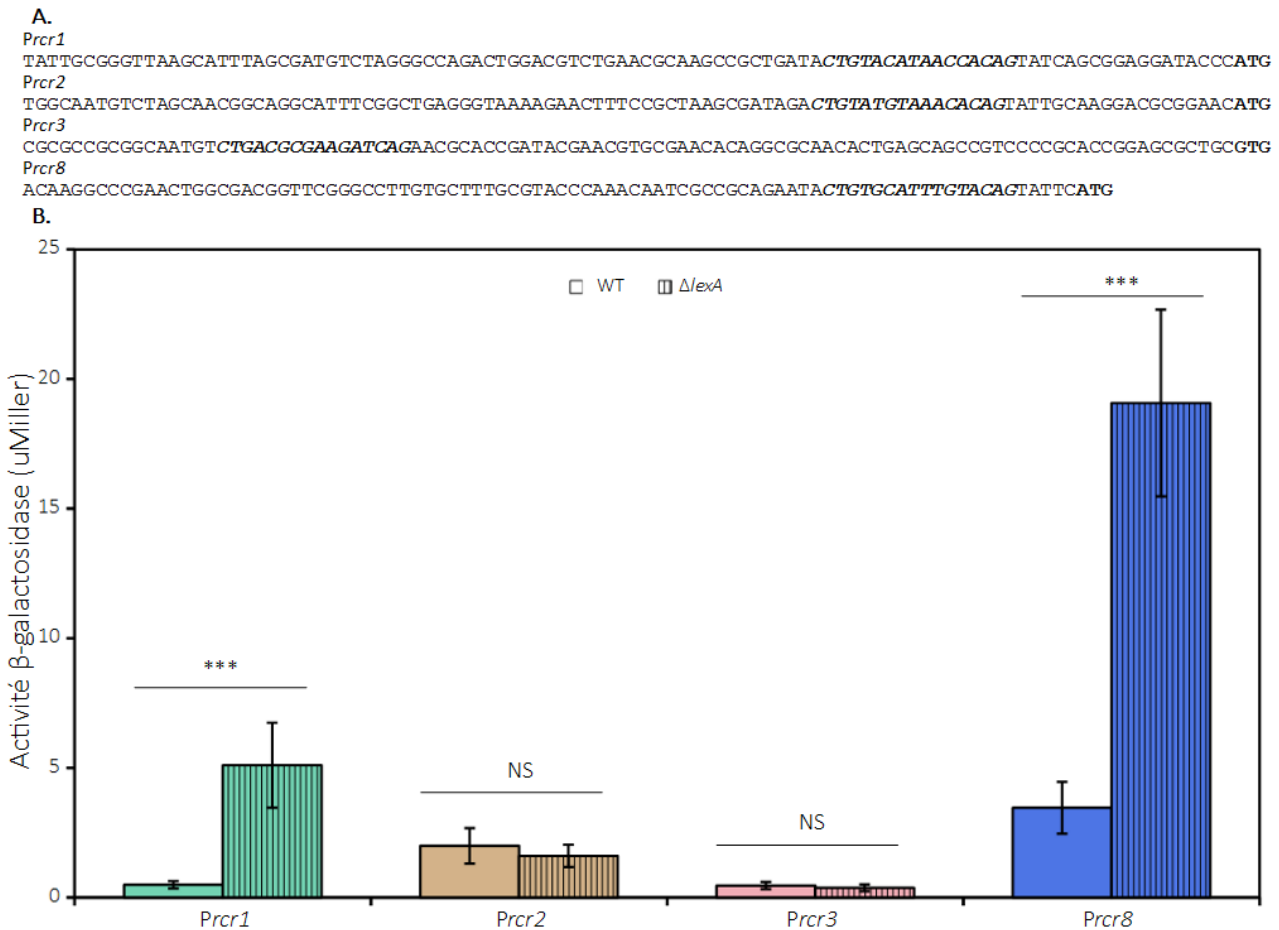


Figure 46: Impact de la délétion du gène *lexA* sur des promoteurs de transposases de différents sous-groupes de la famille ISCR

Impact du système SOS sur l'expression de gènes de transposases appartenant à différents sous-groupes de la famille ISCR. **A.** Région en amont (100bp) des gènes de transposases *rcr1*, *rcr2*, *rcr3* et *rcr8*. Le codon START du gène de la transposase est en gras et le site putatif de fixation à la protéine LexA est en gras et en italique. **B.** Activité b-galactosidase des promoteurs de gènes de transposases *rcr1* (vert), *rcr2* (marron), *rcr3* (rose) et *rcr8* (bleu) dans la souche MG1655 *lacZ*⁻ (WT) et dans la souche MG1655 $\Delta lexA lacZ$ ⁻ ($\Delta lexA$). Moyenne d'au moins 6 expériences indépendantes. NS : non significatif ; *** : p -value < 0,01 ; * : $0,02 < p$ -value < 0,05 calculées avec le test de Mann-Whitney.

Nous pouvons remarquer sur la **figure 46**, que seuls les promoteurs *Prcr1* et *Prcr8* (élément ISCR8) ont une activité significativement plus importante dans une souche $\Delta lexA$. Le promoteur *Prcr3* (ISCR3) qui possède une boîte LexA éloignée du codon START, n'est pas affecté par la délétion du gène *lexA* (**Figure 46**). Comme nous l'avons décrit dans la première partie de ce travail, toutes les régions promotrices du sous-groupe ISCR3 sont très proches et il est donc probable qu'ils se comportent tous de la même

façon en $\Delta lexA$. Il faudrait néanmoins tester certains autres promoteurs de ce sous-groupe pour vérifier cette hypothèse. De façon intrigante, *ISCR2*, qui appartient au sous-groupe *ISCR1*, ne semble pas non plus être sous la dépendance de la réponse SOS car son activité n'est pas modifiée en $\Delta lexA$ (**Figure 46**). Chez les intégrons de classe 2, des précédents travaux au laboratoire ont montré que, malgré la présence d'une séquence conservée d'un site de fixation de LexA en amont du gène de l'intégrase de classe 2, l'expression du gène *int12* n'est pas sous le contrôle de la réponse SOS (Jové et al., 2017) Afin de vérifier nos résultats pour *rcr2*, des essais de retard sur gel seront à réaliser.

Néanmoins, nous avons montré que le gène *rcr1* était très peu exprimé même quand la bactérie était en conditions d'induction de la réponse SOS ou en conditions où LexA ne peut pas se fixer sur le promoteur *Prcr1*. Ceci suggère donc un système SOS peu efficace ou la présence d'autres régulateurs agissant en lien avec la réponse SOS. Pour confirmer cette hypothèse, nous avons effectué une étude *in silico* de la région complète *terIS*, la région en 5' de la l'élément contenant la région promotrice, qui a permis d'identifier 23 régulateurs potentiels chez *E. coli* K-12. Cette analyse a aussi été réalisée pour les régions en amont des gènes de transposases *rcr2*, *rcr3* et *rcr8*. Parmi le sous-groupe *ISCR1*, les promoteurs *Prcr1*, *Prcr2* et *Prcr8* possèdent des régulateurs en commun comme le régulateur global IHF, les régulateurs de réponse au stress Fur et OxyR et bien évidemment le régulateur LexA. Quant au *Prcr3*, peu de sites potentiels pour des régulateurs ont été identifiés (8 contre 23 chez *ISCR1*) mais le régulateur global IHF fait parti de ceux-ci. La transposase de l'élément *ISCR3* serait donc peu régulée. De plus, nous n'avons pas réussi à déterminer des séquences promotrices -10 et -35 pour l'expression du gène *rcr3*. Ces données suggèrent que la transposase RCR3 est très peu exprimée et que donc probablement *ISCR3* est peu mobile. *ISCR3* est souvent retrouvé sur des îlots génomiques (SGI-1)(D. Boyd et al. 2002; Briggs et Fratamico 1999) mais aussi associé à d'autres éléments transposables (Schwarz et al. 2004). Il est notamment

retrouvé dans l'environnement génétique de *IS6100*. Au vu de la capacité de *IS6100* à réaliser des inversions de grandes parties de génomes lors de sa transposition (Coyne, Courvalin, et Galimand 2010), il est donc logique que l'environnement de *ISCR3* (e.g, les variants de SGI-1) soit modifié sans que celui-ci ne transpose. Cela expliquerait le fait que *ISCR3* soit présent sur des variants différents de SGI-1. Il est aussi associé aux *IS26*, beaucoup décrits dans la littérature et sa mobilité peut être expliquée par sa présence sur des transposons avec deux copies d'*IS26* (Yamane et al. 2007). Ces données suggèrent que *ISCR3* n'est pas mobile mais mobilisable par d'autres éléments génomiques. Son importance biologique n'a pas été déterminé pour le moment.

Pour l'élément *ISCR1*, nous avons tout d'abord étudié des régulateurs globaux, tels que CRP et IHF. En effet, il existe une hiérarchie dans les régulateurs (Martínez-Antonio and Collado-Vides, 2003) Sept régulateurs globaux régulent à eux seuls plus de 50 % du génome de *Escherichia coli* K-12. Parmi ces régulateurs, les protéines IHF et CRP régulent 146 et 434 gènes et co-régulent 68 gènes. De plus, certains gènes de transposase sont connus pour être régulés par ces deux régulateurs. Le promoteur du gène de la transposase de *IS2* est réprimé directement par la protéine CRP (Hu et al., 1998). Les gènes des transposases des *IS_{Ppu14}* et *IS_{Ppu10}* chez *Pseudomonas putida* sont régulés négativement par IHF (Silva-Rocha et al. 2013), mais ces résultats ont été déterminés par analyse du transcriptome d'un mutant $\Delta ihfA$ ce qui n'exclut pas que l'effet du gène *ihfA* soit indirect via la dérégulation d'une autre protéine qui régulerait directement ces transposases. En effet, aucune information sur un site de fixation potentiel de la protéine IHF n'a été mentionné pour *IS_{Ppu14}* et *IS_{Ppu10}*. Il est intéressant de noter que la protéine IHF est surtout décrite pour son implication comme co-facteur du mécanisme de transposition (Chalmers et al. 1998; Sewitz, Crellin, et Chalmers 2003). Nous avons montré que la région *terIS* de *ISCR1* contenait 5 sites de fixation de CRP et 6 sites de fixation de IHF. Ainsi, nous avons émis l'hypothèse que CRP et IHF pourraient co-réguler



l'expression de *rcr1* soit directement par fixation des protéines sur leurs sites cibles soit indirectement en agissant de la même façon sur un régulateur commun. Nous avons montré que CRP et IHF réprimaient le promoteur *Prcr1* et que l'effet était observable uniquement lorsque la réponse SOS était activée. Connaissant l'impact biologique des transposases, il semble logique que celles-ci soient régulées finement. Or, les régulateurs globaux sont actifs dans de nombreuses conditions et de ce fait, une régulation par des facteurs de transcriptions répondant à des conditions plus spécifiques semblerait adéquate pour l'expression des gènes de transposases. Parmi les gènes co-régulés par CRP et IHF, figuraient les gènes codant pour les régulateurs, *Fis* et *OmpR*. De façon intéressante, ces deux régulateurs ne sont pas régulés de la même façon : l'expression du gène *fis* est activé par la protéine CRP et par la protéine IHF (W. Nasser et al. 2001; William Nasser, Rochman, et Muskhelishvili 2002; T. S. Pratt et al. 1997; Zheng et al. 2004) alors que le gène *ompR* est réprimé par les deux protéines (Huang, Tsui, et Freundlich 1992; Tsui, Huang, et Freundlich 1991). Nos résultats dans les souches Δcrp et $\Delta ihfA$ ont suggéré une répression de *rcr1* par ces deux régulateurs. Nous avons donc émis l'hypothèse que *OmpR* pouvait être impliqué dans la régulation de *rcr1* par un mécanisme indirect impliquant CRP et IHF. Les résultats obtenus dans le mutant $\Delta ompR$ ont montré une extinction complète du promoteur en conditions où le site de fixation de LexA est muté, signifiant que la protéine *OmpR* activerait l'activité du *Prcr1*. Le régulateur *OmpR* contrôle 21 gènes connus chez *Escherichia coli* K-12 (RegulonDB) et peut agir comme activateur par exemple pour les gènes *csgD* (Ogasawara et al. 2010) et *ompC* (Mattison et al. 2002) ou comme répresseur (Higashitani et al. 1993), ou enfin avec une action à la fois activatrice ou répresseur comme c'est le cas pour le gène *ompF* (Yoshida et al. 2006). Deux profils de régulations ont été décrits pour l'activité de la protéine *OmpR* à partir des gènes *ompC* et *ompF* codant pour des porines (**Figure 47**). En effet, *OmpR* régule différemment en fonction de son niveau de phosphorylation qui

dépend alors de l'activité kinase/phosphatase de la protéine EnvZ (Russo et Silhavy 1991). Le niveau de phosphorylation de la protéine OmpR augmente avec l'augmentation de l'osmolarité (Forst et al. 1990), tout comme le niveau d'expression du gène *ompC* (Aiba et Mizuno 1990). Ainsi le profil OmpF correspond à un bas niveau de protéine OmpR phosphorylée et un haut niveau de protéine OmpR déphosphorylée. Dans un milieu hypo-osmotique, OmpR est principalement à l'état désphosphorylé : c'est le profil OmpF.



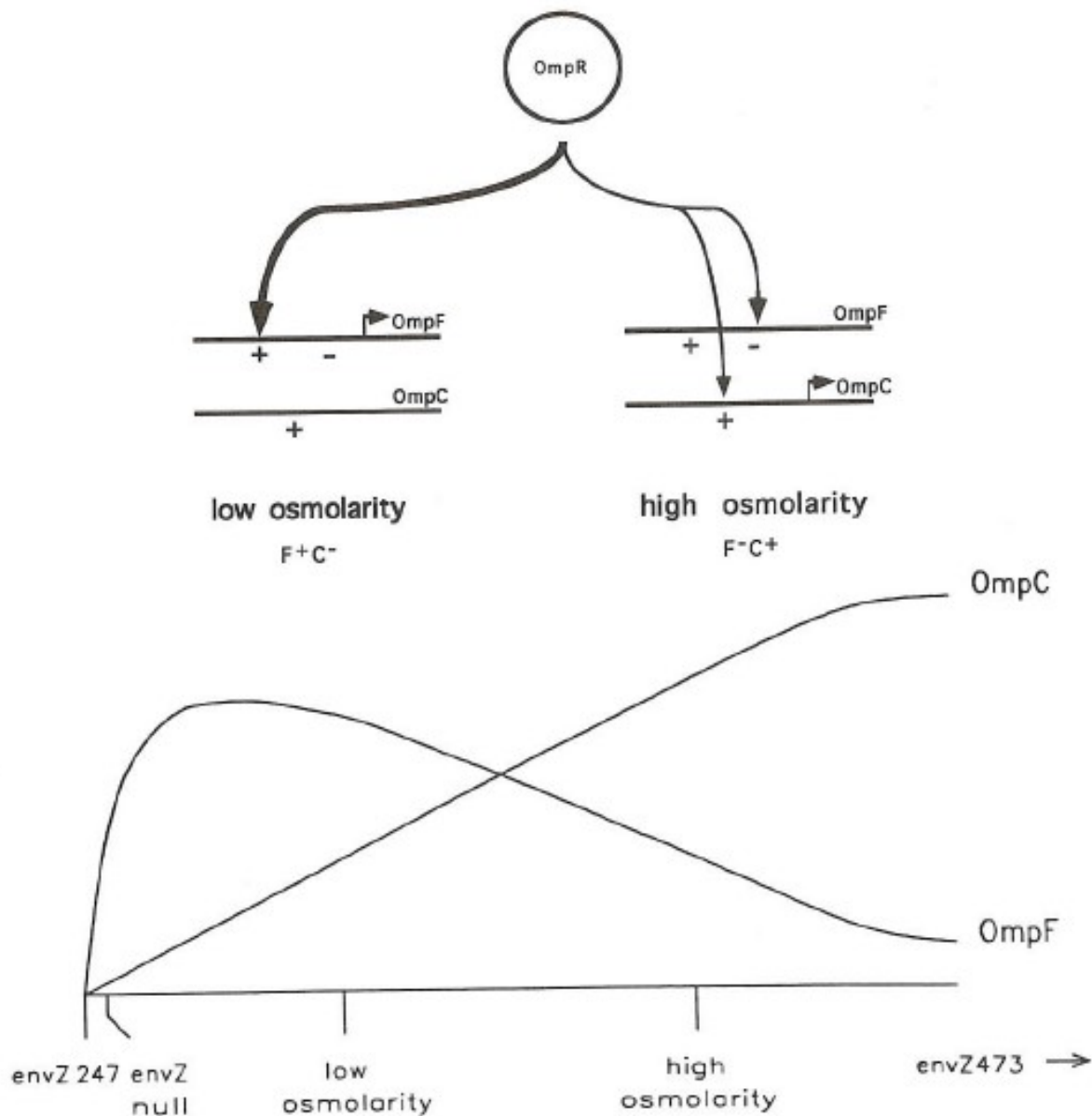


Figure 47: Profil de régulation des promoteurs des gènes *ompF* et *ompC* par la protéine OmpR selon les conditions osmotiques du milieu.

La nature du signal va permettre une régulation différenciée des gènes de porines *ompC* et *ompF*. En haut, la protéine OmpR va aller réguler le gène *ompF* sur un site activateur au niveau de sa région promotrice dans des conditions hypo-osmotiques (low osmolarity) faisant état d'un profil *ompF* positif (F⁺) et d'un profil *ompC* nul (C⁻). Dans des conditions hyperosmotiques, la protéine OmpR va se fixer sur le site répresseur au niveau du promoteur du gène *ompF*, réprimant son expression (F⁻). OmpR va aller se fixer aussi au niveau de ses sites activateurs au sein du promoteur du gène *ompC*, permettant l'augmentation de son expression (C⁺). En bas, profil quantitatif des protéines OmpC et OmpF dans la cellule selon différents états : *envZ*247 (activité kinase inactive), *envZ* null (mutant délété pour le gène *envZ*), hypo-osmolarité (low osmolarity), hyperosmolarité (high osmolarity) et *envZ*473 (activité kinase constitutive). Adaptée de (L. A. Pratt et Silhavy 1995)

Nos résultats de recherche de sites de fixation de régulateurs dans la région ont montré que lorsque la région en amont de la région promotrice de *rcr1*, qui contient les sites de fixation pour CRP, IHF et OmpR, était délétée, nous n'avons plus visualisé les effets observés dans les souches Δcrp , $\Delta ihfA$ ou $\Delta ompR$. Les opérateurs potentiels OmpR en amont de la région promotrice de *rcr1* semblent nécessaires à l'activité de la protéine OmpR sur *Prcr1*. Ces sites déterminés (5'-GAAAAAG) correspondent au consensus des sites de fixations de la protéine OmpR en 5'-KAAAWVH (K : G ou T ; W : A ou T ; V : A, C ou G ; H : T, A ou C)(Prodoric 8.1)(Grote et al. 2009; Münch et al. 2005). D'après nos résultats, le promoteur *Prcr1* se comporterait comme le promoteur du gène *ompF*, c'est-à-dire surexprimé en milieu hypo-osmotique. Or ce promoteur *PompF* contient des séquences spécifiques appelées « F box ». Ces opérateurs ont un consensus correspondant à 5'-KTTWCWTWTK (K : G ou T ; W : A ou T)(Tsong, Brissette, et Inouye 1989). L'analyse *in silico* de la région *terIS* n'a pas permis d'identifier ces « F-box ». Cependant, le consensus pour ces « F-box » a été déterminé à partir de seulement 4 séquences. De plus, se limiter seulement à la souche K12 de *E.coli* peut présenter des biais lors ces analyses *in silico*. Ces critères représentent donc les limites de cette analyse bioinformatique. Étendre ces analyses *in silico* à d'autres taxons chez les protéobactéries aurait pu confirmer la présence de sites potentiels pour la protéine, d'autant que cette protéine est relativement conservée dans cette division phylogénétique (Tipton et Rather 2016; Yuan et al. 2011; Song, Lin, et Che 2013; Chhabra, Upadhyaya, et Dixit 2012).

La protéine CpxR est le régulateur de réponse du système à deux composants CpxAR et ce système est connu pour être polyvalent au sein de tous les systèmes à deux composants connus chez *E. coli* K-12 (Dorel et al., 2006). Il interagit notamment avec le système à deux composants EnvZ/OmpR et est connu pour jouer un rôle dans la réponse au stress osmotique (Batchelor et al. 2005). C'est pourquoi nous avons décidé d'étudier

son impact sur le promoteur *Prcr1* lors des tests en milieu minimum (stress hypo-osmotique). Nos résultats ont montré que l'absence de la protéine CpxR, membre du système à deux composants CpxAR et induit sous l'effet de nombreux stress, ne modifiait l'activité du *Prcr1* dans des conditions hypo-osmotiques. Des études ont montrés qu'il existe des signaux croisés entre le système à deux composants CpxAR et EnvZ/OmpR. En effet, en absence des protéines CpxR et EnvZ, l'histidine kinase CpxA va activer par phosphorylation la protéine OmpR (Siryaporn et Goulian 2008). CpxR, quant à lui, desphosphoryle plusieurs histidines kinases comme le senseur EnvZ (Yamamoto et al. 2005). Cela signifie que ces deux systèmes à deux composants sont liés d'un point de vue moléculaire à la fois par les gènes qu'ils peuvent réguler de concert, et par les interactions entre eux. Au vu de la littérature, nous nous attendions à avoir une modification de l'activité du promoteur *Prcr1* en milieu hypo-osmotique dans le mutant $\Delta cpxR$. En effet, il existe un lien direct entre l'activité régulatrice de la protéine CpxR et la réponse au stress osmotique par le système à deux composants EnvZ/OmpR : la protéine MzrA. Celle-ci est un modulateur de l'activité de l'histidine kinase EnvZ du système à deux composants EnvZ/OmpR (Gerken et al. 2009). En cas de surexpression de cette protéine MzrA, la protéine EnvZ tend vers une augmentation de l'expression du gène *ompF* donc comme en conditions hyper-osmotique (profil OmpF). L'expression du gène *mzrA* est régulée positivement par la protéine CpxR. Cela signifie que dans un mutant $\Delta cpxR$, la protéine MzrA n'est plus exprimée et ne module plus l'activité de l'histidine kinase EnvZ en faveur d'un profil OmpF. Or, nos résultats en milieu hypo-osmotiques ne sont pas cohérents avec ces données. Dans la littérature, il est admis que l'expression du gène *mzrA* est réduit faiblement dans un mutant $\Delta cpxR$ et donc l'absence de la protéine CpxR ne joue pas un rôle significatif dans l'expression du régulon OmpR et notamment pour l'expression des porines (Gerken et al. 2009). Cela expliquerait donc nos résultats obtenus dans un mutant $\Delta cpxR$. Il serait intéressant de

tester un stress à la paroi, tel que l'utilisation de la polymixine E, afin de visualiser l'effet de l'activation de la voie CpxAR sur le promoteur *Prcr1*. Si nous suivons notre logique, la protéine CpxR phosphorylée suite à ce signal, augmenterait l'expression de la protéine MzrA. Cette augmentation aurait pour conséquence la modulation de la protéine EnvZ en faveur d'un profil OmpF et donc potentiellement sur l'augmentation de l'activité de *Prcr1* (Figure 48).

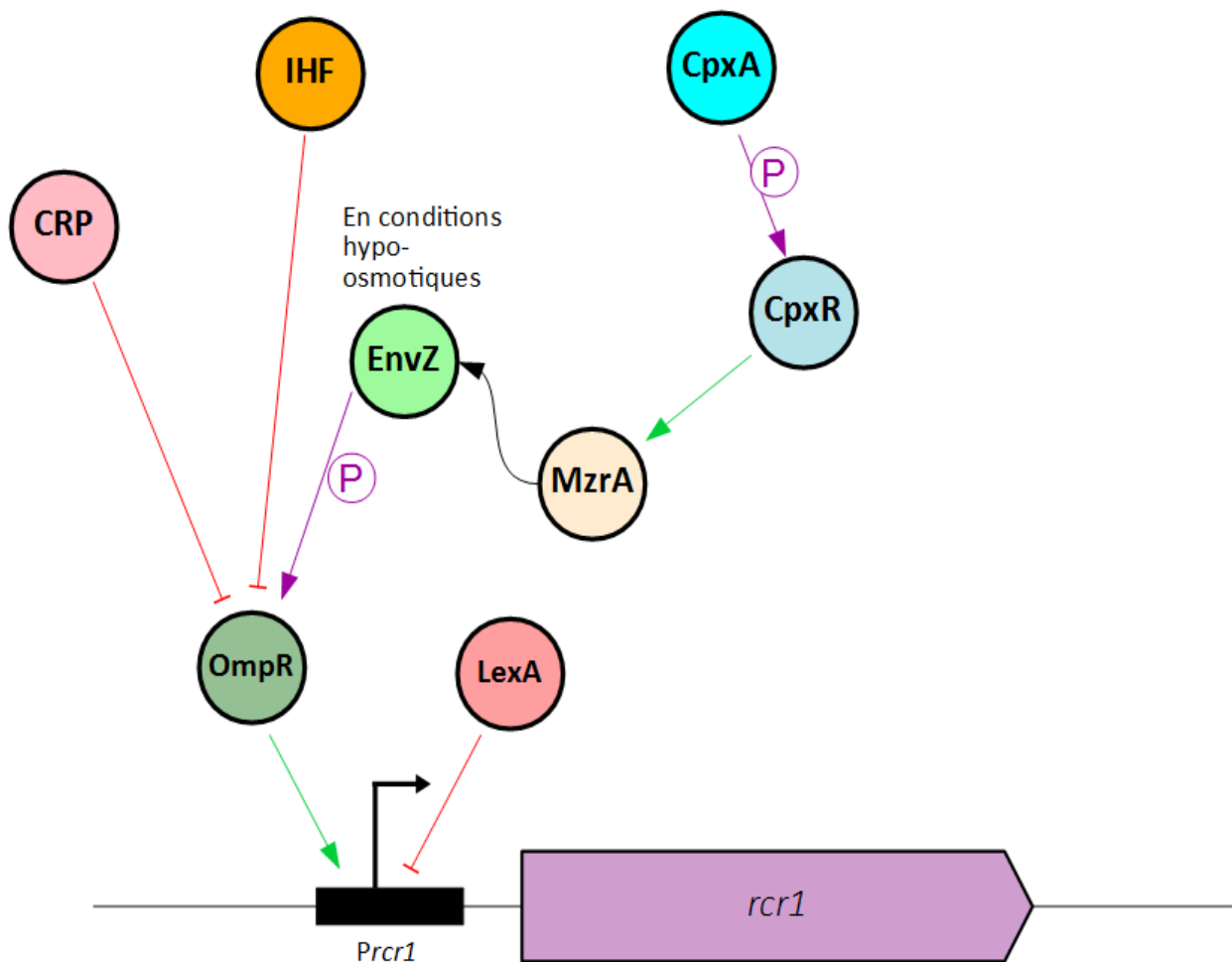


Figure 48: Modèle de régulation pour le promoteur du gène de la transposase de l'élément ISCR1

Le promoteur *Prcr1* (en noir) exprime le gène de la transposase *rcr1* (en violet) sous le contrôle du répresseur LexA (en rouge) et de la protéine OmpR (en vert) dans des conditions hypo-osmotiques. La protéine OmpR doit son activité à l'histidine Kinase EnvZ (en vert clair) du système à deux composants OmpR/EnvZ. Cette dernière est sous l'effet modulateur de la protéine MzrA (en jaune) dont l'expression est dépendante de la protéine CpxR (en bleu) et de son histidine kinase CpxA (en bleu clair). Le gène de la protéine OmpR est lui-même sous la régulation négative des protéines CRP (en rose) et IHF (en orange). Les régulations négatives sont matérialisées par une flèche de cotation rouge, les régulations positives par des flèches vertes, et les activations par des activités de phosphorylation/déphosphorylation par des flèches violettes. P : Phosphate

Stress hypo-osmotique et système SOS induits : des conditions présentes en biofilm ?

Il semblerait que l'expression du gène de la transposase de *ISCR1* soit à la fois sous la régulation négative de la protéine LexA et sous le contrôle positif de la protéine OmpR, en conditions hypo-osmotiques (**Figure 48**). Globalement, pour avoir une expression optimale, la bactérie portant *ISCR1* doit rencontrer à la fois un stress induisant la réponse SOS (pour lever la répression du promoteur *Prcr1*) et à la fois un stress hypo-osmotique afin d'augmenter l'expression du gène de la transposase. Or, le biofilm est le mode de vie dans lequel les bactéries sont susceptibles d'être confrontées simultanément à ces deux types de stress. En effet, le système SOS est induit en biofilm (Beloin et al. 2004). Des études ont aussi montré que la protéine OmpR était impliquée dans la formation du biofilm (Samanta et al. 2013; S. Shin et Park 1995). En comparaison avec un mode de vie planctonique, des études de transcriptomes ont montré que certains gènes du régulon OmpR étaient surexprimés en biofilm (Beloin et al. 2004). Cependant, peu d'informations sont disponibles sur l'état des conditions osmotiques au sein d'un biofilm. Il est vrai que ce biofilm est un milieu très hétérogène, avec des conditions physiologiques ainsi que des structures très différentes en fonction des gradients de nutriments, de déchets et d'oxygène au sein d'un même biofilm (Monds et O'Toole 2009). Il serait donc possible qu'au sein d'un même biofilm, plusieurs conditions existent et que certaines bactéries subissent à la fois des stress induisant des dommages à l'ADN et des conditions hypo-osmotiques. Cela signifie aussi que l'expression de *rcr1* pourrait être dépendante de la position de la bactérie au sein d'un biofilm. Seulement, ces conditions sont difficilement mesurables car lors des études d'expression en biofilm, l'ensemble du biofilm est récupéré. Cela signifie que la mesure sera globale et non pas spécifique d'une micro-niche, dans laquelle les deux conditions nécessaires à l'expression optimale de la transposase sont réunies.



Conclusions et Perspectives

Ce travail de thèse avait pour objectif d'étudier la fonction et la régulation d'une IS de plus en plus décrite, *ISCR1*. Nous avons pu dans un premier temps, répertorier et analyser les caractéristiques des éléments *ISCR* disponibles dans la Genbank grâce à une étude *in silico*. Cela a permis de clarifier la nomenclature des *ISCR* sur la base des critères appliqués aux autres familles d'IS. En se basant sur la séquence protéique de la transposase, nous avons distingué deux sous-groupes d'éléments *ISCR*.

Dans un second temps, nous avons mis en évidence la contribution de l'élément *ISCR1* à l'expression des gènes en aval. Nous avons déterminé qu'une région d'*ISCR1* contient des promoteurs P_{OUT} qui participent à l'expression des gènes en aval. De plus, ces promoteurs peuvent s'avérer essentiels pour conférer un phénotype de résistance selon la nature de la protéine codée par le gène en aval. Il serait alors intéressant d'**étendre cette étude pour des gènes qui ne codent pas pour des résistances aux antibiotiques** car lors de l'analyse de la région en aval de *ISCR1*, des gènes impliqués dans d'autres fonctions ont été identifiés (stress, transposition etc.). Lors de l'analyse *in silico*, nous avons observé que d'autres *ISCR* contiennent dans leur région *oriS* un ou plusieurs promoteurs putatifs. Certains *ISCR* possèdent des gènes de résistance dans leur environnement direct en aval : c'est le cas de *ISCR2* qui possède le gène *rmtH* (Beyrouthy et al. 2017) et de *ISCR20* qui possède le gène *bla_{TLA-1}* (Beatrice Berçot et al. 2010). L'étude effectuée chez *ISCR1* pourrait alors **être réalisée chez ces autres ISCR**.

Dans un troisième temps, nous avons mis en évidence une régulation du promoteur du gène de la transposase de l'élément *ISCR1*, *Pcr1* dépendante de la réponse SOS et dans des conditions hypo-osmotiques. Ces résultats sont à compléter par **des essais de complémentation avec les protéines CRP, IHF et OmpR**. Des **expériences de retard sur gel** permettraient de confirmer la fixation ou non des protéines, IHF, CRP et OmpR au sein de la région promotrice du gène *rcr1*. L'activité de *Pcr1* pourrait aussi être **mesurée en biofilm**, condition dans laquelle un stress hypo-osmotique et une induction

SOS peuvent être associés. En sachant que l'élément *ISCR1* est présent dans plusieurs protéobactéries, il serait intéressant **de mesurer son activité au sein d'autres bactéries hôtes**. En effet, les modalités d'expression et de régulation pourraient être différentes selon les espèces. Enfin, cette étude pourrait être étendue à **d'autres membres de la famille ISCR** afin de déterminer le profil de régulation du promoteur de leur gène de transposase.

Nos travaux sur la régulation de la transposase de *ISCR1* représentent une base solide pour la **détermination d'un mécanisme potentiel de transposition** qui représente la prochaine étape dans la caractérisation de l'élément. De plus, cela constitue clairement une étape importante de la caractérisation de *ISCR1* et de la compréhension de son succès dans les populations bactériennes.

L'expertise acquise à travers l'étude de la régulation de *ISCR1* nous permettra à terme d'aborder d'autres familles d'IS impliquées dans l'antibiorésistance.



Références bibliographiques



- Abella, Marc, Ivan Erill, Mónica Jara, Gerard Mazón, Susana Campoy, et Jordi Barbé. 2004. « Widespread Distribution of a LexA-Regulated DNA Damage-Inducible Multiple Gene Cassette in the Proteobacteria Phylum ». *Molecular Microbiology* 54 (1): 212-22. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04260.x>.
- Abraham, E. P., et E. Chain. 1940. « An Enzyme from Bacteria Able to Destroy Penicillin ». *Reviews of Infectious Diseases* 10 (4): 677-78.
- Aiba, H., et T. Mizuno. 1990. « Phosphorylation of a Bacterial Activator Protein, OmpR, by a Protein Kinase, EnvZ, Stimulates the Transcription of the OmpF and OmpC Genes in Escherichia Coli ». *FEBS Letters* 261 (1): 19-22.
- Akiba, Tomoichiro, Kotaro Koyama, Yoshito Ishiki, Sadao Kimura, et Toshio Fukushima. 1960. « On the Mechanism of the Development of Multiple Drug-Resistant Clones of Shigella ». *Japanese Journal of Microbiology* 4 (2): 219-27. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1960.tb00170.x>.
- Al-Bayssari, C., C. Valentini, C. Gomez, M. Reynaud-Gaubert, et J.-M. Rolain. 2015. « First Detection of Insertion Sequence Element ISPa1328 in the OprD Porin Gene of an Imipenem-Resistant Pseudomonas Aeruginosa Isolate from an Idiopathic Pulmonary Fibrosis Patient in Marseille, France ». *New Microbes and New Infections* 7 (septembre): 26-27. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2015.05.004>.
- Andersson, Jan O, et Siv GE Andersson. 1999. « Insights into the evolutionary process of genome degradation ». *Current Opinion in Genetics & Development* 9 (6): 664-71. [https://doi.org/10.1016/S0959-437X\(99\)00024-6](https://doi.org/10.1016/S0959-437X(99)00024-6).
- Ann M. Stock, Victoria L. Robinson, et and Paul N. Goudreau. 2000. « Two-Component Signal Transduction ». *Annual Review of Biochemistry* 69 (1): 183-215. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.183>.
- Appleman, J. Alex, Wilma Ross, Julia Salomon, et Richard L. Course. 1998. « Activation of Escherichia Coli RRNA Transcription by FIS during a Growth Cycle ». *Journal of Bacteriology* 180 (6): 1525-32.
- Arber, W., S. Iida, H. Jütte, P. Caspers, J. Meyer, et C. Hänni. 1979. « Rearrangements of Genetic Material in Escherichia Coli As Observed on the Bacteriophage P1 Plasmid ». *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 43 (janvier): 1197-1208. <https://doi.org/10.1101/SQB.1979.043.01.136>.
- Arciola, Carla Renata, Davide Campoccia, Simonetta Gamberini, Simona Rizzi, Maria Elena Donati, Lucilla Baldassarri, et Lucio Montanaro. 2004. « Search for the insertion element IS256 within the ica locus of Staphylococcus epidermidis clinical isolates collected from biomaterial-associated infections ». *Biomaterials* 25 (18): 4117-25. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.11.027>.
- Arduino, Sonia M., Mariana Catalano, Betina E. Orman, Paul H. Roy, et Daniela Centron. 2003. « Molecular Epidemiology of Orf513-Bearing Class 1 Integrons in Multiresistant Clinical Isolates from Argentinean Hospitals ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47 (12): 3945-49. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.12.3945-3949.2003>.
- Arduino, Sonia M., Paul H. Roy, George A. Jacoby, Betina E. Orman, Silvia A. Pineiro, et Daniela Centron. 2002. « BlaCTX-M-2 Is Located in an Unusual Class 1 Integron (In35) Which Includes Orf513 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (7): 2303-6. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.7.2303-2306.2002>.
- Armstrong, Victor William, David Yee, et Fritz Eckstein. 1979. « Mechanistic studies on deoxyribonucleic acid dependent ribonucleic acid polymerase from Escherichia



- coli using phosphorothioate analogs. 2. The elongation reaction ». *Biochemistry* 18 (19): 4120-23. <https://doi.org/10.1021/bi00586a010>.
- Aziz, Ramy K., Mya Breitbart, et Robert A. Edwards. 2010. « Transposases are the most abundant, most ubiquitous genes in nature ». *Nucleic Acids Research*, mars. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq140>.
- Baba, Tomoya, Takeshi Ara, Miki Hasegawa, Yuki Takai, Yoshiko Okumura, Miki Baba, Kirill A Datsenko, Masaru Tomita, Barry L Wanner, et Hirotada Mori. 2006. « Construction of Escherichia coli K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: the Keio collection ». *Molecular Systems Biology* 2 (février): 2006.0008. <https://doi.org/10.1038/msb4100050>.
- Balsalobre, Carlos, Jörgen Johansson, et Bernt Eric Uhlin. 2006. « Cyclic AMP-Dependent Osmoregulation of Crp Gene Expression in Escherichia Coli ». *Journal of Bacteriology* 188 (16): 5935-44. <https://doi.org/10.1128/JB.00235-06>.
- Barabas, Orsolya, Donald R. Ronning, Catherine Guynet, Alison Burgess Hickman, Bao Ton-Hoang, Michael Chandler, et Fred Dyda. 2008. « Mechanism of IS200/IS605 Family DNA Transposases: Activation and Transposon-Directed Target Site Selection ». *Cell* 132 (2): 208-20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.029>.
- Barber Mary. 1947. « Coagulase-positive staphylococci resistant to penicillin ». *The Journal of Pathology and Bacteriology* 59 (3): 373-84. <https://doi.org/10.1002/path.1700590304>.
- Barber, Mary, et Mary Rozwadowska-Dowzenko. 1948. « Infection by Penicillin-Resistant Staphyloecoci. » *Lancet*, 641-44.
- Barker, Melanie M, Tamas Gaal, et Richard L Gourse. 2001. « Mechanism of regulation of transcription initiation by ppGpp. II. Models for positive control based on properties of RNAP mutants and competition for RNAP1 1Edited by R. Ebright ». *Journal of Molecular Biology* 305 (4): 689-702. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4328>.
- Barker, Melanie M., Tamas Gaal, Cathleen A. Josaitis, et Richard L. Gourse. 2001. « Mechanism of regulation of transcription initiation by ppGpp. I. Effects of ppGpp on transcription initiation in vivo and in vitro1 1Edited by R. Ebright ». *Journal of Molecular Biology* 305 (4): 673-88. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4327>.
- Barnard, Anne M. L., Jeffrey Green, et Stephen J. W. Busby. 2003. « Transcription Regulation by Tandem-Bound FNR at Escherichia Coli Promoters ». *Journal of Bacteriology* 185 (20): 5993-6004. <https://doi.org/10.1128/JB.185.20.5993-6004.2003>.
- Barraud, Olivier, Bruno François, Delphine Chainier, Julie Vignaud, et Marie-Cécile Ploy. 2014. « Value of Integron Detection for Predicting Antibiotic Resistance in Patients with Gram-Negative Septicaemia ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 44 (4): 351-53. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.008>.
- Barraud, Olivier, et Marie-Cécile Ploy. 2015. « Diversity of Class 1 Integron Gene Cassette Rearrangements Selected under Antibiotic Pressure ». *Journal of Bacteriology* 197 (13): 2171-78. <https://doi.org/10.1128/JB.02455-14>.
- Barth, P. T., N. Datta, R. W. Hedges, et N. J. Grinter. 1976. « Transposition of a Deoxyribonucleic Acid Sequence Encoding Trimethoprim and Streptomycin Resistances from R483 to Other Replicons. » *Journal of Bacteriology* 125 (3): 800-810.



- Batchelor, Eric, Don Walthers, Linda J. Kenney, et Mark Goulian. 2005. « The Escherichia Coli CpxA-CpxR Envelope Stress Response System Regulates Expression of the Porins OmpF and OmpC ». *Journal of Bacteriology* 187 (16): 5723-31. <https://doi.org/10.1128/JB.187.16.5723-5731.2005>.
- Battaglia, Piero A., Franca Gigliani, Liana Marcucci, et Raffaella Elli. 1987. « The rep region of pR plasmid regulates the expression of SOS system ». *Molecular and General Genetics MGG* 209 (1): 41–48.
- Beaber, J. W., B. Hochhut, et M. K. Waldor. 2002. « Genomic and Functional Analyses of SXT, an Integrating Antibiotic Resistance Gene Transfer Element Derived from Vibrio Cholerae ». *Journal of Bacteriology* 184 (15): 4259-69. <https://doi.org/10.1128/JB.184.15.4259-4269.2002>.
- Beaber, John W., Bianca Hochhut, et Matthew K. Waldor. 2004. « SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes ». *Nature* 427 (6969): 72–74.
- Bellanger, Xavier, Sophie Payot, Nathalie Leblond-Bourget, et Gérard Guédon. 2014. « Conjugative and Mobilizable Genomic Islands in Bacteria: Evolution and Diversity ». *FEMS Microbiology Reviews* 38 (4): 720-60. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12058>.
- Beloin, Christophe, Jaione Valle, Patricia Latour-Lambert, Philippe Faure, Mickaël Kzreminski, Damien Balestrino, Janus A. J. Haagensen, et al. 2004. « Global Impact of Mature Biofilm Lifestyle on Escherichia Coli K-12 Gene Expression ». *Molecular Microbiology* 51 (3): 659-74.
- Bercot, B., L. Poirel, J. Silva-Sanchez, et P. Nordmann. 2010. « Association of the Extended-Spectrum β -Lactamase Gene Bla_{TLA}-1 with a Novel ISCR Element, ISCR20 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54 (9): 4026-28. <https://doi.org/10.1128/AAC.00075-10>.
- Berçot, Béatrice, Laurent Poirel, et Patrice Nordmann. 2008. « Plasmid-Mediated 16S RRNA Methylases among Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Isolates ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52 (12): 4526-27. <https://doi.org/10.1128/AAC.00882-08>.
- Berçot, Beatrice, Laurent Poirel, Jesus Silva-Sanchez, et Patrice Nordmann. 2010. « Association of the Extended-Spectrum Beta-Lactamase Gene Bla_{TLA}-1 with a Novel ISCR Element, ISCR20 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54 (9): 4026-28. <https://doi.org/10.1128/AAC.00075-10>.
- Berg, DE, et MM Howe, éd. 1989. *Mobile DNA*. American Society for Microbiology.
- Berg, Douglas E., et Claire M. Berg. 1983. « The Prokaryotic Transposable Element Tn5 ». *Nat Biotech* 1 (5): 417-35. <https://doi.org/10.1038/nbt0783-417>.
- Beyrouthy, Racha, Frederic Robin, Monzer Hamze, et Richard Bonnet. 2017. « IncFIIk Plasmid Harboring an Amplification of 16S RRNA Methyltransferase-Encoding Gene RmtH Associated with Mobile Element ISCR2 ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 72 (2): 402-6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw435>.
- Bi, Hongkai, et Changyi Zhang. 2014. « Integration Host Factor Is Required for the Induction of Acid Resistance in Escherichia Coli ». *Current Microbiology* 69 (2): 218-24. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0595-7>.
- Blat, Yuval, et Michael Eisenbach. 1994. « Phosphorylation-dependent binding of the chemotaxis signal molecule CheY to its phosphatase, CheZ ». *Biochemistry* 33 (4): 902-6. <https://doi.org/10.1021/bi00170a008>.



- Blatter, Erich E., Wilma Ross, Hong Tang, Richard L. Gourse, et Richard H. Ebright. 1994. « Domain organization of RNA polymerase α subunit: C-terminal 85 amino acids constitute a domain capable of dimerization and DNA binding ». *Cell* 78 (5): 889-96. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(94\)90682-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(94)90682-3).
- Blount, Zachary D., Jeffrey E. Barrick, Carla J. Davidson, et Richard E. Lenski. 2012. « Genomic Analysis of a Key Innovation in an Experimental *Escherichia Coli* Population ». *Nature* 489 (7417): 513-18. <https://doi.org/10.1038/nature11514>.
- Boer, Roeland, Silvia Russi, Alicia Guasch, María Lucas, Alexandre G. Blanco, Rosa Pérez-Luque, Miquel Coll, et Fernando de la Cruz. 2006. « Unveiling the Molecular Mechanism of a Conjugative Relaxase: The Structure of TrwC Complexed with a 27-mer DNA Comprising the Recognition Hairpin and the Cleavage Site ». *Journal of Molecular Biology* 358 (3): 857-69. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.02.018>.
- Boisset, Sandrine, Thomas Geissmann, Eric Huntzinger, Pierre Fechter, Nadia Bendridi, Maria Possedko, Clément Chevalier, et al. 2007. « Staphylococcus Aureus RNAIII Coordinately Represses the Synthesis of Virulence Factors and the Transcription Regulator Rot by an Antisense Mechanism ». *Genes & Development* 21 (11): 1353-66. <https://doi.org/10.1101/gad.423507>.
- Bolognese, Fabrizio, Cinzia di Lecce, Enrica Galli, et Paola Barbieri. 1999. « Activation and Inactivation of Pseudomonas Stutzeri Methylbenzene Catabolism Pathways Mediated by a Transposable Element ». *Applied and Environmental Microbiology* 65 (5): 1876-82.
- Bongers, Roger S., Marcel H. N. Hoefnagel, Marjo J. C. Starrenburg, Marco A. J. Siemerink, John G. A. Arends, Jeroen Hugenholtz, et Michiel Kleerebezem. 2003. « IS981-Mediated Adaptive Evolution Recovers Lactate Production by LdhB Transcription Activation in a Lactate Dehydrogenase-Deficient Strain of Lactococcus Lactis ». *Journal of Bacteriology* 185 (15): 4499-4507. <https://doi.org/10.1128/JB.185.15.4499-4507.2003>.
- Bordenstein, Seth R., et William S. Reznikoff. 2005. « Mobile DNA in Obligate Intracellular Bacteria ». *Nature Reviews Microbiology* 3 (9): 688. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1233>.
- Borukhov, Sergei, et Evgeny Nudler. 2008. « RNA polymerase: the vehicle of transcription ». *Trends in Microbiology* 16 (3): 126-34. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.006>.
- Boutoille, David, Stéphane Corvec, Nathalie Caroff, Cécile Giraudeau, Eric Espaze, Jocelyne Caillon, Patrick Plésiat, et Alain Reynaud. 2004. « Detection of an IS21 Insertion Sequence in the MexR Gene of Pseudomonas Aeruginosa Increasing β -Lactam Resistance ». *FEMS Microbiology Letters* 230 (1): 143-46. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00882-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00882-6).
- Bown, J. A., K. A. Barne, S. D. Minchin, et S. J. W. Busby. 1997. « Extended —10 Promoters ». In *Mechanisms of Transcription*, 41-52. Nucleic Acids and Molecular Biology. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-60691-5_4.
- Boyd, D. A., J. Conly, H. Dedier, G. Peters, L. Robertson, E. Slater, et M. R. Mulvey. 2000. « Molecular Characterization of the VanD Gene Cluster and a Novel Insertion Element in a Vancomycin-Resistant Enterococcus Isolated in Canada ». *Journal of Clinical Microbiology* 38 (6): 2392-94.
- Boyd, David, Axel Cloeckert, Elisabeth Chaslus-Dancla, et Michael R. Mulvey. 2002. « Characterization of Variant Salmonella Genomic Island 1 Multidrug Resistance



- Regions from Serovars Typhimurium DT104 and Agona ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (6): 1714-22. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1714-1722.2002>.
- Boyd, David, Geoffrey A. Peters, Axel Cloeckert, Karim Sidi Boumedine, Elisabeth Chaslus-Dancla, Hein Imberechts, et Michael R. Mulvey. 2001. « Complete Nucleotide Sequence of a 43-Kilobase Genomic Island Associated with the Multidrug Resistance Region of Salmonella Enterica Serovar Typhimurium DT104 and Its Identification in Phage Type DT120 and Serovar Agona ». *Journal of Bacteriology* 183 (19): 5725-32. <https://doi.org/10.1128/JB.183.19.5725-5732.2001>.
- Briggs, C. E., et P. M. Fratamico. 1999. « Molecular Characterization of an Antibiotic Resistance Gene Cluster of Salmonella Typhimurium DT104 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43 (4): 846-49.
- Brinkman, Arie B., Thijs J. G. Ettema, Willem M. de Vos, et John van der Oost. 2003. « The Lrp Family of Transcriptional Regulators ». *Molecular Microbiology* 48 (2): 287-94.
- Brown, Nigel L., Jivko V. Stoyanov, Stephen P. Kidd, et Jon L. Hobman. 2003. « The MerR Family of Transcriptional Regulators ». *FEMS Microbiology Reviews* 27 (2-3): 145-63. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00051-2](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00051-2).
- Browning, D. F., J. A. Cole, et S. J. Busby. 2000. « Suppression of FNR-Dependent Transcription Activation at the Escherichia Coli Nir Promoter by Fis, IHF and H-NS: Modulation of Transcription Initiation by a Complex Nucleo-Protein Assembly ». *Molecular Microbiology* 37 (5): 1258-69.
- Browning, Douglas F., Christine M. Beatty, Alan J. Wolfe, Jeffrey A. Cole, et Stephen J. W. Busby. 2002. « Independent Regulation of the Divergent Escherichia Coli NrfA and AcsP1 Promoters by a Nucleoprotein Assembly at a Shared Regulatory Region ». *Molecular Microbiology* 43 (3): 687-701.
- Browning, Douglas F., et Stephen J. W. Busby. 2004. « The Regulation of Bacterial Transcription Initiation ». *Nature Reviews Microbiology* 2 (1): 57-65. <https://doi.org/10.1038/nrmicro787>.
- Browning, Douglas F., Jeffrey A. Cole, et Stephen J. W. Busby. 2004. « Transcription Activation by Remodelling of a Nucleoprotein Assembly: The Role of NarL at the FNR-Dependent Escherichia Coli Nir Promoter ». *Molecular Microbiology* 53 (1): 203-15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04104.x>.
- Browning, Douglas F., David J. Lee, Alan J. Wolfe, Jeffrey A. Cole, et Stephen J. W. Busby. 2006. « The Escherichia Coli K-12 NarL and NarP Proteins Insulate the Nrf Promoter from the Effects of Integration Host Factor ». *Journal of Bacteriology* 188 (21): 7449-56. <https://doi.org/10.1128/JB.00975-06>.
- Bruton, C. J., et K. F. Chater. 1987. « Nucleotide Sequence of IS110, an Insertion Sequence of Streptomyces Coelicolor A3(2) ». *Nucleic Acids Research* 15 (17): 7053-65.
- Burgess, R. R., A. A. Travers, J. J. Dunn, et E. K. Bautz. 1969. « Factor Stimulating Transcription by RNA Polymerase ». *Nature* 221 (5175): 43-46.
- Burr, Tom, Jennie Mitchell, Annie Kolb, Steve Minchin, et Steve Busby. 2000. « DNA Sequence Elements Located Immediately Upstream of the -10 Hexamer in Escherichia Coli Promoters: A Systematic Study ». *Nucleic Acids Research* 28 (9): 1864-70. <https://doi.org/10.1093/nar/28.9.1864>.
- Burrus, Vincent, et Matthew K. Waldor. 2004. « Shaping Bacterial Genomes with Integrative and Conjugative Elements ». *Research in Microbiology* 155 (5): 376-86. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2004.01.012>.



- Bykowski, Tomasz, et Agnieszka Sirko. 1998. « Selected phenotypes of ihf mutants of *Escherichia coli* ». *Biochimie* 80 (12): 987-1001. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(99\)80004-2](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(99)80004-2).
- Cai, Sheng Jian, et Masayori Inouye. 2002. « EnvZ-OmpR Interaction and Osmoregulation in *Escherichia Coli* ». *The Journal of Biological Chemistry* 277 (27): 24155-61. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110715200>.
- Calvo, J. M., et R. G. Matthews. 1994. « The Leucine-Responsive Regulatory Protein, a Global Regulator of Metabolism in *Escherichia Coli*. » *Microbiological Reviews* 58 (3): 466-90.
- Campbell, E. A., N. Korzheva, A. Mustaev, K. Murakami, S. Nair, A. Goldfarb, et S. A. Darst. 2001. « Structural Mechanism for Rifampicin Inhibition of Bacterial Rna Polymerase ». *Cell* 104 (6): 901-12.
- Campbell, Elizabeth A., Oriana Muzzin, Mark Chlenov, Jing L. Sun, C. Anders Olson, Oren Weinman, Michelle L. Trester-Zedlitz, et Seth A. Darst. 2002. « Structure of the Bacterial RNA Polymerase Promoter Specificity σ Subunit ». *Molecular Cell* 9 (3): 527-39. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00470-7](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00470-7).
- Cannatelli, Antonio, Tommaso Giani, Marco Maria D'Andrea, Vincenzo Di Pilato, Fabio Arena, Viola Conte, Kyriaki Tryfinopoulou, the COLGRIT Study Group, Alkiviadis Vatopoulos, et Gian Maria Rossolini. 2014. « MgrB Inactivation Is a Common Mechanism of Colistin Resistance in KPC Carbapenemase-Producing *Klebsiella Pneumoniae* of Clinical Origin ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, juillet, AAC.03110-14. <https://doi.org/10.1128/AAC.03110-14>.
- Cattoir, V., L. Poirel, et P. Nordmann. 2008. « Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Pump QepA2 in an *Escherichia Coli* Isolate from France ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52 (10): 3801-4. <https://doi.org/10.1128/AAC.00638-08>.
- Chalmers, R., A. Guhathakurta, H. Benjamin, et N. Kleckner. 1998. « IHF Modulation of Tn10 Transposition: Sensory Transduction of Supercoiling Status via a Proposed Protein/DNA Molecular Spring ». *Cell* 93 (5): 897-908.
- Chandler, Michael, Fernando de la Cruz, Fred Dyda, Alison B. Hickman, Gabriel Moncalian, et Bao Ton-Hoang. 2013. « Breaking and Joining Single-Stranded DNA: The HUH Endonuclease Superfamily ». *Nature Reviews Microbiology* 11 (8): 525-38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3067>.
- Chandler, Michael, Olivier Fayet, Philippe Rousseau, Bao Ton Hoang, et Guy Duval-Valentin. 2015. « Copy-out–Paste-in Transposition of IS911: A Major Transposition Pathway ». *Microbiology Spectrum* 3 (4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0031-2014>.
- Chandler, Michael, et Jacques Mahillon. 2002. « Insertion Sequences Revisited », janvier, 305-66. <https://doi.org/10.1128/9781555817954.ch15>.
- Charlier, Daniel, Jacques Piette, et Nicolas Glansdorff. 1982. « IS3 Can Function as a Mobile Promoter in *E. Coli* ». *Nucleic Acids Research* 10 (19): 5935-48. <https://doi.org/10.1093/nar/10.19.5935>.
- Chatterji, Dipankar, et Anil Kumar Ojha. 2001. « Revisiting the stringent response, ppGpp and starvation signaling ». *Current Opinion in Microbiology* 4 (2): 160-65. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00182-X](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00182-X).
- Cheng, Cancan, Jingjing Sun, Fen Zheng, Wenting Lu, Qiu Yang, et Yongyu Rui. 2016. « New Structures Simultaneously Harboring Class 1 Integron and ISCR1-Linked Resistance Genes in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria ». *BMC Microbiology* 16 (1). <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0683-x>.



- Cherepanov, P. P., et W. Wackernagel. 1995. « Gene Disruption in Escherichia Coli: TcR and KmR Cassettes with the Option of FLP-Catalyzed Excision of the Antibiotic-Resistance Determinant ». *Gene* 158 (1): 9-14.
- Chhabra, Gagan, Tanuja Upadhyaya, et Aparna Dixit. 2012. « Molecular Cloning, Sequence Analysis and Structure Modeling of OmpR, the Response Regulator of Aeromonas Hydrophila ». *Molecular Biology Reports* 39 (1): 41-50. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-0708-3>.
- Chib, Savita, et Subramony Mahadevan. 2012. « Involvement of the Global Regulator H-NS in the Survival of Escherichia Coli in Stationary Phase ». *Journal of Bacteriology* 194 (19): 5285-93. <https://doi.org/10.1128/JB.00840-12>.
- Christie-Oleza, Joseph A., Balbina Nogales, Celia Martín-Cardona, Mariana P. Lanfranconi, Sebastián Albertí, Jorge Lalucat, et Rafael Bosch. 2008. « ISPst9, an ISL3-like insertion sequence from Pseudomonas stutzeri AN10 involved in catabolic gene inactivation ». *Int. Microbiol* 11: 101–110.
- Cloekaert, A., S. Baucheron, et E. Chaslus-Dancla. 2001. « Nonenzymatic Chloramphenicol Resistance Mediated by IncC Plasmid R55 Is Encoded by a FloR Gene Variant ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45 (8): 2381-82. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.8.2381-2382.2001>.
- Cloekaert, A., S. Baucheron, G. Flaujac, S. Schwarz, C. Kehrenberg, J. L. Martel, et E. Chaslus-Dancla. 2000. « Plasmid-Mediated Florfenicol Resistance Encoded by the FloR Gene in Escherichia Coli Isolated from Cattle ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (10): 2858-60.
- Coleman, Nicholas V., Jodie Richardson-Harris, Neil L. Wilson, et Andrew J. Holmes. 2014. « Insertion Sequence ISPst4 Activates PUC Plasmid Replication in Pseudomonas Stutzeri ». *FEMS Microbiology Letters* 356 (2): 242-49. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12417>.
- Collard, J. M., A. Provoost, S. Taghavi, et M. Mergeay. 1993. « A New Type of Alcaligenes Eutrophus CH34 Zinc Resistance Generated by Mutations Affecting Regulation of the Cnr Cobalt-Nickel Resistance System. ». *Journal of Bacteriology* 175 (3): 779-84. <https://doi.org/10.1128/jb.175.3.779-784.1993>.
- Collis, C. M., et R. M. Hall. 1995. « Expression of Antibiotic Resistance Genes in the Integrated Cassettes of Integrons. ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39 (1): 155-62. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.1.155>.
- Constantinidou, Chrystala, Jon L. Hobman, Lesley Griffiths, Mala D. Patel, Charles W. Penn, Jeffrey A. Cole, et Tim W. Overton. 2006. « A Reassessment of the FNR Regulon and Transcriptomic Analysis of the Effects of Nitrate, Nitrite, NarXL, and NarQP as Escherichia Coli K12 Adapts from Aerobic to Anaerobic Growth ». *The Journal of Biological Chemistry* 281 (8): 4802-15. <https://doi.org/10.1074/jbc.M512312200>.
- Correia, F. F., S. Inouye, et M. Inouye. 1988. « A Family of Small Repeated Elements with Some Transposon-like Properties in the Genome of Neisseria Gonorrhoeae. ». *Journal of Biological Chemistry* 263 (25): 12194-98.
- Courcelle, Justin, Arkady Khodursky, Brian Peter, Patrick O. Brown, et Philip C. Hanawalt. 2001. « Comparative gene expression profiles following UV exposure in wild-type and SOS-deficient Escherichia coli ». *Genetics* 158 (1): 41–64.
- Couto, Isabel, Shang Wei Wu, Alexander Tomasz, et Hermínia de Lencastre. 2003. « Development of Methicillin Resistance in Clinical Isolates of Staphylococcus Sciuri by Transcriptional Activation of the MecA Homologue Native to the



- Species ». *Journal of Bacteriology* 185 (2): 645-53. <https://doi.org/10.1128/JB.185.2.645-653.2003>.
- Coyne, S., P. Courvalin, et M. Galimand. 2010. « Acquisition of Multidrug Resistance Transposon Tn6061 and IS6100-Mediated Large Chromosomal Inversions in *Pseudomonas Aeruginosa* Clinical Isolates ». *Microbiology* 156 (5): 1448-58. <https://doi.org/10.1099/mic.0.033639-0>.
- Craig, Nancy L., Alan M. Lambowitz, Robert Craigie, et Martin Gellert, éd. 2002. *Mobile DNA II*. American Society of Microbiology. <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555817954>.
- Crooks, Gavin E., Gary Hon, John-Marc Chandonia, et Steven E. Brenner. 2004. « WebLogo: A Sequence Logo Generator ». *Genome Research* 14 (6): 1188-90. <https://doi.org/10.1101/gr.849004>.
- Curcio, M. Joan, et Keith M. Derbyshire. 2003. « The Outs and Ins of Transposition: From Mu to Kangaroo ». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 4 (11): 865. <https://doi.org/10.1038/nrm1241>.
- Darmon, Elise, et David R. F. Leach. 2014. « Bacterial Genome Instability ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR* 78 (1): 1-39. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00035-13>.
- Davis, John K., George C. Paoli, Zhongqi He, Lloyd J. Nadeau, Charles C. Somerville, et Jim C. Spain. 2000. « Sequence Analysis and Initial Characterization of Two Isozymes of Hydroxylaminobenzene Mutase from *Pseudomonas Pseudoalcaligenes* JS45 ». *Applied and Environmental Microbiology* 66 (7): 2965-71. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.7.2965-2971.2000>.
- Depardieu, F., P. E. Reynolds, et P. Courvalin. 2003. « VanD-Type Vancomycin-Resistant *Enterococcus Faecium* 10/96A ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47 (1): 7-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.1.7-18.2003>.
- Dhavan, Gauri M., Donald M. Crothers, Mark R. Chance, et Michael Brenowitz. 2002. « Concerted Binding and Bending of DNA by *Escherichia Coli* Integration Host Factor ». *Journal of Molecular Biology* 315 (5): 1027-37. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5303>.
- Dobrindt, Ulrich, Bianca Hochhut, Ute Hentschel, et Jörg Hacker. 2004. « Genomic Islands in Pathogenic and Environmental Microorganisms ». *Nature Reviews. Microbiology* 2 (5): 414-24. <https://doi.org/10.1038/nrmicro884>.
- Doi, Yohei, Naohiro Shibata, Keigo Shibayama, Kazunari Kamachi, Hiroshi Kurokawa, Keiko Yokoyama, Tetsuya Yagi, et Yoshichika Arakawa. 2002. « Characterization of a Novel Plasmid-Mediated Cephalosporinase (CMY-9) and Its Genetic Environment in an *Escherichia Coli* Clinical Isolate ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (8): 2427-34. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2427-2434.2002>.
- Domagk, Gerhard. 1935. « A Contribution to the Chemotherapy of Bacterial Infections ». *Classics in Infections Diseases* 8 (1): 163-66.
- Dorel, Corinne, Philippe Lejeune, et Agnès Rodrigue. 2006. « The Cpx system of *Escherichia coli*, a strategic signaling pathway for confronting adverse conditions and for settling biofilm communities? » *Research in microbiology* 157 (4): 306-14.
- Dorman, C. J., et C. F. Higgins. 1987. « Fimbrial Phase Variation in *Escherichia Coli*: Dependence on Integration Host Factor and Homologies with Other Site-Specific Recombinases. » *Journal of Bacteriology* 169 (8): 3840-43. <https://doi.org/10.1128/jb.169.8.3840-3843.1987>.



- Dorman, Charles J., Niamh Ni Bhriain, et Christopher F. Higgins. 1990. « DNA Supercoiling and Environmental Regulation of Virulence Gene Expression in *Shigella Flexneri* ». *Nature* 344 (6268): 789-92. <https://doi.org/10.1038/344789a0>.
- Doublet, Benoît, Patrick Butaye, Hein Imberechts, David Boyd, Michael R. Mulvey, Elisabeth Chaslus-Dancla, et Axel Cloeckaert. 2004. « Salmonella Genomic Island 1 Multidrug Resistance Gene Clusters in Salmonella Enterica Serovar Agona Isolated in Belgium in 1992 to 2002 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (7): 2510-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.7.2510-2517.2004>.
- Dove Simon L., Darst Seth A., et Hochschild Ann. 2003. « Region 4 of σ as a target for transcription regulation ». *Molecular Microbiology* 48 (4): 863-74. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03467.x>.
- Duyne, Gregory D. van. 2015. « Cre Recombinase ». In *Microbiology Spectrum*. Vol. 3. <http://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0014-2014>.
- Ebright, R. H. 1993. « Transcription Activation at Class I CAP-Dependent Promoters ». *Molecular Microbiology* 8 (5): 797-802.
- Eichenbaum, Zehava, et Zvi Livneh. 1998. « UV light induces IS10 transposition in *Escherichia coli* ». *Genetics* 149 (3): 1173–1181.
- Espéli, Olivier, Laurent Moulin, et Frédéric Boccard. 2001. « Transcription attenuation associated with bacterial repetitive extragenic BIME elements » Edited by I. B. Holland ». *Journal of Molecular Biology* 314 (3): 375-86. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5150>.
- Faith, Jeremiah J., Boris Hayete, Joshua T. Thaden, Ilaria Mogno, Jamey Wierzbowski, Guillaume Cottarel, Simon Kasif, James J. Collins, et Timothy S. Gardner. 2007. « Large-Scale Mapping and Validation of *Escherichia Coli* Transcriptional Regulation from a Compendium of Expression Profiles ». *PLOS Biology* 5 (1): e8. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050008>.
- Felipe, F. López de, P. López, C. Magni, et D. de Mendoza. 1996. « Transcriptional Activation of the Citrate Permease P Gene Of *Lactococcus Lactis* Biovar *diacetylactis* by an Insertion Sequence-like Element Present in Plasmid PCIT264 ». *Molecular and General Genetics MGG* 250 (4): 428-36. <https://doi.org/10.1007/BF02174031>.
- Feng, Xiaofeng, et Sean D. Colloms. 2007. « In Vitro Transposition of ISY100, a Bacterial Insertion Sequence Belonging to the Tc1/Mariner Family ». *Molecular Microbiology* 65 (6): 1432-43. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05842.x>.
- Fernández de Henestrosa, Antonio R., Tomoo Ogi, Sayura Aoyagi, David Chafin, Jeffrey J. Hayes, Haruo Ohmori, et Roger Woodgate. 2000. « Identification of additional genes belonging to the LexA regulon in *Escherichia coli* ». *Molecular microbiology* 35 (6): 1560–1572.
- Feschotte, Cédric, Xiaoyu Zhang, et Susan R. Wessler. 2002. « Miniature Inverted-Repeat Transposable Elements and Their Relationship to Established DNA Transposons », janvier, 1147-58. <https://doi.org/10.1128/9781555817954.ch50>.
- Fiandt, M., W. Szybalski, et M. H. Malamy. 1972. « Polar Mutations in *lac*, *Gal* and Phage λ Consist of a Few IS-DNA Sequences Inserted with Either Orientation ». *Molecular and General Genetics MGG* 119 (3): 223-31. <https://doi.org/10.1007/BF00333860>.



- Fiedler, U., et V. Weiss. 1995. « A Common Switch in Activation of the Response Regulators NtrC and PhoB: Phosphorylation Induces Dimerization of the Receiver Modules ». *The EMBO Journal* 14 (15): 3696-3705.
- Fleming, Alexander. 1929. « On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzae ». *British journal of experimental pathology* 10 (3): 226-36.
- Forst, S., J. Delgado, A. Rampersaud, et M. Inouye. 1990. « In Vivo Phosphorylation of OmpR, the Transcription Activator of the OmpF and OmpC Genes in Escherichia Coli ». *Journal of Bacteriology* 172 (6): 3473-77.
- Foster, Timothy J., Michael A. Davis, Denise E. Roberts, Kenichi Takeshita, et Nancy Kleckner. 1981. « Genetic organization of transposon Tn10 ». *Cell* 23 (1): 201-13. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(81\)90285-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(81)90285-3).
- Freundlich, M., N. Ramani, E. Mathew, A. Sirko, et P. Tsui. 1992. « The Role of Integration Host Factor in Gene Expression in Escherichia Coli ». *Molecular Microbiology* 6 (18): 2557-63.
- Freundlich, M, et P Tsui. 1983. « Integration Host Factor May Be a General Metabolic Regulator in Escherichia-Coli ». In , 42:2041-2041. FEDERATION AMER SOC EXP BIOL 9650 ROCKVILLE PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998.
- Friedman, D I, E R Olson, C Georgopoulos, K Tilly, I Herskowitz, et F Banuett. 1984. « Interactions of bacteriophage and host macromolecules in the growth of bacteriophage lambda. » *Microbiological Reviews* 48 (4): 299-325.
- Frost, Laura S., Raphael Leplae, Anne O. Summers, et Ariane Toussaint. 2005. « Mobile genetic elements: the agents of open source evolution ». *Nature Reviews Microbiology* 3 (9): 722-32. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1235>.
- Fujimura, Takaji, et Kazuhisa Murakami. 2008. « Staphylococcus Aureus Clinical Isolate with High-Level Methicillin Resistance with an LytH Mutation Caused by IS1182 Insertion ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52 (2): 643-47. <https://doi.org/10.1128/AAC.00395-07>.
- Furuya, E. Yoko, et Franklin D. Lowy. 2006. « Antimicrobial-Resistant Bacteria in the Community Setting ». *Nature Reviews. Microbiology* 4 (1): 36-45. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1325>.
- Galas, D, et M Chandler. 1989. « Bacterial insertion sequences ». In *Mobile DNA I*, 109. Am. Soc. Microbiol., Washington, DC.
- Gama-Castro, Socorro, Heladia Salgado, Alberto Santos-Zavaleta, Daniela Ledezma-Tejeida, Luis Muñiz-Rascado, Jair Santiago García-Sotelo, Kevin Alquicira-Hernández, et al. 2016. « RegulonDB Version 9.0: High-Level Integration of Gene Regulation, Coexpression, Motif Clustering and Beyond ». *Nucleic Acids Research* 44 (D1): D133-143. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1156>.
- Gamas, Pascal, Michael G. Chandler, Pierre Prentki, et David J. Galas. 1987. « Escherichia coli integration host factor binds specifically to the ends of the insertion sequence IS1 and to its major insertion hot-spot in pBR322 ». *Journal of Molecular Biology* 195 (2): 261-72. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(87\)90648-6](https://doi.org/10.1016/0022-2836(87)90648-6).
- Garcillán-Barcia, M. Pilar, Irantzu Bernales, M. Victoria Mendiola, et Fernando De La Cruz. 2002. « IS91 Rolling-Circle Transposition ». In *Mobile DNA II*, 891-904. <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555817954.chap37>.
- Garcillán-Barcia, María Pilar, María Victoria Francia, et Fernando de La Cruz. 2009. « The Diversity of Conjugative Relaxases and Its Application in Plasmid Classification ».



FEMS Microbiology Reviews 33 (3): 657-87. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00168.x>.

- Garnier, Fabien, Rajendra Prasad Janapatla, Emmanuelle Charpentier, Geoffrey Masson, Carole Grélaud, Jean François Stach, François Denis, et Marie-Cécile Ploy. 2007. « Insertion Sequence 1515 in the Ply Gene of a Type 1 Clinical Isolate of *Streptococcus Pneumoniae* Abolishes Pneumolysin Expression ». *Journal of Clinical Microbiology* 45 (7): 2296-97. <https://doi.org/10.1128/JCM.02168-06>.
- Garnier, Fabien, Nabil Raked, Amy Gassama, François Denis, et Marie-Cécile Ploy. 2006. « Genetic Environment of Quinolone Resistance Gene qnrB2 in a Complex sul1-Type Integron in the Newly Described *Salmonella enterica* Serovar Keurmassar ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (9): 3200-3202. <https://doi.org/10.1128/AAC.00293-06>.
- Geanacopoulos, M., et S. Adhya. 1997. « Functional Characterization of Roles of GalR and GalS as Regulators of the Gal Regulon. » *Journal of Bacteriology* 179 (1): 228-34. <https://doi.org/10.1128/jb.179.1.228-234.1997>.
- Geisinger, Edward, Rajan P. Adhikari, Ruzhong Jin, Hope F. Ross, et Richard P. Novick. 2006. « Inhibition of Rot Translation by RNAIII, a Key Feature of Agr Function ». *Molecular Microbiology* 61 (4): 1038-48. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05292.x>.
- Gerken, Henri, Emily S Charlson, Elisha M Cicirelli, Linda J Kenney, et Rajeev Misra. 2009. « MzrA: a novel modulator of the EnvZ/OmpR two-component regulon ». *Molecular Microbiology* 72 (6): 1408-22. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.06728.x>.
- Gerken, Henri, et Rajeev Misra. 2010. « MzrA-EnvZ Interactions in the Periplasm Influence the EnvZ/OmpR Two-Component Regulon ». *Journal of Bacteriology* 192 (23): 6271-78. <https://doi.org/10.1128/JB.00855-10>.
- Gil García, Rosario, Eugenio Belda Cuesta, María José Gosalbes Soler, Luis Delaye, Agnès Vallier, Carole Vincent-Monégat, Abdelaziz Heddi, Francisco J. Silva Moreno, Andrés Moya, et Amparo Latorre. 2008. « Massive Presence of Insertion Sequences in the Genome of SOPE, the Primary Endosymbiont of the Rice Weevil *Sitophilus Oryzae* ». *GIL GARCIA, Rosario; Belda Cuesta, Eugenio; Gosalbes Soler, María José; Delaye, Luis; Vallier, Agnès; Vincent-Monégat, Carole; Heddi, Abdelaziz; Silva Moreno, Francisco J.; Moya Simarro, Andres; Latorre Castillo, Desamparados, 2008, Massive Presence of Insertion Sequences in the Genome of SOPE, the Primary Endosymbiont of the Rice Weevil Sitophilus Oryzae, International Microbiology, Vol. 11, No. 1, p. 41-48.* <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.43>.
- Gillings, Michael R. 2014. « Integrons: Past, Present, and Future ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR* 78 (2): 257-77. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00056-13>.
- Gleckman, R., N. Blagg, et D. W. Joubert. 1981. « Trimethoprim: Mechanisms of Action, Antimicrobial Activity, Bacterial Resistance, Pharmacokinetics, Adverse Reactions, and Therapeutic Indications ». *Pharmacotherapy* 1 (1): 14-20.
- Goldberg, M. D., M. Johnson, J. C. Hinton, et P. H. Williams. 2001. « Role of the Nucleoid-Associated Protein Fis in the Regulation of Virulence Properties of Enteropathogenic *Escherichia Coli* ». *Molecular Microbiology* 41 (3): 549-59.
- Gottesman, Susan. 1984. « Bacterial Regulation: Global Regulatory Networks ». *Annual Review of Genetics* 18 (1): 415-41. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.18.120184.002215>.



- Govantes, F., A. V. Orjalo, et R. P. Gunsalus. 2000. « Interplay between Three Global Regulatory Proteins Mediates Oxygen Regulation of the Escherichia Coli Cytochrome d Oxidase (CydAB) Operon ». *Molecular Microbiology* 38 (5): 1061-73.
- Grass, Gregor, Cornelia Große, et Dietrich H. Nies. 2000. « Regulation of the Cnr Cobalt and Nickel Resistance Determinant from Ralstonia Sp. Strain CH34 ». *Journal of Bacteriology* 182 (5): 1390-98. <https://doi.org/10.1128/JB.182.5.1390-1398.2000>.
- Grasso, Letizia Lo, Delia Chillura Martino, et Rosa Alduina. 2016. « Production of Antibacterial Compounds from Actinomycetes ». *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. <https://doi.org/10.5772/61525>.
- Grindley, Nigel D. F., Katrine L. Whiteson, et Phoebe A. Rice. 2006. « Mechanisms of Site-Specific Recombination ». *Annual Review of Biochemistry* 75 (1): 567-605. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073908>.
- Gross, C. A., C. Chan, A. Dombroski, T. Gruber, M. Sharp, J. Tupy, et B. Young. 1998. « The Functional and Regulatory Roles of Sigma Factors in Transcription ». *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 63: 141-55.
- Gross, R., B. Aricò, et R. Rappuoli. 1989. « Families of Bacterial Signal-Transducing Proteins ». *Molecular Microbiology* 3 (11): 1661-67.
- Gross, Roy, Carlos A. Guzman, Mohammed Sebahia, Vítor A. P. Martins dos Santos, Dietmar H. Pieper, Ralf Koebnik, Melanie Lechner, et al. 2008. « The Missing Link: Bordetella Petrii Is Endowed with Both the Metabolic Versatility of Environmental Bacteria and Virulence Traits of Pathogenic Bordetellae ». *BMC Genomics* 9 (septembre): 449. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-449>.
- Grote, Andreas, Johannes Klein, Ida Retter, Isam Haddad, Susanne Behling, Boyke Bunk, Ilona Biegler, Svitlana Yarmolinetz, Dieter Jahn, et Richard Münch. 2009. « PRODORIC (Release 2009): A Database and Tool Platform for the Analysis of Gene Regulation in Prokaryotes ». *Nucleic Acids Research* 37 (Database issue): D61-65. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn837>.
- Gruss, A., et S. D. Ehrlich. 1989. « The Family of Highly Interrelated Single-Stranded Deoxyribonucleic Acid Plasmids ». *Microbiological Reviews* 53 (2): 231-41.
- Guasch, Alicia, María Lucas, Gabriel Moncalián, Matilde Cabezas, Rosa Pérez-Luque, F. Xavier Gomis-Rüth, Fernando de la Cruz, et Miquel Coll. 2003. « Recognition and Processing of the Origin of Transfer DNA by Conjugative Relaxase TrwC ». *Nature Structural & Molecular Biology* 10 (12): 1002-10. <https://doi.org/10.1038/nsb1017>.
- Guerin, E., G. Cambray, N. Sanchez-Alberola, S. Campoy, I. Erill, S. Da Re, B. Gonzalez-Zorn, J. Barbe, M.-C. Ploy, et D. Mazel. 2009. « The SOS Response Controls Integron Recombination ». *Science* 324 (5930): 1034-1034. <https://doi.org/10.1126/science.1172914>.
- Gunsalus, R. P., et S. J. Park. 1994. « Aerobic-Anaerobic Gene Regulation in Escherichia Coli: Control by the ArcAB and Fnr Regulons ». *Research in Microbiology* 145 (5-6): 437-50.
- Guynet, Catherine, Alison Burgess Hickman, Orsolya Barabas, Fred Dyda, Michael Chandler, et Bao Ton-Hoang. 2008. « In Vitro Reconstitution of a Single-Stranded Transposition Mechanism of IS608 ». *Molecular Cell* 29 (3): 302-12. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.12.008>.
- Haensch, Stephanie, Raffaella Bianucci, Michel Signoli, Minoarisoa Rajerison, Michael Schultz, Sacha Kacki, Marco Vermunt, et al. 2010. « Distinct Clones of Yersinia Pestis Caused the Black Death ». *PLOS Pathogens* 6 (10): e1001134. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001134>.



- Hall, Ruth M. 2007. « Mobile Gene Cassettes and Integrons: Moving Antibiotic Resistance Genes in Gram-Negative Bacteria ». In *Ciba Foundation Symposium 207 - Antibiotic Resistance: Origins, Evolution, Selection and Spread*, édité par Derek J. Chadwick Organizer et Jamie Goode, 192-205. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470515358.ch12>.
- Haluzi, H., D. Goitein, S. Koby, I. Mendelson, D. Teff, G. Mengeritsky, H. Giladi, et A. B. Oppenheim. 1991. « Genes Coding for Integration Host Factor Are Conserved in Gram-Negative Bacteria. » *Journal of Bacteriology* 173 (19): 6297-99. <https://doi.org/10.1128/jb.173.19.6297-6299.1991>.
- Hampsey, Michael. 2001. « Omega meets its match ». *Trends in Genetics* 17 (4): 190-91.
- Han, Hyun-Ja, Asaomi Kuwae, Akio Abe, Yoshichika Arakawa, et Kazunari Kamachi. 2011. « Differential Expression of Type III Effector BteA Protein Due to IS481 Insertion in *Bordetella Pertussis* ». *PLOS ONE* 6 (3): e17797. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017797>.
- Harbeck, Michaela, Lisa Seifert, Stephanie Hänsch, David M. Wagner, Dawn Birdsell, Katy L. Parise, Ingrid Wiechmann, et al. 2013. « *Yersinia Pestis* DNA from Skeletal Remains from the 6th Century AD Reveals Insights into Justinianic Plague ». *PLOS Pathogens* 9 (5): e1003349. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003349>.
- Harmer, C. J., K. E. Holt, et R. M. Hall. 2014. « A Type 2 A/C2 Plasmid Carrying the *AacC4* Apramycin Resistance Gene and the *Erm(42)* Erythromycin Resistance Gene Recovered from Two *Salmonella Enterica* Serovars ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, décembre. <https://doi.org/10.1093/jac/dku489>.
- Harmer, Christopher J., et Ruth M. Hall. 2015. « IS26-Mediated Precise Excision of the IS26-aphA1a Translocatable Unit ». *mBio* 6 (6). <https://doi.org/10.1128/mBio.01866-15>.
- Hawley, Diane K., et William R. McClure. 1983. « Compilation and Analysis of *Escherichia Coli* Promoter DNA Sequences ». *Nucleic Acids Research* 11 (8): 2237-55. <https://doi.org/10.1093/nar/11.8.2237>.
- Hedges, R. W., et A. E. Jacob. 1974. « Transposition of Ampicillin Resistance from RP4 to Other Replicons ». *Molecular and General Genetics MGG* 132 (1): 31-40. <https://doi.org/10.1007/BF00268228>.
- Heffron, F., R. Sublett, R. W. Hedges, A. Jacob, et S. Falkow. 1975. « Origin of the TEM-Beta-Lactamase Gene Found on Plasmids. » *Journal of Bacteriology* 122 (1): 250-56.
- Helmann, JD. 1994. « Bacterial sigma factors ». *Transcription: mechanisms and regulation*. Raven Press, New York, NY, 1-17.
- Helmann, John D. 2002. « The extracytoplasmic function (ECF) sigma factors ». In *Advances in Microbial Physiology*, 46:47-110. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2911\(02\)46002-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2911(02)46002-X).
- Helmann, John D., et Michael J. Chamberlin. 1988. « Structure and Function of Bacterial Sigma Factors ». *Annual Review of Biochemistry* 57 (1): 839-72. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.57.070188.004203>.
- Henderson, D. J., D. J. Lydiate, et D. A. Hopwood. 1989. « Structural and Functional Analysis of the Mini-Circle, a Transposable Element of *Streptomyces Coelicolor* A3(2) ». *Molecular Microbiology* 3 (10): 1307-18.
- Henikoff, S., J. C. Wallace, et J. P. Brown. 1990. « Finding Protein Similarities with Nucleotide Sequence Databases ». *Methods in Enzymology* 183: 111-32.



- Hernández-Allés, Santiago, Vicente J. Benedí, Luis Martínez-Martínez, Álvaro Pascual, Alicia Aguilar, Juan M. Tomás, et Sebastián Albertí. 1999. « Development of Resistance during Antimicrobial Therapy Caused by Insertion Sequence Interruption of Porin Genes ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43 (4): 937-39.
- Hickman, Alison B., et Fred Dyda. 2015. « Mechanisms of DNA Transposition ». In *Mobile DNA III*, édité par Alan M. Lambowitz, Martin Gellert, Michael Chandler, Nancy L. Craig, Suzanne B. Sandmeyer, et Phoebe A. Rice, 531-53. American Society of Microbiology.
<http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555819217.chap25>.
- Hickman, Alison Burgess, Donald R Ronning, Robert M Kotin, et Fred Dyda. 2002. « Structural Unity among Viral Origin Binding Proteins: Crystal Structure of the Nuclease Domain of Adeno-Associated Virus Rep ». *Molecular Cell* 10 (2): 327-37.
[https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00592-0](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00592-0).
- Hickman, Alison Burgess, Shani Waninger, John J Scocca, et Fred Dyda. 1997. « Molecular Organization in Site-Specific Recombination: The Catalytic Domain of Bacteriophage HP1 Integrase at 2.7 Å Resolution ». *Cell* 89 (2): 227-37.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80202-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80202-0).
- Higashitani, A., Y. Nishimura, H. Hara, H. Aiba, T. Mizuno, et K. Horiuchi. 1993. « Osmoregulation of the Fatty Acid Receptor Gene FadL in Escherichia Coli ». *Molecular & General Genetics: MGG* 240 (3): 339-47.
- Hirakawa, Hidetada, Yoshihiko Inazumi, Yasuko Senda, Asuka Kobayashi, Takahiro Hirata, Kunihiko Nishino, et Akihito Yamaguchi. 2006. « N-Acetyl-d-Glucosamine Induces the Expression of Multidrug Exporter Genes, MdtEF, via Catabolite Activation in Escherichia Coli ». *Journal of Bacteriology* 188 (16): 5851-58.
<https://doi.org/10.1128/JB.00301-06>.
- Hirsch, H. J., H. Saedler, et P. Starlinger. 1972. « Insertion Mutations in the Control Region of the Galactose Operon of *E. Coli* ». *Molecular and General Genetics MGG* 115 (3): 266-76.
<https://doi.org/10.1007/BF00268890>.
- Hirsch, Matthew, et Thomas Elliott. 2005. « Fis Regulates Transcriptional Induction of RpoS in Salmonella Enterica ». *Journal of Bacteriology* 187 (5): 1568-80.
<https://doi.org/10.1128/JB.187.5.1568-1580.2005>.
- Hochhut, Bianca, Yasmin Lotfi, Didier Mazel, Shah M. Faruque, Roger Woodgate, et Matthew K. Waldor. 2001. « Molecular Analysis of Antibiotic Resistance Gene Clusters in Vibrio Cholerae O139 and O1 SXT Constins ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45 (11): 2991-3000. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.11.2991-3000.2001>.
- Hooper, D. C. 2000. « Mechanisms of Action and Resistance of Older and Newer Fluoroquinolones ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 31 Suppl 2 (août): S24-28.
<https://doi.org/10.1086/314056>.
- Hu, S., E. Ohtsubo, et N. Davidson. 1975. « Electron Microscopic Heteroduplex Studies of Sequence Relations among Plasmids of Escherichia Coli: Structure of F13 and Related F-Primes. » *Journal of Bacteriology* 122 (2): 749-63.
- Huang, L., P. Tsui, et M. Freundlich. 1992. « Positive and Negative Control of OmpB Transcription in Escherichia Coli by Cyclic AMP and the Cyclic AMP Receptor Protein ». *Journal of Bacteriology* 174 (3): 664-70.



- Humeniuk, Christel, Guillaume Arlet, Valerie Gautier, Patrick Grimont, Roger Labia, et Alain Philippon. 2002. « β -Lactamases of *Kluyvera Ascorbata*, Probable Progenitors of Some Plasmid-Encoded CTX-M Types ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (9): 3045-49. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.9.3045-3049.2002>.
- Huovinen, P, L Sundström, G Swedberg, et O Sköld. 1995. « Trimethoprim and sulfonamide resistance. » *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39 (2): 279-89.
- Iguchi, Atsushi, Yutaka Nagaya, Elizabeth Pradel, Tadasuke Ooka, Yoshitoshi Ogura, Keisuke Katsura, Ken Kurokawa, et al. 2014. « Genome Evolution and Plasticity of *Serratia marcescens*, an Important Multidrug-Resistant Nosocomial Pathogen ». *Genome Biology and Evolution* 6 (8): 2096-2110. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu160>.
- Ishiguro, N., et G. Sato. 1988. « Nucleotide Sequence of Insertion Sequence IS3411, Which Flanks the Citrate Utilization Determinant of Transposon Tn3411. » *Journal of Bacteriology* 170 (4): 1902-6. <https://doi.org/10.1128/jb.170.4.1902-1906.1988>.
- Iuchi, S., et E. C. Lin. 1991. « Adaptation of *Escherichia Coli* to Respiratory Conditions: Regulation of Gene Expression ». *Cell* 66 (1): 5-7.
- . 1992. « Mutational Analysis of Signal Transduction by ArcB, a Membrane Sensor Protein Responsible for Anaerobic Repression of Operons Involved in the Central Aerobic Pathways in *Escherichia Coli* ». *Journal of Bacteriology* 174 (12): 3972-80.
- Jackson, Debra W., Jerry W. Simecka, et Tony Romeo. 2002. « Catabolite Repression of *Escherichia Coli* Biofilm Formation ». *Journal of Bacteriology* 184 (12): 3406-10.
- Jansson, C., et O. Sköld. 1991. « Appearance of a New Trimethoprim Resistance Gene, DhfrIX, in *Escherichia Coli* from Swine ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35 (9): 1891-99.
- Jayol, Aurélie, Laurent Poirel, Maria-Virginia Villegas, et Patrice Nordmann. 2015. « Modulation of MgrB Gene Expression as a Source of Colistin Resistance in *Klebsiella Oxytoca* ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 46 (1): 108-10. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.02.015>.
- Jellen-Ritter, A. S., et W. V. Kern. 2001. « Enhanced Expression of the Multidrug Efflux Pumps AcrAB and AcrEF Associated with Insertion Element Transposition in *Escherichia Coli* Mutants Selected with a Fluoroquinolone ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45 (5): 1467. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.5.1467-1472.2001>.
- Jeong, Eun-Lee, et Jeremy N. Timmis. 2000. « Novel Insertion Sequence Elements Associated with Genetic Heterogeneity and Phenotype Conversion in *Ralstonia Solanacearum* ». *Journal of Bacteriology* 182 (16): 4673-76. <https://doi.org/10.1128/JB.182.16.4673-4676.2000>.
- Johansson, J., C. Balsalobre, S. Y. Wang, J. Urbonaviciene, D. J. Jin, B. Sondén, et B. E. Uhlin. 2000. « Nucleoid Proteins Stimulate Stringently Controlled Bacterial Promoters: A Link between the CAMP-CRP and the (p)PpGpp Regulons in *Escherichia Coli* ». *Cell* 102 (4): 475-85.
- Johnson, R. C., M. F. Bruist, et M. I. Simon. 1986. « Host Protein Requirements for in Vitro Site-Specific DNA Inversion ». *Cell* 46 (4): 531-39.
- Jové, Thomas, Sandra Da Re, François Denis, Didier Mazel, et Marie-Cécile Ploy. 2010. « Inverse Correlation between Promoter Strength and Excision Activity in Class 1 Integrons ». *PLoS Genetics* 6 (1): e1000793. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000793>.



- Jové, Thomas, Sandra Da Re, Aurore Tabesse, Amy Gassama-Sow, et Marie-Cécile Ploy. 2017. « Gene Expression in Class 2 Integrons Is SOS-Independent and Involves Two P_c Promoters ». *Frontiers in Microbiology* 8: 1499. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01499>.
- Kamruzzaman, Muhammad, Jason D. Patterson, Shereen Shoma, Andrew N. Ginn, Sally R. Partridge, et Jonathan R. Iredell. 2015. « Relative Strengths of Promoters Provided by Common Mobile Genetic Elements Associated with Resistance Gene Expression in Gram-Negative Bacteria ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59 (8): 5088-91. <https://doi.org/10.1128/AAC.00420-15>.
- Kanamaru, K., et T. Mizuno. 1992. « Signal Transduction and Osmoregulation in Escherichia Coli: A Novel Mutant of the Positive Regulator, OmpR, That Functions in a Phosphorylation-Independent Manner ». *Journal of Biochemistry* 111 (4): 425-30.
- Kapitonov, Vladimir V., et Jerzy Jurka. 2001. « Rolling-Circle Transposons in Eukaryotes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (15): 8714-19. <https://doi.org/10.1073/pnas.151269298>.
- Karpen, Mary E., et Pieter L. deHaseth. 2015. « Base Flipping in Open Complex Formation at Bacterial Promoters ». *Biomolecules* 5 (2): 668-78. <https://doi.org/10.3390/biom5020668>.
- Katayama, Yuki, Teruyo Ito, et Keiichi Hiramatsu. 2001. « Genetic Organization of the Chromosome Region Surrounding MecA in Clinical Staphylococcal Strains: Role of IS431-Mediated Mecl Deletion in Expression of Resistance in MecA-Carrying, Low-Level Methicillin-Resistant Staphylococcus Haemolyticus ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45 (7): 1955-63. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.7.1955-1963.2001>.
- Keenholtz, Ross A., Kent W. Mouw, Martin R. Boocock, Nan-Sheng Li, Joseph A. Piccirilli, et Phoebe A. Rice. 2013. « Arginine as a General Acid Catalyst in Serine Recombinase-Mediated DNA Cleavage ». *Journal of Biological Chemistry* 288 (40): 29206-14. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.508028>.
- Keenholtz, Ross A., Sally-J. Rowland, Martin R. Boocock, W. Marshall Stark, et Phoebe A. Rice. 2011. « Structural Basis for Catalytic Activation of a Serine Recombinase ». *Structure* 19 (6): 799-809. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.03.017>.
- Kehrenberg, Corinna, et Stefan Schwarz. 2005. « Plasmid-Borne Florfenicol Resistance in Pasteurella Multocida ». *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55 (5): 773-75. <https://doi.org/10.1093/jac/dki102>.
- Keller, Andrew N., Xiao Yang, Jana Wiedermannová, Olivier Delumeau, Libor Krásný, et Peter J. Lewis. 2014. « ϵ , a New Subunit of RNA Polymerase Found in Gram-Positive Bacteria ». *Journal of Bacteriology* 196 (20): 3622-32. <https://doi.org/10.1128/JB.02020-14>.
- Kelly, Arlene, Martin D. Goldberg, Ronan K. Carroll, Vittoria Danino, Jay C. D. Hinton, et Charles J. Dorman. 2004. « A global role for Fis in the transcriptional control of metabolism and type III secretion in Salmonella enterica serovar Typhimurium ». *Microbiology* 150 (7): 2037-53. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27209-0>.
- Kersulyte, Dangeruta, Awdhesh Kalia, MaoJun Zhang, Hae-Kyung Lee, Dharmalingam Subramaniam, Levute Kiuduliene, Henrikas Chalkauskas, et Douglas E. Berg. 2004. « Sequence Organization and Insertion Specificity of the Novel Chimeric ISHp609 Transposable Element of Helicobacter Pylori ». *Journal of Bacteriology* 186 (22): 7521-28. <https://doi.org/10.1128/JB.186.22.7521-7528.2004>.



- Kersulyte, Dangeruta, Asish K. Mukhopadhyay, Mutsinori Shirai, Teruko Nakazawa, et Douglas E. Berg. 2000. « Functional Organization and Insertion Specificity of IS607, a Chimeric Element of Helicobacter Pylori ». *Journal of Bacteriology* 182 (19): 5300-5308. <https://doi.org/10.1128/JB.182.19.5300-5308.2000>.
- Kim, Eun A., et David F. Blair. 2015. « Function of the Histone-Like Protein H-NS in Motility of Escherichia Coli: Multiple Regulatory Roles Rather than Direct Action at the Flagellar Motor ». *Journal of Bacteriology* 197 (19): 3110-20. <https://doi.org/10.1128/JB.00309-15>.
- Kireeva, Maria L., et Mikhail Kashlev. 2009. « Mechanism of Sequence-Specific Pausing of Bacterial RNA Polymerase ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (22): 8900-8905. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900407106>.
- Kleckner, Nancy, Russell K. Chan, Bik-Kwoon Tye, et David Botstein. 1975. « Mutagenesis by insertion of a drug-resistance element carrying an inverted repetition ». *Journal of Molecular Biology* 97 (4): 561-75. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(75\)80059-3](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(75)80059-3).
- Klocko, Andrew D., et Karen M. Wassarman. 2009. « 6S RNA binding to $\sigma 70$ requires a positively charged surface of $\sigma 70$ region 4.2 ». *Molecular Microbiology* 73 (2): 152-64. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.06758.x>.
- Kobayashi, Kei, Norihiko Tsukagoshi, et Rikizo Aono. 2001. « Suppression of Hypersensitivity of Escherichia Coli AcrB Mutant to Organic Solvents by Integrational Activation of the AcrEF Operon with the IS1 or IS2 Element ». *Journal of Bacteriology* 183 (8): 2646. <https://doi.org/10.1128/JB.183.8.2646-2653.2001>.
- Koch, C., et R. Kahmann. 1986. « Purification and Properties of the Escherichia Coli Host Factor Required for Inversion of the G Segment in Bacteriophage Mu. » *Journal of Biological Chemistry* 261 (33): 15673-78.
- Kohler, H. P. E. 1999. « Sphingomonas Herbicidovorans MH: A Versatile Phenoxyalkanoic Acid Herbicide Degradator ». *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 23 (4-5): 336-40. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/2900751>.
- Korzheva, Nataliya, Arkady Mustaev, Maxim Kozlov, Arun Malhotra, Vadim Nikiforov, Alex Goldfarb, et Seth A. Darst. 2000. « A Structural Model of Transcription Elongation ». *Science* 289 (5479): 619-25. <https://doi.org/10.1126/science.289.5479.619>.
- Kuan, Chien-Tsun, Shi-Kau Liu, et Irwin Tessman. 1991. « Excision and transposition of Tn5 as an SOS activity in Escherichia coli. » *Genetics* 128 (1): 45-57.
- Kuan, CHIEN-TSUN, et IRWIN Tessman. 1991. « LexA protein of Escherichia coli represses expression of the Tn5 transposase gene. » *Journal of bacteriology* 173 (20): 6406-6410.
- Kwon, Hyock Joo, Radhakrishna Tirumalai, Arthur Landy, et Tom Ellenberger. 1997. « Flexibility in DNA Recombination: Structure of the Lambda Integrase Catalytic Core ». *Science* 276 (5309): 126-31. <https://doi.org/10.1126/science.276.5309.126>.
- Lacotte, Yohann, Marie-Cécile Ploy, et Sophie Raherison. 2017. « Class 1 Integrons Are Low-Cost Structures in Escherichia Coli ». *The ISME Journal* 11 (7): 1535-44. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.38>.
- Lambden, P. R., et J. R. Guest. 1976. « Mutants of Escherichia Coli K12 Unable to Use Fumarate as an Anaerobic Electron Acceptor ». *Journal of General Microbiology* 97 (2): 145-60. <https://doi.org/10.1099/00221287-97-2-145>.

- Landgraf, J. R., J. Wu, et J. M. Calvo. 1996. « Effects of Nutrition and Growth Rate on Lrp Levels in Escherichia Coli. » *Journal of Bacteriology* 178 (23): 6930-36. <https://doi.org/10.1128/jb.178.23.6930-6936.1996>.
- Landis, L., J. Xu, et R. C. Johnson. 1999. « The CAMP Receptor Protein CRP Can Function as an Osmoregulator of Transcription in Escherichia Coli ». *Genes & Development* 13 (23): 3081-91.
- Lartigue, M.-F., L. Poirel, D. Aubert, et P. Nordmann. 2006. « In Vitro Analysis of ISEcp1B-Mediated Mobilization of Naturally Occurring β -Lactamase Gene BlaCTX-M of *Kluyvera Ascorbata* ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (4): 1282-86. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1282-1286.2006>.
- Lascols, Christine, Isabelle Podglajen, Charlotte Verdet, Valérie Gautier, Laurent Gutmann, Claude-James Soussy, Ekkehard Collatz, et Emmanuelle Cambau. 2008. « A Plasmid-Borne *Shewanella* algae Gene, qnrA3, and Its Possible Transfer In Vivo between *Kluyvera ascorbata* and *Klebsiella pneumoniae* ». *Journal of Bacteriology* 190 (15): 5217-23. <https://doi.org/10.1128/JB.00243-08>.
- Laursen, Brian Søggaard, Hans Peter Sørensen, Kim Kusk Mortensen, et Hans Uffe Sperling-Petersen. 2005. « Initiation of Protein Synthesis in Bacteria ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69 (1): 101-23. <https://doi.org/10.1128/MMBR.69.1.101-123.2005>.
- Law, E C, N J Savery, et S J Busby. 1999. « Interactions between the Escherichia coli cAMP receptor protein and the C-terminal domain of the alpha subunit of RNA polymerase at class I promoters. » *Biochemical Journal* 337 (Pt 3): 415-23.
- Lawrence, Jeffrey G, Roger W Hendrix, et Sherwood Casjens. 2001. « Where are the pseudogenes in bacterial genomes? » *Trends in Microbiology* 9 (11): 535-40. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02198-9](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02198-9).
- Leclercq, Sébastien Olivier, Chao Wang, Yaxin Zhu, Hai Wu, Xiaochen Du, Zhipei Liu, et Jie Feng. 2016. « Diversity of the Tetracycline Mobilome Within a Chinese Pig Manure Sample ». *Applied and Environmental Microbiology*, août, AEM.01754-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.01754-16>.
- Lederberg, J. 1998. « Plasmid (1952-1997) ». *Plasmid* 39 (1): 1-9. <https://doi.org/10.1006/plas.1997.1320>.
- Lenz, Derrick H., et Bonnie L. Bassler. 2007. « The Small Nucleoid Protein Fis Is Involved in *Vibrio Cholerae* Quorum Sensing ». *Molecular Microbiology* 63 (3): 859-71. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05545.x>.
- Levings, Renee S., Diane Lightfoot, Sally R. Partridge, Ruth M. Hall, et Steven P. Djordjevic. 2005. « The Genomic Island SGI1, Containing the Multiple Antibiotic Resistance Region of *Salmonella Enterica* Serovar Typhimurium DT104 or Variants of It, Is Widely Distributed in Other *S. Enterica* Serovars ». *Journal of Bacteriology* 187 (13): 4401-9. <https://doi.org/10.1128/JB.187.13.4401-4409.2005>.
- Levings, Renee S., Sally R. Partridge, Steven P. Djordjevic, et Ruth M. Hall. 2007. « SGI1-K, a Variant of the SGI1 Genomic Island Carrying a Mercury Resistance Region, in *Salmonella Enterica* Serovar Kentucky ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51 (1): 317-23. <https://doi.org/10.1128/AAC.01229-06>.
- Lewin, C. S., et S. G. B. Amyes. 1991. « The role of the SOS response in bacteria exposed to zidovudine or trimethoprim ». *Journal of medical microbiology* 34 (6): 329-332.
- Lewis, Dale E. A., et Sankar Adhya. 2015. « Molecular Mechanisms of Transcription Initiation at Gal Promoters and Their Multi-Level Regulation by GalR, CRP and DNA Loop ». *Biomolecules* 5 (4): 2782-2807. <https://doi.org/10.3390/biom5042782>.

- Li, Hongyang, Timothy R. Walsh, et Mark A. Toleman. 2009. « Molecular Analysis of the Sequences Surrounding BlaOXA-45 Reveals Acquisition of This Gene by *Pseudomonas Aeruginosa* via a Novel ISCR Element, ISCR5 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53 (3): 1248-51. <https://doi.org/10.1128/AAC.00480-08>.
- Li, Juan, Ruiting Lan, Yanwen Xiong, Changyun Ye, Min Yuan, Xinfeng Liu, Xia Chen, et al. 2014. « Sequential Isolation in a Patient of *Raoultella Planticola* and *Escherichia Coli* Bearing a Novel ISCR1 Element Carrying BlaNDM-1 ». *PloS One* 9 (3): e89893. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089893>.
- Liebert, C. A., R. M. Hall, et A. O. Summers. 1999. « Transposon Tn21, Flagship of the Floating Genome ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR* 63 (3): 507-22.
- Lin, E. C., et S. Iuchi. 1991. « Regulation of Gene Expression in Fermentative and Respiratory Systems in *Escherichia Coli* and Related Bacteria ». *Annual Review of Genetics* 25: 361-87. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.25.120191.002045>.
- Lindsay, Jodi A., Alexey Ruzin, Hope F. Ross, Natasha Kurepina, et Richard P. Novick. 1998. « The Gene for Toxic Shock Toxin Is Carried by a Family of Mobile Pathogenicity Islands in *Staphylococcus Aureus* ». *Molecular Microbiology* 29 (2): 527-43. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00947.x>.
- Little, J. W. 1993. « LexA cleavage and other self-processing reactions. » *Journal of bacteriology* 175 (16): 4943.
- Little, J.W. 1991. « Mechanism of specific LexA cleavage: Autodigestion and the role of RecA coprotease ». *Biochimie* 73 (4): 411-21. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(91\)90108-D](https://doi.org/10.1016/0300-9084(91)90108-D).
- Liu, Xiao-Qin, Jing Wang, Wei Li, Li-Qing Zhao, Yan Lu, Jian-Hua Liu, et Zhen-Ling Zeng. 2017. « Distribution of cfr in *Staphylococcus* spp. and *Escherichia coli* Strains from Pig Farms in China and Characterization of a Novel cfr-Carrying F43:A:B-Plasmid ». *Frontiers in Microbiology* 8 (février). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00329>.
- Liu, Xueqiao, et Peter De Wulf. 2004. « Probing the ArcA-P Modulon of *Escherichia Coli* by Whole Genome Transcriptional Analysis and Sequence Recognition Profiling ». *The Journal of Biological Chemistry* 279 (13): 12588-97. <https://doi.org/10.1074/jbc.M313454200>.
- Lucchini, Sacha, Gary Rowley, Martin D. Goldberg, Douglas Hurd, Marcus Harrison, et Jay C. D. Hinton. 2006. « H-NS Mediates the Silencing of Laterally Acquired Genes in Bacteria ». *PLoS Pathogens* 2 (8): e81. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020081>.
- Machida, Yasunori, Chiyoko Machida, et Eiichi Ohtsubo. 1982. « A novel type of transposon generated by insertion element Is102 present in a psc101 derivative ». *Cell* 30 (1): 29-36. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(82\)90008-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(82)90008-3).
- Mahillon, Jacques, et Michael Chandler. 1998. « Insertion Sequences ». *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62 (3): 725.
- Maki, Hideki, Nadine McCallum, Markus Bischoff, Akihito Wada, et Brigitte Berger-Bächi. 2004. « TcaA Inactivation Increases Glycopeptide Resistance in *Staphylococcus Aureus* ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (6): 1953-59. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.6.1953-1959.2004>.
- Mammeri, Hedi, Marc Van De Loo, Laurent Poirel, Luis Martinez-Martinez, et Patrice Nordmann. 2005. « Emergence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in

- Escherichia Coli in Europe ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (1): 71-76. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.71-76.2005>.
- Mangan, Michael W., Sacha Lucchini, Vittoria Danino, Tadhg O. Cróinín, Jay C. D. Hinton, et Charles J. Dorman. 2006. « The Integration Host Factor (IHF) Integrates Stationary-Phase and Virulence Gene Expression in Salmonella Enterica Serovar Typhimurium ». *Molecular Microbiology* 59 (6): 1831-47. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05062.x>.
- Marcucci, L., F. Gigliani, P. A. Battaglia, R. Bosi, E. Sporeno, et R. Elli. 1986. « Cellular Response to DNA Damage Is Enhanced by the PR Plasmid in Mouse Cells and in Escherichia Coli ». *Molecular and Cellular Biology* 6 (2): 586-92.
- Martínez-Antonio, Agustino, et Julio Collado-Vides. 2003. « Identifying Global Regulators in Transcriptional Regulatory Networks in Bacteria ». *Current Opinion in Microbiology* 6 (5): 482-89. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.09.002>.
- Mataseje, L. F., G. Peirano, D. L. Church, J. Conly, M. Mulvey, et J. D. Pitout. 2016. « Colistin-Nonsusceptible Pseudomonas aeruginosa Sequence Type 654 with blaNDM-1 Arrives in North America ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 60 (3): 1794-1800. <https://doi.org/10.1128/AAC.02591-15>.
- Mattison, Kirsten, Ricardo Oropeza, Nicole Byers, et Linda J. Kenney. 2002. « A Phosphorylation Site Mutant of OmpR Reveals Different Binding Conformations at OmpF and OmpC ». *Journal of Molecular Biology* 315 (4): 497-511. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5222>.
- Mazel, Didier. 2006. « Integrons: Agents of Bacterial Evolution ». *Nature Reviews Microbiology* 4 (8): 608. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1462>.
- McCleary, W. R. 1996. « The Activation of PhoB by Acetylphosphate ». *Molecular Microbiology* 20 (6): 1155-63.
- McDonough, Kathleen A., et Janelle M. Hare. 1997. « Homology with a repeated Yersinia pestis DNA sequence IS100 correlates with pesticin sensitivity in Yersinia pseudotuberculosis. » *Journal of bacteriology* 179 (6): 2081–2085.
- McLeod, Sarah M., Sarah E. Aiyar, Richard L. Gourse, et Reid C. Johnson. 2002. « The C-Terminal Domains of the RNA Polymerase Alpha Subunits: Contact Site with Fis and Localization during Co-Activation with CRP at the Escherichia Coli ProP P2 Promoter ». *Journal of Molecular Biology* 316 (3): 517-29. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5391>.
- Meer JR, null van der, null Werlen, null Nishino, et null Spain. 1998. « Evolution of a Pathway for Chlorobenzene Metabolism Leads to Natural Attenuation in Contaminated Groundwater ». *Applied and Environmental Microbiology* 64 (11): 4185-93.
- Mendiola, M V, et F de la Cruz. 1992. « IS91 transposase is related to the rolling-circle-type replication proteins of the pUB110 family of plasmids. » *Nucleic Acids Research* 20 (13): 3521.
- Mendiola, M Victoria, Irantzu Bernales, et Fernando De La Cruz. 1994. « Differential roles of the transposon termini in IS91 transposition. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91 (5): 1922-26.
- Messing, Simon A. J., Bao Ton-Hoang, Alison B. Hickman, Andrew J. McCubbin, Graham F. Peaslee, Rodolfo Ghirlando, Michael Chandler, et Fred Dyda. 2012. « The Processing of Repetitive Extragenic Palindromes: The Structure of a Repetitive Extragenic Palindrome Bound to Its Associated Nuclease ». *Nucleic Acids Research* 40 (19): 9964-79. <https://doi.org/10.1093/nar/gks741>.



- Meyer, J., S. Iida, et W. Arber. 1980. « Does the Insertion Element IS1 Transpose Preferentially into A+T-Rich DNA Segments? » *Molecular & General Genetics: MGG* 178 (2): 471-73.
- Miller, Christine, Hanne Ingmer, Line Elnif Thomsen, Kirsten Skarstad, et Stanley N. Cohen. 2003. « DpiA Binding to the Replication Origin of Escherichia coli Plasmids and Chromosomes Destabilizes Plasmid Inheritance and Induces the Bacterial SOS Response ». *Journal of Bacteriology* 185 (20): 6025-31. <https://doi.org/10.1128/JB.185.20.6025-6031.2003>.
- Miller, Christine, Line Elnif Thomsen, Carina Gaggero, Ronen Mosseri, Hanne Ingmer, et Stanley N. Cohen. 2004. « SOS Response Induction by β -Lactams and Bacterial Defense Against Antibiotic Lethality ». *Science* 305 (5690): 1629. <https://doi.org/10.1126/science.1101630>.
- Mizuuchi, Kiyoshi, et Tania A. Baker. 2002. « Chemical Mechanisms for Mobilizing DNA ». In *Mobile DNA II*, 12-23. <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555817954.chap2>.
- Moffatt, Jennifer H., Marina Harper, Ben Adler, Roger L. Nation, Jian Li, et John D. Boyce. 2011. « Insertion Sequence ISAb11 Is Involved in Colistin Resistance and Loss of Lipopolysaccharide in Acinetobacter Baumannii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55 (6): 3022-24. <https://doi.org/10.1128/AAC.01732-10>.
- Monds, Russell D., et George A. O'Toole. 2009. « The Developmental Model of Microbial Biofilms: Ten Years of a Paradigm up for Review ». *Trends in Microbiology* 17 (2): 73-87. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.11.001>.
- Mongodin, Emmanuel F., Nir Shapir, Sean C. Daugherty, Robert T. DeBoy, Joanne B. Emerson, Alla Shvartzbeyn, Diana Radune, et al. 2006. « Secrets of Soil Survival Revealed by the Genome Sequence of Arthrobacter Aurescens TC1 ». *PLoS Genetics* 2 (12): e214. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020214>.
- Mooney, Rachel Anne, Seth A. Darst, et Robert Landick. 2005. « Sigma and RNA Polymerase: An on-Again, off-Again Relationship? » *Molecular Cell* 20 (3): 335-45. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.10.015>.
- Moran, Nancy A, et Gordon R Plague. 2004. « Genomic changes following host restriction in bacteria ». *Current Opinion in Genetics & Development* 14 (6): 627-33. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2004.09.003>.
- Münch, Richard, Karsten Hiller, Andreas Grote, Maurice Scheer, Johannes Klein, Max Schobert, et Dieter Jahn. 2005. « Virtual Footprint and PRODORIC: An Integrative Framework for Regulon Prediction in Prokaryotes ». *Bioinformatics* 21 (22): 4187-89. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti635>.
- Murakami, Katsuhiko S., Shoko Masuda, Elizabeth A. Campbell, Oriana Muzzin, et Seth A. Darst. 2002. « Structural Basis of Transcription Initiation: An RNA Polymerase Holoenzyme-DNA Complex ». *Science (New York, N.Y.)* 296 (5571): 1285-90. <https://doi.org/10.1126/science.1069595>.
- Mussi, María A., Adriana S. Limansky, et Alejandro M. Viale. 2005. « Acquisition of Resistance to Carbapenems in Multidrug-Resistant Clinical Strains of Acinetobacter Baumannii: Natural Insertional Inactivation of a Gene Encoding a Member of a Novel Family of Beta-Barrel Outer Membrane Proteins ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (4): 1432-40. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.4.1432-1440.2005>.
- Naas, T., M. Blot, W. M. Fitch, et W. Arber. 1994. « Insertion Sequence-Related Genetic Variation in Resting Escherichia Coli K-12 ». *Genetics* 136 (3): 721-30.



- . 1995. « Dynamics of IS-Related Genetic Rearrangements in Resting *Escherichia Coli* K-12 ». *Molecular Biology and Evolution* 12 (2): 198-207. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040198>.
- Naas, T., F. Namdari, P. Bogaerts, T.-D. Huang, Y. Glupczynski, et P. Nordmann. 2008. « Genetic Structure Associated with blaOXA-18, Encoding a Clavulanic Acid-Inhibited Extended-Spectrum Oxacillinase ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52 (11): 3898-3904. <https://doi.org/10.1128/AAC.00403-08>.
- Naas, T., L. Poirel, et P. Nordmann. 1999. « Molecular Characterisation of In51, a Class 1 Integron Containing a Novel Aminoglycoside Adenylyltransferase Gene Cassette, AadA6, in *Pseudomonas Aeruginosa* ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1489 (2-3): 445-51.
- Naas, Thierry, Gaelle Cuzon, Ha-Vy Truong, et Patrice Nordmann. 2012. « Role of ISKpn7 and Deletions in blaKPC Gene Expression ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56 (9): 4753-59. <https://doi.org/10.1128/AAC.00334-12>.
- Nagy, Zita, et Michael Chandler. 2004. « Regulation of Transposition in Bacteria ». *Research in Microbiology* 155 (5): 387-98. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2004.01.008>.
- Nasser, W., R. Schneider, A. Travers, et G. Muskhelishvili. 2001. « CRP Modulates Fis Transcription by Alternate Formation of Activating and Repressing Nucleoprotein Complexes ». *The Journal of Biological Chemistry* 276 (21): 17878-86. <https://doi.org/10.1074/jbc.M100632200>.
- Nasser, William, Mark Rochman, et Georgi Muskhelishvili. 2002. « Transcriptional Regulation of Fis Operon Involves a Module of Multiple Coupled Promoters ». *The EMBO Journal* 21 (4): 715-24.
- Navarre, William Wiley, Steffen Porwollik, Yipeng Wang, Michael McClelland, Henry Rosen, Stephen J. Libby, et Ferric C. Fang. 2006. « Selective Silencing of Foreign DNA with Low GC Content by the H-NS Protein in *Salmonella* ». *Science* 313 (5784): 236-38. <https://doi.org/10.1126/science.1128794>.
- Nickels, Bryce E., Simon L. Dove, Katsuhiko S. Murakami, Seth A. Darst, et Ann Hochschild. 2002. « Protein-Protein and Protein-DNA Interactions of $\sigma 70$ Region 4 Involved in Transcription Activation by λ cl ». *Journal of Molecular Biology* 324 (1): 17-34. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)01043-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)01043-4).
- Nicolas, Emilien, Michael Lambin, Damien Dandoy, Christine Galloy, Nathan Nguyen, Cédric A. Oger, et Bernard Hallet. 2015. « The Tn3-Family of Replicative Transposons ». *Microbiology Spectrum* 3 (4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0060-2014>.
- Nishino, Kunihiro, Yasuko Senda, et Akihito Yamaguchi. 2008. « CRP Regulator Modulates Multidrug Resistance of *Escherichia Coli* by Repressing the MdtEF Multidrug Efflux Genes ». *The Journal of Antibiotics* 61 (3): 120-27. <https://doi.org/10.1038/ja.2008.120>.
- Norman, Anders, Lars H. Hansen, et Søren J. Sørensen. 2009. « Conjugative Plasmids: Vessels of the Communal Gene Pool ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 364 (1527): 2275-89. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0037>.
- Ochiai, K, T Yamanaka, K Kimura, et O Sawada. 1959. « Studies on inheritance of drug resistance between *Shigella* strains and *Escherichia coli* strains ». *Nippon Iji Shimpo* 1861: 34-46.

- Odegrip, Richard, et Elisabeth Haggård-Ljungquist. 2001. « The two active-site tyrosine residues of the A protein play non-equivalent roles during initiation of rolling circle replication of bacteriophage P21 1 Edited by M. Gottesman ». *Journal of Molecular Biology* 308 (2): 147-63. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4607>.
- Ogasawara, Hiroshi, Kayoko Yamada, Ayako Kori, Kaneyoshi Yamamoto, et Akira Ishihama. 2010. « Regulation of the Escherichia Coli CsgD Promoter: Interplay between Five Transcription Factors ». *Microbiology (Reading, England)* 156 (Pt 8): 2470-83. <https://doi.org/10.1099/mic.0.039131-0>.
- O'Hara, Jessica A., Patrick McGann, Erik C. Snesrud, Robert J. Clifford, Paige E. Waterman, Emil P. Lesho, et Yohei Doi. 2013. « Novel 16S rRNA Methyltransferase RmtH Produced by Klebsiella Pneumoniae Associated with War-Related Trauma ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57 (5): 2413-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.00266-13>.
- Olliver, Anne, Michel Vallé, Elisabeth Chaslus-Dancla, et Axel Cloeckert. 2005. « Overexpression of the Multidrug Efflux Operon AcrEF by Insertional Activation with IS1 or IS10 Elements in Salmonella Enterica Serovar Typhimurium DT204 AcrB Mutants Selected with Fluoroquinolones ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (1): 289-301. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.289-301.2005>.
- Oropeza, Ricardo, Rosalva Salgado-Bravo, et Edmundo Calva. 2015. « Deletion Analysis of RcsC Reveals a Novel Signalling Pathway Controlling Poly-N-Acetylglucosamine Synthesis and Biofilm Formation in Escherichia Coli ». *Microbiology (Reading, England)* 161 (Pt 4): 903-13. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000050>.
- Pal, Chandan, Johan Bengtsson-Palme, Erik Kristiansson, et D. G. Joakim Larsson. 2016. « The structure and diversity of human, animal and environmental resistomes ». *Microbiome* 4: 54. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0199-5>.
- Papanicolaou, G. A., A. A. Medeiros, et G. A. Jacoby. 1990. « Novel Plasmid-Mediated Beta-Lactamase (MIR-1) Conferring Resistance to Oxyimino- and Alpha-Methoxy Beta-Lactams in Clinical Isolates of Klebsiella Pneumoniae ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 34 (11): 2200-2209.
- Park, Yeon-Joon, Jin Kyung Yu, Sang-Il Kim, Kyungwon Lee, et Yoshichika Arakawa. 2009. « Accumulation of Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Resistance Genes, QepA and QnrS1, in Enterobacter Aerogenes Co-Producing RmtB and Class A β -Lactamase LAP-1 ». *Annals of Clinical & Laboratory Science* 39 (1): 55-59.
- Partridge, Sally R. 2011. « Analysis of antibiotic resistance regions in Gram-negative bacteria ». *FEMS Microbiology Reviews* 35 (5): 820-55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00277.x>.
- Partridge, Sally R., et Ruth M. Hall. 2003. « In34, a Complex In5 Family Class 1 Integron Containing Orf513 and DfrA10 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47 (1): 342-49. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.1.342-349.2003>.
- Pasternak, Cécile, Bao Ton-Hoang, Geneviève Coste, Adriana Bailone, Michael Chandler, et Suzanne Sommer. 2010. « Irradiation-Induced Deinococcus Radiodurans Genome Fragmentation Triggers Transposition of a Single Resident Insertion Sequence ». Édité par William F. Burkholder. *PLoS Genetics* 6 (1): e1000799. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000799>.
- Perez, Marta, Marina Calles-Enríquez, Beatriz del Rio, Victor Ladero, María Cruz Martín, María Fernández, et Miguel A. Alvarez. 2015. « IS256 abolishes gelatinase activity and biofilm formation in a mutant of the nosocomial pathogen Enterococcus faecalis V583 ». *Canadian Journal of Microbiology* 61 (7): 517-19. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0090>.



- Pérez-Rueda, Ernesto, et Julio Collado-Vides. 2000. « The Repertoire of DNA-Binding Transcriptional Regulators in Escherichia Coli K-12 ». *Nucleic Acids Research* 28 (8): 1838-47. <https://doi.org/10.1093/nar/28.8.1838>.
- Perichon, Bruno, Barbara Casadewall, Peter Reynolds, et Patrice Courvalin. 2000. « Glycopeptide-Resistant Enterococcus Faecium BM4416 Is a VanD-Type Strain with an Impaired d-Alanine:D-Alanine Ligase ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (5): 1346-48. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.5.1346-1348.2000>.
- Perrenoud, Annik, et Uwe Sauer. 2005. « Impact of Global Transcriptional Regulation by ArcA, ArcB, Cra, Crp, Cya, Fnr, and Mlc on Glucose Catabolism in Escherichia Coli ». *Journal of Bacteriology* 187 (9): 3171-79. <https://doi.org/10.1128/JB.187.9.3171-3179.2005>.
- Pilar Garcillán-Barcia, M. del, I. Bernales, M. V. Mendiola, et F. de la Cruz. 2001. « Single-Stranded DNA Intermediates in IS91 Rolling-Circle Transposition ». *Molecular Microbiology* 39 (2): 494-501.
- Plague, Gordon R., Helen E. Dunbar, Phat L. Tran, et Nancy A. Moran. 2008. « Extensive Proliferation of Transposable Elements in Heritable Bacterial Symbionts ». *Journal of Bacteriology* 190 (2): 777-79. <https://doi.org/10.1128/JB.01082-07>.
- Pohlhaus, Jennifer Reineke, et Kenneth N. Kreuzer. 2005. « Norfloxacin Induced DNA Gyrase Cleavage Complexes Block Escherichia Coli Replication Forks, Causing Double-stranded Breaks in Vivo ». *Molecular Microbiology* 56 (6): 1416-29. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04638.x>.
- Poirel, Laurent, Rémy A. Bonnin, Anne Boulanger, Jacques Schrenzel, Martin Kaase, et Patrice Nordmann. 2012. « Tn125-Related Acquisition of BlaNDM-Like Genes in Acinetobacter Baumannii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56 (2): 1087-89. <https://doi.org/10.1128/AAC.05620-11>.
- Poirel, Laurent, Jean-Winoc Decousser, et Patrice Nordmann. 2003. « Insertion Sequence ISEcp1B Is Involved in Expression and Mobilization of a BlaCTX-M β -Lactamase Gene ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47 (9): 2938-45. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.9.2938-2945.2003>.
- Poirel, Laurent, Aurélie Jayol, Séverine Bontron, Maria-Virginia Villegas, Melda Ozdamar, Salih Türkoglu, et Patrice Nordmann. 2015. « The MgrB Gene as a Key Target for Acquired Resistance to Colistin in Klebsiella Pneumoniae ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 70 (1): 75-80. <https://doi.org/10.1093/jac/dku323>.
- Poirel, Laurent, Marie-Frédérique Lartigue, Jean-Winoc Decousser, et Patrice Nordmann. 2005. « ISEcp1B-Mediated Transposition of BlaCTX-M in Escherichia Coli ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (1): 447-50. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.447-450.2005>.
- Poirel, Laurent, Marcelo Magalhaes, Miguel Lopes, et Patrice Nordmann. 2004. « Molecular Analysis of Metallo- β -Lactamase Gene BlaSPM-1-Surrounding Sequences from Disseminated Pseudomonas Aeruginosa Isolates in Recife, Brazil ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (4): 1406-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.4.1406-1409.2004>.
- Pollini, S., S. Maradei, P. Pecile, G. Olivo, F. Luzzaro, J.-D. Docquier, et G. M. Rossolini. 2013. « FIM-1, a New Acquired Metallo- β -Lactamase from a Pseudomonas Aeruginosa Clinical Isolate from Italy ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57 (1): 410-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.01953-12>.
- Post, Virginia, et Ruth M. Hall. 2009. « Insertion Sequences in the IS1111 Family That Target the AttC Recombination Sites of Integron-Associated Gene Cassettes ».



- FEMS Microbiology Letters* 290 (2): 182-87. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01412.x>.
- Pratt, Leslie A., et Thomas J. Silhavy. 1995. « Porin Regulon of Escherichia Coli ». In *Two-Component Signal Transduction*, 105-27. <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555818319.chap7>.
- Pratt, T. S., T. Steiner, L. S. Feldman, K. A. Walker, et R. Osuna. 1997. « Deletion Analysis of the Fis Promoter Region in Escherichia Coli: Antagonistic Effects of Integration Host Factor and Fis ». *Journal of Bacteriology* 179 (20): 6367-77.
- Prère, M. F., M. Chandler, et O. Fayet. 1990. « Transposition in Shigella Dysenteriae: Isolation and Analysis of IS911, a New Member of the IS3 Group of Insertion Sequences. » *Journal of Bacteriology* 172 (7): 4090-99. <https://doi.org/10.1128/jb.172.7.4090-4099.1990>.
- Prigent-Combaret, C., E. Brombacher, O. Vidal, A. Ambert, P. Lejeune, P. Landini, et C. Dorel. 2001. « Complex Regulatory Network Controls Initial Adhesion and Biofilm Formation in Escherichia Coli via Regulation of the CsgD Gene ». *Journal of Bacteriology* 183 (24): 7213-23. <https://doi.org/10.1128/JB.183.24.7213-7223.2001>.
- Prudhomme, M., C. Turlan, J.-P. Claverys, et M. Chandler. 2002. « Diversity of Tn4001 Transposition Products: The Flanking IS256 Elements Can Form Tandem Dimers and IS Circles ». *Journal of Bacteriology* 184 (2): 433-43. <https://doi.org/10.1128/JB.184.2.433-443.2002>.
- Quiroga, María Paula, Sonia Marina Arduino, Andrea Karina Merquier, Cecilia Quiroga, Alejandro Petroni, Paul H. Roy, et Daniela Centrón. 2013. « "Distribution and functional identification of complex class 1 integrons" ». *Infection, Genetics and Evolution* 19 (octobre): 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.029>.
- Rådström, P, et G Swedberg. 1988. « RSF1010 and a conjugative plasmid contain sullI, one of two known genes for plasmid-borne sulfonamide resistance dihydropteroate synthase. » *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 32 (11): 1684-92.
- Reddy, P. S., A. Raghavan, et D. Chatterji. 1995. « Evidence for a PpGpp-Binding Site on Escherichia Coli RNA Polymerase: Proximity Relationship with the Rifampicin-Binding Domain ». *Molecular Microbiology* 15 (2): 255-65.
- Reimann, Cornelia, Robert Moore, Stephen Little, Armand Savioz, Neil S. Willetts, et Dieter Haas. 1989. « Genetic structure, function and regulation of the transposable element IS21 ». *Molecular and General Genetics MGG* 215 (3): 416-424.
- Rey, L., J. Murillo, Y. Hernando, E. Hidalgo, E. Cabrera, J. Imperial, et T. Ruiz-Argüeso. 1993. « Molecular Analysis of a Microaerobically Induced Operon Required for Hydrogenase Synthesis in Rhizobium Leguminosarum Biovar Viciae ». *Molecular Microbiology* 8 (3): 471-81.
- Rezwan, Ferdousi, Ruiting Lan, et Peter R. Reeves. 2004. « Molecular Basis of the Indole-Negative Reaction in Shigella Strains: Extensive Damages to the Tna Operon by Insertion Sequences ». *Journal of Bacteriology* 186 (21): 7460-65. <https://doi.org/10.1128/JB.186.21.7460-7465.2004>.
- Rhodes, Gary, et Michael J. Chamberlin. 1974. « Ribonucleic Acid Chain Elongation by Escherichia Coli Ribonucleic Acid Polymerase I. ISOLATION OF TERNARY COMPLEXES AND THE KINETICS OF ELONGATION ». *Journal of Biological Chemistry* 249 (20): 6675-83.



- Rhodes, Glenn, Geert Huys, Jean Swings, Patrick McGann, Maura Hiney, Peter Smith, et Roger W. Pickup. 2000. « Distribution of Oxytetracycline Resistance Plasmids between Aeromonads in Hospital and Aquaculture Environments: Implication of Tn1721 in Dissemination of the Tetracycline Resistance Determinant Tet A ». *Applied and Environmental Microbiology* 66 (9): 3883-90. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.9.3883-3890.2000>.
- Rice, Phoebe A. 1997. « Making DNA do a U-turn: IHF and related proteins ». *Current Opinion in Structural Biology* 7 (1): 86-93. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(97\)80011-5](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(97)80011-5).
- Richardson, John P. 2002. « Rho-dependent termination and ATPases in transcript termination ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression, Transcription Elongation Control-2002*, 1577 (2): 251-60. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(02\)00456-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(02)00456-6).
- Roberts, Adam P., Michael Chandler, Patrice Courvalin, Gérard Guédon, Peter Mullany, Tony Pembroke, Julian I. Rood, et al. 2008. « Revised Nomenclature for Transposable Genetic Elements ». *Plasmid* 60 (3): 167-73. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2008.08.001>.
- Roberts, D., B. C. Hoopes, W. R. McClure, et N. Kleckner. 1985. « IS10 transposition is regulated by DNA adenine methylation ». *Cell* 43 (1): 117-30. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(85\)90017-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(85)90017-0).
- Rodriguez-Martinez, J.-M., L. Poirel, R. Canton, et P. Nordmann. 2006. « Common Region CR1 for Expression of Antibiotic Resistance Genes ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (7): 2544-46. <https://doi.org/10.1128/AAC.00609-05>.
- Rojo-Bezares, Beatriz, Vanesa Estepa, Rocío Cebollada, María de Toro, Sergio Somalo, Cristina Seral, Francisco Javier Castillo, Carmen Torres, et Yolanda Sáenz. 2014. « Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from a Spanish hospital: Characterization of metallo-beta-lactamases, porin OprD and integrons ». *International Journal of Medical Microbiology* 304 (3): 405-14. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.01.001>.
- Ronning, Donald R., Catherine Guynet, Bao Ton-Hoang, Zhanita N. Perez, Rodolfo Ghirlando, Michael Chandler, et Fred Dyda. 2005. « Active Site Sharing and Subterminal Hairpin Recognition in a New Class of DNA Transposases ». *Molecular Cell* 20 (1): 143-54. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.07.026>.
- Rosario, Karyna, Siobain Duffy, et Mya Breitbart. 2012. « A Field Guide to Eukaryotic Circular Single-Stranded DNA Viruses: Insights Gained from Metagenomics ». *Archives of Virology* 157 (10): 1851-71. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1391-y>.
- Ross, W., K. K. Gosink, J. Salomon, K. Igarashi, C. Zou, A. Ishihama, K. Severinov, et R. L. Gourse. 1993. « A Third Recognition Element in Bacterial Promoters: DNA Binding by the Alpha Subunit of RNA Polymerase ». *Science* 262 (5138): 1407-13. <https://doi.org/10.1126/science.8248780>.
- Roth A., et Messer W. 1995. « The DNA binding domain of the initiator protein DnaA. » *The EMBO Journal* 14 (9): 2106-11. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb07202.x>.
- Rudant, Eric, Patrice Courvalin, et Thierry Lambert. 1998. « Characterization of IS18, an Element Capable of Activating the Silent *Aac(6)-Ij* Gene Of *Acinetobacter* Sp. 13 Strain BM2716 by Transposition ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42 (10): 2759-61.



- Russo, F. D., et T. J. Silhavy. 1991. « EnvZ Controls the Concentration of Phosphorylated OmpR to Mediate Osmoregulation of the Porin Genes ». *Journal of Molecular Biology* 222 (3): 567-80.
- Sabaté, M., R. Tarragó, F. Navarro, E. Miró, C. Vergés, J. Barbé, et G. Prats. 2000. « Cloning and Sequence of the Gene Encoding a Novel Cefotaxime-Hydrolyzing Beta-Lactamase (CTX-M-9) from Escherichia Coli in Spain ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (7): 1970-73.
- Sabaté, Montserrat, Ferran Navarro, Elisenda Miró, Susana Campoy, Beatriz Mirelis, Jordi Barbé, et Guillem Prats. 2002. « Novel Complex Sul1-Type Integron in Escherichia Coli Carrying BlaCTX-M-9 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (8): 2656-61. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2656-2661.2002>.
- Sadowsky, M. J., Z. Tong, M. de Souza, et L. P. Wackett. 1998. « AtzC Is a New Member of the Amidohydrolase Protein Superfamily and Is Homologous to Other Atrazine-Metabolizing Enzymes ». *Journal of Bacteriology* 180 (1): 152-58.
- Saedler, Heinz, et Brigitte Hei. 1973. « Multiple Copies of the Insertion-DNA Sequences *IS1* and *IS2* in the Chromosome of *E. Coli* K-12 ». *Molecular and General Genetics MGG* 122 (3): 267-77. <https://doi.org/10.1007/BF00278602>.
- Salmon, Kirsty A., She-pin Hung, Nicholas R. Steffen, Rebecca Krupp, Pierre Baldi, G. Wesley Hatfield, et Robert P. Gunsalus. 2005. « Global Gene Expression Profiling in Escherichia Coli K12: Effects of Oxygen Availability and ArcA ». *The Journal of Biological Chemistry* 280 (15): 15084-96. <https://doi.org/10.1074/jbc.M414030200>.
- Samanta, Priyankar, Emily R Clark, Katie Knutson, Shelley M Horne, et Birgit M Pr. 2013. « OmpR and RcsB abolish temporal and spatial changes in expression of flhD in Escherichia coli Biofilm ». *BMC Microbiology* 13 (aot): 182. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-182>.
- Sanderson, Andrew, Jennie E Mitchell, Stephen D Minchin, et Stephen J.W Busby. 2003. « Substitutions in the Escherichia Coli RNA Polymerase Σ 70 Factor That Affect Recognition of Extended -10 Elements at Promoters ». *FEBS Letters* 544 (1-3): 199-205. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00500-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00500-3).
- Schleinitz, K. M., T. Vallaey, et S. Kleinstber. 2010. « Structural Characterization of ISCR8, ISCR22, and ISCR23, Subgroups of IS91-Like Insertion Elements ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54 (10): 4321-28. <https://doi.org/10.1128/AAC.00006-10>.
- Schleinitz, Kathleen M., Sabine Kleinstber, Tatiana Vallaey, et Wolfgang Babel. 2004. « Localization and Characterization of Two Novel Genes Encoding Stereospecific Dioxygenases Catalyzing 2(2,4-Dichlorophenoxy)Propionate Cleavage in Delftia Acidovorans MC1 ». *Applied and Environmental Microbiology* 70 (9): 5357-65. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5357-5365.2004>.
- Schlter, Andreas, Irene Krahn, Florian Kollin, Gabriele Bnemann, Michael Stiens, Rafael Szczepanowski, Susanne Schneiker, et Alfred Phler. 2007. « IncP-1-Beta Plasmid PGNB1 Isolated from a Bacterial Community from a Wastewater Treatment Plant Mediates Decolorization of Triphenylmethane Dyes ». *Applied and Environmental Microbiology* 73 (20): 6345-50. <https://doi.org/10.1128/AEM.01177-07>.
- Schmieder, Robert, et Robert Edwards. 2011. « Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches ». *Future Microbiology* 7 (1): 73-89. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.135>.



- Schwarz, Stefan, Corinna Kehrenberg, Benoît Doublet, et Axel Cloeckaert. 2004. « Molecular Basis of Bacterial Resistance to Chloramphenicol and Florfenicol ». *FEMS Microbiology Reviews* 28 (5): 519-42. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.04.001>.
- Scott, S., S. Busby, et I. Beacham. 1995. « Transcriptional Co-Activation at the AnsB Promoters: Involvement of the Activating Regions of CRP and FNR When Bound in Tandem ». *Molecular Microbiology* 18 (3): 521-31.
- Sengstag, Christian, Shigeru Iida, Rosemarie Hiestand-Nauer, et Werner Arber. 1986. « Terminal inverted repeats of prokaryotic transposable element IS186 which can generate duplications of variable length at an identical target sequence ». *Gene* 49 (1): 153-56. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(86\)90395-1](https://doi.org/10.1016/0378-1119(86)90395-1).
- Seputiene, Vaida, Justas Povilonis, et Edita Suziedeliene. 2012. « Novel Variants of AbaR Resistance Islands with a Common Backbone in Acinetobacter Baumannii Isolates of European Clone II ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56 (4): 1969-73. <https://doi.org/10.1128/AAC.05678-11>.
- Sewitz, Sven, Paul Crellin, et Ronald Chalmers. 2003. « The Positive and Negative Regulation of Tn10 Transposition by IHF Is Mediated by Structurally Asymmetric Transposon Arms ». *Nucleic Acids Research* 31 (20): 5868-76. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg797>.
- Sharma, Virag, Andrew E. Firth, Ivan Antonov, Olivier Fayet, John F. Atkins, Mark Borodovsky, et Pavel V. Baranov. 2011. « A Pilot Study of Bacterial Genes with Disrupted ORFs Reveals a Surprising Profusion of Protein Sequence Recoding Mediated by Ribosomal Frameshifting and Transcriptional Realignment ». *Molecular Biology and Evolution*, juin. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr155>.
- Sheridan, Steven D., Craig J. Benham, et G. Wesley Hatfield. 1998. « Activation of Gene Expression by a Novel DNA Structural Transmission Mechanism That Requires Supercoiling-Induced DNA Duplex Destabilization in an Upstream Activating Sequence ». *Journal of Biological Chemistry* 273 (33): 21298-308. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.33.21298>.
- Shin, Minsang, Miryoung Song, Joon Haeng Rhee, Yeongjin Hong, You-Jin Kim, Yeong-Jae Seok, Kwon-Soo Ha, Se-Hui Jung, et Hyon E. Choy. 2005. « DNA Looping-Mediated Repression by Histone-like Protein H-NS: Specific Requirement of Esigma70 as a Cofactor for Looping ». *Genes & Development* 19 (19): 2388-98. <https://doi.org/10.1101/gad.1316305>.
- Shin, S, et C Park. 1995. « Modulation of flagellar expression in Escherichia coli by acetyl phosphate and the osmoregulator OmpR. » *Journal of Bacteriology* 177 (16): 4696-4702.
- Shultzaberger, R. K., Z. Chen, K. A. Lewis, et T. D. Schneider. 2007. « Anatomy of Escherichia Coli 70 Promoters ». *Nucleic Acids Research* 35 (3): 771-88. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl956>.
- Signon, L., et N. Kleckner. 1995. « Negative and Positive Regulation of Tn10/IS10-Promoted Recombination by IHF: Two Distinguishable Processes Inhibit Transposition off of Multicopy Plasmid Replicons and Activate Chromosomal Events That Favor Evolution of New Transposons ». *Genes & Development* 9 (9): 1123-36.
- Siguié, P., J. Perochon, L. Lestrade, J. Mahillon, et M. Chandler. 2006. « ISfinder: The Reference Centre for Bacterial Insertion Sequences ». *Nucleic Acids Research* 34 (Database issue): D32-36. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj014>.



- Siguié, Patricia, Edith Goubeyre, et Mick Chandler. 2014. « Bacterial Insertion Sequences: Their Genomic Impact and Diversity ». *FEMS Microbiology Reviews* 38 (5): 865-91. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12067>.
- Silva-Rocha, Rafael, Max Chavarría, Roelco J. Kleijn, Uwe Sauer, et Víctor de Lorenzo. 2013. « The IHF Regulon of Exponentially Growing *Pseudomonas Putida* Cells ». *Environmental Microbiology* 15 (1): 49-63. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02750.x>.
- Simpson, Alice E., Ronald A. Skurray, et Neville Firth. 2000. « An IS257-Derived Hybrid Promoter Directs Transcription of a TetA(K) Tetracycline Resistance Gene in The *Staphylococcus Aureus* Chromosomal MecRegion ». *Journal of Bacteriology* 182 (12): 3345-52. <https://doi.org/10.1128/JB.182.12.3345-3352.2000>.
- Sinha, Sunita, Andrew D. S. Cameron, et Rosemary J. Redfield. 2009. « Sxy Induces a CRP-S Regulon in *Escherichia Coli* ». *Journal of Bacteriology* 191 (16): 5180-95. <https://doi.org/10.1128/JB.00476-09>.
- Siryaporn, Albert, et Mark Goulian. 2008. « Cross-Talk Suppression between the CpxA-CpxR and EnvZ-OmpR Two-Component Systems in *E. Coli* ». *Molecular Microbiology* 70 (2): 494-506. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06426.x>.
- Skaliter, Rami, Zehava Eichenbaum, Hasia Shwartz, Rivka Ascarelli-Goell, et Zvi Livneh. 1992. « Spontaneous transposition in the bacteriophage λ cro gene residing on a plasmid ». *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 267 (1): 139-51. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(92\)90118-L](https://doi.org/10.1016/0027-5107(92)90118-L).
- Skaugen, M., et I. F. Nes. 1994. « Transposition in *Lactobacillus Sake* and Its Abolition of Lactocin S Production by Insertion of IS1163, a New Member of the IS3 Family. » *Applied and Environmental Microbiology* 60 (8): 2818-25.
- Skaugen, Morten, et Ingolf F. Nes. 2000. « Transposition in *Lactobacillus sakei*: inactivation of a second lactocin S operon by the insertion of IS1520, a new member of the IS3 family of insertion sequences ». *Microbiology* 146 (5): 1163-69. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-5-1163>.
- Sköld, Ola. 2000. « Sulfonamide Resistance: Mechanisms and Trends ». *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy* 3 (3): 155-60. <https://doi.org/10.1054/drup.2000.0146>.
- So, Magdalene, Fred Heffron, et Brian J. McCarthy. 1979. « The *E. Coli* Gene Encoding Heat Stable Toxin Is a Bacterial Transposon Flanked by Inverted Repeats of IS1 ». *Nature* 277 (5696): 453-56. <https://doi.org/10.1038/277453a0>.
- Sóki, József, Micaela Gal, Jon S. Brazier, Vincent O. Rotimi, Edit Urbán, Elisabeth Nagy, et Brian I. Duerden. 2006. « Molecular Investigation of Genetic Elements Contributing to Metronidazole Resistance in *Bacteroides* Strains ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57 (2): 212-20. <https://doi.org/10.1093/jac/dki443>.
- Somers, William S., et Simon E. V. Phillips. 1992. « Crystal Structure of the Met Repressor-Operator Complex at 2.8 Å Resolution Reveals DNA Recognition by β -Strands ». *Nature* 359 (6394): 387-93. <https://doi.org/10.1038/359387a0>.
- Song, Weizhi, Xuezheng Lin, et Shuai Che. 2013. « Identification of Regulatory Sequences and Expression Analysis of OmpR Gene under Different Stress Conditions in the Antarctic Bacterium *Psychrobacter Sp. G* ». *Current Microbiology* 66 (3): 259-65. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0266-5>.
- Spielmann-Ryser, Judith, Markus Moser, Peter Kast, et Hans Weber. 1991. « Factors Determining the Frequency of Plasmid Cointegrate Formation Mediated by Insertion Sequence IS<Emphasis Type="Italic">3</Emphasis> from <Emphasis

Type="Italic">Escherichia Coli</Emphasis> ». *Molecular and General Genetics MGG* 226 (3): 441-48. <https://doi.org/10.1007/BF00260657>.

- Stewart, V. 1994. « Dual Interacting Two-Component Regulatory Systems Mediate Nitrate- and Nitrite-Regulated Gene Expression in Escherichia Coli ». *Research in Microbiology* 145 (5-6): 450-54.
- Stokes, H.W., C. Tomaras, Yvonne Parsons, et Ruth M. Hall. 1993. « The Partial 3'-Conserved Segment Duplications in the Integrations In6 from pSa and In7 from pDGO100 Have a Common Origin ». *Plasmid* 30 (1): 39-50. <https://doi.org/10.1006/plas.1993.1032>.
- Strugeon, Emilie, Valentin Tilloy, Marie-Cécile Ploy, et Sandra Da Re. 2016. « The Stringent Response Promotes Antibiotic Resistance Dissemination by Regulating Integron Integrase Expression in Biofilms ». *MBio* 7 (4). <https://doi.org/10.1128/mBio.00868-16>.
- Su, Zhaoliang, Xiaoli Dai, Jianguo Chen, Fanzhi Kong, Huifang Wang, Yazhen Li, Sufang Peng, et al. 2008. « The BlaCTX-M-1 Gene Located in a Novel Complex Class I Integron Bearing an ISCR1 Element in Escherichia Coli Isolates from Zhenjiang, China ». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 62 (5): 1150-51. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn300>.
- Sundström, Lars, Catarina Jansson, Kåre Bremer, Elina Heikkilä, Barbro Olsson-Liljequist, et Ola Sköld. 1995. « A new dhfrVIII trimethoprim-resistance gene, flanked by IS26, whose product is remote from other dihydrofolate reductases in parsimony analysis ». *Gene* 154 (1): 7-14. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(94\)00905-8](https://doi.org/10.1016/0378-1119(94)00905-8).
- Swinger, Kerren K., et Phoebe A. Rice. 2004. « IHF and HU: Flexible Architects of Bent DNA ». *Current Opinion in Structural Biology* 14 (1): 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2003.12.003>.
- Swingle, Bryan, Michelle O'Carroll, David Haniford, et Keith M. Derbyshire. 2004. « The Effect of Host-Encoded Nucleoid Proteins on Transposition: H-NS Influences Targeting of Both IS903 and Tn10 ». *Molecular Microbiology* 52 (4): 1055-67. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04051.x>.
- Szeverényi, Ildikó, Zita Nagy, Tibor Farkas, Ferenc Olasz, et János Kiss. 2003. « Detection and analysis of transpositionally active head-to-tail dimers in three additional Escherichia coli IS elements ». *Microbiology* 149 (5): 1297-1310. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26121-0>.
- Tada, Tatsuya, Shovita Shrestha, Kayo Shimada, Hiroshi Ohara, Jeevan B. Sherchand, Bharat M. Pokhrel, et Teruo Kirikae. 2017. « PER-8, a Novel Extended-Spectrum β -Lactamase PER Variant, from an Acinetobacter baumannii Clinical Isolate in Nepal ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61 (3). <https://doi.org/10.1128/AAC.02300-16>.
- Tani, Travis H., Arkady Khodursky, Robert M. Blumenthal, Patrick O. Brown, et Rowena G. Matthews. 2002. « Adaptation to Famine: A Family of Stationary-Phase Genes Revealed by Microarray Analysis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99 (21): 13471-76. <https://doi.org/10.1073/pnas.212510999>.
- Tavakoli, Norma, Antonella Comanducci, Helen M. Dodd, Marie-Claire Lett, Barbara Albiger, et Peter Bennett. 2000. « IS1294, a DNA Element That Transposes by RC Transposition ». *Plasmid* 44 (1): 66-84. <https://doi.org/10.1006/plas.1999.1460>.
- Tetu, Sasha G., et Andrew J. Holmes. 2008. « A Family of Insertion Sequences That Impacts Integrations by Specific Targeting of Gene Cassette Recombination Sites,



- the IS1111-AttC Group». *Journal of Bacteriology* 190 (14): 4959-70. <https://doi.org/10.1128/JB.00229-08>.
- Tipton, Kyle A., et Philip N. Rather. 2016. « An OmpR/EnvZ Two-Component System Ortholog Regulates Phase Variation, Osmotic Tolerance, Motility, and Virulence in *Acinetobacter Baumannii* Strain AB5075 ». *Journal of Bacteriology*, novembre. <https://doi.org/10.1128/JB.00705-16>.
- Toleman, M. A., P. M. Bennett, et T. R. Walsh. 2006. « ISCR Elements: Novel Gene-Capturing Systems of the 21st Century? » *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 70 (2): 296-316. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00048-05>.
- Toleman, M. A., J. Spencer, L. Jones, et T. R. Walsh. 2012. « BlaNDM-1 Is a Chimera Likely Constructed in *Acinetobacter Baumannii* ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56 (5): 2773-76. <https://doi.org/10.1128/AAC.06297-11>.
- Toleman, M. A., et T. R. Walsh. 2008. « Evolution of the ISCR3 Group of ISCR Elements ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52 (10): 3789-91. <https://doi.org/10.1128/AAC.00479-08>.
- Toleman, Mark A., Peter M. Bennett, David M.C. Bennett, Ronald N. Jones, et Timothy R. Walsh. 2007. « Global Emergence of Trimethoprim/Sulfamethoxazole Resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* Mediated by Acquisition of sul Genes ». *Emerging Infectious Diseases* 13 (4): 559-65. <https://doi.org/10.3201/eid1304.061378>.
- Tomsic, Mark, Laura Tsujikawa, Gianina Panaghie, Yang Wang, Joseph Azok, et Pieter L. deHaset. 2001. « Different Roles for Basic and Aromatic Amino Acids in Conserved Region 2 of *Escherichia Coli* Σ 70 in the Nucleation and Maintenance of the Single-Stranded DNA Bubble in Open RNA Polymerase-Promoter Complexes ». *Journal of Biological Chemistry* 276 (34): 31891-96. <https://doi.org/10.1074/jbc.M105027200>.
- Ton-Hoang, Bao, Cécile Pasternak, Patricia Siguier, Catherine Guynet, Alison Burgess Hickman, Fred Dyda, Suzanne Sommer, et Michael Chandler. 2010. « Single-Stranded DNA Transposition Is Coupled to Host Replication ». *Cell* 142 (3): 398-408. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.034>.
- Ton-Hoang, Bao, Patricia Siguier, Yves Quentin, Séverine Onillon, Brigitte Marty, Gwennaele Fichant, et Mick Chandler. 2012. « Structuring the Bacterial Genome: Y1-Transposases Associated with REP-BIME Sequences ». *Nucleic Acids Research* 40 (8): 3596-3609. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1198>.
- Tosini, Fabio, Paolo Visca, Ida Luzzi, Anna Maria Dionisi, Cristina Pezzella, Andrea Petrucca, et Alessandra Carattoli. 1998. « Class 1 Integron-Borne Multiple-Antibiotic Resistance Carried by IncFI and IncL/M Plasmids in *Salmonella Enterica* Serotype Typhimurium ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42 (12): 3053-58.
- Touchon, Marie, et Eduardo P. C. Rocha. 2007. « Causes of Insertion Sequences Abundance in Prokaryotic Genomes ». *Molecular Biology and Evolution* 24 (4): 969-81. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm014>.
- Travers, Andrew, Robert Schneider, et Georgi Muskhelishvili. 2001. « DNA Supercoiling and Transcription in *Escherichia Coli*: The FIS Connection ». *Biochimie* 83 (2): 213-17. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(00\)01217-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(00)01217-7).
- Treves, D. S., S. Manning, et J. Adams. 1998. « Repeated Evolution of an Acetate-Crossfeeding Polymorphism in Long-Term Populations of *Escherichia Coli*. » *Molecular Biology and Evolution* 15 (7): 789-97. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025984>.

- Tsui, P., L. Huang, et M. Freundlich. 1991. « Integration Host Factor Binds Specifically to Multiple Sites in the OmpB Promoter of Escherichia Coli and Inhibits Transcription ». *Journal of Bacteriology* 173 (18): 5800-5807.
- Tsujikawa, Laura, Oleg V. Tsodikov, et Pieter L. deHaseth. 2002. « Interaction of RNA Polymerase with Forked DNA: Evidence for Two Kinetically Significant Intermediates on the Pathway to the Final Complex ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (6): 3493-98. <https://doi.org/10.1073/pnas.062487299>.
- Tsung, K., R. E. Brissette, et M. Inouye. 1989. « Identification of the DNA-Binding Domain of the OmpR Protein Required for Transcriptional Activation of the OmpF and OmpC Genes of Escherichia Coli by in Vivo DNA Footprinting ». *The Journal of Biological Chemistry* 264 (17): 10104-9.
- Turlan, Catherine, et Michael Chandler. 2000. « Playing second fiddle: second-strand processing and liberation of transposable elements from donor DNA ». *Trends in Microbiology* 8 (6): 268-74. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01757-1](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01757-1).
- Ulrich, R. L., D. DeShazer, T. A. Kenny, M. P. Ulrich, A. Moravusova, T. Opperman, S. Bavari, T. L. Bowlin, D. T. Moir, et R. G. Panchal. 2013. « Characterization of the Burkholderia Thailandensis SOS Response by Using Whole-Transcriptome Shotgun Sequencing ». *Applied and Environmental Microbiology* 79 (19): 5830-43. <https://doi.org/10.1128/AEM.00538-13>.
- Uden, G., et J. Bongaerts. 1997. « Alternative Respiratory Pathways of Escherichia Coli: Energetics and Transcriptional Regulation in Response to Electron Acceptors ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1320 (3): 217-34.
- Valentine, Carrie R., Mary Jo Heinrich, Stephanie L. Chisoe, et Bruce A. Roe. 1994. « DNA Sequence of Direct Repeats of the sull Gene of Plasmid pSa ». *Plasmid* 32 (2): 222-27. <https://doi.org/10.1006/plas.1994.1059>.
- Valentin-Hansen, Poul, Lotte Sogaard-Andersen, et Henrik Pedersen. 1996. « A Flexible Partnership: The CytR Anti-Activator and the CAMP-CRP Activator Protein, Comrades in Transcription Control ». *Molecular Microbiology* 20 (3): 461-66. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1996.5341056.x>.
- Vandecraen, Joachim, Michael Chandler, Abram Aertsen, et Rob Van Houdt. 2017. « The Impact of Insertion Sequences on Bacterial Genome Plasticity and Adaptability ». *Critical Reviews in Microbiology*, avril, 1-22. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1303661>.
- Vandecraen, Joachim, Pieter Monsieurs, Max Mergeay, Natalie Leys, Abram Aertsen, et Rob Van Houdt. 2016. « Zinc-Induced Transposition of Insertion Sequence Elements Contributes to Increased Adaptability of Cupriavidus Metallidurans ». *Frontiers in Microbiology* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00359>.
- Varani, Alessandro, Mick Chandler, Edith Goubeyre, Bao Ton-Hoang, et Patricia Siguier. 2015. « Everyman's Guide to Bacterial Insertion Sequences ». In *Microbiology Spectrum*. Vol. 3. <http://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0030-2014>.
- Verdet, C., G. Arlet, G. Barnaud, P. H. Lagrange, et A. Philippon. 2000. « A Novel Integrin in Salmonella Enterica Serovar Enteritidis, Carrying the Bla(DHA-1) Gene and Its Regulator Gene AmpR, Originated from Morganella Morganii ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (1): 222-25.
- Vidal, O., R. Longin, C. Prigent-Combaret, C. Dorel, M. Hooreman, et P. Lejeune. 1998. « Isolation of an Escherichia Coli K-12 Mutant Strain Able to Form Biofilms on

- Inert Surfaces: Involvement of a New OmpR Allele That Increases Curli Expression ». *Journal of Bacteriology* 180 (9): 2442-49.
- Vilacoba, E., M. Almuzara, L. Gulone, G. M. Traglia, S. Montaña, H. Rodríguez, F. Pasteran, et al. 2016. « Widespread Dispersion of the Resistance Element Tet(B)::ISCR2 in XDR Acinetobacter Baumannii Isolates ». *Epidemiology and Infection* 144 (07): 1574-78. <https://doi.org/10.1017/S0950268815002897>.
- Villa, Laura, et Alessandra Carattoli. 2005. « Integrons and Transposons on the Salmonella Enterica Serovar Typhimurium Virulence Plasmid ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49 (3): 1194-97. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.3.1194-1197.2005>.
- Vogel, U., et K. F. Jensen. 1994. « The RNA Chain Elongation Rate in Escherichia Coli Depends on the Growth Rate. » *Journal of Bacteriology* 176 (10): 2807-13. <https://doi.org/10.1128/jb.176.10.2807-2813.1994>.
- Wachino, J.-i., H. Yoshida, K. Yamane, S. Suzuki, M. Matsui, T. Yamagishi, A. Tsutsui, T. Konda, K. Shibayama, et Y. Arakawa. 2011. « SMB-1, a Novel Subclass B3 Metallo- - Lactamase, Associated with ISCR1 and a Class 1 Integron, from a Carbapenem-Resistant Serratia Marcescens Clinical Isolate ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55 (11): 5143-49. <https://doi.org/10.1128/AAC.05045-11>.
- Wachino, Jun-ichi, Kunikazu Yamane, Kouji Kimura, Naohiro Shibata, Satowa Suzuki, Yasuyoshi Ike, et Yoshichika Arakawa. 2006. « Mode of Transposition and Expression of 16S RRNA Methyltransferase Gene RmtC Accompanied by ISEcp1 ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (9): 3212-15. <https://doi.org/10.1128/AAC.00550-06>.
- Waksman, Selman A. 1947. « What Is an Antibiotic or an Antibiotic Substance? » *Mycologia* 39 (5): 565-69. <https://doi.org/10.2307/3755196>.
- Waldor, MATTHEW K., HELMUT Tschäpe, et John J. Mekalanos. 1996. « A new type of conjugative transposon encodes resistance to sulfamethoxazole, trimethoprim, and streptomycin in Vibrio cholerae O139. » *Journal of bacteriology* 178 (14): 4157-4165.
- Wang, A., et J. R. Roth. 1988. « Activation of Silent Genes by Transposons Tn5 and Tn10. » *Genetics* 120 (4): 875-85.
- Wang, Hongmei, Margaret C. M. Smith, et Peter Mullany. 2006. « The Conjugative Transposon Tn5397 Has a Strong Preference for Integration into Its Clostridium Difficile Target Site ». *Journal of Bacteriology* 188 (13): 4871-78. <https://doi.org/10.1128/JB.00210-06>.
- Wang, Ruibai, Dong Yu, Junjie Yue, et Biao Kan. 2016. « Variations in SXT elements in epidemic Vibrio cholerae O1 El Tor strains in China ». *Scientific Reports* 6 (mars). <https://doi.org/10.1038/srep22733>.
- Washburn, Robert S., et Max E. Gottesman. 2015. « Regulation of Transcription Elongation and Termination ». *Biomolecules* 5 (2): 1063-78. <https://doi.org/10.3390/biom5021063>.
- Webber, C. A., et R. J. Kadner. 1997. « Involvement of the Amino-Terminal Phosphorylation Module of UhpA in Activation of UhpT Transcription in Escherichia Coli ». *Molecular Microbiology* 24 (5): 1039-48.
- Weinstein-Fischer, Dalit, et Shoshy Altuvia. 2007. « Differential Regulation of Escherichia Coli Topoisomerase I by Fis ». *Molecular Microbiology* 63 (4): 1131-44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05569.x>.



- Weiss, V., F. Claverie-Martin, et B. Magasanik. 1992. « Phosphorylation of Nitrogen Regulator I of Escherichia Coli Induces Strong Cooperative Binding to DNA Essential for Activation of Transcription ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (11): 5088-92.
- Welch, M., K. Oosawa, S. Aizawa, et M. Eisenbach. 1993. « Phosphorylation-Dependent Binding of a Signal Molecule to the Flagellar Switch of Bacteria ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90 (19): 8787-91.
- Wolter, Daniel J., Nancy D. Hanson, et Philip D. Lister. 2004. « Insertional Inactivation of OprD in Clinical Isolates of Pseudomonas Aeruginosa Leading to Carbapenem Resistance ». *FEMS Microbiology Letters* 236 (1): 137-43. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09639.x>.
- Wood, Mark S., Armando Byrne, et Thomas G. Lessie. 1991. « IS406 and IS407, two gene-activating insertion sequences from Pseudomonas cepacia ». *Gene* 105 (1): 101-5. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(91\)90519-H](https://doi.org/10.1016/0378-1119(91)90519-H).
- Wösten, M. M. S. M. 1998. « Eubacterial Sigma-Factors ». *FEMS Microbiology Reviews* 22 (3): 127-50. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1998.tb00364.x>.
- Wyman, Claire, Irene Rombel, Anne K. North, Carlos Bustamante, et Sydney Kustu. 1997. « Unusual Oligomerization Required for Activity of NtrC, a Bacterial Enhancer-Binding Protein ». *Science* 275 (5306): 1658-61. <https://doi.org/10.1126/science.275.5306.1658>.
- Xie, Lianyan, Jun Wu, Fangfang Zhang, Lizhong Han, Xiaokui Guo, Yuxing Ni, et Jingyong Sun. 2016. « Molecular Epidemiology and Genetic Characteristics of Various blaPER Genes in Shanghai, China ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 60 (6): 3849-53. <https://doi.org/10.1128/AAC.00258-16>.
- Yamamoto, Kaneyoshi, Kiyo Hirao, Taku Oshima, Hirofumi Aiba, Ryutaro Utsumi, et Akira Ishihama. 2005. « Functional Characterization in Vitro of All Two-Component Signal Transduction Systems from Escherichia Coli ». *The Journal of Biological Chemistry* 280 (2): 1448-56. <https://doi.org/10.1074/jbc.M410104200>.
- Yamane, Kunikazu, Jun-ichi Wachino, Satowa Suzuki, Kouji Kimura, Naohiro Shibata, Haru Kato, Keigo Shibayama, Toshifumi Konda, et Yoshichika Arakawa. 2007. « New Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Efflux Pump, QepA, Found in an Escherichia Coli Clinical Isolate ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51 (9): 3354-60. <https://doi.org/10.1128/AAC.00339-07>.
- Yang, Yen-Chun, Chien-Hsiu Hsu, Chun-Ping Chou, et Mei-Kwei Yang. 2016. « Genetic Organization of the LexA, RecA and RecX Genes in Xanthomonas Campestris ». *FEMS Microbiology Letters* 209 (2): 149-54. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11124.x>.
- Yarnell, W. S., et J. W. Roberts. 1999. « Mechanism of Intrinsic Transcription Termination and Antitermination ». *Science* 284 (5414): 611-15. <https://doi.org/10.1126/science.284.5414.611>.
- Yin, Jerry C.P., Mark P. Krebs, et W.S. Reznikoff. 1988. « Effect of dam methylation on Tn5 transposition ». *Journal of Molecular Biology* 199 (1): 35-45. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(88\)90377-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(88)90377-4).
- Yoneyama, H, E Yoshihara, et T Nakae. 1992. « Nucleotide sequence of the protein D2 gene of Pseudomonas aeruginosa. » *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 36 (8): 1791-93.
- Yoshida, Takeshi, Ling Qin, Linda A. Egger, et Masayori Inouye. 2006. « Transcription Regulation of OmpF and OmpC by a Single Transcription Factor, OmpR ». *The*



Journal of Biological Chemistry 281 (25): 17114-23.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M602112200>.

Yuan, Jie, Buyun Wei, Miaomiao Shi, et Haichun Gao. 2011. « Functional Assessment of EnvZ/OmpR Two-Component System in *Shewanella Oneidensis* ». *PloS One* 6 (8): e23701. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023701>.

Zheng, Dongling, Chrystala Constantinidou, Jon L. Hobman, et Stephen D. Minchin. 2004. « Identification of the CRP Regulon Using in Vitro and in Vivo Transcriptional Profiling ». *Nucleic Acids Research* 32 (19): 5874-93. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh908>.

Ziebuhr, Wilma, Vanessa Krimmer, Shwan Rachid, Isabel Lößner, Friedrich Götz, et Jörg Hacker. 1999. « A Novel Mechanism of Phase Variation of Virulence in *Staphylococcus Epidermidis*: Evidence for Control of the Polysaccharide Intercellular Adhesin Synthesis by Alternating Insertion and Excision of the Insertion Sequence Element IS256 ». *Molecular Microbiology* 32 (2): 345-56. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01353.x>.





Annexes



Annexe 1. Liste des amorces utilisées dans cette étude

Numéro	Nom	Séquence 5'→3'	Utilisation
1	PORF513_EcoRI_L	CCGGAATTCTAGCATTACCTTC	Amplification de la région <i>terS</i> contenant la région promotrice du gène <i>rcr1</i>
2	PORF513_BamHI_R	GCGGGATCCATGGGTATCCTCCGCTGATA	
3	PISCR1EcoR1-short	CGCGAATTCAGCGATGTCTAGGGCCAGAC	Amplification de la région <i>terS</i> raccourcie à 80 bp contenant les séquences promotrices du gène <i>rcr1</i>
4	PORF513_BamHI_R	GCGGGATCCATGGGTATCCTCCGCTGATA	
5	Pr-cr1-10mutL	TGAACGCAAGCCGCTGACGCTGTACATAACCA CAGTATCAGCG	Mutations de la boîte-10
6	Pr-cr1-10mutR	GATACTGTGGTTATGTACAGCGTCAGCGGCTT GCGTTCAGACG	
7	Pr-cr1-35MutR	GGCTTGC GTTCAGACTGCGGGTCTGGCCCTAG ACA	Mutations de la boîte - 35
8	Pr-cr1-35MutL	TGTCTAGGGCCAGACCCG CAGTCTGAACGCAA GCCGC	
9	ISCR1lexAmutR	ATCCTCCGCTGATAAGTTGGTTATGTACAGTAT CAGCG	Mutations au sein de la boîte LexA
10	ISCR1lexAmutL	CTGATACTGTACATAACCAACTTATCAGCGGA GGATAC	
11	Pr-cr1-mutTGNR	GATACTGTGGTTATGTACAGTATGTGCGGCTTG CGTTCAGACG	Mutations au sein de la séquence TGN
12	Pr-cr1-mutTGNL	TGAACGCAAGCCG CACATACTGTACATAACCA CAGTATCAGCG	
13	ompR_check_R	CACATTGGGTATAACGTGATCATATCAACA	Vérification de la délétion chromosomique du gène <i>ompR</i>
14	ompR_check_L	CTCAACGCGCACTTCCGTCCGGGCCGCCAG	
15	crp-ext-5	CACCAGCGTTTGTCTGAAGTG	Vérification de la délétion chromosomique du gène <i>crp</i>
16	crp-ext-3	ACGTCACATTACCGTGCAGT	
17	ihfA-ext5	GAATGAGGTTGAGTTCCGT	Vérification de la délétion chromosomique du gène <i>ihfA</i>
18	ihfA-ext3	TTGGGGAGTTGCCCTTGC	
19	cpxR-ext5	GCCATCTCAACCTGACGAG	Vérification de la délétion chromosomique du gène <i>cpxR</i>
20	cpxR-ext3	ACTGCTGGCCGGACGAATC	
21	pOmpF_F_EcoRI	CGCGAATTCGGGTTCACAAAGTTCCTTAAATTT	Amplification de la région promotrice du gène <i>ompF</i>
22	pOmpF_R_BamHI	CCCGGATCCCATCATTATTTATTACCCTCATGGTTTTTT	
23	pOmpC_R_BamHI	CCCGGATCCCATGTTATTAACCCTCTGTTATATGCCTTT	Amplification de la région promotrice du

24	pOmpC_F_EcoRI	CGCGAATTCTTTAACCTTGAATTATTATTGCTT GATGTTAGGTG	gène <i>ompC</i>
25	MRVD2	TTCTGCTGACGCACCGGTG	Vérification de l'insert dans le pSU38tot Δ <i>lacZ</i>
26	Fwd	GTGACTGGGAAAACCCTGGCG	
27	ISCR-GS-R	CAGCGTCTGGTCGGGTTG	Amplification des sondes ADN pour gel retard
28	ISCR-GS-L	CAACCGTAGTGGCTAGAT	
29	ompR1_mut_L		Mutations au sein de site OmpR 1
30	ompR1_mut_R		
31	ompR2_mut_L		Mutations au sein du site OmpR 2
32	ompR2_mut_R		



Annexe 2. Liste des communications scientifiques

Communications orales :

Nationale

Lallement C, Ploy M.C and Jové T. Impact of new bacterial insertion sequences family in antibioresistance. Journée GEIST (Génomique, Environnement, Immunité, Santé et Thérapeutiques) 2017 (Limoges, France)

Posters :

Jové T., Lallement C., Ploy M.C. Contribution d'ISCR1 à l'expression de la résistance aux antibiotiques. Journée de la Recherche Tours-Limoges-Poitiers 2016 (Limoges, France)

Lallement C, Jové T and Ploy M.C. SOS induction of ISCR elements family and contribution to antibiotic resistance. International Congress of Transposable Elements 2016 (St Malo, France)

Lallement C, Jové T and Ploy M.C. ISCR1 contributes to antibiotic resistance. Federation of European Microbiological Societies Congress 2017 (Valence, Espagne)

Caractérisation des séquences d'insertions ISCR bactériennes impliquées dans la résistance aux antibiotiques

Les ISCR constituent une famille de séquences d'insertions bactériennes décrits récemment dans des contextes cliniques et d'antibiorésistance. Les transposases codées par ces IS appartiennent à la famille des HUH transposases qui transposent selon un mécanisme en cercle roulant. Néanmoins, aucune donnée expérimentale n'existe à ce jour. La famille ISCR compte 19 membres mais ont été peu caractérisés. C'est pourquoi, nous avons fait une mise à jour des informations sur ces éléments en analysant *in silico* les principales caractéristiques par une étude *in silico*. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'implication de l'élément ISCR1 dans l'expression de la région variable en aval. Cet élément contient deux promoteurs orientés vers l'extérieur (P_{OUT}) dans sa région en 3'. Après une analyse de la diversité des gènes, nous avons remarqué que la plupart des gènes en aval étaient orientés dans le même sens que ces P_{OUT} et qu'ils pouvaient être exprimés à partir des deux promoteurs. Nous avons montré que pour deux gènes de résistance *dfrA19* et *bla_{CTX-M-9}*, ces promoteurs augmentent le niveau d'expression. De plus, la région contenant les deux promoteurs est nécessaire pour que l'expression de *bla_{CTX-M-9}* confère un phénotype de résistance. En parallèle, nous avons déterminé la régulation du promoteur du gène de la transposase de ISCR1. Nous avons identifié des motifs de régulation pour les régulateurs LexA et OmpR et déterminé expérimentalement que le promoteur du gène de la transposase de ISCR1 était régulé de façon négative par la protéine LexA, régulateur majeur de la réponse SOS et de façon positive par la protéine OmpR en conditions hypo-osmotiques. Nous proposons donc un modèle selon lequel ISCR1 est un élément dont la mobilité serait conditionnée par des facteurs environnementaux et en même temps, assurerait l'expression constitutive de gènes en aval, notamment impliqués dans l'antibiorésistance.

Mots-clés : Séquences d'insertions, ISCR, P_{OUT} , Régulation

Characterization of bacterial insertion sequences ISCR involved in antibiotic resistance

ISCR are a bacterial insertion sequences, recently described in clinical settings, frequently related to antibiotic resistance. These ISCR-encoded transposases belong to the well-known HUH transposases family, which transpose by rolling-circle replication. However, the transposition mechanism of ISCR transposases has not been shown experimentally. ISCR family includes 19 members and has not been well characterized yet. Therefore, we updated *in silico* already known characteristics for each ISCR element. Then, we investigated the involvement of ISCR1 in the expression of the downstream genes. Indeed, ISCR1 carries two outward-oriented promoters called P_{OUT} . By analyzing the diversity of the downstream region, we found that most of genes were in the same orientation as P_{OUT} promoters, suggesting these downstream genes are expressed from P_{OUT} . It thus showed that these two promoters are able to express two antibiotic resistance genes (*dfrA19* and *bla_{CTX-M-9}*). Moreover, the region containing P_{OUT} is essential to provide an ESBL-resistance phenotype for *bla_{CTX-M-9}* gene. Moreover, we also wanted to analyze the regulatory network involved in the expression of the ISCR1 transposase, RCR1. We experimentally determined that two regulatory proteins LexA and OmpR, involved in response to different stress (DNA damages and osmotic shock), control the activity of *rcr1* promoter. LexA protein represses *Prcr1* whereas OmpR activates *Prcr1* in hypo-osmotic conditions. Here, we propose a model in which ISCR1 transposition would be the control of environmental stresses and at the same time, insured the expression of downstream antibiotic resistance genes.

Keywords : Insertion sequences, ISCR, P_{OUT} , Regulation

