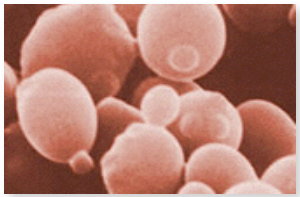
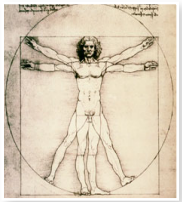
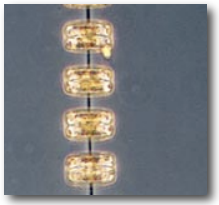
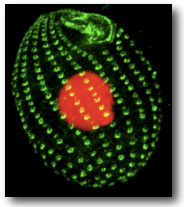


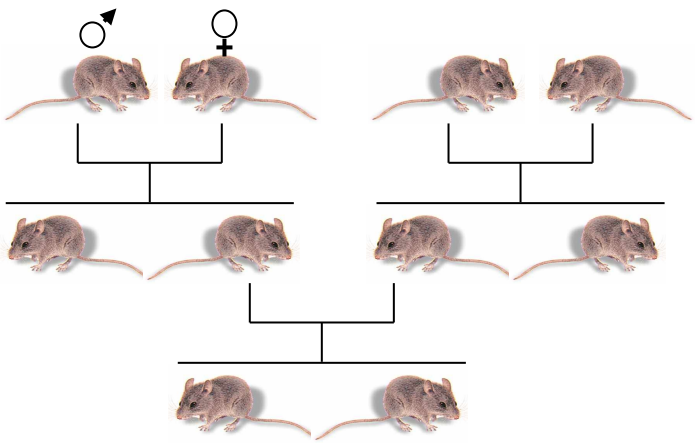


Eléments mobiles et transferts horizontaux

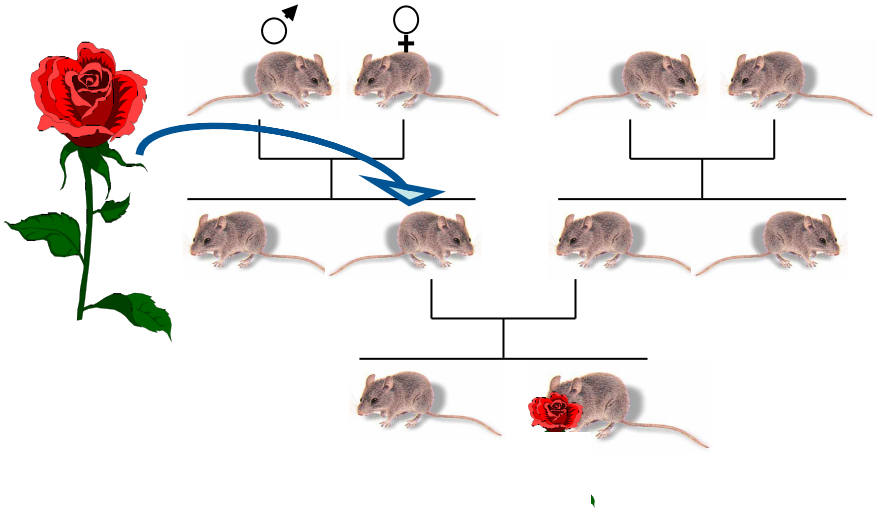
Cours BIM-PHYG
11 décembre 2014
Bernard Dujon

Transmission verticale et transferts horizontaux

Transmission verticale

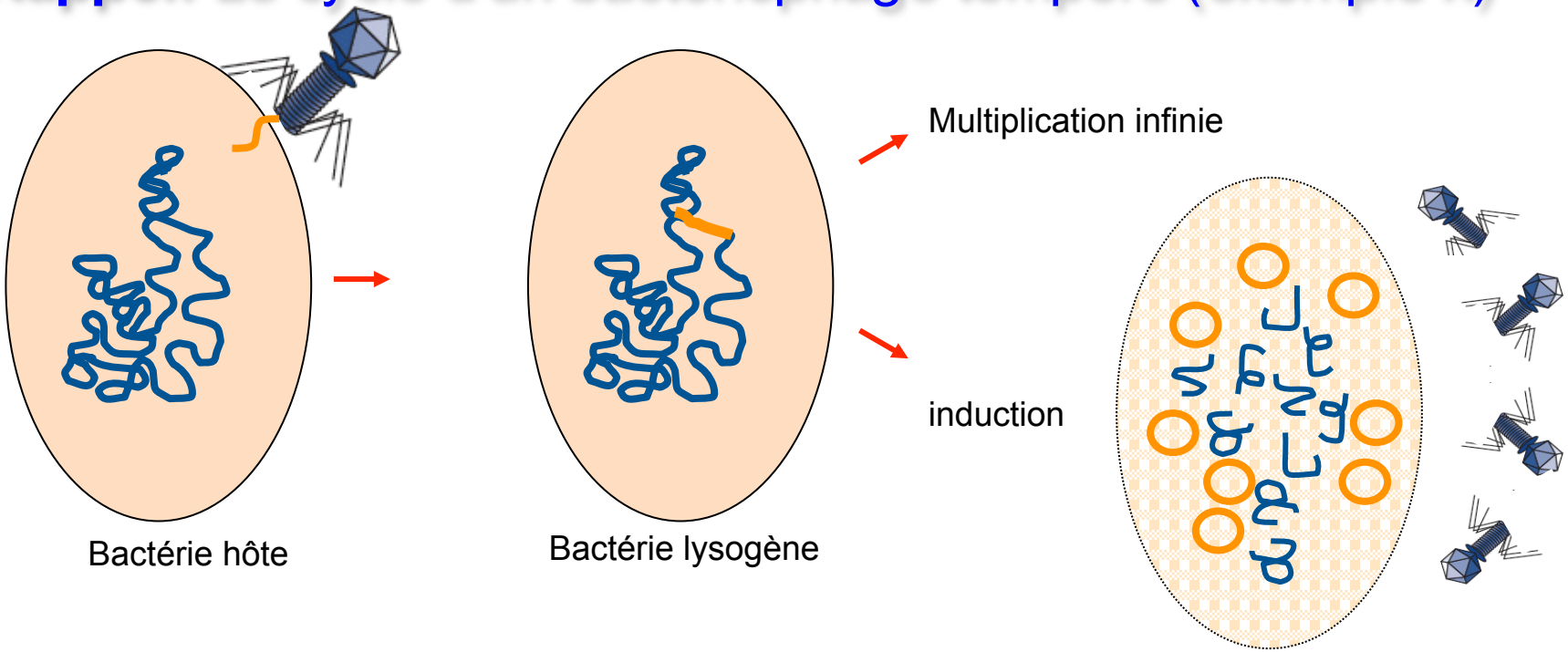


Transfert horizontal

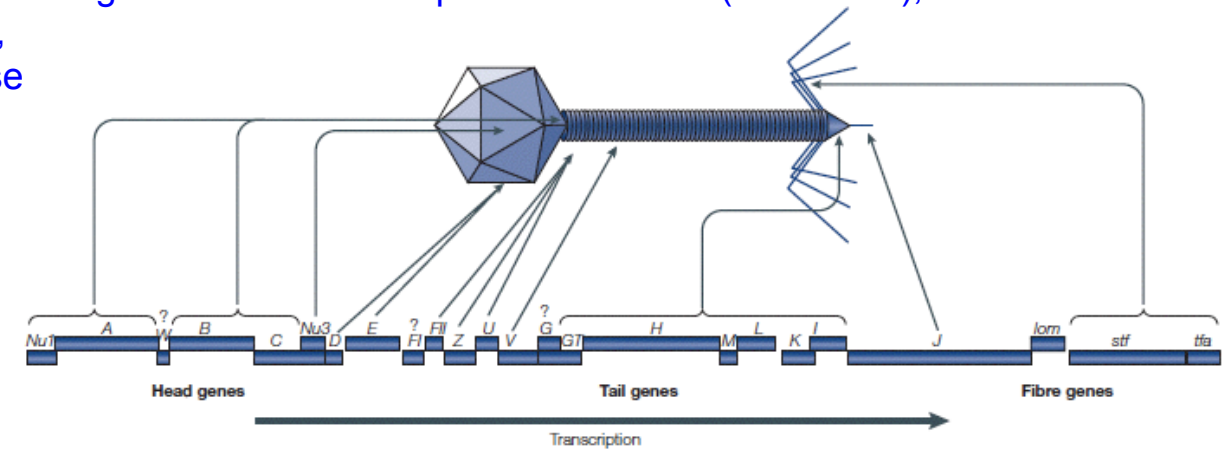


Générations successives

Rappel: Le cycle d'un bactériophage tempéré (exemple λ)

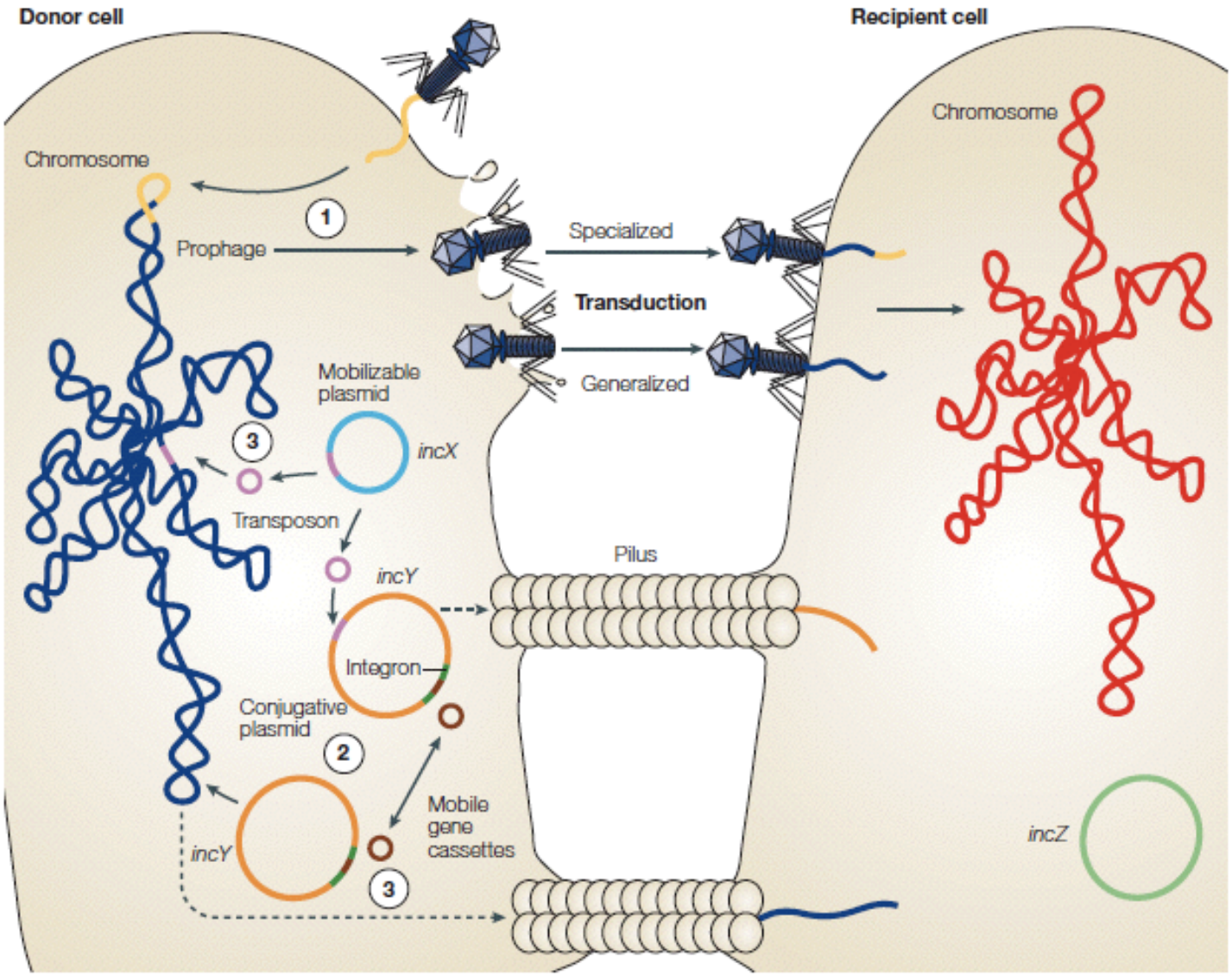


Un bactériophage "tempéré" infecte une cellule, son ADN s'intègre dans celui de l'hôte où il peut se répliquer indéfiniment comme partie intégrante du génome de l'hôte. Après réactivation (**induction**), l'ADN du bactériophage s'excise du génome, se multiplie et détermine la synthèse de nouvelles particules de bactériophages. Chacune d'elle reçoit une copie de l'ADN du bactériophage. Le cycle est ainsi bouclé.



Résumé des types d'échanges génétiques entre bactéries

Frost *et al.*, 2005 *Nature Reviews Microbiology* **3**: 722-732



Résumé des types d'échanges génétiques entre bactéries

Frost *et al.*, 2005 *Nature Reviews Microbiology* **3**: 722-732

① **Transduction**: Le cycle d'un bactériophage peut engendrer des transferts de gènes entre bactéries.

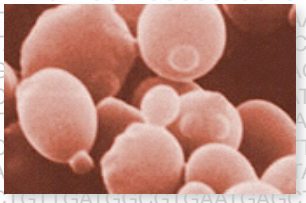
L' excision imprécise de l'ADN d'un bactériophage tempéré entraîne l'insertion d'un fragment du génome de l'hôte dans les particules. Lorsque ces particules infecteront une autre bactérie, celle-ci recevra ce fragment venant d'un autre génome et l'intégrera dans son propre génome. On parle de **transduction spécialisée** car seuls les fragments voisins du site d'insertion initial seront transférés.

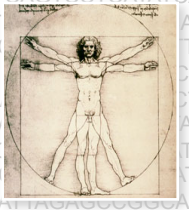
Pour certains bactériophages, les particules naissantes peuvent incorporer accidentellement des fragments du chromosome de l'hôte au lieu de l'ADN du bactériophage. Lorsque ces particules infecteront une autre bactérie, celle-ci recevra ce fragment venant d'un autre génome et l'intégrera dans son propre génome. On parle de **transduction généralisée** car tous les fragments de la première bactérie peuvent être ainsi transférés.

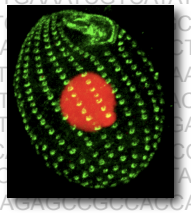
② **Conjugaison:** Des plasmides conjugatifs (libres ou intégrés au génome bactérien) se transfèrent dans une nouvelle bactérie où ils se répliquent à l'état autonome ou s'intègrent au chromosome. Lorsque le plasmide était intégré au chromosome bactérien, il transfère avec lui un fragment plus ou moins long de celui-ci. On parle de **parasexualité bactérienne**.

Chez les bactéries gram-négatifs, le transfert s'effectue par l'intermédiaire de structures protéiques spécialisées, les *pili*.

③ **Transposition:** Des **transposons** s'intègrent dans des nouveaux sites du chromosome bactérien ou des plasmides. Les **intégrons** sont des éléments spécialisés qui permettent le transfert de **cassettes** de gènes.







Plan du cours

Les éléments mobiles:

Brève historique et notions fondamentales
La découverte des rétro-éléments
Les principaux types d'éléments et leurs propriétés

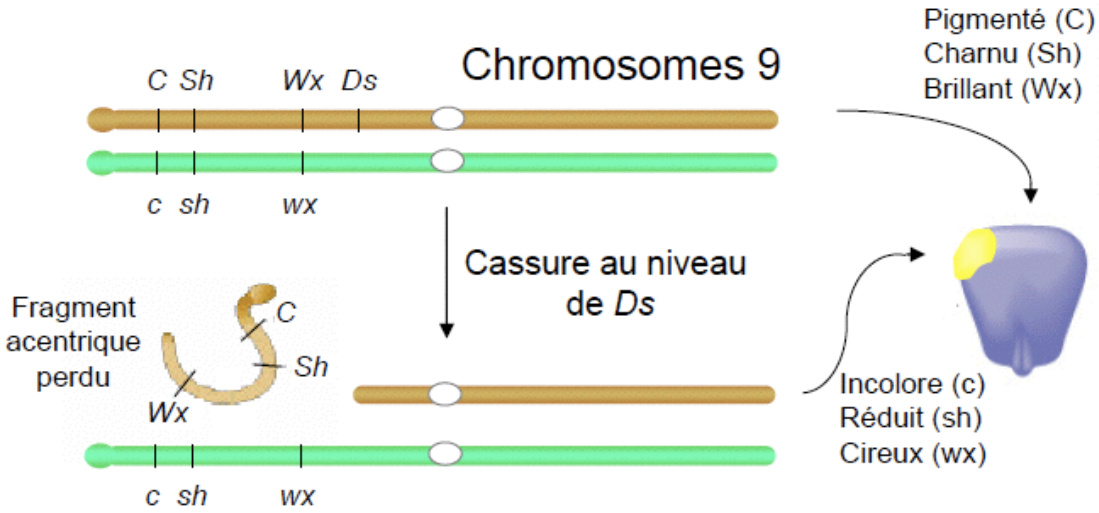
Mécanismes fondamentaux
Présence des éléments mobiles dans les génomes
Conséquences de l'activité des éléments mobiles
Rétrogènes et exonisation des éléments mobiles

Les transferts génétiques horizontaux:

Principes d'identification: synténie et phylogénie
Spécificité des génomes bactériens: *core-genome* et *pangenome*
Acquisition de gènes bactériens chez les eucaryotes
Introgressions de grands segments chromosomiques
Transferts inter-organelles chez les eucaryotes

Barbara McClintock (1902 – 1992)

1944 : étude systématique de la mosaïque de couleurs des grains de maïs et de l'instabilité de son héritage. Deux loci génétiques dominants interagissent, *Dissociator* (*Ds*) et *Activator* (*Ac*). *Dissociator* permet la dissociation mais aussi la cassure du chromosome, et ajoute une variété d'effets sur les gènes voisins lorsque l'*Activator* est présent.

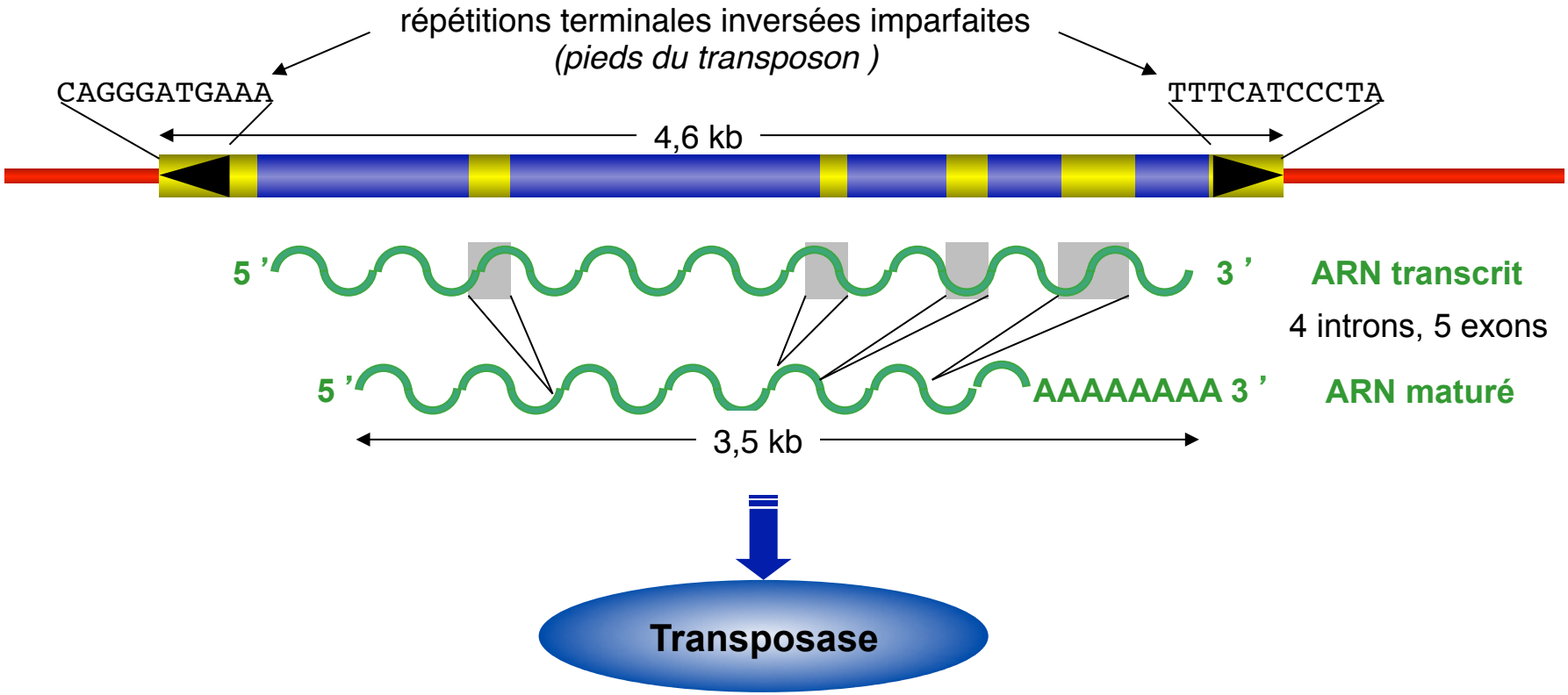


1948 : *Dissociator* et *Activator* transposent dans le génome. *Ac* contrôle la transposition de *Ds*, et le mouvement de *Ds* est accompagné par la brisure du chromosome 9. La grosseur de la zone colorée sur les semences est déterminée par leur stade de développement au moment de la dissociation.

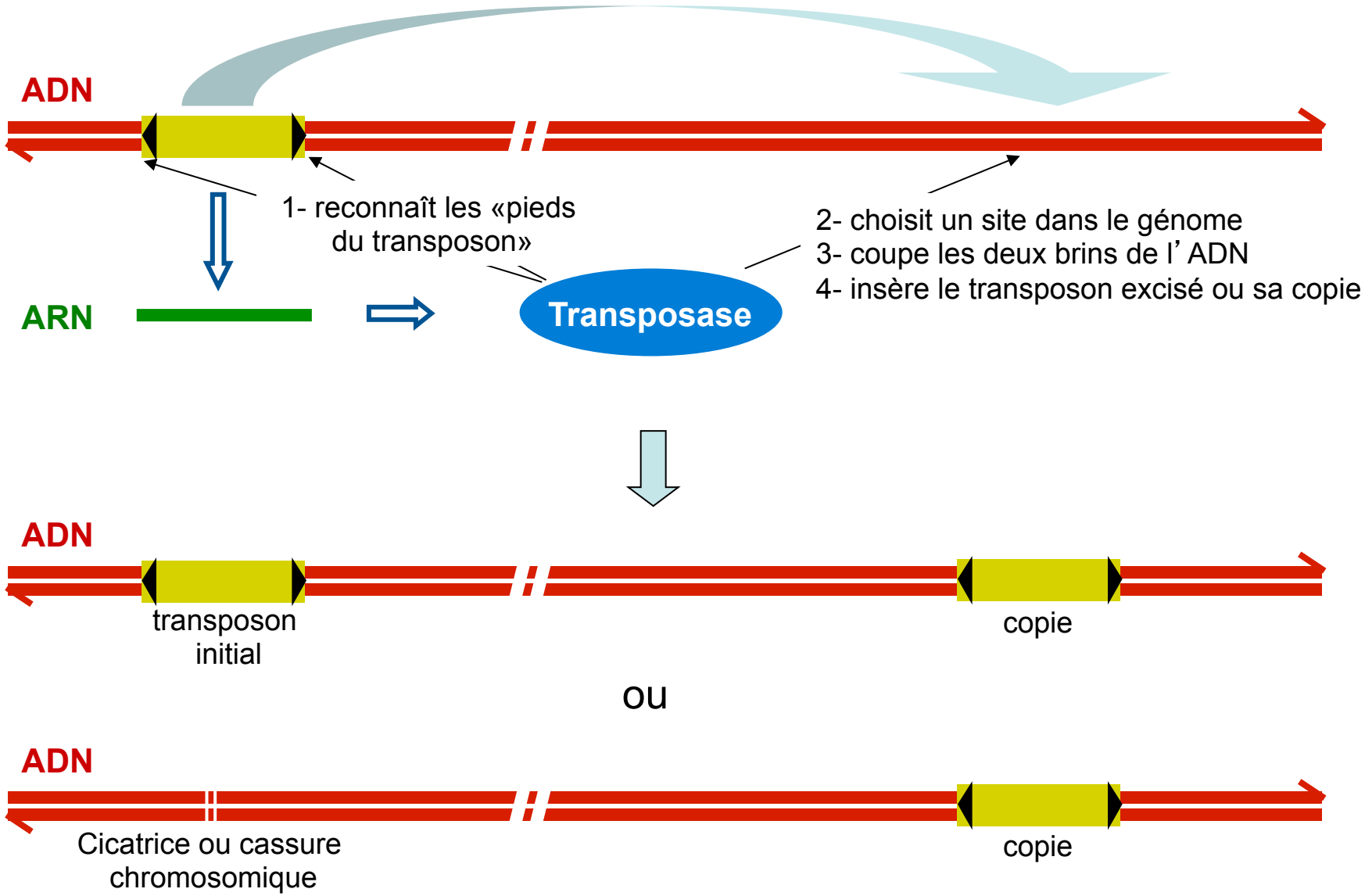
Exemple historique de transposon

McClintock, B. 1951 *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol*. 16: 13-57

Eléments de contrôle du maïs (élément **Ac** pour activateur).

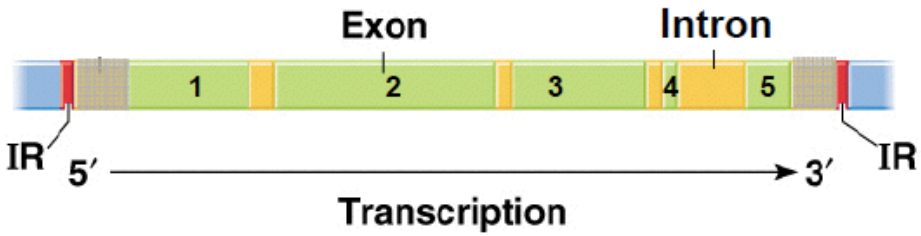


Notion fondamentale 1: Transposition duplicative ou non-duplicative

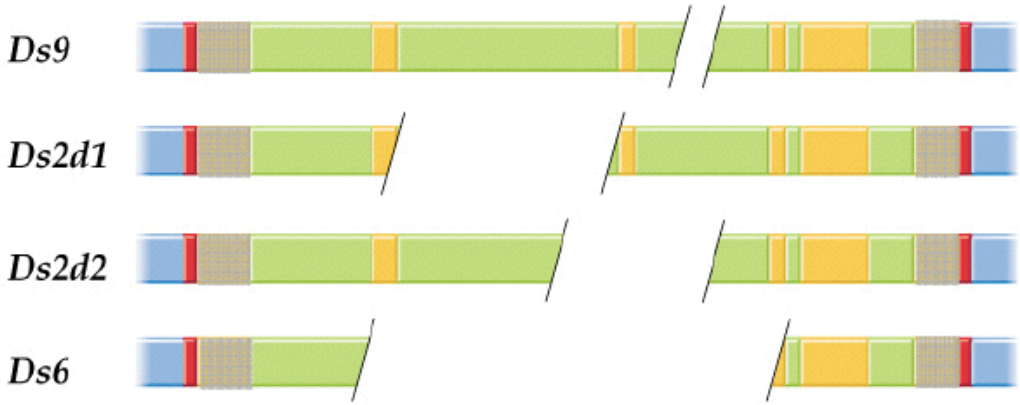


Notion fondamentale 2: éléments autonomes et non-autonomes

Ac **: 'activator element', autonome, peut activer *Ds***



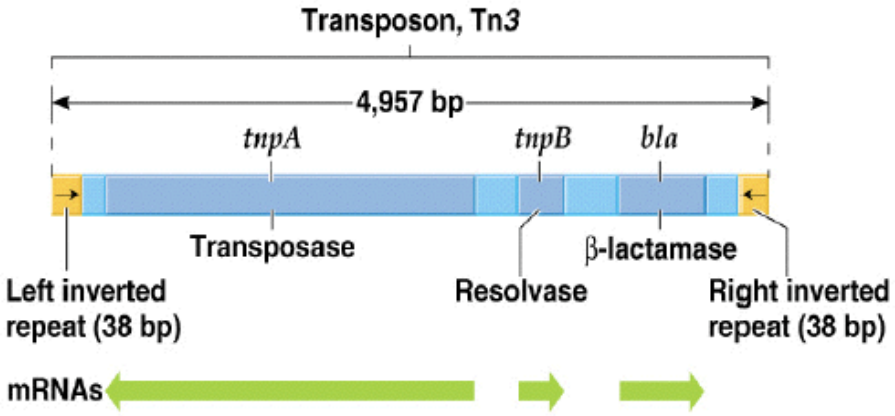
Ds **: 'dissociation element', non autonome**

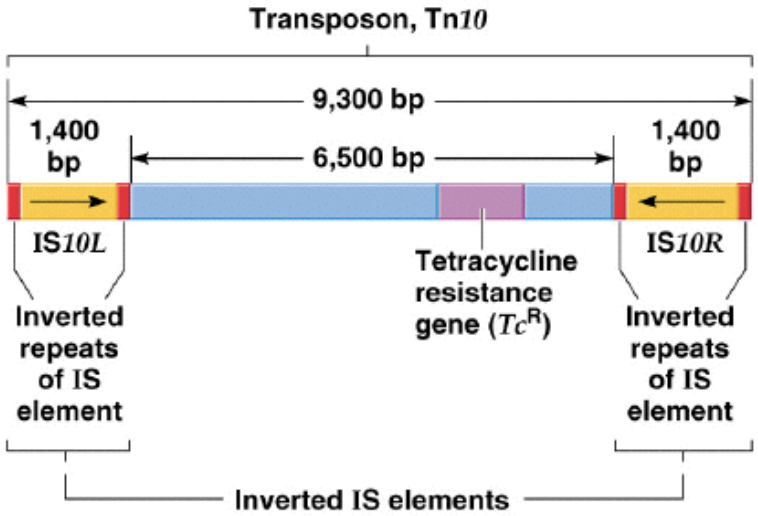


Notion fondamentale 3: éléments simples et composites: transfert de gènes

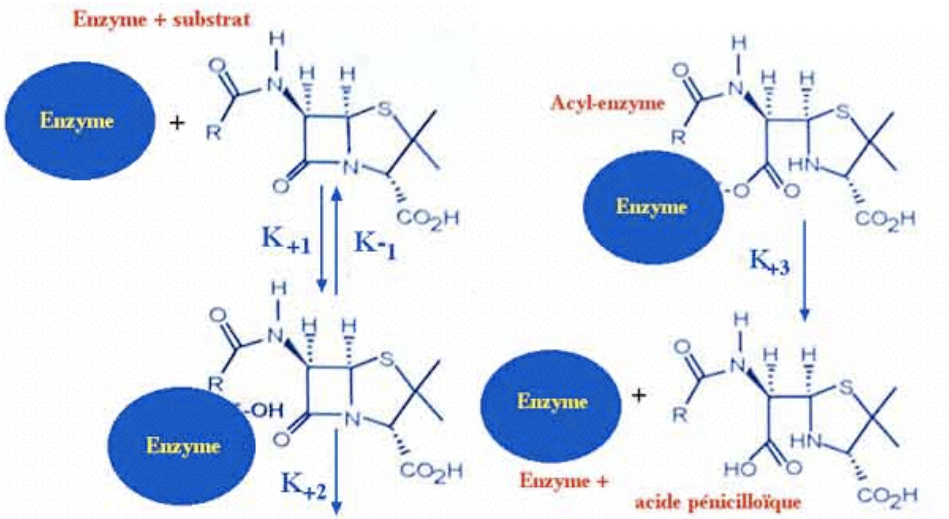
transposon (non composite)
Possède une transposase et des gènes (résistance aux antibiotiques) encadrés de séquences répétées inversées

transposon composite
Possède des gènes (résistance aux antibiotiques) encadrés de chaque côté d'un élément de type IS

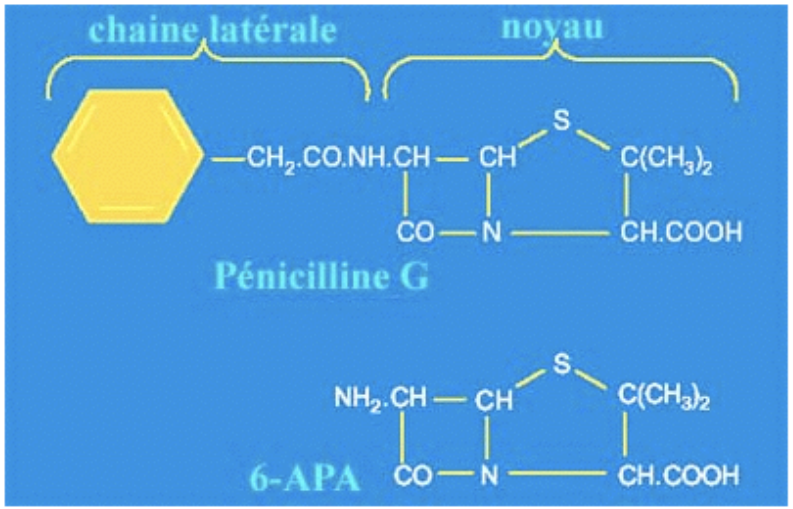




Pénicillinase et les débuts de la génétique moléculaire

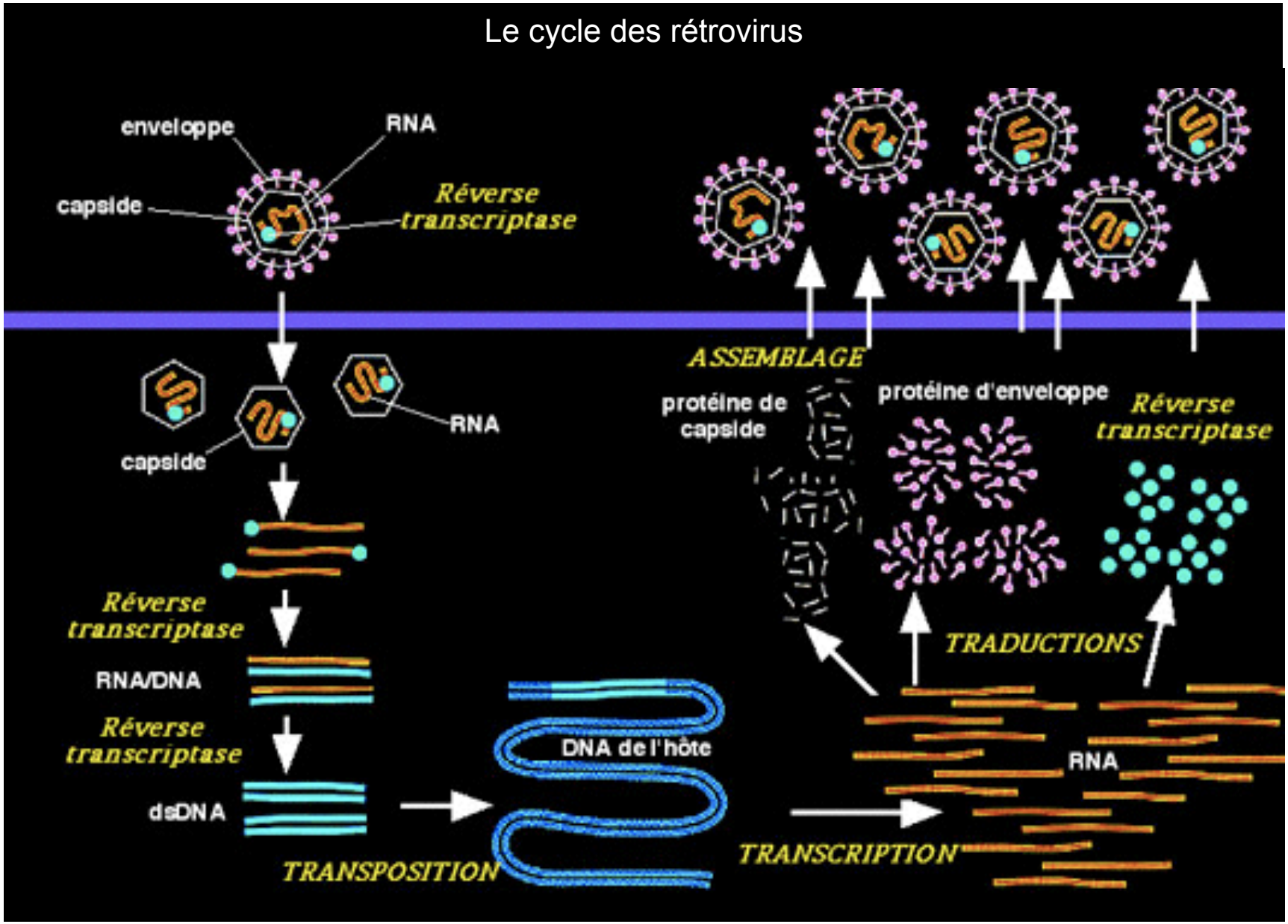


1940 LETTERS TO THE EDITORS



* La découverte ultérieure de l'obtention industrielle du **noyau 6-APA** (acide 6-aminopénicillanique) par une équipe britannique dont Batchelor R. et Rolinson G. ouvrit la voie à la découverte future de nombreux dérivés d' hémi- synthèse et l'introduction ultérieure en clinique de nouvelles ß-lactamines.

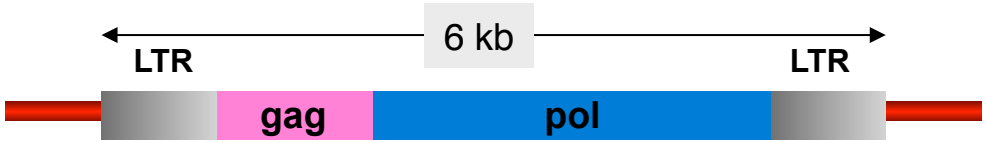
Le cycle des rétrovirus

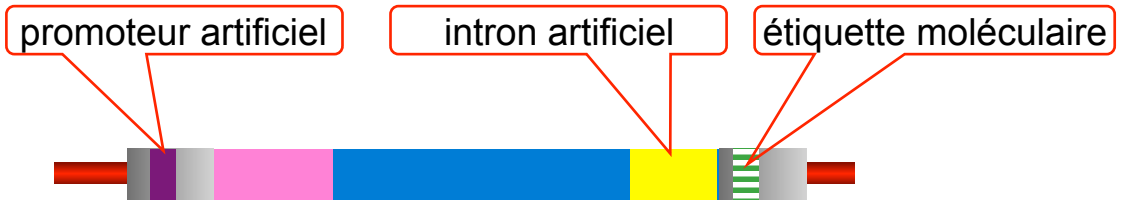


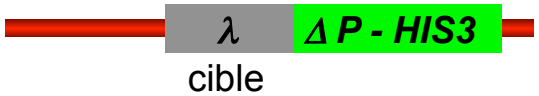
1985: La découverte des rétrotransposons

Transposon de levure (élément **Ty1** pour *transposon of yeast*)

Boeke, J. D. *et al.* 1985. *Cell* **40**, 491-500





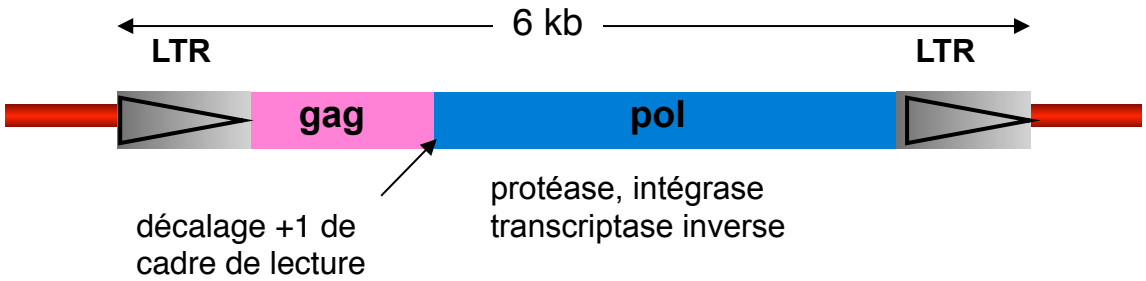


expérience
mise en présence de galactose (induction du promoteur artificiel)
sélection de mutants [his$^+$] (réactivation du gène sans promoteur)
examen moléculaire du transposon intégré

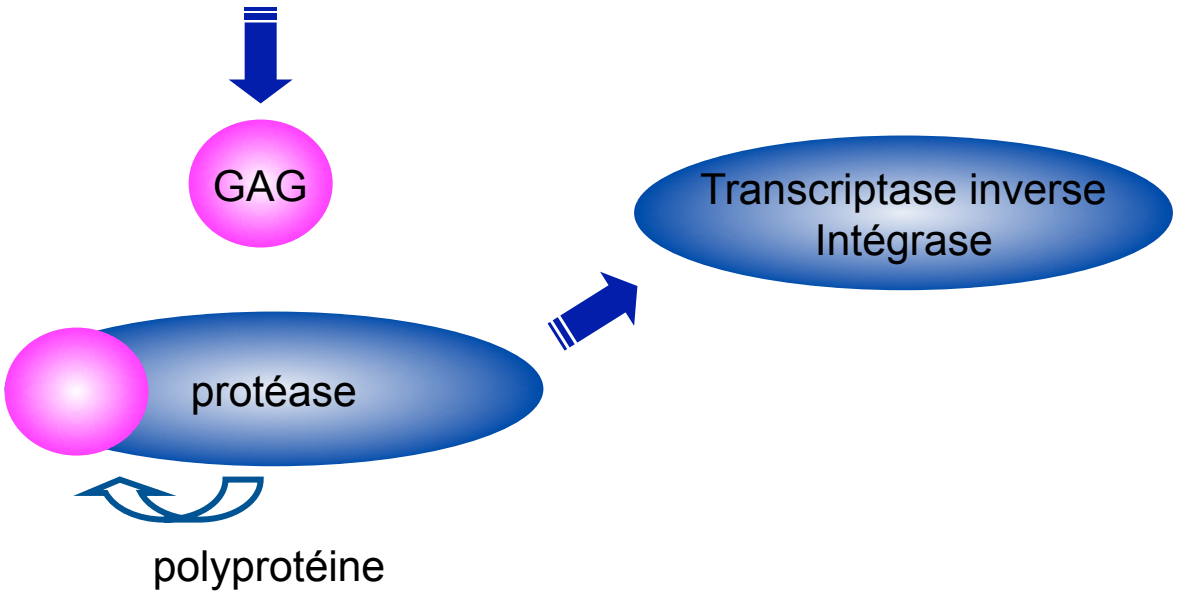
perte précise de l ' intron
présence de l ' étiquette moléculaire

Elément Ty1

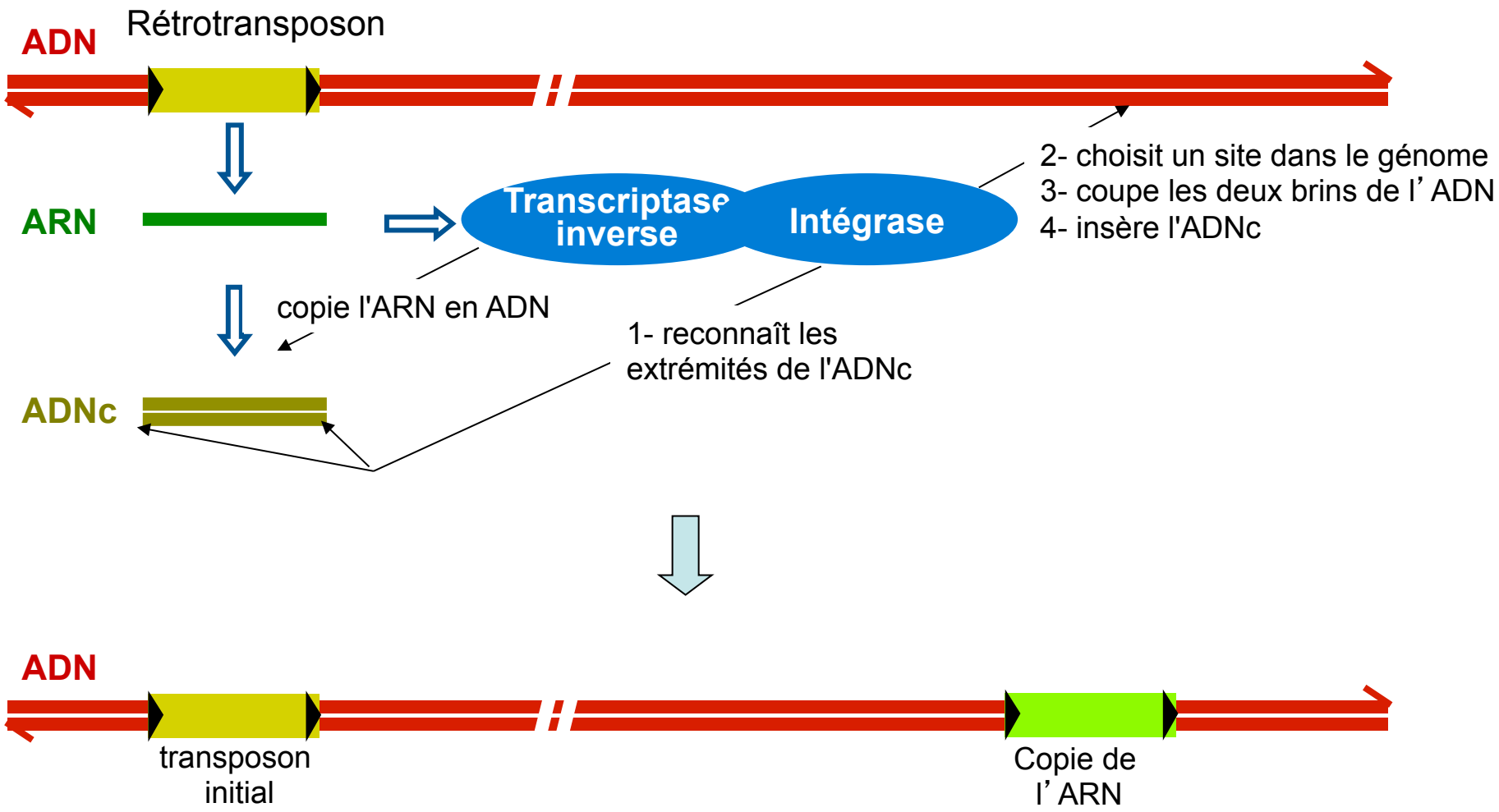
+1
+2
+3
gag
pol
LTR 5'
LTR 3'


6 kb
LTR
LTR
gag
pol
décalage +1 de
cadre de lecture
protéase, intégrase
transcriptase inverse

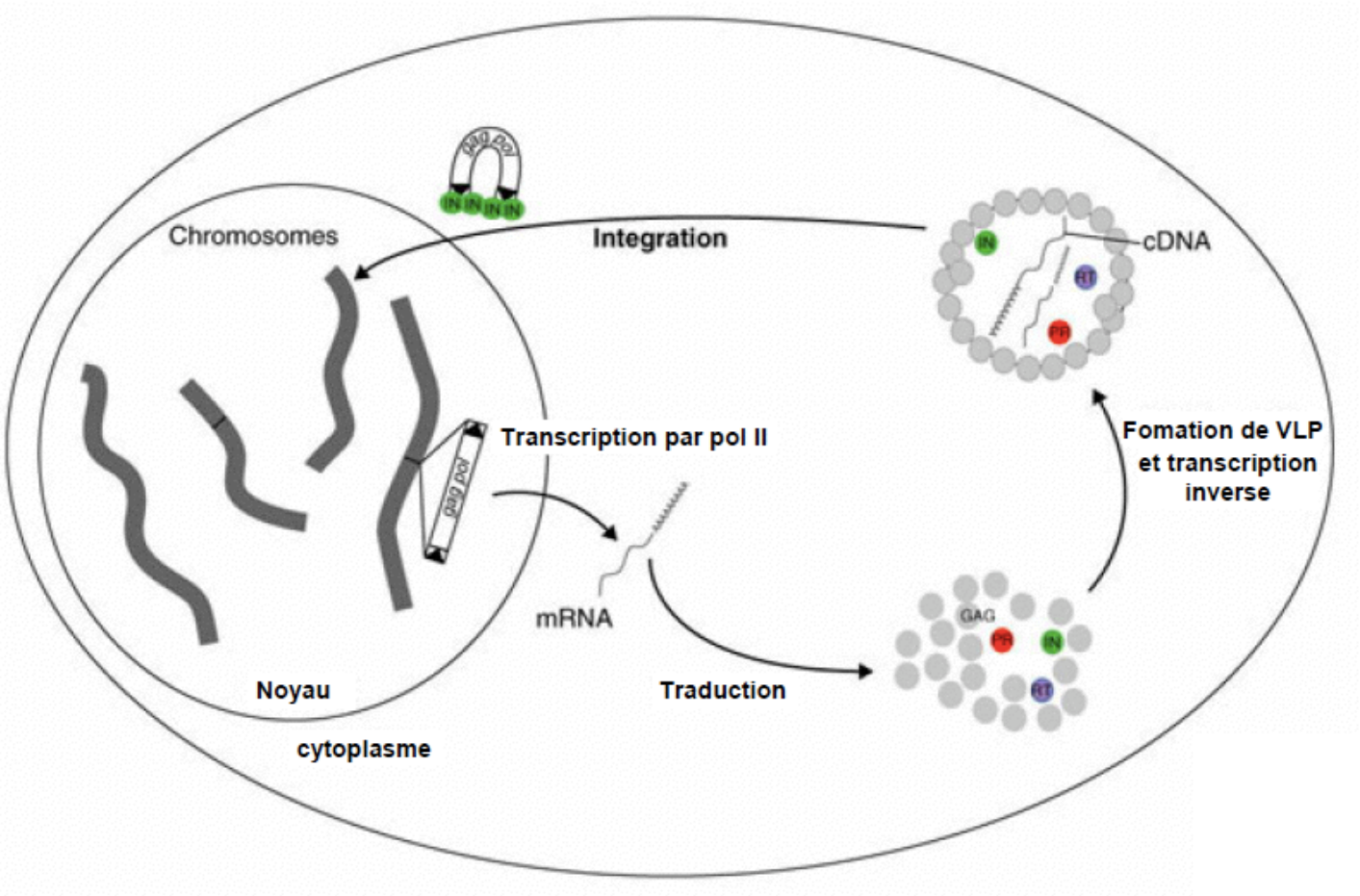
5 '
AAAAAAAA 3 '
ARN transcrit


GAG
Transcriptase inverse
Intégrase
protéase
polyprotéine

Notion fondamentale 4: mécanismes de rétrotransposition



Le cycle de rétrotransposition de Ty1

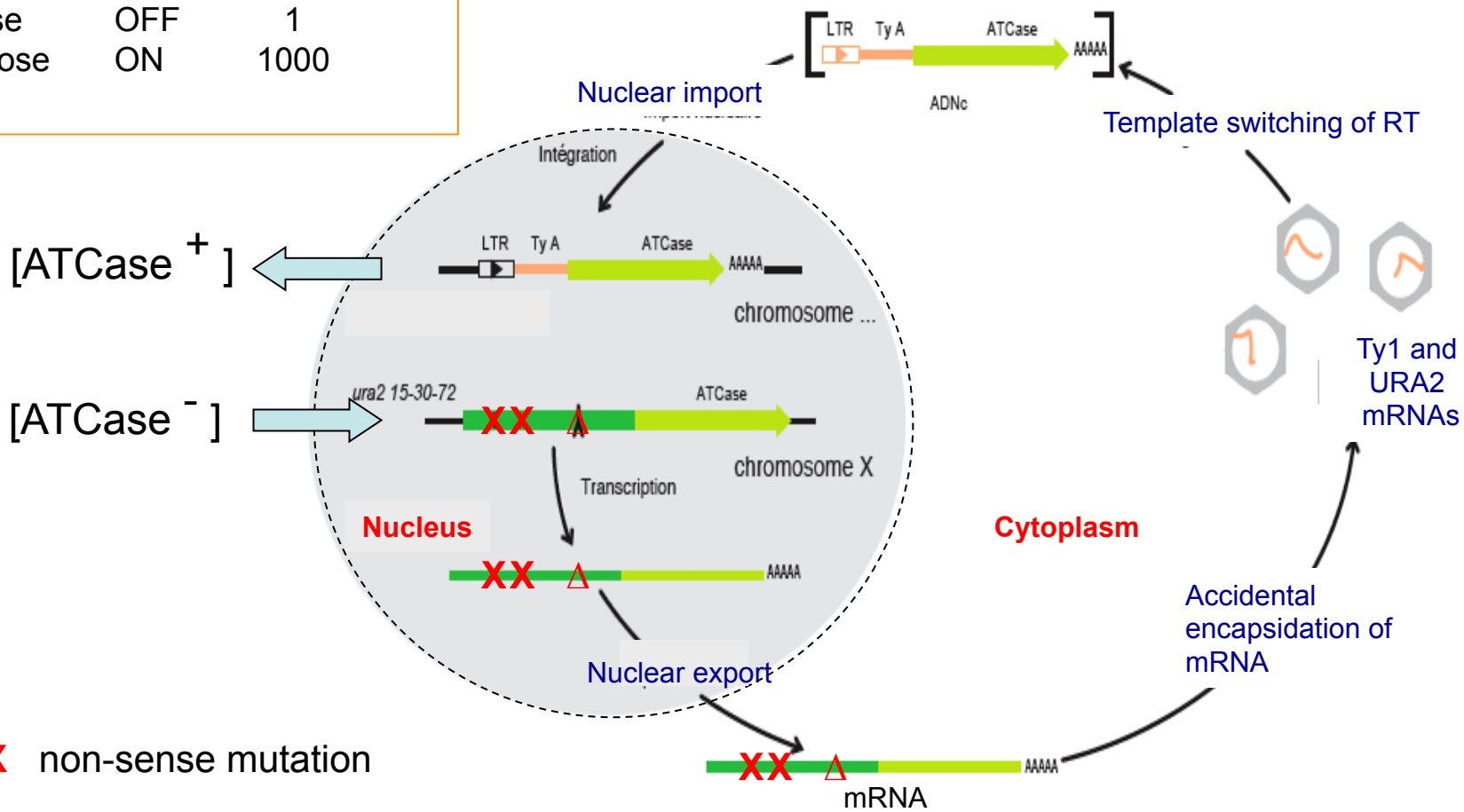


D'après Havecker *et al.*, Genome Biology, 5:225, 2004.

Formation de retrogènes dépendant des *Ty* chez la levure

Schacherer *et al.*, (2004) *Genome Res.* **14:** 1291-1297

Gal promoter Ty		
Substrate		relative freq. revertants
Glucose	OFF	1
Galactose	ON	1000



X non-sense mutation

Δ deletion with frameshift

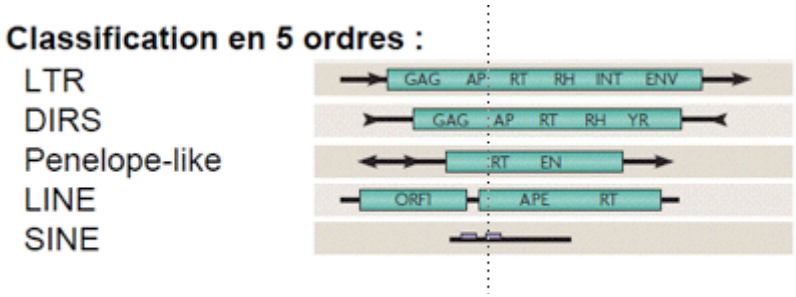
Les types d'éléments mobiles

Classe I: transposition par intermédiaire d'ARN (rétrotransposons ou rétroposons)

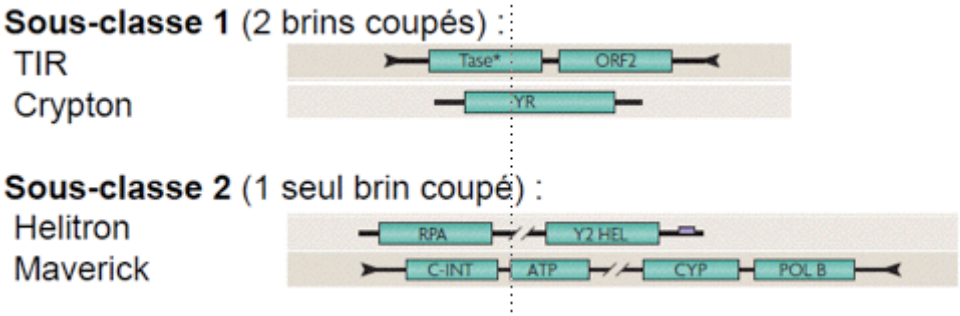
Classe II: transposition sans intermédiaire d'ARN (transposons à ADN)

Autres critères de classification:
- organisation structurelle
- caractéristiques de la transposition
- phylogénie des transposases et/ou transcriptases inverses

Eléments de classe I



Eléments de classe II

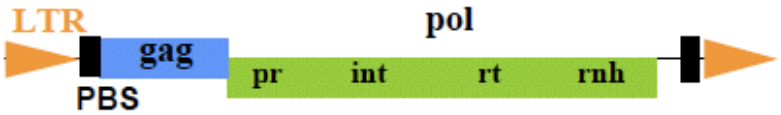


Les ordres sont eux-mêmes sous divisés en superfamilles

Eléments de classe I à LTR

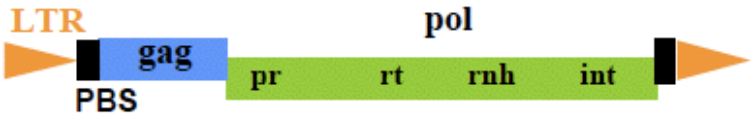
Classification		Structure	TSD
Order	Superfamily		
LTR	*Copia*	GAG AP INT RT RH	4–6
	Gypsy	GAG AP RT RH INT	4–6
	Bel–Pao	GAG AP RT RH INT	4–6
	Retrovirus	GAG AP RT RH INT ENV	4–6
	ERV	GAG AP RT RH INT ENV	4–6

copia



Ty1 chez *S. cerevisiae*

gypsy



Ty3 chez *S. cerevisiae*

Eléments transposables de classe I
(Rétrotransposons)

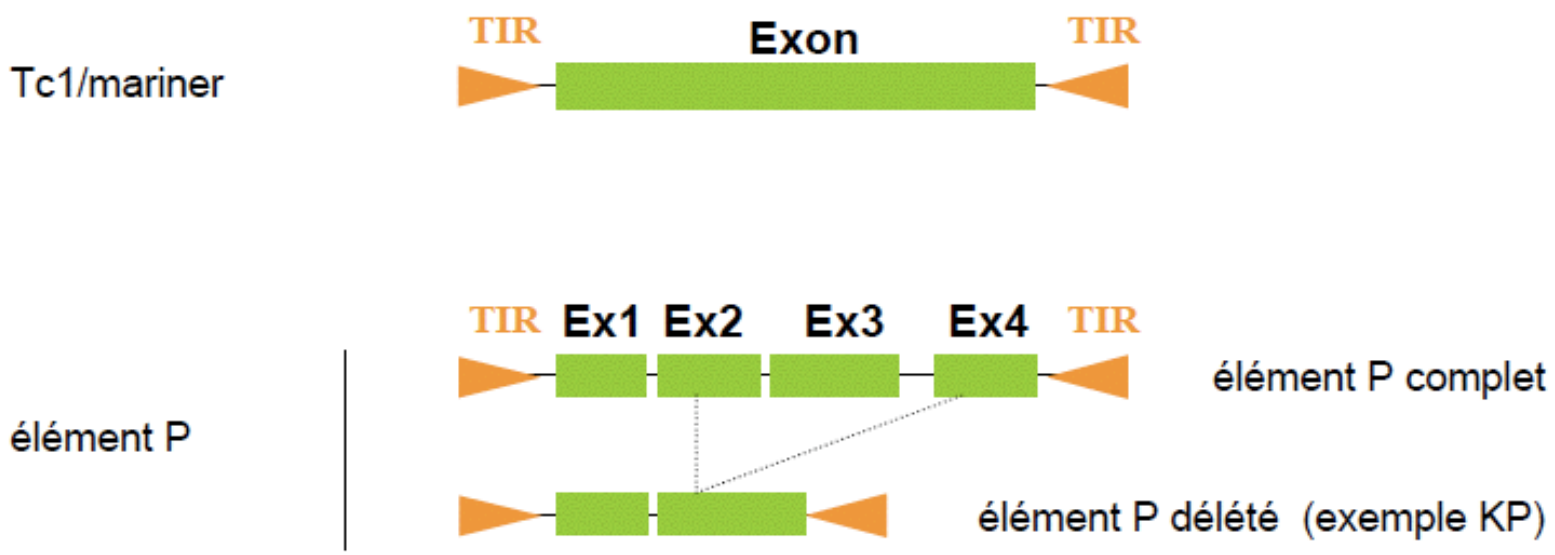
Wicker *et al.*, 2007 *Nature Reviews Genetics* **8**: 973-982

Classification		Structure	TSD	Code	Occurrence
Order	Superfamily				
Class I (retrotransposons)					
LTR	*Copia*	GAG AP INT RT RH	4–6	RLC	P, M, F, O
	Gypsy	GAG AP RT RH INT	4–6	RLG	P, M, F, O
	Bel–Pao	GAG AP RT RH INT	4–6	RLB	M
	Retrovirus	GAG AP RT RH INT ENV	4–6	RLR	M
	ERV	GAG AP RT RH INT ENV	4–6	RLE	M
DIRS	*DIRS*	GAG AP RT RH YR	0	RYD	P, M, F, O
	Ngaro	GAG AP RT RH YR	0	RYN	M, F
	VIPER	GAG AP RT RH YR	0	RYV	O
PLE	*Penelope*	RT EN	Variable	RPP	P, M, F, O
LINE	*R2*	RT EN	Variable	RIR	M
	RTE	APE RT	Variable	RIT	M
	Jockey	ORF1 APE RT	Variable	RIJ	M
	L1	ORF1 APE RT	Variable	RIL	P, M, F, O
	I	ORF1 APE RT RH	Variable	RII	P, M, F
SINE	*tRNA*		Variable	RST	P, M, F
	7SL		Variable	RSL	P, M, F
	5S		Variable	RSS	M, O

LINE: Long Interspersed Nuclear Element

SINE: Short Interspersed Nuclear Element

Eléments de classe II à TIR



Eléments transposables de classe II

(Transposons)

Wicker *et al.*, 2007 *Nature Reviews Genetics* **8**: 973-982

Classification		Structure	TSD	Code	Occurrence
Order	**Superfamily**				
Class II (DNA transposons) - Subclass 1					
TIR	*Tc1–Mariner*	Tase*	TA	DTT	P, M, F, O
	hAT	Tase*	8	DTA	P, M, F, O
	Mutator	Tase*	9–11	DTM	P, M, F, O
	Merlin	Tase*	8–9	DTE	M, O
	Transib	Tase*	5	DTR	M, F
	P	Tase	8	DTP	P, M
	PiggyBac	Tase	TTAA	DTB	M, O
	PIF–Harbinger	Tase* ORF2	3	DTH	P, M, F, O
	CACTA	Tase ORF2	2–3	DTC	P, M, F
Crypton	*Crypton*	YR	0	DYC	F
Class II (DNA transposons) - Subclass 2					
Helitron	*Helitron*	RPA Y2 HEL	0	DHH	P, M, F
Maverick	*Maverick*	C-INT ATP CYP POL B	6	DMM	M, F, O

Structural features

Long terminal repeats — Terminal inverted repeats — Coding region — Non-coding region

Diagnostic feature in non-coding region — Region that can contain one or more additional ORFs

Protein coding domains

AP, Aspartic proteinase — APE, Apurinic endonuclease — ATP, Packaging ATPase — C-INT, C-integrase — CYP, Cysteine protease — EN, Endonuclease

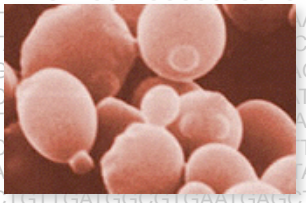
ENV, Envelope protein — GAG, Capsid protein — HEL, Helicase — INT, Integrase — ORF, Open reading frame of unknown function

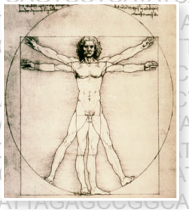
POL B, DNA polymerase B — RH, RNase H — RPA, Replication protein A (found only in plants) — RT, Reverse transcriptase

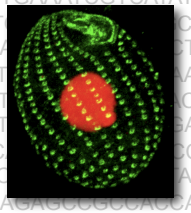
Tase, Transposase (* with DDE motif) — YR, Tyrosine recombinase — Y2, YR with YY motif

Species groups

P, Plants — M, Metazoans — F, Fungi — O, Others







Plan du cours

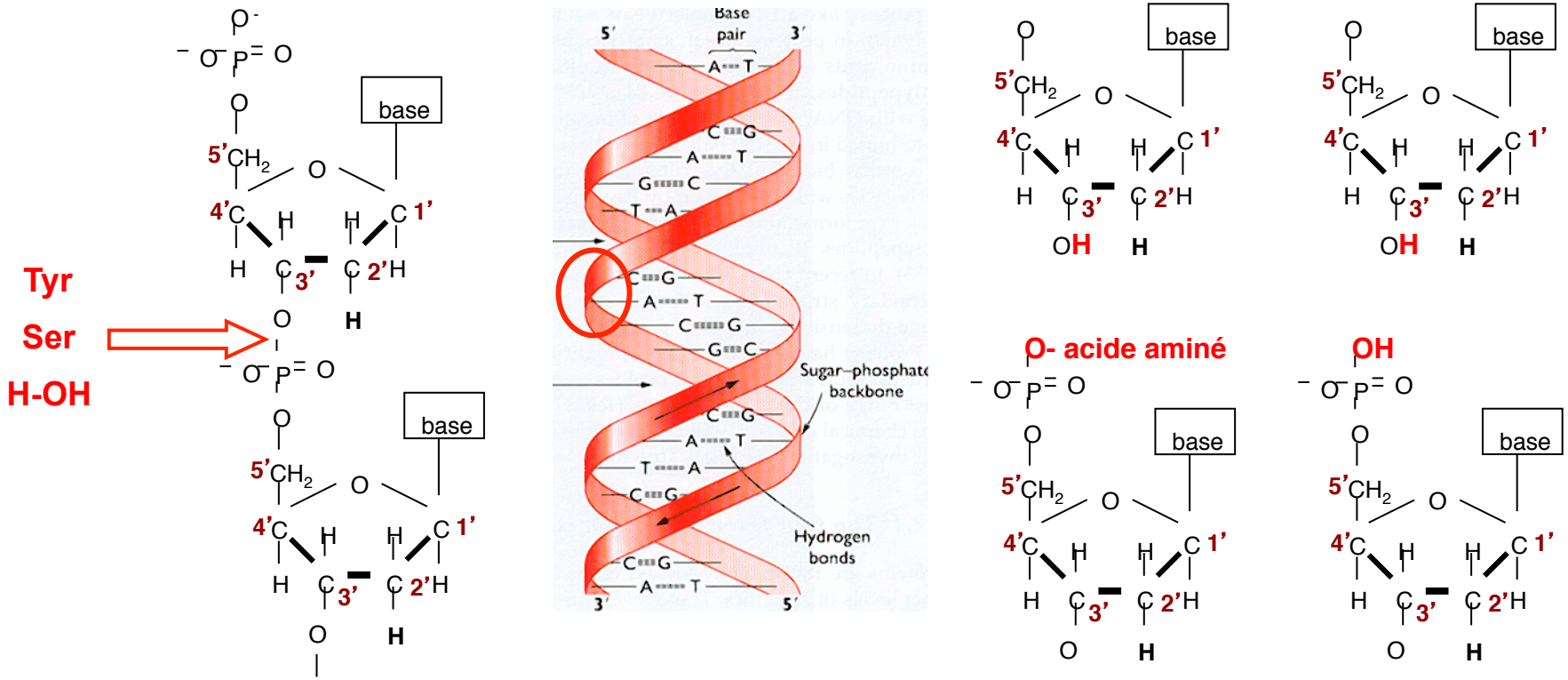
Les éléments mobiles:

- Brève historique et notions fondamentales
- La découverte des rétro-éléments
- Les principaux types d'éléments et leurs propriétés
- Mécanismes fondamentaux
- Présence des éléments mobiles dans les génomes
- Conséquences de l'activité des éléments mobiles
- Rétrogènes et exonisation des éléments mobiles

Les transferts génétiques horizontaux:

- Principes d'identification: synténie et phylogénie
- Spécificité des génomes bactériens: *core-genome* et *pangenome*
- Acquisition de gènes bactériens chez les eucaryotes
- Introgressions de grands segments chromosomiques
- Transferts inter-organelles chez les eucaryotes

Mécanismes biochimiques fondamentaux



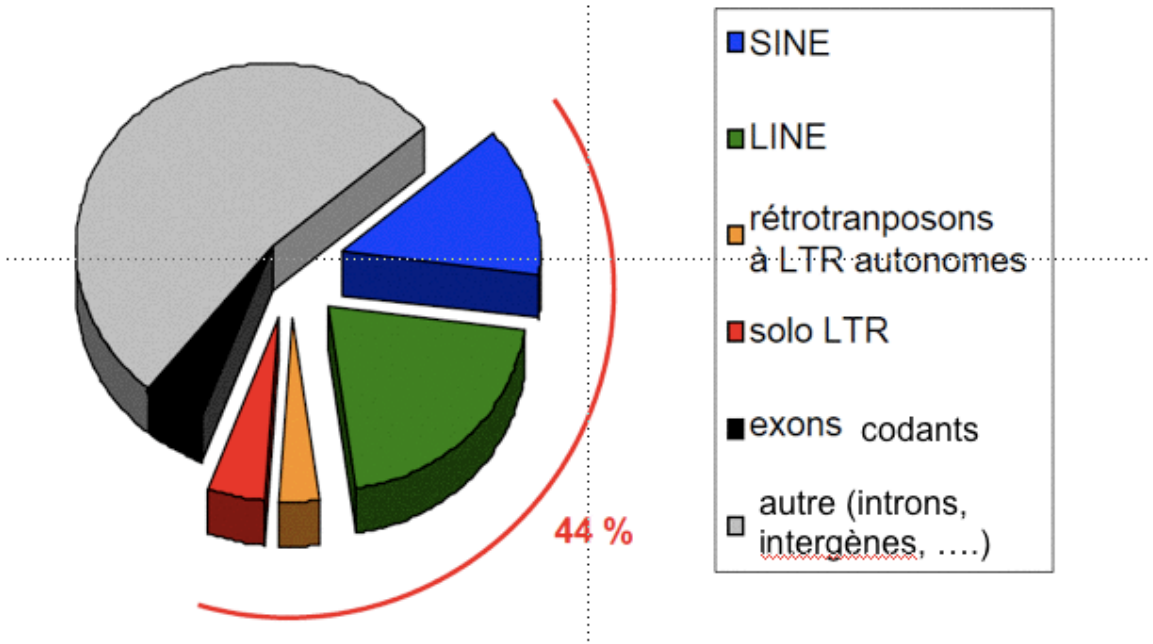
Types d'attaques nucléophiles et principales fonctions biologiques

Tyrosine	Sérine	H_2O (catalyse par motif DDE)
Bactériophages	Bactériophages	Transposition
Intégration / excision d'ilôts génétiques	Intégration / excision d'ilôts génétiques	Intégration d'ADNc rétroviral
Dimères de plasmides	Dimères de plasmides	Résolution des jonctions de Holliday
Résolution de co-intégrats	Résolution de co-intégrats	
Inversion (variation de phase)	Inversion (variation de phase)	Inversion (variation de phase)
Rolling-circle (phages et plasmides)		Réplication de bactériophages
Excision de gènes (expression)		
Topoisomérases		Anticorps (recombinaison VDJ)

Différents éléments cohabitent dans un même génome

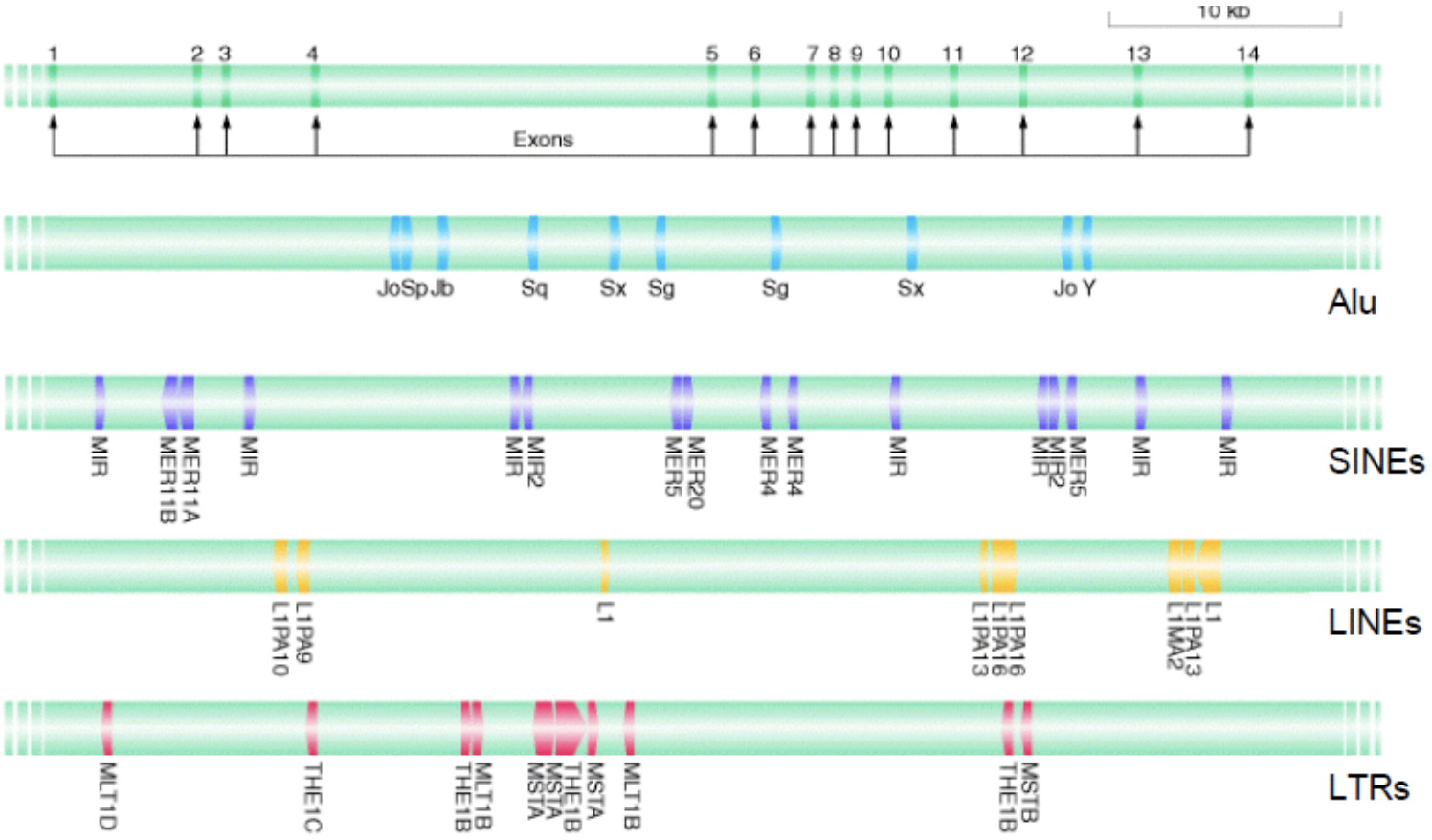
Exemple du génome humain

	Superfamille	Famille	Copies	% génome	Age (10^6ans)
Classe I	SINEs	MIR	~390,000	2.2	~150
		Alu	~1,000,000	10.6	~80
		SVA	~3000	0.1	~15
	LINEs	L2	~315,000	3.2	~150
		L1	~510,000	16.9	~100
	LTR	Type 1	~240,000	2.9	40-50
		Type 2	~8000	0.3	40-50
		Type 3	~83,000	1.4	~100
		MaLR	~240,000	3.7	~100
Classe II	DNA	divers	~295,000	2.8	~100

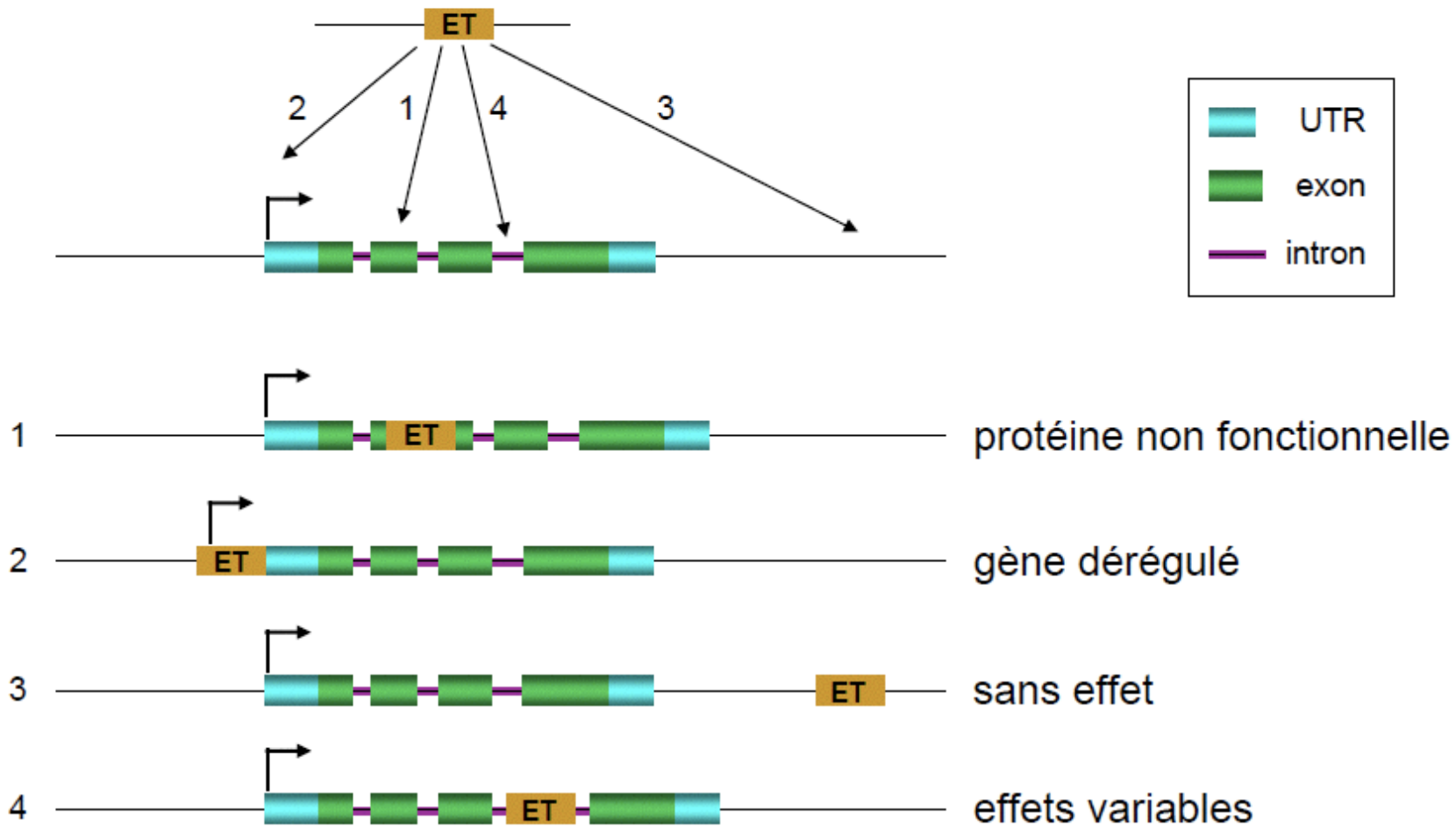


Présence d'éléments mobiles au sein des gènes (introns)

Exemple: gène HGO humain codant l'homogentisate 1,2-dioxygenase (14 exons)
La déficience de ce gène est responsable de l'alkaptonurie.



Conséquences de l'activité des éléments mobiles sur le génome et l'expression des gènes



Conséquences de l'activité des éléments mobiles sur le génome et l'expression des gènes

- **inactivation** d'un gène (exemple historique: le mutant *white* de la Drosophile)
  ex. d' insertions délétères de l'élément LINE-1:

  gène du facteur VIII: naissance de garçons hémophiles (le gène est sur le chromosome X)
  gène APC: cancer du colon
  gène de la dystrophine: myopathies
  etc …

- **activation** de l'expression d'un gène voisin (ex. certaines tumeurs)

- induction de **cassures** chromosomiques (ex. les transposons non duplicatifs laissent des cicatrices)

- induction de **réarrangements** chromosomiques (ex. translocations réciproques entre copies du même élément, cascades de « ponts cassures - fusions »)

- **dysgénèse hybride** (ex. deux lignées de Drosophile qui diffèrent par leur lot de transposons P ou I ne peuvent plus se croiser entre elles, formation d'espèces nouvelles)

- **formation de centromères** (ex. de levures)

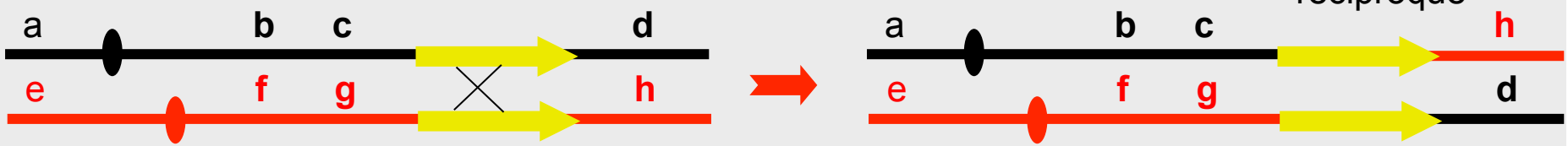
Les éléments mobiles génèrent des séquences répétées dispersées dans les génomes

➢ La recombinaison homologue génère d'importants réarrangements chromosomiques dont la nature ne dépend que de la **localisation et l'orientation** des éléments.

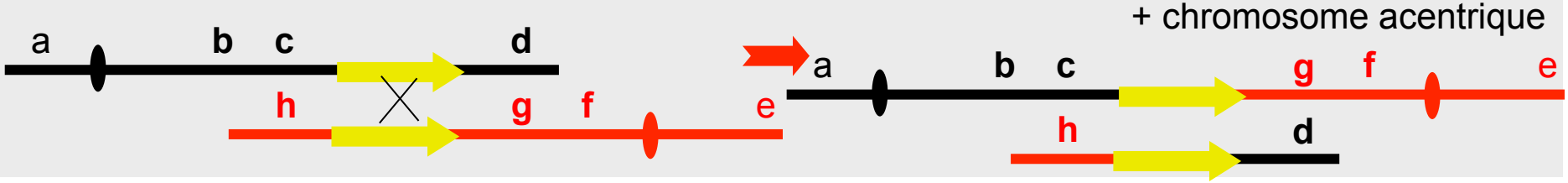
1- même chromosome, orientation directe

2- même chromosome, orientation inversée

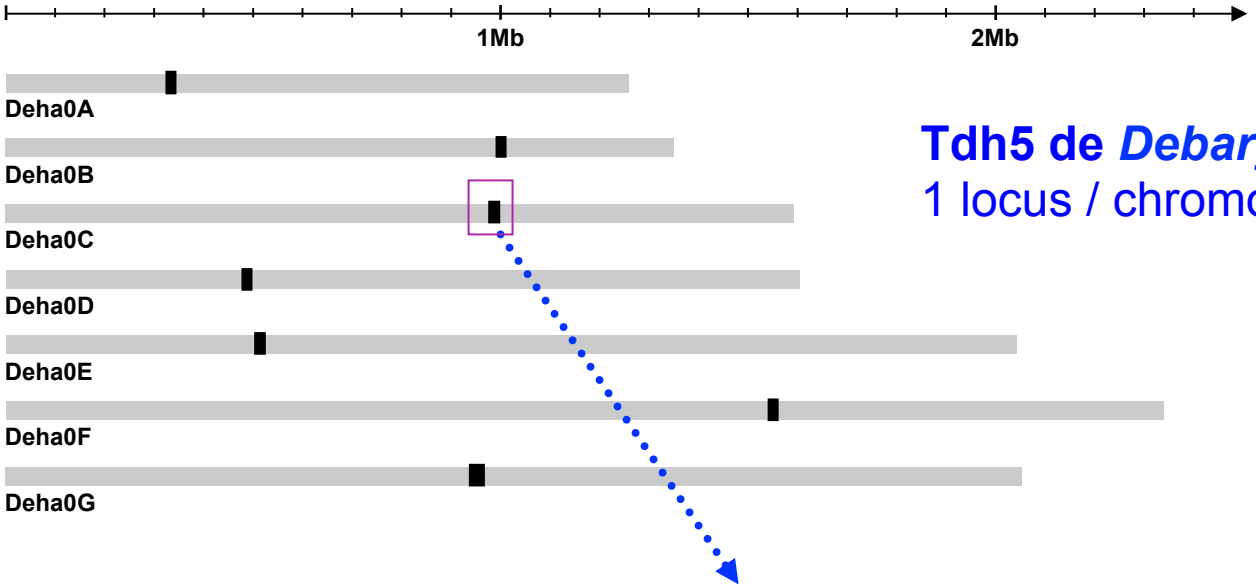
3- différents chromosomes, orientation directe par rapport aux centromères



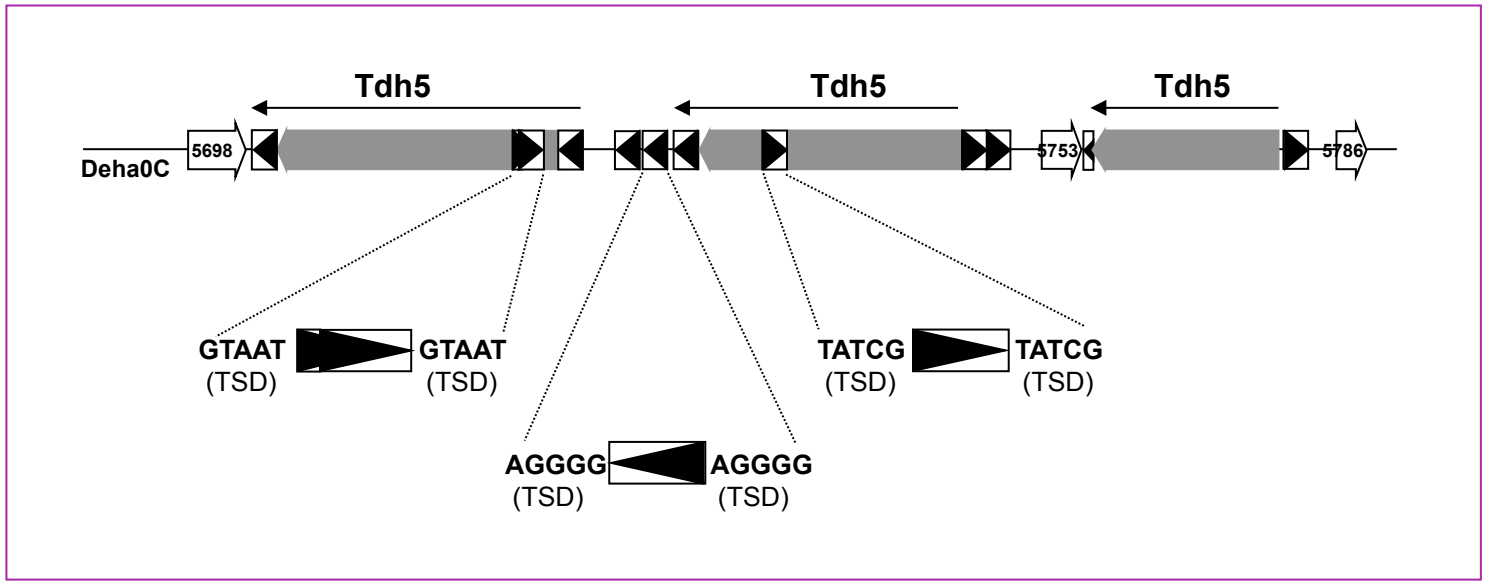
4- différents chromosomes, orientation inversée par rapport aux centromères



Exemple de formation de centromères

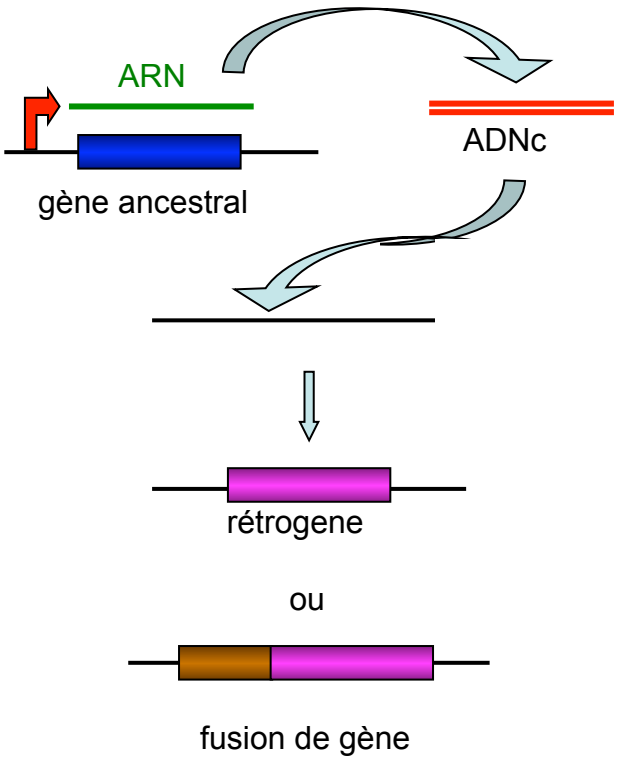


Tdh5 de *Debaryomyces hansenii*
1 locus / chromosome

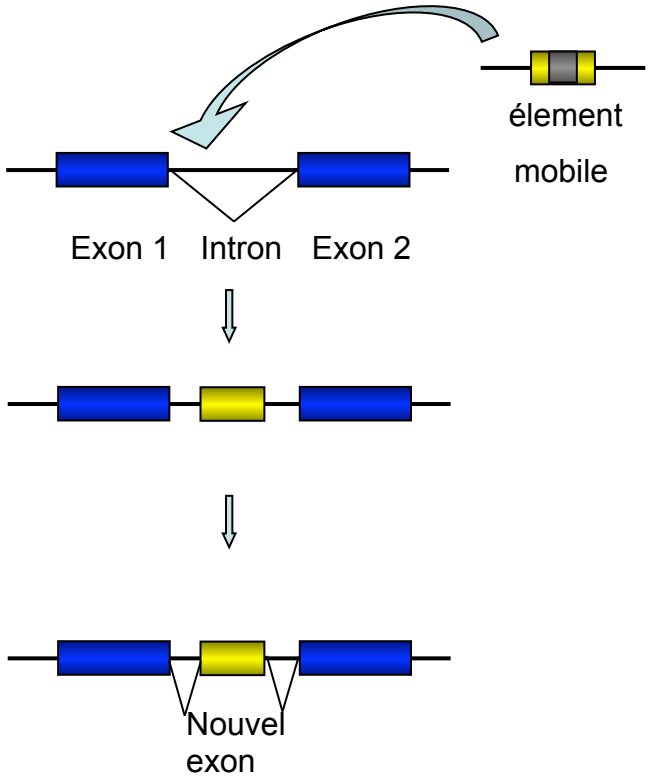


Conséquences de l'activité des éléments mobiles sur l'évolution des génomes

Formation de rétrogènes



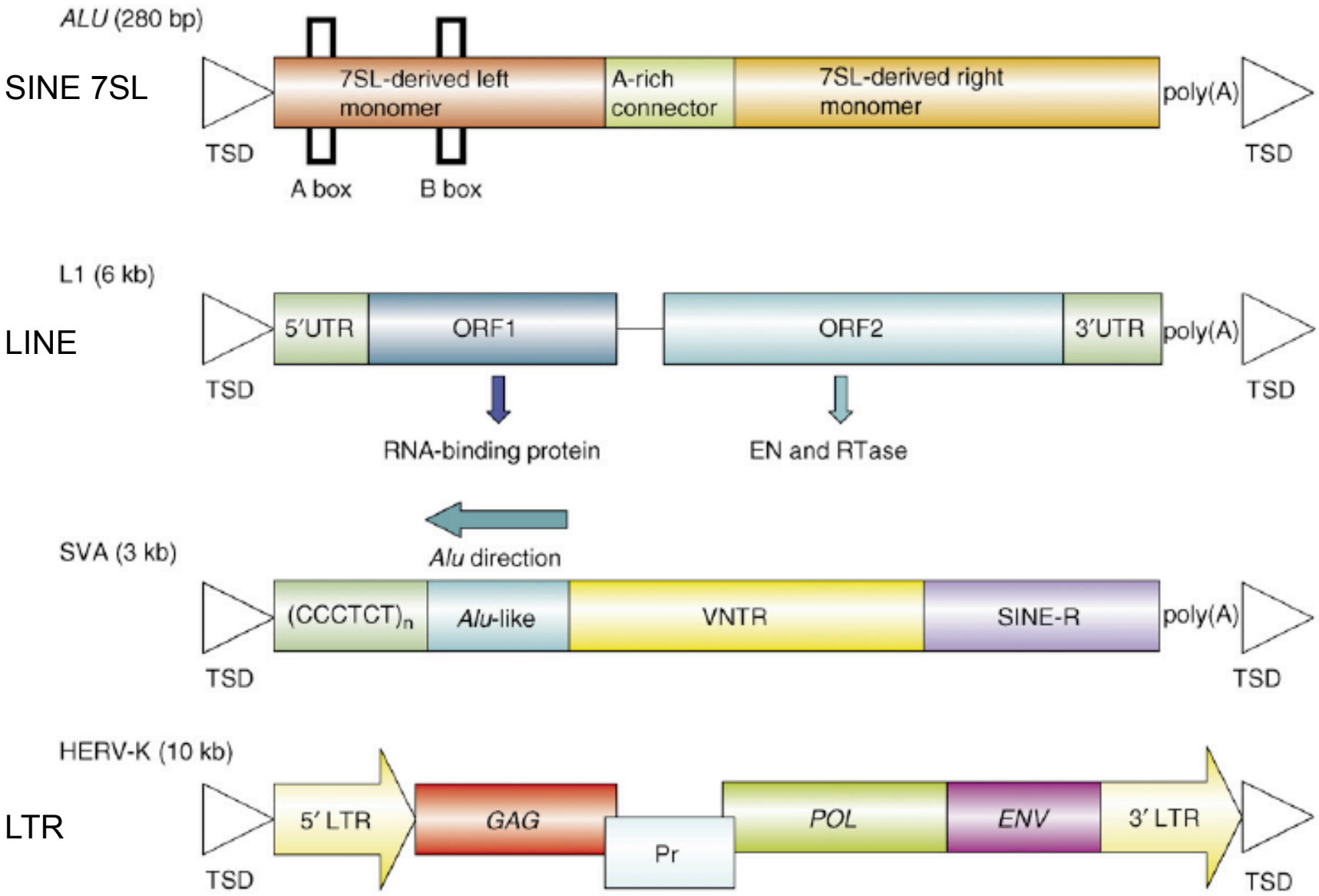
Exonisation d'un élément mobile



Formation de nouveaux sites d'épissage ou perte des introns

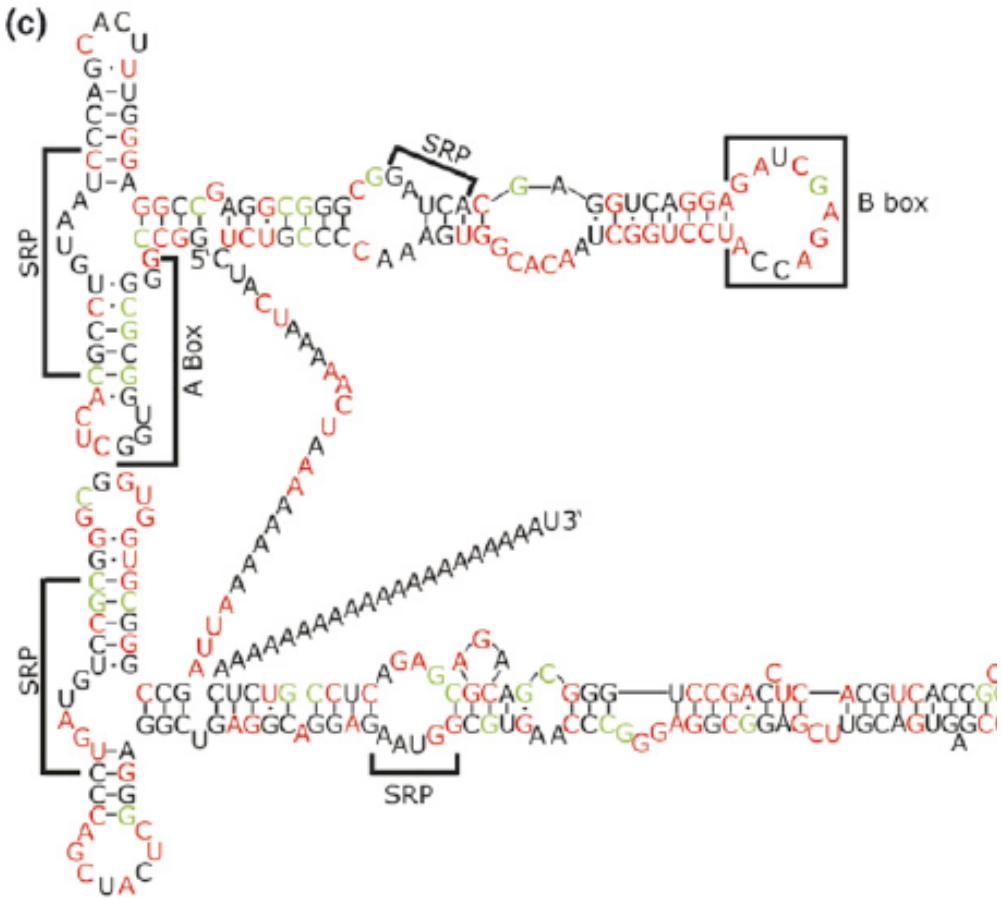
Eléments de classe I actifs dans le génome humain

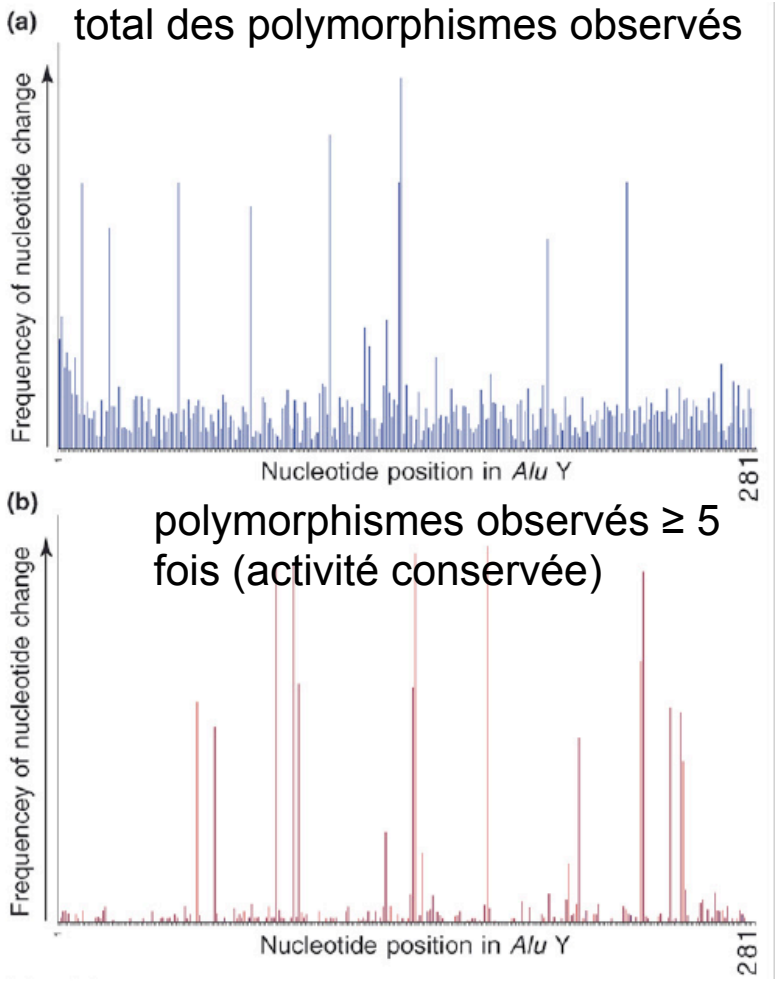
Mills *et al.*, 2007 *Trends in Genetics* **23**: 183-191



TSD: target site duplication

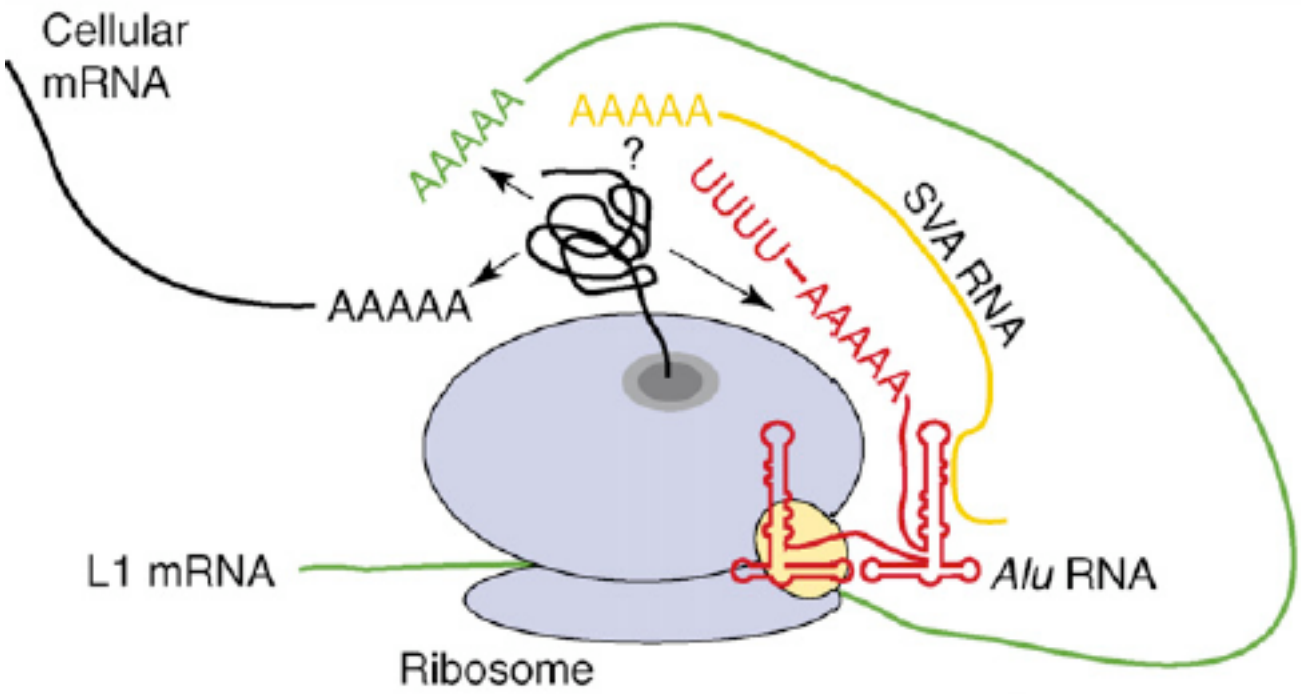
Séquences *AluY*





rouge et vert: sites dont le changement conserve l'activité
noir: sites dont la variation n'a jamais été observée ≥ 5 fois (nécessaire à l'activité ?)

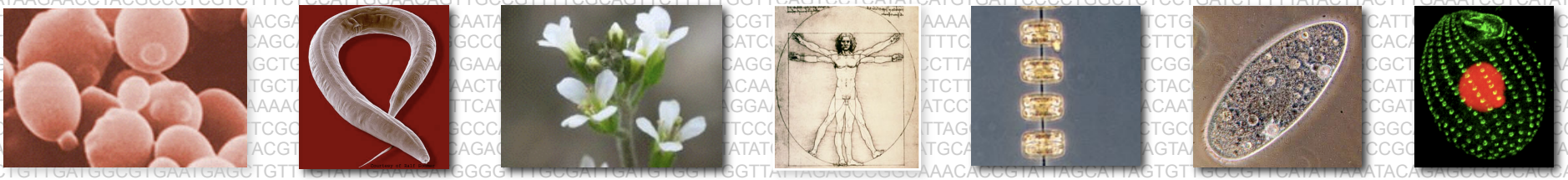
Modèle de retrotransposition des éléments *Alu*



La fixation de l' ARN *Alu* sur le ribosome en train de traduire l'ORF2 de l'élément *LINE L1* lui permet de capturer la protéine naissante ORF2p. ==> La transcription inverse est initiée sur l'ARN *Alu* et non plus sur l'ARN *LINE L1*.

On pense que la fixation se ferait par l'intermédiaire d'interactions avec SRP9p-SRP14p (tache jaune) comme pour l'ARN 7SL (car *Alu* en dérive).

L'ARN SVA (orange) se comporterait de même manière.



Plan du cours

Les éléments mobiles:

Brève historique et notions fondamentales
La découverte des rétro-éléments
Les principaux types d'éléments et leurs propriétés

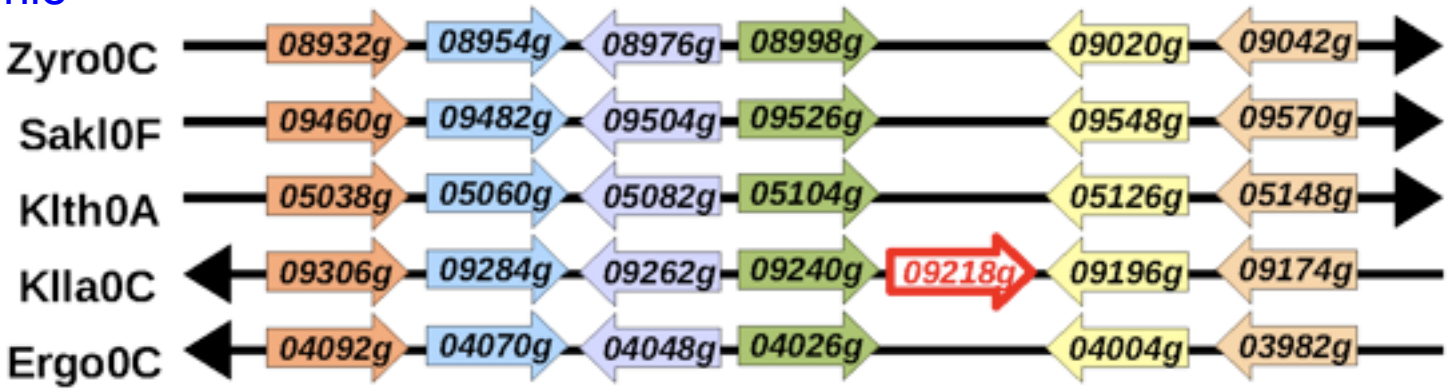
Mécanismes fondamentaux
Présence des éléments mobiles dans les génomes
Conséquences de l'activité des éléments mobiles
Rétrogènes et exonisation des éléments mobiles

Les transferts génétiques horizontaux:

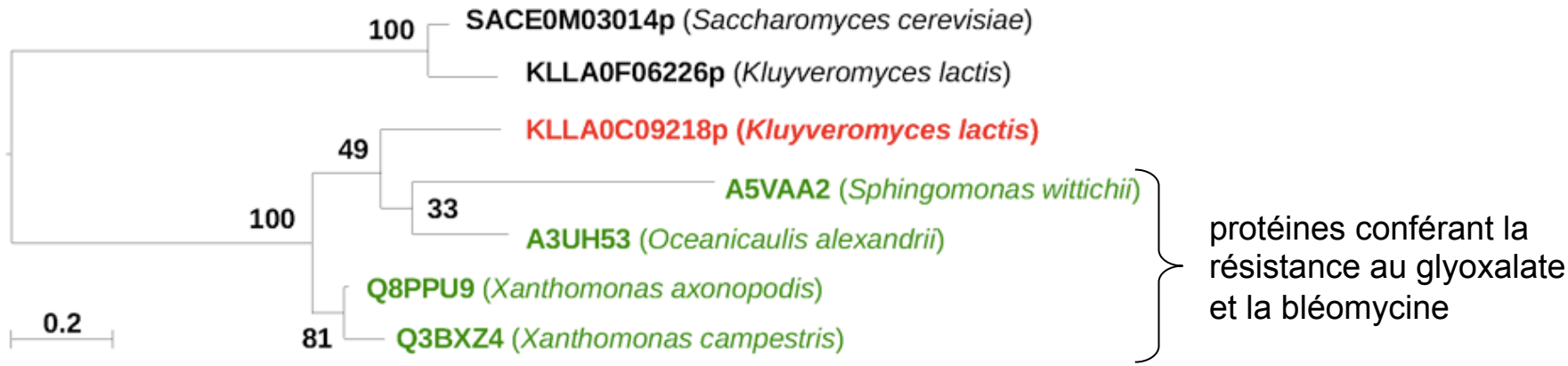
Principes d'identification: synténie et phylogénie
Spécificité des génomes bactériens: *core-genome* et *pangenome*
Acquisition de gènes bactériens chez les eucaryotes
Introgressions de grands segments chromosomiques
Transferts inter-organelles chez les eucaryotes

Principes d'identification de gènes acquis par transfert horizontal

1- synténie



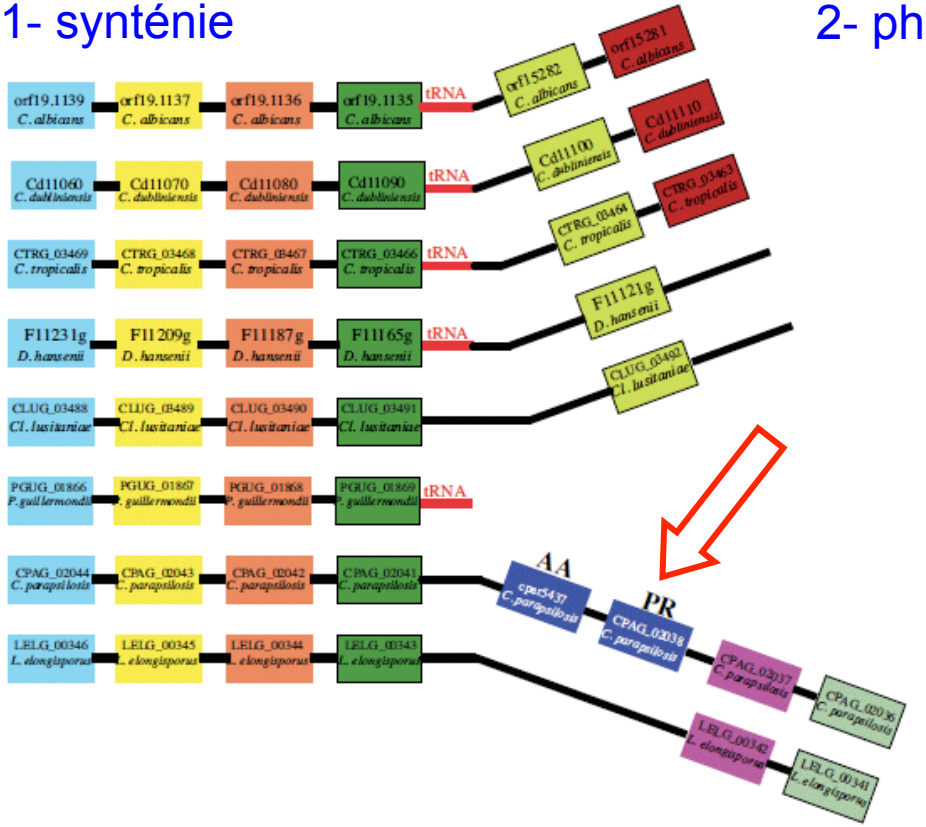
2- phylogénie



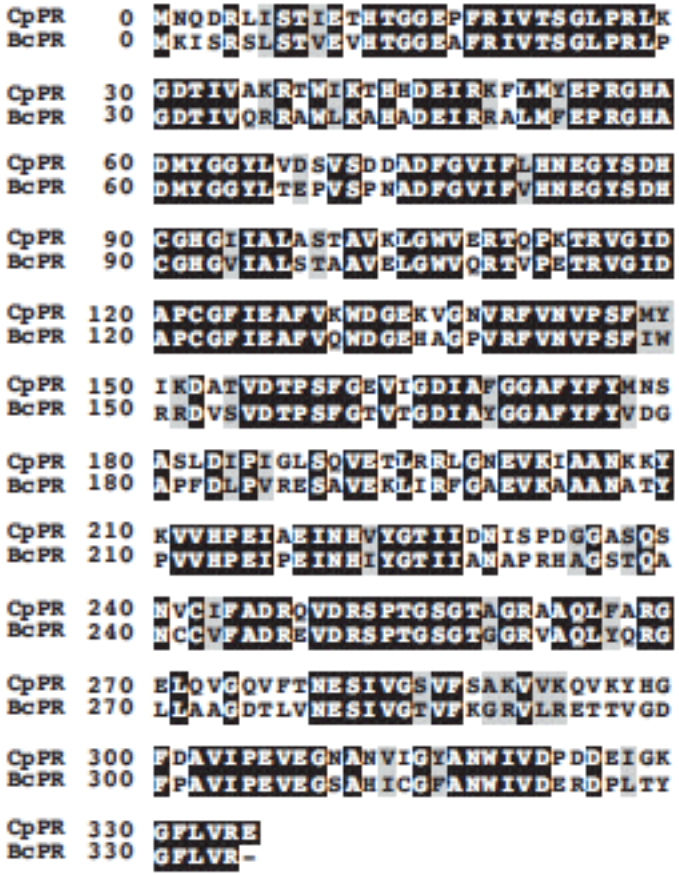
Principes d'identification de gènes acquis par transfert horizontal

Fitzpatrick *et al.*, 2008 *BMC Evolutionary biology* **8**: 181

1- synténie



2- phylogénie



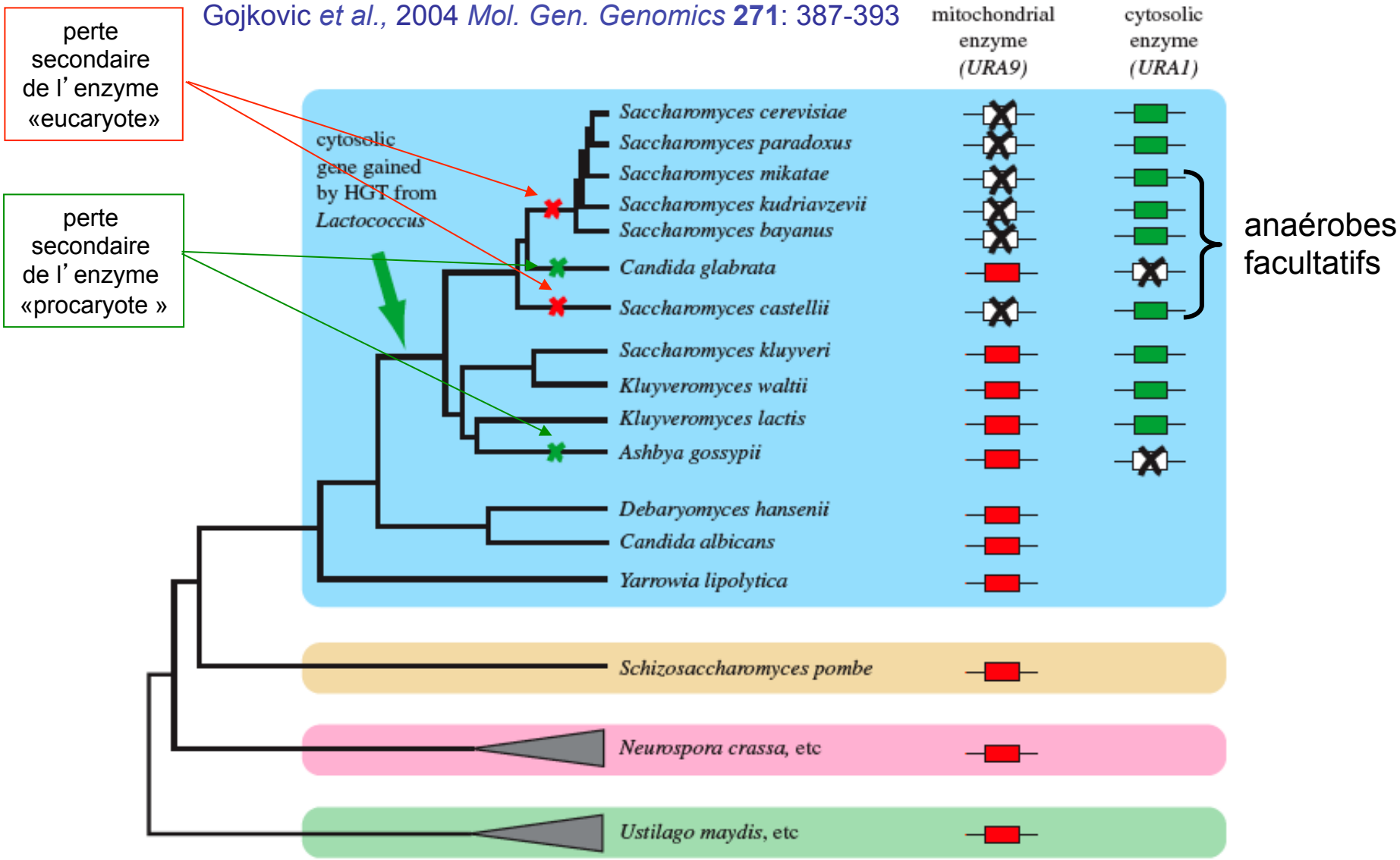
Candida parapsilosis

Burkolderia cenocepia

66 % identity

Importance fonctionnelle d'un transfert horizontal ancestral: exemple la DHODase

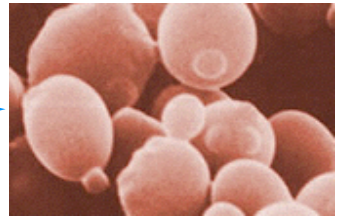
Gojkovic *et al.*, 2004 *Mol. Gen. Genomics* **271**: 387-393



enzyme "eucaryote" (besoin d'oxygène) enzyme "procaryote" enzyme (pas besoin d'oxygène)

Mécanisme du transfert horizontal bactérie-levures

?



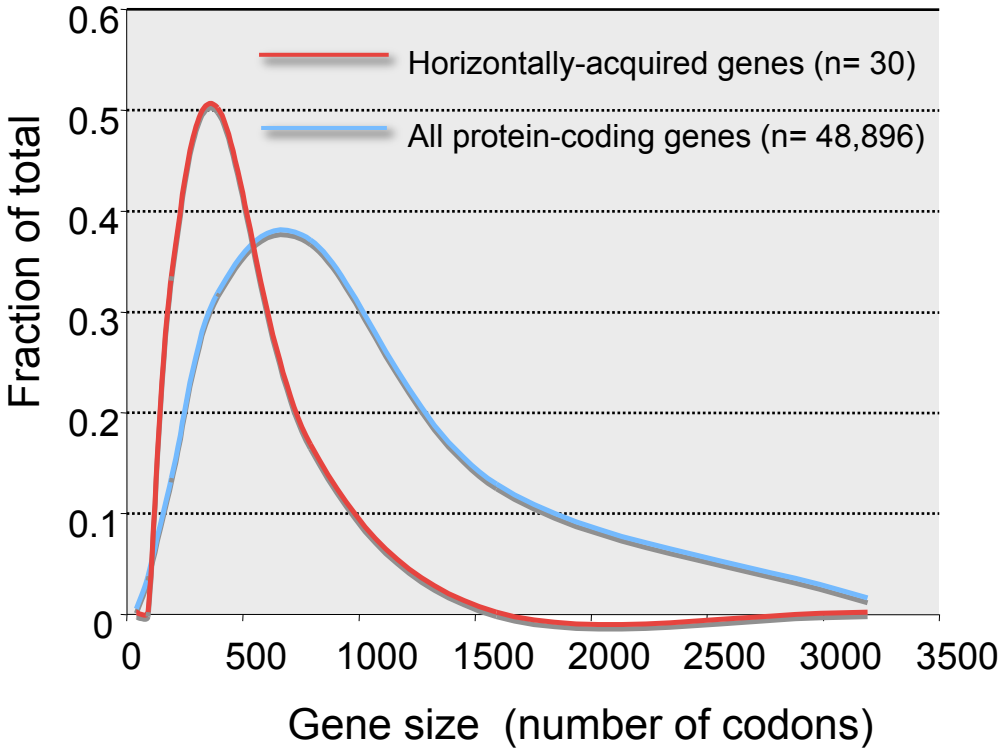
Conjugaison

Plasmide conjugatif *E. coli* à *S. cerevisiae*
Heinemann and Sprague 1989 *Nature* **340**: 205-209

Plasmide artificiel *E. coli* à *L. kluyveri*
Inomata et al., 1994 *J. Bact.* **176**: 4770-4773

Plasmide Agrobacterium tumefasciens à *S. cerevisiae*
Sawasaki et al., 1996 *Plant cell physiol.* **37**: 103-106

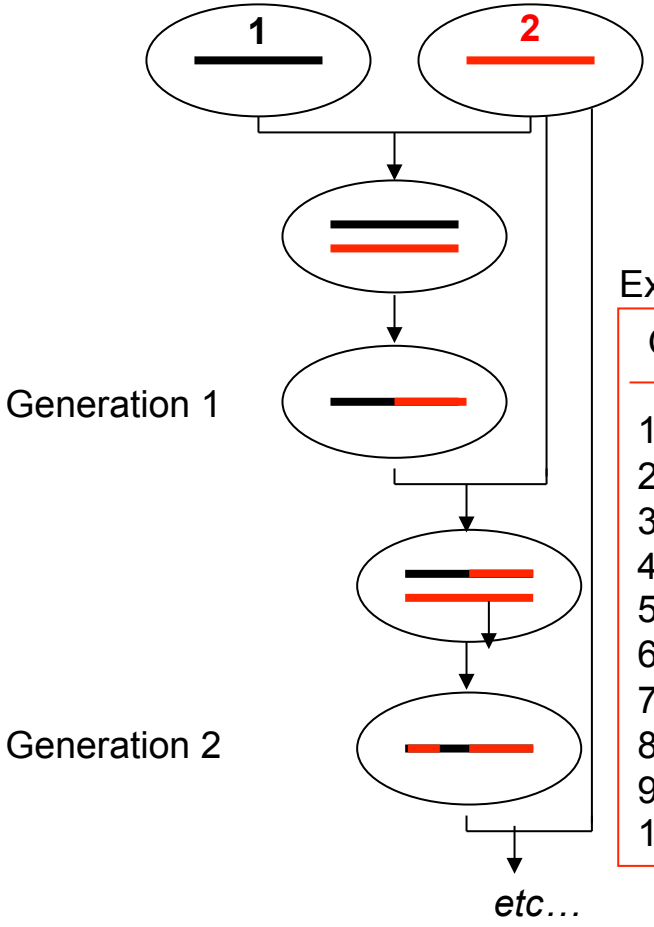
Transformation par ADN



Autres organismes: phagocytose, bactériophages, virus, …..

Introgression

Backcross successifs

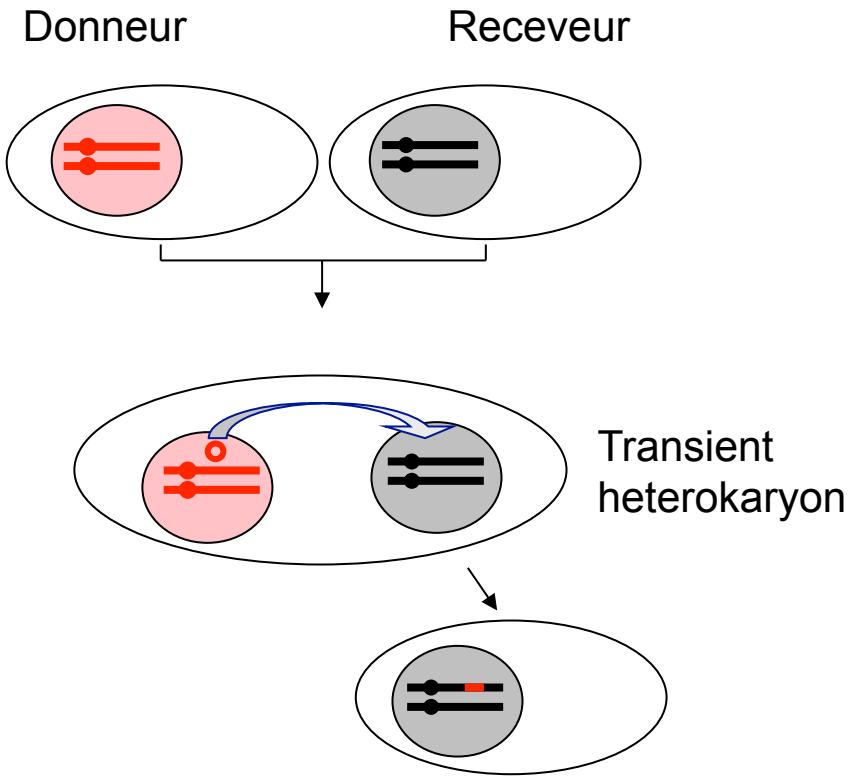


Exemple levures

Gen.	taille (kb)
1	6,400
2	3,200
3	1,600
4	800
5	400
6	200
7	**100**
8	**50**
9	**25**
10	**12**

Contribution du parent 1 = $\mathbf{(1/2)^n}$

Transfert d' épisomes

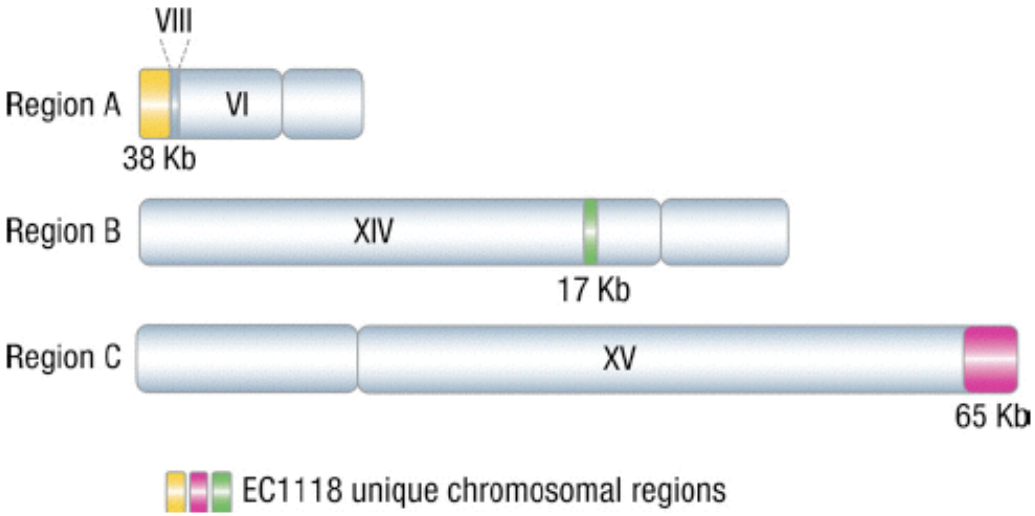


Une seule **génération**

Existence de cercles (épisomes)
Permutations circulaire des fragments intégrés, et intégrations multiples.

Introgressions chez les levures

S. cerevisiae strain EC1118 (wine yeast) Novo *et al.* (2009) *PNAS* 106: 16333-16338

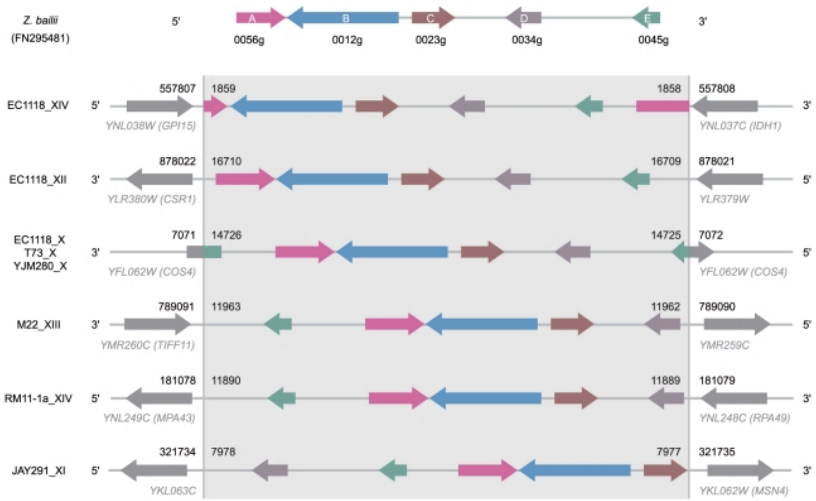


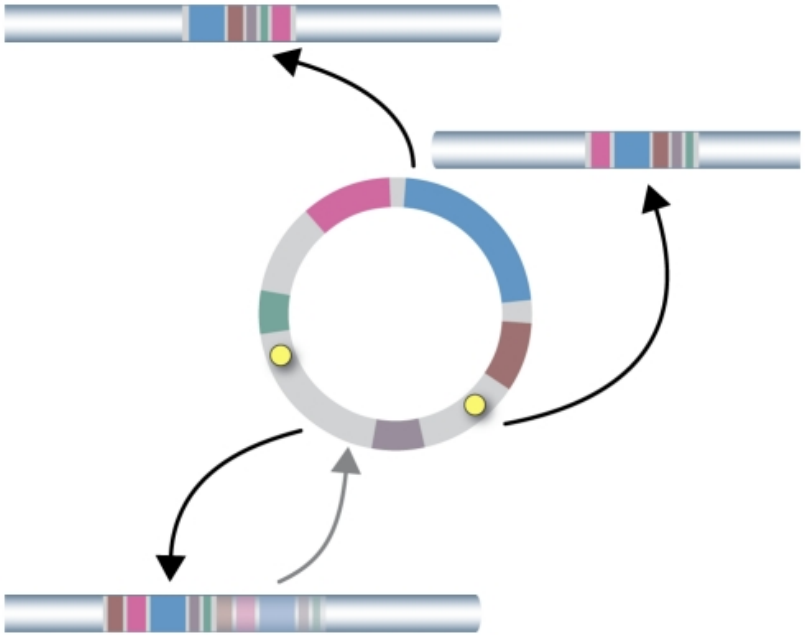
Region A: closest similarity genes from *Zygosaccharomyces rouxii* and CTG yeasts

Region B: 99.7 % nucleotide identity with *Zygosaccharomyces bailii* (wine contaminant)

Region C: closest similarity and synteny with other *Saccharomyces* species

Galeote *et al.* (20011) *PLoS ONE* **6**:3 e17872



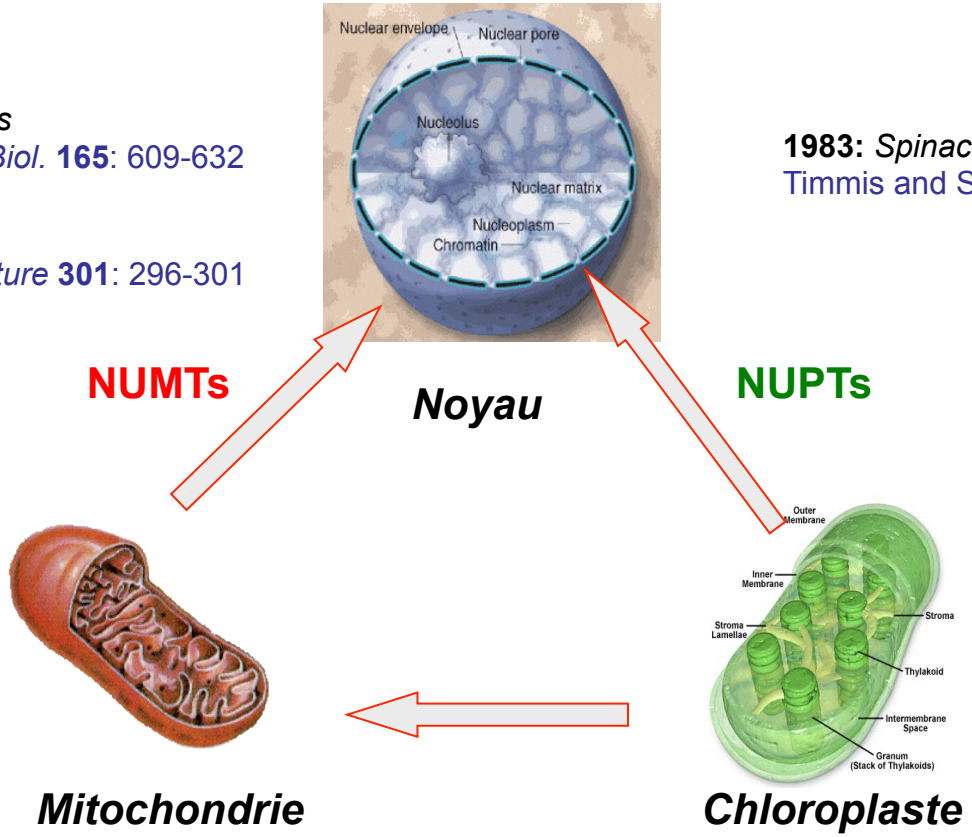


Transfert interorganelles

1983:
Strongylocentrotus purpuratus
Jakobs *et al.*, (1983) *J. Mol. Biol.* **165**: 609-632

Saccharomyces cerevisiae
Farrely and Butow (1983) *Nature* **301**: 296-301

1983: *Spinacia oleracea*
Timmis and Scott (1983) *Nature* **305**: 65-67



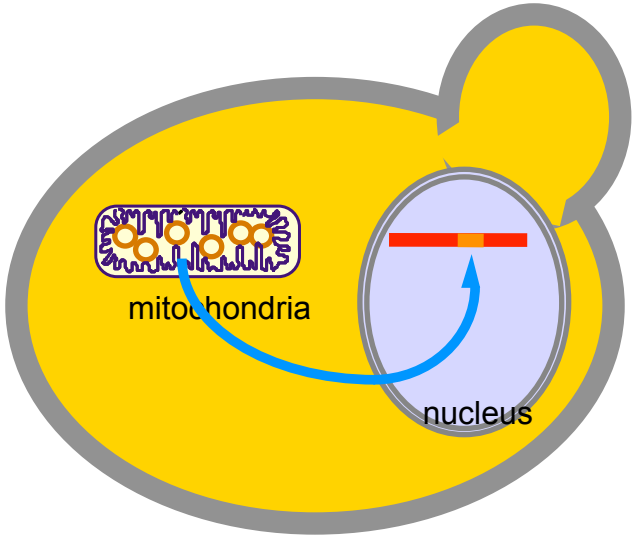
1982: *Zea mais*
Stern and Londsdale (1982) *Nature* **299**: 698-702

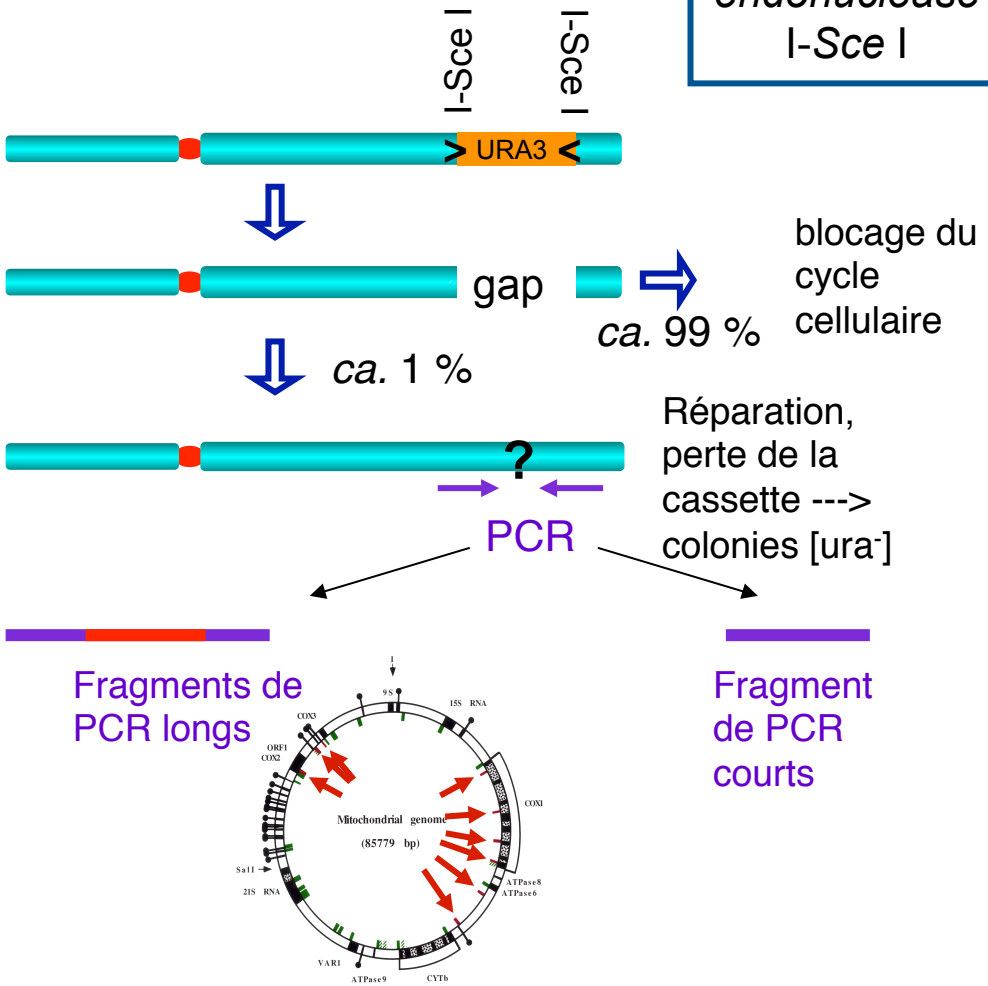
Depuis 2000: **NUMTs** dans les génomes nucléaires de plus de 80 espèces d'eucaryotes
NUPTs chez les plantes

Mécanisme d'insertion des NUMTs

Ricchetti, Fairhead and Dujon (1999) *Nature* **402**: 96-100

Homing endonuclease I-*Sce* I





Insertion de fragments d'ADN mitochondrial concomitant à la réparation des cassures doubles brin.

NUMTs dans les génomes de primates

Hazkani-Covo and Graur 2007 *Mol. Biol. Evol.* **24**: 13-18

	Nb total de loci NUMTs	Nb de loci commun	Nb d'insertions spécifiques	Nb de délétions spécifiques
Homme	**452**	**391**	**34**	**12**
Chimpanzé	**469**	**391**	**46**	**11**

Taux de nouvelle insertion de NUMTs : 1 pour 10 000 générations
Séparation homme-chimpanzé: 300 000 - 500 000 générations

Conséquences génétiques de l'insertion des NUMTs

Neutre: la majorité des NUMTs sont dans les régions intergéniques ou les introns

Mutagène: inactivation de gènes par insertion
mutations d'épissage dans le gène du facteur VII --> défaut de coagulation du sang
activation d'oncogènes cellulaires

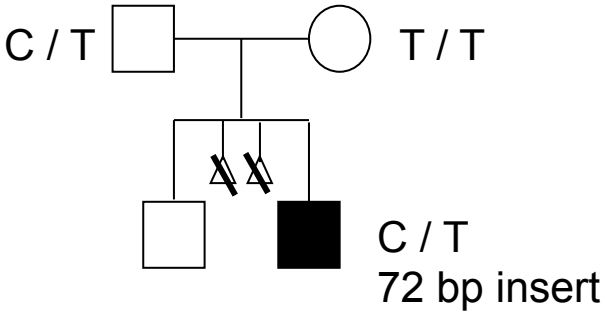
Source de nouveauté: Exemples de NUMTs devenus de nouveau exons chez les plantes

Insertion d'un nouveau NUMT dans le génome humain

Turner *et al.*, (2003) *Human Genet*. **112**: 303-309

Garçon de 16 ans souffrant de syndrome de Pallister-Hall (anomalie du développement) sans antécédents familiaux.

Pédigree par rapport aux marqueurs SNP



Insertion d'ADN mitochondrial dans la lignée gamétique paternelle

Fragment d'**ADN mitochondrial** dans l'**exon 14** du gène ***GLI3*** conduisant à une troncation de la protéine à 935 acides aminés au lieu des 1580 normaux.

La coïncidence géographique et temporelle avec l'accident de Tchernobyl interpelle sans rien démontrer sur un cas unique.