

# Rapport de stage de M2

Nicolas JEANNE

11 mars 2015

# Introduction

En 1982, la découverte par Higgins et al. de nouveaux éléments génétiques communs dans les régions intercistroniques des opérons de *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* a constitué le premier pas de la recherche sur les Repeated Extragenic Palindrome (REP) (Higgins et al. 1982). En 1991, Gilson et al. ont mis en évidence l'organisation en clusters de ces REP (Gilson et al. 1991), ces clusters ont été caractérisés comme Bacterial Interspersed Mosaic Element (BIME). Chez *E. coli* en 1994, Bachelier et al. ont réussi à catégoriser les REP constituant les BIME en 2 types Y et Z, constituants 3 motifs Y, Z<sup>1</sup>, Z<sup>2</sup> (Bachelier et al. 1994).

Les REP constituent une part non négligeable du génome bactérien, chez *E. coli* K12 ou *S. typhimurium* elles représentent environ 1% de celui-ci (Gilson et al. 1991). Nous les retrouvons chez de nombreux règnes bactériens, notamment chez les pathogènes humains tels que *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Neisseria meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis* et *Pseudomonas aeruginosa* mais également chez des pathogènes des plantes comme *Agrobacterium tumefaciens* ou chez des bactéries ubiquitaires, *Deinococcus radiodurans* ou *Pseudomonas putida* par exemple. Les travaux précédents de l'équipe ont permis l'annotation des REP au sein du génome d'*E. coli* et de mettre en évidence le lien existant entre la prolifération des REP et le gène *tnpA<sub>REP</sub>* (Bosc 2014; Weyder 2013), ainsi que la reconstruction des états ancêtres des REP (Bosc 2014). Le rôle exact des REP n'est pas clairement défini, des hypothèses sont avancées sur leur implication dans la régulation de l'expression des gènes, que ce soit en tant que terminateur ou comme site de reconnaissance des enzymes impliquées dans les mécanismes de la transcription.

## Structure des REP et organisations en BIME

La taille des REP varie de 20 à 40 nucléotides, la classification Y,  $Z^1$ ,  $Z^2$  est basée à la fois sur la taille de la séquence consensus de la REP ainsi que sur sa structure secondaire. Par convention, une REP en orientation inversée est nommée iREP (inversed REP) (Ton-Hoang et al. 2012). Un tétra-nucléotide caractéristique de séquence GTAC est présent à l'extrémité 5' des REP, sa séquence est CTAC en 3' pour les iREP. Les différentes classes de REP partagent des nucléotides conservés (Figure 1A). La structure secondaire des REP est caractérisée par sa forme en tige-boucle, le caractère palindromique permet la formation de la tige malgré un mésappariement situé dans la partie centrale de celle-ci (Figure 1B). Pour le génome d'E. coli K12, 93 REP ont été répertoriées comme étant uniques sur les 605 annotées par le laboratoire, les autres sont organisées par paires sous forme de BIME. Une classification a été adoptée comportant 3 entrées, les BIME-1 composées de REP  $Z^1$  et Y apparaissant en paires uniques et dans lesquelles la REP et l'iREP sont séparées par une séquence longue (L). Les BIME-2 constituées de  $Z^2$  et de Y, apparaissant en copies multiples de cette paire dont la REP et l'iREP sont séparées par une séquence courte (S) et une des trois séquences flanquantes (s, l ou r). La troisième catégorie est constituée des BIME dites atypiques qui sont des chimères de BIME-1 et BIME-2, comportant différentes combinaisons de Y,  $Z^1$ ,  $Z^2$ , S, L, s, l et r. Tout comme les BIME-2, nous les retrouvons sous forme de copies multiples (Figure 1C).

## Propriétés associées aux REP

La littérature décrit de nombreuses fonctions associées aux REP, mais certaines d'entre elles restent encore peu étudiées. Les REP ont été décrites comme jouant un rôle dans les événements de recombinaisons homologues (Kofoed et al. 2003). Les BIME ont été décrites comme des sites privilégiés pour l'insertion de séquences d'ADN mobiles comme certaines familles d'IS (Insertion Sequence) (Bachelier et al. 1997; Choi et al. 2003; Clément et al. 1999; Tobes and Pareja 2005). La fonction que nous allons étudier dans ce

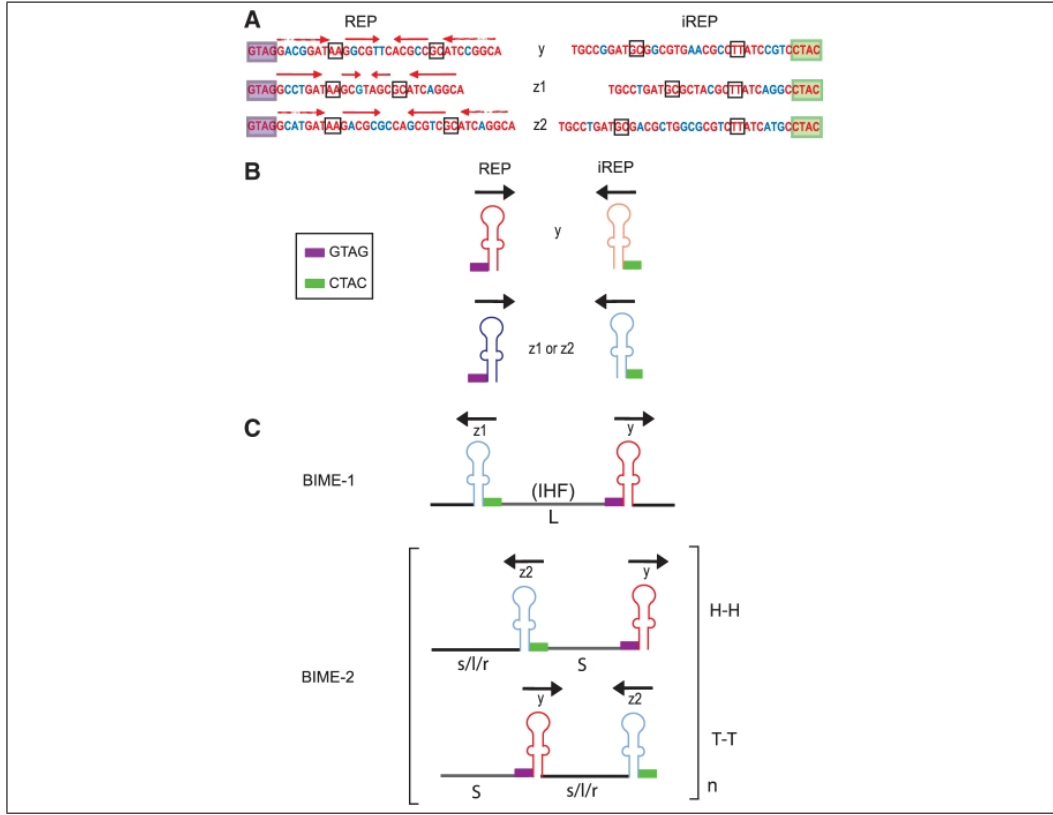


FIGURE 1 – **REP et BIME chez *Escherichia coli*.** (A) Séquences consensus Y, Z<sup>1</sup> et Z<sup>2</sup> des REP. Le tétra-nucléotide conservé GTAC est encadré en violet, le complémentaire conservé CTAC est encadré en vert, les flèches rouges situent les zones d'appariement de la tige et les positions encadrées en noir sont les zones de mésappariement. Les positions conservées parmi les classes de REP sont en rouge, les positions variables en bleu. (B) Structure secondaire des REP. Les rectangles violets et verts représentent respectivement les tétra-nucléotides conservés GTAC pour les REP et CTAC pour les iREP. Les flèches noires indiquent l'orientation des REP. (C) Structures des BIME-1 et BIME-2. Les BIME-1 sont composées de REP et de iREP Y et Z<sup>1</sup> séparées par une séquence longue (L), les BIME-2 sont composées de Y et Z<sup>2</sup>, de séquences séparatrices courtes (S) et de séquences séparatrices s, l ou r. H-H et T-T dénotent respectivement une organisation tête à tête et queue à queue des REP. (Ton-Hoang et al. 2012).

rapport est celle de régulation de la transcription. Lorsqu'elles sont transcrites, les REP joueraient un rôle dans la stabilisation de l'ARNm grâce à leur structure en tige-boucle (Agüena et al. 2009; Espéli et al. 2001; Khemici and Carpousis 2004; Newbury et al. 1987).

# Matériel & Méthodes

# Bibliographie

Meire Agüena, Gerson Moura Ferreira, and Beny Spira. Stability of the *pstS* transcript of *Escherichia coli*. *Archives of Microbiology*, 191 :105–112, 2009. ISSN 03028933. doi : 10.1007/s00203-008-0433-z.

S Bachellier, J M Clément, M Hofnung, and E Gilson. Bacterial interspersed mosaic elements (BIMEs) are a major source of sequence polymorphism in *Escherichia coli* intergenic regions including specific associations with a new insertion sequence. *Genetics*, 145(3) :551–62, March 1997. ISSN 0016-6731. URL </pmc/articles/PMC1207841/?report=abstract>.

Sophie Bachellier, William Saurin, David Perrin, Maurice Hofnung, and Eric Gilson. Structural and functional diversity among bacterial interspersed mosaic elements (BIMEs). *Molecular Microbiology*, 12 :61–70, 1994. ISSN 0950382X. doi : 10.1111/j.1365-2958.1994.tb00995.x.

Julie Bosc. Etude de la dynamique des éléments palindromique répétées ( REP ) chez l ’ espèce *Escherichia coli* par une méthode de reconstruction des états ancêtres . Technical report, 2014.

Sunju Choi, Shinya Ohta, and Eiichi Ohtsubo. A novel IS element, IS621, of the IS110/IS492 family transposes to a specific site in repetitive extragenic palindromic sequences in *Escherichia coli*. *Journal of bacteriology*, 185(16) :4891–900, August 2003. ISSN 0021-9193. URL <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=166490&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

Jean Marie Clément, Caroline Wilde, Sophie Bachellier, Patricia Lambert, and Maurice Hofnung. IS1397 is active for transposition into the chromosome of *Escherichia coli* K-12 and inserts specifically into palindromic units of bacterial interspersed mosaic elements. *Journal of Bacteriology*, 181(22) :6929–6936, 1999. ISSN 00219193.

O Espéli, L Moulin, and F Boccard. Transcription attenuation associated with bacterial repetitive extragenic BIME elements. *Journal of*

- molecular biology*, 314(3) :375–86, November 2001. ISSN 0022-2836. doi : 10.1006/jmbi.2001.5150. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283601951502>.
- E Gilson, W Saurin, D Perrin, S Bachellier, and M Hofnung. Palindromic units are part of a new bacterial interspersed mosaic element (BIME). *Nucleic acids research*, 19(7) :1375–1383, 1991. ISSN 03051048.
- Christopher F. Higgins, Giovanna Ferro-Luzzi Ames, Wayne M. Barnes, Jean Marie Clement, and Maurice Hofnung. A novel intercistronic regulatory element of prokaryotic operons. *Nature*, 298(5876) :760–762, August 1982. ISSN 0028-0836. doi : 10.1038/298760a0.
- Vanessa Khemici and Agamemnon J. Carpousis. The RNA degradosome and poly(A) polymerase of Escherichia coli are required in vivo for the degradation of small mRNA decay intermediates containing REP-stabilizers. *Molecular Microbiology*, 51 :777–790, 2004. ISSN 0950382X. doi : 10.1046/j.1365-2958.2003.03862.x.
- Eric Kofoed, Ulfar Bergthorsson, E. Susan Slechta, and John R. Roth. Formation of an F' plasmid by recombination between imperfectly repeated chromosomal Rep sequences : A closer look at an old friend (F'128 pro lac). *Journal of Bacteriology*, 185(2) :660–663, 2003. ISSN 00219193. doi : 10.1128/JB.185.2.660-663.2003.
- S F Newbury, N H Smith, E C Robinson, I D Hiles, and C F Higgins. Stabilization of translationally active mRNA by prokaryotic REP sequences. *Cell*, 48 :297–310, 1987. ISSN 00928674. doi : 10.1016/0092-8674(87)90433-8.
- Raquel Tobes and Eduardo Pareja. Repetitive extragenic palindromic sequences in the Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000 genome : extragenic signals for genome reannotation. *Research in microbiology*, 156 (3) :424–33, April 2005. ISSN 0923-2508. doi : 10.1016/j.resmic.2004.10.014. URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092325080400289X>.
- Bao Ton-Hoang, Patricia Siguier, Yves Quentin, Séverine Onillon, Brigitte Marty, Gwennaele Fichant, and Mick Chandler. Structuring the bacterial genome : Y1-transposases associated with REP-BIME sequences. *Nucleic acids research*, 40(8) :3596–609, April 2012. ISSN 1362-4962. doi : 10.1093/nar/gkr1198. URL

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3333891&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

Mathias Weyder. Étude de la dynamique de la prolifération des éléments REP chez *Escherichia* et *Shigella* par une approche bioinformatique. Technical report, 2013.