



HAL
open science

Les prophages : parasites cellulaires ou moteurs de l'évolution ?

Barbara Cardoso, Camille Maillé, Océane Reille, Iris Veyrier, Colin Vieillot,
Laurent Aussel

► To cite this version:

Barbara Cardoso, Camille Maillé, Océane Reille, Iris Veyrier, Colin Vieillot, et al.. Les prophages : parasites cellulaires ou moteurs de l'évolution?. *Médecine/Sciences*, 2022, 38 (5), pp.492-496. 10.1051/medsci/2022060 . hal-03714519

HAL Id: hal-03714519

<https://hal.science/hal-03714519>

Submitted on 11 Jul 2022

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.

Les prophages : parasites cellulaires ou moteurs de l'évolution ?

Prophages: cellular parasites or driving force of evolution?

**Barbara Cardoso^{1*}, Camille Maillé^{1*}, Océane Reille^{1*}, Iris Veyrier^{1*}, Colin Vieillot^{1*},
Laurent Aussel²**

¹Master 2 Microbiologie Intégrative et Fondamentale, Aix Marseille Université, Marseille, France.

²Aix Marseille Université, CNRS, LCB UMR7283, IMM, Marseille, France.

barbara.cardoso-domingues@etu.univ-amu.fr

camille.maille@etu.univ-amu.fr

oceane.reille@etu.univ-amu.fr

iris.veyrier@etu.univ-amu.fr

colin.vieillot@etu.univ-amu.fr

aussel@imm.cnrs.fr

*Ces cinq auteurs ont participé de façon égale au travail

Les virus sont les entités biologiques les plus abondantes sur notre planète. Parmi eux se trouvent les bactériophages (ou phages), terme employé pour la première fois en 1917 par Félix d'Hérelle qui démontra leur aptitude à infecter spécifiquement les bactéries. De manière générale, le phage est constitué d'une tête ou capsid, à l'intérieur de laquelle est encapsidée le génome, et d'une queue de structure complexe permettant sa fixation sur la bactérie cible et l'injection de son matériel génétique. Les phages peuvent se reproduire de deux manières différentes. Les phages virulents prolifèrent uniquement grâce à un cycle lytique, entraînant la genèse de nouveaux phages et la lyse de l'hôte bactérien. En revanche, les phages tempérés peuvent intégrer leur génome dans l'ADN de l'hôte grâce à des événements de recombinaison sous la forme d'un prophage transmis à la descendance. Ce processus est appelé cycle lysogénique [1]. Les prophages peuvent ainsi être considérés comme de véritables atouts pour les bactéries car ils constituent un moteur important et rapide de leur évolution. En effet, diverses interactions géniques existent entre les prophages et l'hôte cellulaire, les plus étudiées étant l'apport de gènes de virulence par le phage à la bactérie cible. Ces prophages peuvent ainsi être intégrés durablement dans le réseau de régulation bactérien et ainsi influencer le métabolisme et l'adaptation de l'hôte à un environnement changeant [2]. Il est important de noter qu'une fois intégrés dans le génome cellulaire, les gènes viraux vont aussi être capables d'autorégulation via l'expression de protéines permettant de contrôler la stabilité du prophage dans le chromosome. L'étude de ces différentes interactions géniques constitue un véritable enjeu sanitaire car les bactériophages présents dans notre intestin impactent grandement notre microbiote. En effet, le transfert horizontal de gènes pourrait être impliqué dans l'établissement de dysbioses (perte d'équilibre de la flore microbienne),

certaines de ces gènes pouvant favoriser la survie des bactéries receveuses dans certaines conditions [3].

En outre, via le mécanisme de recombinaison spécifique de site, les prophages sont capables de s'exciser du génome bactérien pour entrer en cycle lytique, conduisant à la lyse cellulaire. Ainsi, l'activation de prophages latents dans le microbiote intestinal constitue une véritable « bombe moléculaire » pour leur hôte, pouvant entraîner de graves conséquences écologiques comme la domination de bactéries pathogènes, favorisant ainsi l'apparition de pathologies inflammatoires telle que la maladie de Crohn [3]. Cette nouvelle détaille les différentes régulations transcriptionnelles impliquées dans le contrôle de l'excision du prophage (interactions prophage-prophage) mais aussi celles impliquées dans l'amélioration de l'adaptabilité cellulaire (interactions prophage-hôte).

Un nouveau modèle de régulation d'excision du prophage

Pour le phage λ , virus modèle pour l'étude des mécanismes d'intégration du génome viral, la recombinaison se produit grâce à une complémentarité de séquences phagique et bactérienne, conduisant à la formation des séquences recombinées *attL* et *attR* présentes aux jonctions entre le chromosome bactérien et le prophage [4]. Si l'environnement de l'hôte cellulaire devient hostile, un nouvel événement de recombinaison est réalisé, permettant l'excision du prophage. Les protéines appelées intégrase et facteur de directionnalité de la recombinaison (RDF) participent à ce processus. Leurs gènes respectifs sont sous le contrôle d'un même promoteur, assurant ainsi leur expression simultanée avec pour conséquence l'excision du prophage. Cependant, cette organisation génétique n'est pas conservée chez l'ensemble des phages. En effet, pour le prophage KpIE1, les gènes *intS* et *torI*, codant

respectivement pour l'intégrase IntS et le RDF TorI, sont sous le contrôle de promoteurs distincts. En outre, la méthode d'extension d'amorce a permis de confirmer expérimentalement que le promoteur de l'intégrase (P_{intS}) chevauchait la séquence *attL*, entraînant différentes conséquences (Figure 1). Panis et al. ont voulu montrer en quoi la régulation de l'expression des gènes codant pour un RDF et une intégrase constituait un nouveau paradigme chez le prophage KpIE1 [5].

L'étude *in vivo* chez *Escherichia coli* de l'activité du promoteur d'*intS* a été conduite en fusionnant la séquence de la région *attL* (contenant le P_{intS}) au gène codant la GFP. En l'absence d'IntS ou TorI, la fusion *PattL-gfp* est plus fortement exprimée qu'en présence de l'une de ces deux protéines, démontrant que l'expression d'*intS* est régulée négativement par la protéine TorI mais aussi par la protéine IntS elle-même (autorégulation négative). En outre, des analyses bioinformatiques ont mis en évidence, au sein du P_{intS} , de potentiels sites de fixation des protéines TorI et IntS. Des expériences de mutagénèse dirigée sur ces sites au sein de la fusion *PattL-gfp* ont permis de mettre en évidence que TorI et IntS réprimaient directement l'expression de la fusion. De plus, l'expression du gène *intS* est finement régulée. En effet, l'excision ne peut se produire qu'à des concentrations précises d'IntS, comme l'ont démontré les mesures de l'efficacité de la recombinaison excisive *in vitro* en fonction de la concentration de l'intégrase par PCR quantitative [5].

La localisation du prophage KpIE1 dans le gène d'ARNt *argW* chez *E. coli* K-12 a son importance car des analyses bioinformatiques ont révélé que la majorité des prophages intégrés au niveau de gènes codant des ARNt présentaient un chevauchement du site *attL* et du promoteur *intS*. Cette organisation génique prédit, comme expliqué précédemment, une autorégulation négative de l'expression d'*intS* similaire à celle observée dans le prophage KpIE1. Par conséquent, ce mécanisme de

régulation de l'excision pourrait aussi être retrouvé dans de nombreuses espèces bactériennes, y compris pathogènes. En effet, ce processus d'inhibition de l'excision pourrait aussi être présent chez la bactérie *Vibrio cholerae*. Sa virulence est assurée par la présence d'îlots de pathogénicité, dont un dénommé VPI-2. Le gène de l'intégrase responsable de la conservation de cet îlot est codé à proximité du locus de l'ARNt sérine. Cette proximité avec un gène d'ARNt laisse alors supposer que son autorégulation négative serait identique à celle de l'intégrase de KpIE1 [5].

Néanmoins, les prophages peuvent perdre leur capacité à s'induire et à lyser leur hôte et être intégrés durablement dans le réseau de régulation bactérien. Cette domestication a même placé certaines protéines prophagiques au cœur de la régulation de la survie bactérienne.

Protéines prophagiques et survie bactérienne

Certains prophages, devenus défectifs par accumulation de mutations, rendent silencieux ou modifient la fonction de gènes viraux, ce qui constitue un véritable avantage évolutif pour la cellule hôte. Ces nouvelles fonctions sont durablement intégrées au sein du réseau de régulation bactérien. La protéine AppY illustre parfaitement cette conversion lysogénique. AppY est un régulateur transcriptionnel de la famille AraC/XylS codé par un prophage défectif (phage DLP12) et présent dans le génome d'*E. coli* K-12. La réalisation de ChIP-Seq (Chromatin Immunoprecipitation-Sequencing), méthode d'analyse d'interactions entre protéines et ADN, permet d'identifier les gènes cibles de régulateurs transcriptionnels. Cette technique a permis de révéler qu'AppY modulait directement l'expression de 13 gènes bactériens [6]. Cette protéine apparaît comme un régulateur central de l'expression de gènes codant pour des protéines régulatrices-clés chez la bactérie dans des conditions de stress, tel

que le stress acide. Dourdou et *al.* se sont alors demandés comment la pléiotropie d'une protéine d'origine phagique permettait de remarquablement améliorer la survie de l'hôte bactérien. En effet, AppY joue un rôle important dans la formation du biofilm, communauté multicellulaire protégeant et améliorant la survie des bactéries dans un environnement hostile. En outre, AppY participe à la diminution de la motilité bactérienne. Il est probable que ce défaut sévère de motilité permette à la bactérie de consacrer plus d'énergie à l'activité d'autres complexes protéiques impliqués dans la réponse au stress environnant. Par ailleurs, il est aussi possible que cette répression se produise lors des premières étapes de la formation d'un biofilm, quand la perte de la motilité est essentielle à l'établissement d'une vie sessile. Enfin, AppY contribue à l'activation du système majeur de résistance au stress acide, dénommée AR2 (acid-resistance system 2) [6]. Ce dernier permet à *E. coli* de résister à la forte acidité de l'estomac rencontrée lors de sa traversée vers l'intestin [7]. De plus, il a été démontré chez une espèce d'*E. coli* entéro-hémorragique que des protéines régulatrices homologues d'AppY et codées par des gènes prophagiques, telle que PsrB, permettaient de résister au stress acide de l'estomac chez la souris via l'activation du système AR2 (Figure 2) [8]. Ainsi, il est fortement envisageable qu'AppY puisse favoriser la survie d'*E. coli* face au pH acide de l'estomac [6].

À ce jour, nombreux sont les gènes de prophages exprimés dans les cellules qui n'ont pas été encore identifiés de manière fonctionnelle. Ainsi, le rôle crucial d'AppY dans la régulation de nombreux processus bactériens chez *E. coli* démontre que caractériser l'ensemble des prophages bactériens pour comprendre pleinement la physiologie bactérienne représente aujourd'hui un enjeu sanitaire majeur. Par conséquent, la compréhension de la biologie cellulaire bactérienne ne peut être

complète sans l'étude des abondantes interactions géniques qui se produisent entre l'hôte et le prophage mais aussi au sein même du prophage afin de contrôler son devenir au sein de la cellule. Il apparaît désormais essentiel d'apprécier davantage la diversité des prophages mais aussi leurs mécanismes de régulation et leurs apports évolutifs afin de mieux appréhender la physiologie bactérienne.

Références

1. Oppenheim AB, Kobiler O, Stavans J, *et al.* Switches in bacteriophage lambda development. *Annu. Rev. Genet.* 2005 ; 39 : 409-29.
2. Wahl A, Battesti A, Ansaldi M. Prophages in *Salmonella enterica*: a driving force in reshaping the genome and physiology of their bacterial host? *Mol. Microbiol.* 2019 ; 111 : 303-16.
3. Norman JM, Handley SA, Baldrige MT, *et al.* Disease-Specific Alterations in the Enteric Virome in Inflammatory Bowel Disease. *Cell* 2015 ; 160 : 447-60.
4. Van Duyne GD, Lambda Integrase: Armed for Recombination. *Curr. Biol.* 2005 ; 15 : 658-60.
5. Panis G, Duverger Y, Courvoisier-Dezord E, *et al.* Tight Regulation of the *intS* Gene of the KpIE1 Prophage: A New Paradigm for Integrase Gene Regulation. *PLoS Genet.* 2010 ; 6 : e1001149.
6. Derdouri N, Ginet N, Denis Y, *et al.* Pleiotropic effects of AppY, an AraC-like regulator from prophage origin, on *E. coli* physiology. *bioRxiv* 2022.
7. Foster J.W. *Escherichia coli* acid resistance: tales of an amateur acidophile. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004 ; 2 : 2898-907.
8. Yang J, Russell TW, Hocking DM, *et al.* Control of Acid Resistance Pathways of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Strain EDL933 by PsrB, a Prophage-Encoded AraC-Like Regulator. *Infect. Immun.* 2015 ; 83 : 346-353.

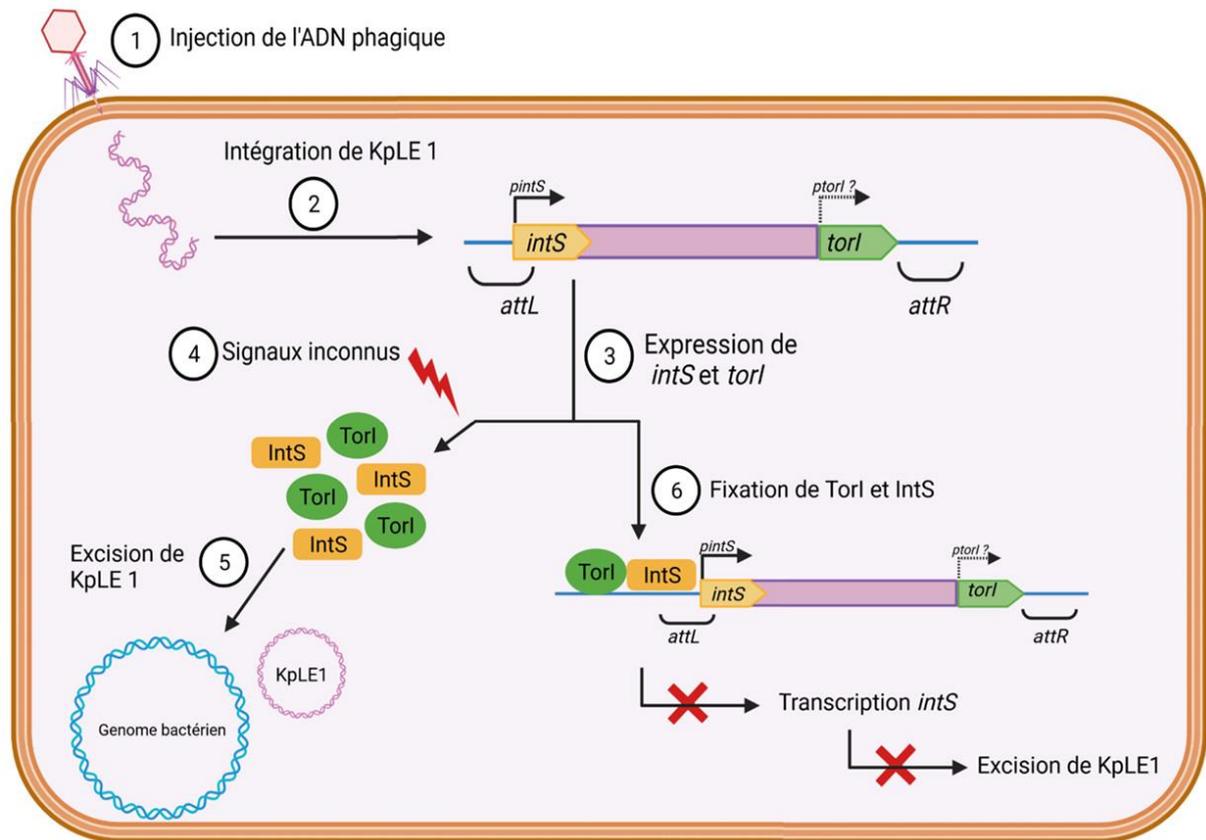


Figure 1 : Régulation de l'excision du prophage KpLE1.

1. L'ADN du bactériophage est injecté. 2. KpLE1 est intégré dans le génome bactérien par recombinaison entre les sites *attP* (génome phagique) et *attB* (chromosome bactérien), conduisant à la formation des séquences recombinées *attL* (qui comprend le promoteur du gène *intS*) et *attR*. 3. Les protéines TorI (RDF) et IntS (intégrase) sont exprimées à un niveau basal. 4. Des signaux inconnus entraînent la surexpression de *torl* et *intS*. 5. Cela permet au prophage, via une recombinaison excisive, de s'exciser définitivement du chromosome bactérien. 6. Lorsque que les conditions environnementales sont optimales, l'expression d'*intS* est réprimée. Cette répression est assurée par une autorégulation négative d'IntS et par la protéine TorI, permettant de maintenir et stabiliser la concentration d'IntS dans la cellule.

Bactérie : *Escherichia coli* MG1655. **ADN rose :** ADN prophagique (KpLE1). **ADN**

bleu : chromosome bactérien. *Figure réalisée avec BioRender.*

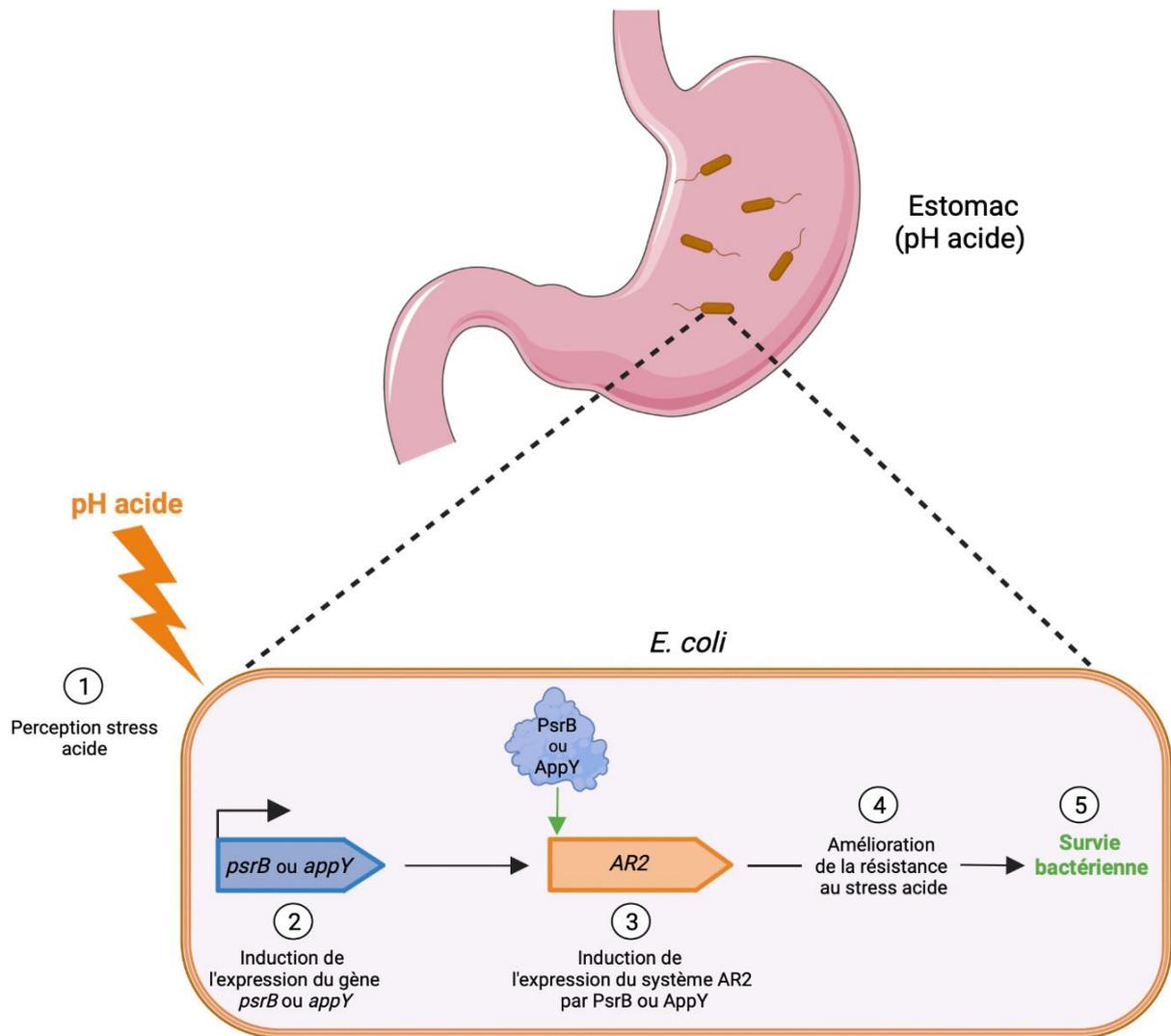


Figure 2 : Adaptabilité bactérienne au pH acide par les protéines PsrB et AppY lors de la traversée de l'estomac.

1. Au cours de son processus de colonisation, la bactérie *Escherichia coli* doit traverser la barrière acide de l'estomac [7]. 2. L'acidité du pH, perçue par la bactérie, entraîne l'expression du gène *psrB* ou *appY* [6,8]. 3. Une fois synthétisée, ces protéines activent l'expression du système AR2 [6,8]. 4-5. Les protéines codées par ce système permettent d'améliorer la résistance bactérienne au stress acide et donc sa survie [7,8]. *Figure réalisée avec BioRender.*