

Éléments transposables*

Une grande partie du génome des procaryotes comme des eucaryotes est constituée d'éléments génétiques capables de se déplacer, appelés éléments transposables. Leur découverte dans les années 1950, a bouleversé l'idée d'un agencement stable des gènes [1]. On découvre aujourd'hui un nombre croissant de maladies humaines nées de la dérégulation d'un gène à la suite de l'insertion *de novo* d'un élément transposable [2, 3]. Pourtant, les mécanismes réglant la transposition et son impact sur le génome restent encore mal compris. Pour faire le point sur l'état actuel des connaissances dans ce domaine, des chercheurs appartenant à une trentaine de laboratoires français ou francophones se sont réunis du 4 au 6 juillet à Clermont-Ferrand, à l'initiative de Chantal Vauzy et Georges Picard.

Identification de nouvelles familles d'éléments transposables

L'une de ces familles découverte par T. Pélissier et S. Tutois (GDR 977-BIOMOVE, Université Blaise-Pascal, Aubière), est hôte de la génome de la plante *Arabidopsis thaliana*. Elle s'apparente à la famille des rétrotransposons. Ses éléments possèdent, en effet, de longues séquences terminales répétées (ou LTR pour *long terminal repeat*) avec toutes les caractéristiques nécessaires à l'initiation de la synthèse d'un brin d'ARN, première étape pour la transposition. Alors que les rétrotransposons recensés jusqu'à présent dans différentes espèces possèdent des LTR de 300 à 500 paires de bases, celui-là présente des LTR de 1 550 paires de bases. La séquence comprise entre ces LTR est, elle aussi, de grande taille, supérieure à 10 kilobases. Trois cadres de lecture ouverte, présents dans la zone centrale, ne semblent pas capables de coder pour un polypeptide présentant des similitudes avec les transcriptases inverses des rétrovirus. Une hypothèse est alors avancée : un rétrotransposon, dont

les LTR séquencés forment la trace, aurait capturé un gène cellulaire de l'hôte. Pourrait-on voir là une séquence d'événements analogues à ceux qui ont mené des rétrovirus aux oncogènes de vertébrés ?

L'analyse d'un deuxième élément transposable permet à J.M. Deragon (GDR 977-BIOMOVE) de proposer un modèle de contrôle évolutif de la rétrotransposition chez les plantes supérieures. Cet élément, découvert chez le colza, est un élément de type SINE (*short interspersed repetitive element*). La séquence d'un nombre représentatif de membres de cette famille (environ 500 par génome haploïde) suggère qu'un nombre très restreint d'éléments fondateurs serait responsable de la distribution de l'ensemble des éléments de la famille. Ces résultats impliqueraient, comme chez l'homme avec les éléments *Alu*, que seuls certains éléments de la famille soient mobiles.

L'originalité d'un troisième élément présenté ne réside pas dans sa structure, mais dans l'influence qu'il exerce sur l'épissage d'un gène en aval. Une insertion de cet élément de 10 kilobases découvert par C. Vauzy (Inserm U. 384, Clermont-Ferrand) chez *Drosophila melanogaster* s'est produite à 3 kb en amont du site de début de transcription d'un allèle du gène *white*. Les divers résultats rapportés par P. Leblanc (Inserm U. 384, Clermont-Ferrand) suggèrent que l'élément transposable de 10 kilobases, bien que situé en amont du pré-messager, influencerait la maturation de ce dernier en favorisant l'épissage du premier intron muté.

J.L. Ferat (CGM/Cnrs, Gif/Yvette) a mis en évidence quatre introns de groupe II spécifiant des transcriptases inverses dans des isolats naturels de *E. coli*. Ces introns interrompent tous des séquences d'ADN mobiles. La synthèse des résultats obtenus suggère que la transposition de ces introns de groupe II se ferait préférentiellement en *cis*, au long

d'une même pièce d'ADN, alors qu'un déplacement à plus longue distance, en *trans*, serait assuré par les éléments mobiles qui leur servent d'hôte.

Mécanismes de contrôle de la transposition

La transposition est à l'évidence un phénomène spécialement mutagène pour la cellule. La présence d'une population d'éléments actifs suppose donc l'existence de mécanismes de contrôle qui vont garantir l'intégrité fonctionnelle du génome de l'hôte. Trois niveaux de contrôle ont été évoqués pour les transposons bactériens : la régulation transcriptionnelle de l'élément, son potentiel traductionnel et l'intervention du génome de l'hôte.

La transposition de l'élément IS30 (W. Arber, Biozentrum der Universität Basel, Suisse) est réglée au niveau transcriptionnel par la présence d'une séquence dite « terminateur », située dans le cadre de lecture du gène de la transposase, l'enzyme responsable de la transposition. Cette séquence donne naissance à un transcrit tronqué dont la traduction conduit à une protéine régulatrice.

La transposase des familles IS3 et IS1 (M. Chandler, CRBCG-Cnrs, Toulouse), est synthétisée grâce à un mécanisme de décalage de phase traductionnelle entre deux cadres de lecture ouverte (ORF). Le produit du premier ORF agit comme régulateur de la transposition alors que la fusion de ce produit avec celui du deuxième ORF engendre la transposase. Ce phénomène, inefficace, permettrait de minimiser le taux de transposition.

Enfin, l'intervention du génome de l'hôte est clairement mise en évidence dans la régulation de la transposi-

* Compte rendu de la réunion « Éléments transposables » organisée par C. Vauzy et G. Picard (GDR 977. BIOMOVE, université Blaise-Pascal, Aubière). Clermont-Ferrand, 6-8 juillet 1994.

tion répliquative du bactériophage Mu. Des protéines de type histone, des protéines de réplication mais aussi une sous-unité régulatrice de la protéase de *E. coli* dépendante de l'ATP, Clp, se révèlent essentielles à la transposition répliquative du bactériophage Mu.

Mécanismes de contrôle de la transposition chez les eucaryotes

Chez les eucaryotes, une voie d'approche réside dans l'étude de la régulation transcriptionnelle d'éléments transposant par un intermédiaire ARN, puisque celle-ci est très certainement le premier verrou de contrôle de leur transposition. J.C. Salvado (IBEAS, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau), étudiant l'élément *Juan* amplifié récemment chez le moustique, n'a pas pu mettre en évidence de transcrits spécifiques de ce rétrotransposon au cours du développement de l'insecte alors qu'il parvient à en isoler à partir de cultures de cellules de moustique. Les facteurs de l'environnement chromosomique ainsi que des facteurs environnementaux tels que des situations de stress cellulaire pourraient contrôler sa transcription. Cette même interprétation est également suggérée par les expériences menées sur l'élément *17.31* chez la drosophile (E. Faure, Institut de Chimie Biologie, Marseille) et l'élément *Tnt1* du tabac (M.A. Grandbastien, INRA, Laboratoire de Biologie Cellulaire, Versailles). En effet, la transcription du rétrotransposon de tabac *Tnt1* est sous l'influence de séquences répétées localisées dans le LTR et jouant le rôle d'activateurs. L'analyse de l'expression du gène *reporter GUS* placé sous contrôle de la région promotrice de *Tnt1* indique qu'il existe une relation étroite entre l'activation de *Tnt1* et les réponses de défense du végétal infecté. Poursuivant l'étude sur *Tnt1*, H. Lucas (INRA, Laboratoire de Biologie Cellulaire, Versailles) rapporte qu'il pourra fort probablement être utilisé comme outil d'étiquetage chez *Arabidopsis thaliana*.

Un autre élément présentant un intérêt majeur pour étudier la régulation de la transposition, est le facteur I de *Drosophila melanogaster*. Il s'agit, en effet, d'un élément transposable de type LINE (*long interspersed nucleotidic element*) dont on connaît les conditions favorisant sa mobilité puisqu'il est impliqué dans un système de dysgénésie hybride, le système I-R [4]. Le facteur I transpose dans la lignée germinale de femelles appelées femelles SF, issues du croisement entre des mâles dont le génome contient des facteurs I fonctionnels (souches inductrices) et des femelles qui n'en possèdent pas (souches réactives). Néanmoins, l'efficacité à induire la transposition de facteur I varie selon les souches réactives.

Utilisant divers agents mutagènes, A. Laurençon (LGPD, Marseille) montre que la capacité d'une souche réactive de moduler la fréquence de transposition du facteur I résiderait dans l'existence d'un système de réparation-recombinaison modulé par des facteurs tels que l'âge, la température et les lésions d'ADN de la lignée germinale femelle. Ces auteurs font un parallèle avec le mode de fonctionnement du système SOS bactérien qui, lui aussi, contrôle les capacités de réparation et de recombinaison. En parallèle, les expériences de transgénèse menées par S. Jensen (Cnrs URA 147, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France) suggèrent que les éléments I défectueux, présents aussi bien dans le génome des souches réactives que des souches inductrices, pourraient être les déterminants de la réactivité.

Intégration dans le génome de l'hôte

Cette intégration peut tout à fait, pour certains éléments, être comparée à l'intégration des rétrovirus dans les génomes mammifères. C'est pourquoi, Ronald Plasterk du *Netherlands Cancer Institute* à Amsterdam a présenté une synthèse des connaissances actuelles sur l'intégrase du VIH [5]. Le mécanisme chimique d'intégration du VIH est relativement bien élucidé. Dans le cytoplasme d'une cellule infectée, l'ARN

simple brin du virus est converti en ADN double brin grâce à la transcriptase inverse. La protéine appelée intégrase, codée par le gène *Pol* du VIH, enlève deux nucléotides des extrémités 3' de l'ADN viral, libérant un groupement 3'OH à chaque extrémité. Ces groupements OH de l'ADN viral se couplent aux extrémités phosphates des deux brins de l'ADN cible par une réaction de transestérification [6]. Les relations structure/fonction de l'intégrase ont été étudiées par mutagenèse dirigée. Trois domaines principaux ont été mis en évidence : un domaine présentant des doigts de zinc, situé à l'extrémité aminoterminal ; un domaine d'association à l'ADN à l'extrémité carboxyterminale ; un domaine catalytique central appelé DDE, triade d'acides aminés acides (Asp-Asp-Glu). Ce motif est retrouvé dans les transposases de certains éléments transposables bactériens tels que IS30 (W. Arber) ou encore IS911 (M. Chandler). Ce dernier élément partage de plus avec les rétrovirus une autre analogie : le dinucléotide CA-3' à son extrémité 3'. Analysant la transposition de IS911 *in vivo* et *in vitro*, M. Betermier souligne que cette étude pourrait être utile pour l'analyse du fonctionnement voire de la structure des intégrases rétrovirales.

La transposition de la plus petite séquence d'insertion bactérienne connue à ce jour, IS1, se fait par un mécanisme de réplication (M.C. Serre, CRBCG-Cnrs, Toulouse). Le site catalytique de son intégrase ne s'apparente pas aux intégrases de type rétroviral mais aux intégrases représentées par le bactériophage lambda.

L'étude des mécanismes d'intégration des éléments transposables chez les eucaryotes est loin d'atteindre une telle précision. Les résultats qui s'en rapprochent le plus sont sans doute ceux concernant l'élément P chez *Drosophila melanogaster* pour lequel différents laboratoires étudient les remaniements induits par la transposase responsable de sa transposition. Utilisant un gène rapporteur qui leur permet de suivre les modifications induites par la trans-

posase, M. Delattre et D. Coen (Institut Jacques-Monod, Paris) montrent que l'intégrité des courtes séquences répétées inversées aux extrémités de l'élément P est nécessaire à l'action de la transposase. Elle permet l'excision précise des éléments P mais donne également à de nombreux remaniements (délétions, duplications) issus d'un phénomène de conversion génique. S'appuyant sur cette propriété de la transposase, F. Paques (Cnrs URA D1134, Orsay, France) étudie l'apparition d'événements de recombinaison de type homologue sur des gènes 5S répétés en tandem dans le transposon P et tente, par une caractérisation fine des réarrangements induits, de comprendre le système de recombinaison chez la drosophile. Ses résultats confortent l'hypothèse émise par B. Engels [7] que la structure de conversion serait résolue par appariements de brins néo-synthétisés.

Comme nous l'avons vu, la régulation de la transposition semble précisément contrôlée chez un individu ; un autre niveau de contrôle extrêmement important pour la survie d'une espèce concerne le nombre de copies de l'élément dans les populations naturelles. Ainsi, F. Garcia-Meunier (Cnrs URA 1493, USTL, Montpellier) remarque que chez les mammifères, la famille ayant le plus grand nombre de séquences répétées est la famille LINE1 (L1) qui représente 10 à 15 % du génome. Si, comme chez la drosophile, la plupart des mutations spontanées sont dues à l'insertion d'éléments mobiles, alors les éléments L1 devraient être responsables d'une importante fraction des mutations nouvelles et leur nombre avoir une influence significative sur l'évolution de l'espèce. Le mécanisme de contrôle du nombre de copies de cette famille L1 est abordé par l'estimation du taux d'insertion de nouveaux éléments et d'éventuelles délétions d'éléments anciens sur des régions chromosomiques spécifiques. Ce contrôle du nombre de copies de l'élément transposées est étudié par C. Montchamps (Institut Jacques-Monod, Paris) et H. Vieira

(Cnrs URA 243, Université Claude-Bernard, Lyon I, 69622 Villeurbanne) chez *Drosophila simulans* qui possède dans son génome moins d'éléments transposables que son espèce jumelle *D. melanogaster*. Les premiers résultats laissent penser qu'il existerait une plus forte sélection agissant contre les éléments transposables chez *D. simulans*.

L'ensemble de ces travaux, associés à l'étude détaillée d'éléments transposables connus dans les populations naturelles tel que Mariner chez *D. teissieri* (P. Capy, Laboratoire Populations, Génétique et Évolution, Cnrs, Gif/Yvette) ou à l'évolution d'une famille comme Hobo dans tout le complexe *Drosophila melanogaster* (G. Periquet, IBEAS, Faculté des Sciences, Tours) devrait, à terme, aider à comprendre ces mécanismes de réglage du nombre de copies d'un élément dans les populations naturelles, question fondamentale pour les biologistes et les généticiens des populations.

Éléments transposables et nouveautés génétiques

Quel impact peuvent avoir les éléments transposables dans les processus qui sous-tendent la macroévolution ou l'émergence de nouvelles fonctions dans un génome ? Les éléments transposables possèdent un certain nombre de propriétés qui les apparentent aux modules actifs en *cis* et en *trans* des systèmes de régulation. Ce sont donc de puissants outils pour la mise en place de nouvelles unités de régulation. Plus l'analyse des génomes s'élargit à de nombreuses espèces et plus on découvre de gènes dont la région régulatrice est composée des scories provirales d'un ancien rétrovirus. Leur présence a souvent modifié la spécificité spatio-temporelle du gène en amont duquel elles sont insérées. Tel est le cas, par exemple, du gène de l'amylase salivaire chez l'homme [8], mais il serait dangereux de faire des éléments transposables des *deus ex machina* de l'évolution. Il est encore difficile de repérer les restes d'un ancien élément transposable fixé dans ou au voisinage d'un gène et d'estimer la part de son intervention

sur la régulation de ce gène. Aucune stratégie de recherche ne pouvant aujourd'hui être élaborée, « le généticien se contentera d'aller à la pêche... à l'élément transposable » propose D. Anxolabéhère (Institut Jacques-Monod, Paris) ■

RÉFÉRENCES

1. Mc Clintock B. Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1956 ; 21 : 197-216.
2. Dombroski BA, Mathias SL, Nanthakumar E, Scott AF, Kazazian HH. Isolation of an active human transposable element. *Science* 1991 ; 254 : 1805-8.
3. Morse B, Rotherg PG, South VJ, Spandorfer JM, Astrin SM. Insertional mutagenesis of the *myc* locus by a LINE-1 sequence in a human breast carcinoma. *Nature* 1988 ; 333 : 87-90.
4. Bucheton A. I transposable elements and I-R hybrid dysgenesis in *Drosophila*. *Trends Genet* 1990 ; 6 : 16-21.
5. Vink C, Plasterk HA. The human immunodeficiency virus integrase protein. *Trends Genet* 1993 ; 9 : 433-7.
6. Marin M, Etienne-Julian M, Piechaczyk M, Noël D. L'intégration des rétrovirus : faits et croyances. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 318-24.
7. Gloor GB, Nassif NA, Johnson-Schlitz DM, Preston CR and Engels B. Targeted gene replacement in *Drosophila* via P element-induced gap repair. *Science* 1991 ; 253 : 1110-7.
8. Nouvel P. Modelage du génome des mammifères par la transcriptase inverse. *médecine/sciences* 1994 ; 10 : 640-7.

Remerciements

Je remercie G. Picard avec lequel j'ai organisé le colloque, ainsi que D. Anxolabéhère, M. Chandler et B. Dastugue pour leurs critiques et leurs conseils pendant la préparation de ce manuscrit.

Chantal Vaury

Chargée de recherche au Cnrs, Inserm U. 384, faculté de Médecine, 63000 Clermont-Ferrand, France.

TIRÉS A PART

C. Vaury.