



Rôle des transferts horizontaux dans l'émergence du complexe *Mycobacterium tuberculosis*

Jennifer Becq¹, C. Gutierrez³, V. Rosas-Magallanes², J. Rauzier²,
B. Gicquel², O. Neyrolles^{3,4} & P. Deschavanne¹

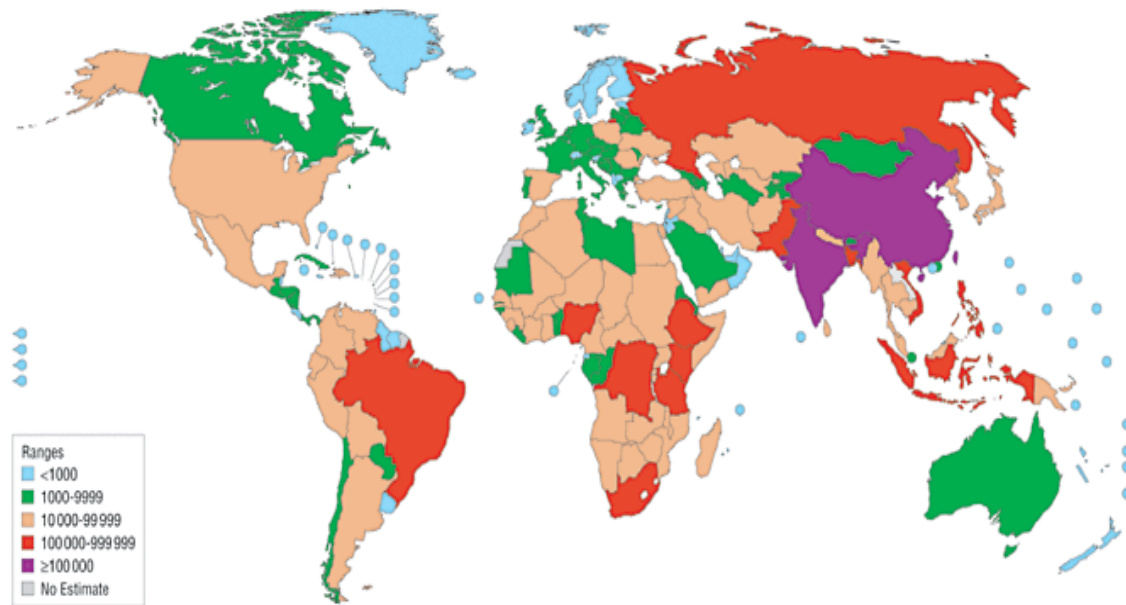
¹Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire, Inserm U726, Paris 7

²Département Infection et Epidémiologie, Institut Pasteur, Paris

³Unité de Génétique Mycobactérienne, Institut Pasteur, Paris

⁴CNRS URA 2172, Institut Pasteur, Paris

La tuberculose



Nombres estimés de cas de tuberculose par pays en 2000

Corbett, E. L. et al. Arch Intern Med 2003;163:1009-1021.

Maladie infectieuse (bacille de Koch)

2 milliards de personnes infectés dans le monde

2 millions de décès par an

dont 250 000 associés au HIV

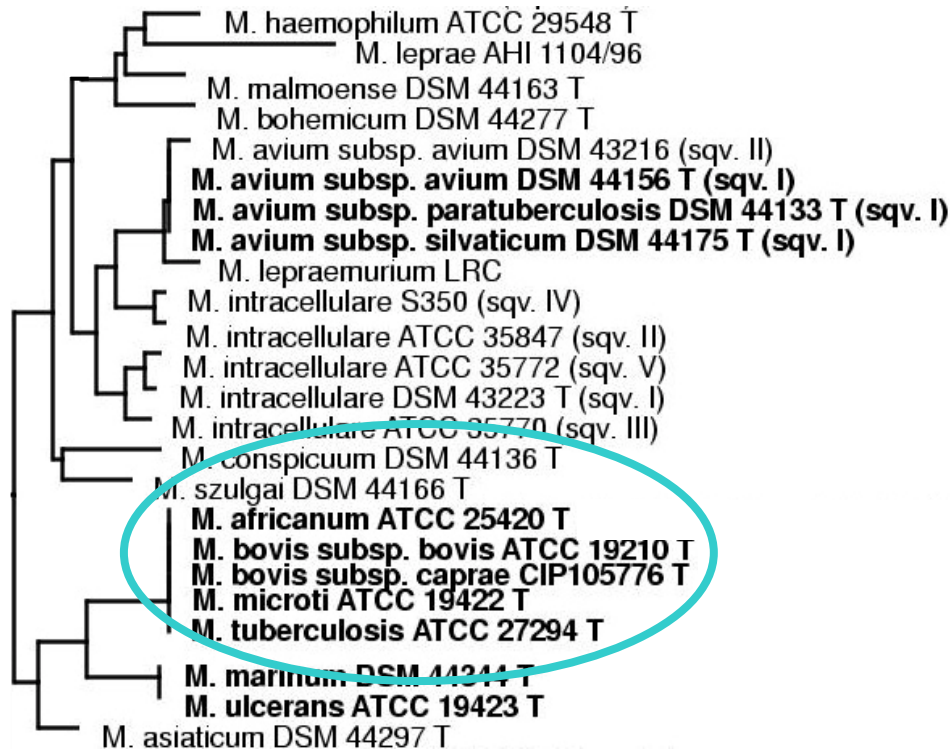
Incidence croissante 1% / an

Contagieux : un malade infecte ~ 10 à 15 pers / an

Pandémie mondiale

Émergence de souches multi-résistantes

Le complexe *Mycobacterium tuberculosis*



Mycobactéries

(une centaine d'espèces pathogènes ou non)

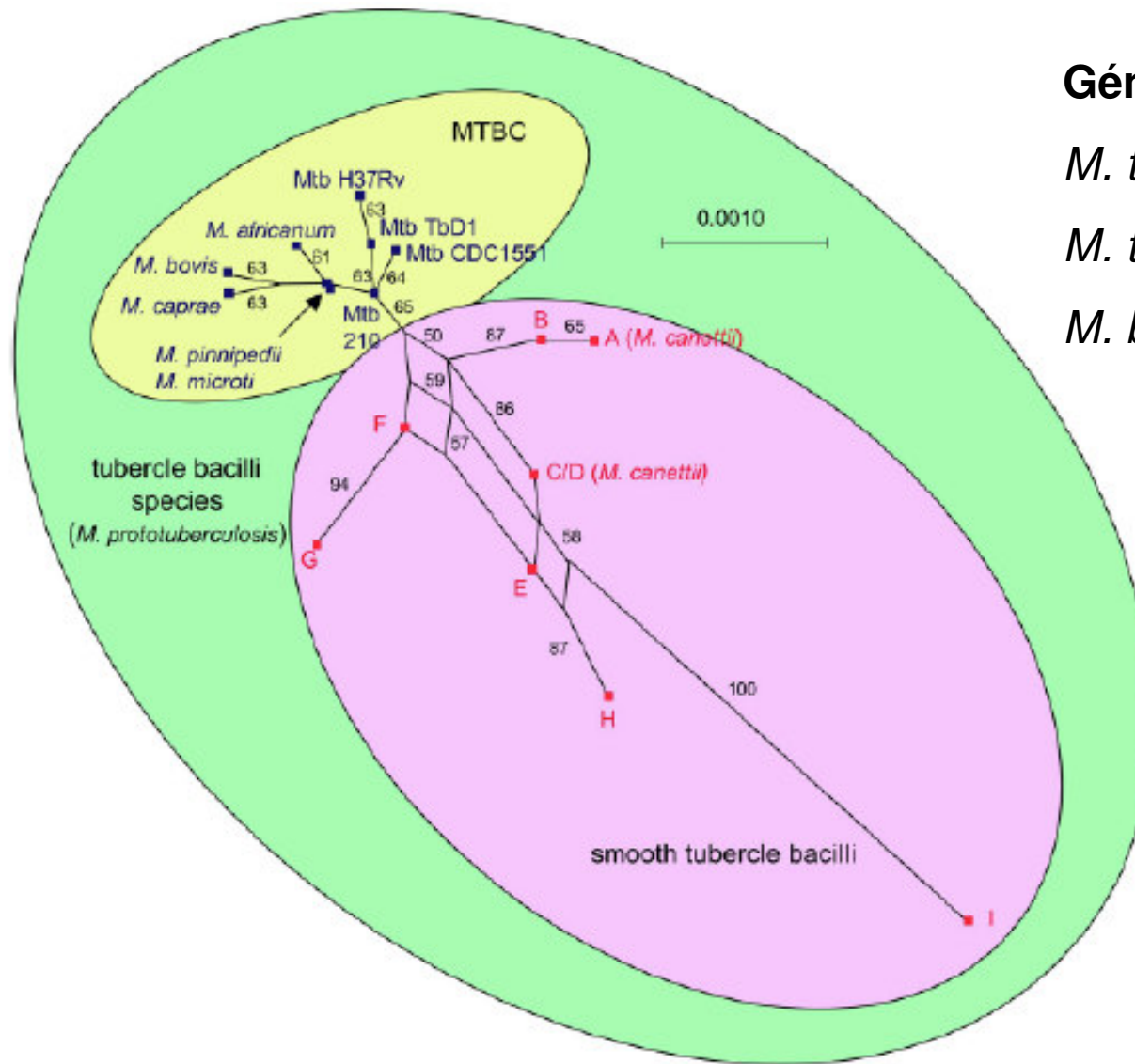
Le complexe *M. tuberculosis*

Tous pathogènes de l'homme

Évolution clonale « récente » (99% d'identité au niveau nucléotidique)

Pourtant diversité d'hôtes (mammifères)

Le complexe *Mycobacterium tuberculosis*



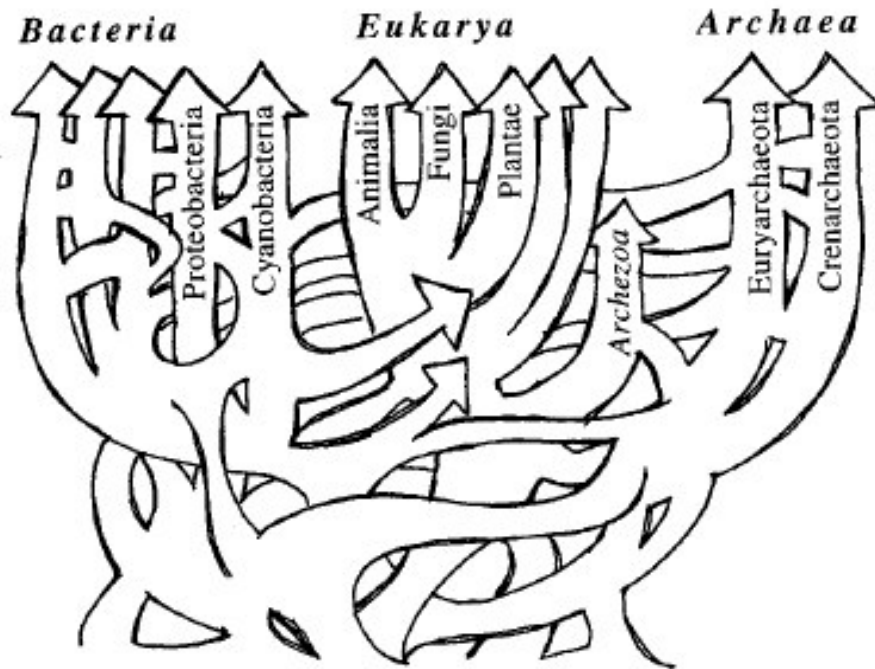
Génomes séquencés :

M. tuberculosis CDC1551

M. tuberculosis H37Rv

M. bovis AF2122/97

Les transferts horizontaux



de Doolittle 1999 *Science*

~ 4.4 Mb
~ 66% G+C

Pas de transferts horizontaux décrits

Pas d'îlots de pathogénicité décrits

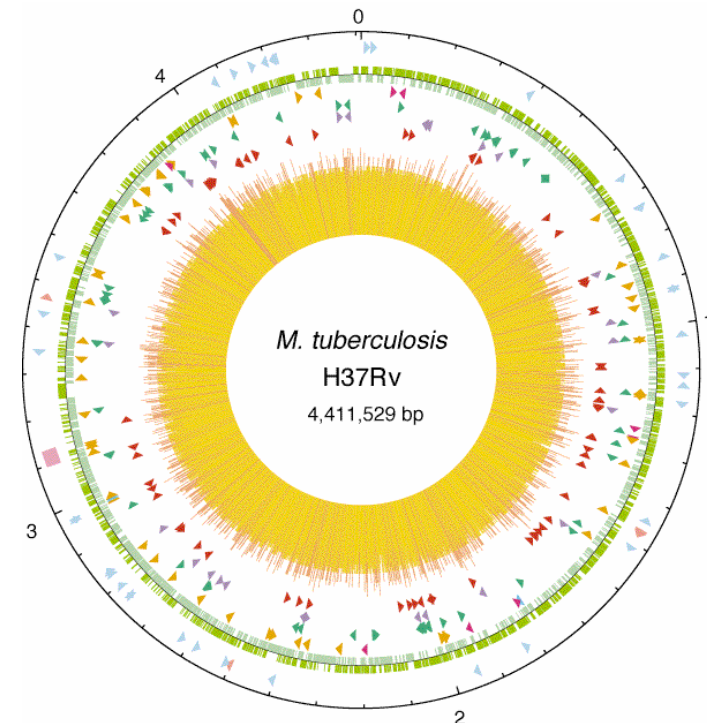
Peu de gènes de virulence connus (*mce*, *plc*...)

de Cole *et al.* 1998 *Nature*

Facteurs d'évolution des génomes

« îlots génomiques » « îlots de pathogénicité »

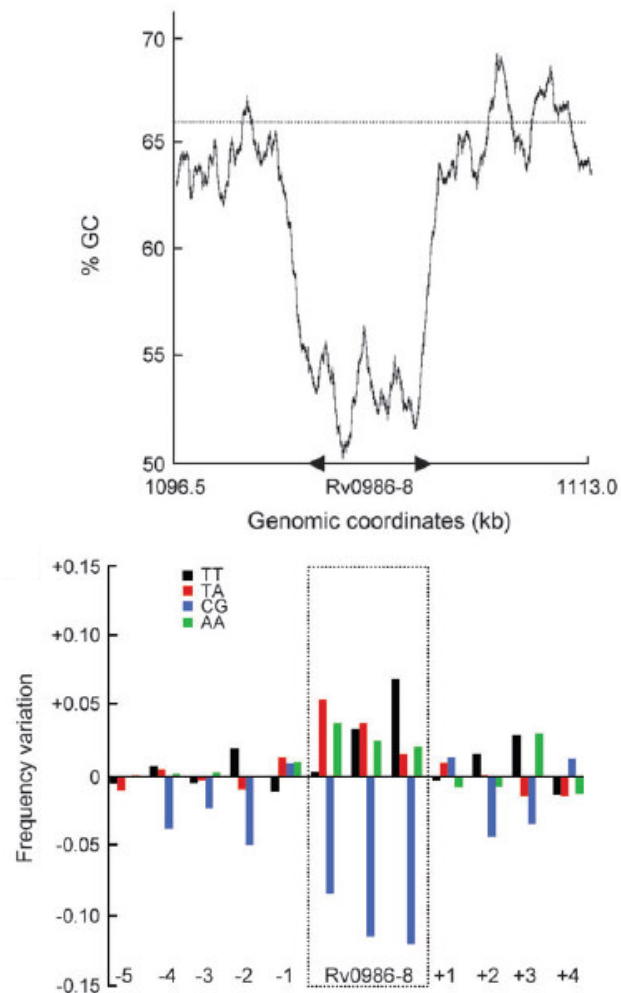
Transfert de résistance aux antibiotiques



Rv0986-8 a été acquis par transfert horizontal



Des caractéristiques de séquence atypiques :



Un opéron de virulence spécifique au complexe *M. tuberculosis* :

		Rv0986	Rv0987	Rv0988		
		←	→	→	←	←
		<i>mscL</i>			<i>grcC2</i>	<i>Rv0990c</i>
		+	+	+	+	+
		TB complex				
Slow Growing	<i>M. tuberculosis</i>					
	H37Rv					
	CDC1551					
	<i>M. microti</i>	+	+	+	+	+
	<i>M. bovis</i> (incl BCG)	+	+	+	+	+
Fast Growing	<i>M. africanum</i>	+	+	+	+	+
	<i>M. canetti</i>	+	+	+	+	+
	<i>M. leprae</i>	+				+
	<i>M. avium</i>	+				+
	<i>M. marinum</i>	+				+
	<i>M. ulcerans</i>	+				+
	<i>M. xenopi</i>	+				+
	<i>M. smegmatis</i>	+				+
	<i>M. fortuitum</i>	+				+
	<i>M. vaccae</i>	+				+
	<i>C. glutamicum</i>	+				+

Présence des gènes de l'opéron dans les différentes souches de Mycobactéries

Recherche systématique de transferts horizontaux



✗ Les méthodes paramétriques :

- ↗ critère d'anormalité des TH
- ↗ Diversité des méthodes paramétriques
- ↗ Diversité des résultats (Ragan 2001, Dufraigne 2005).

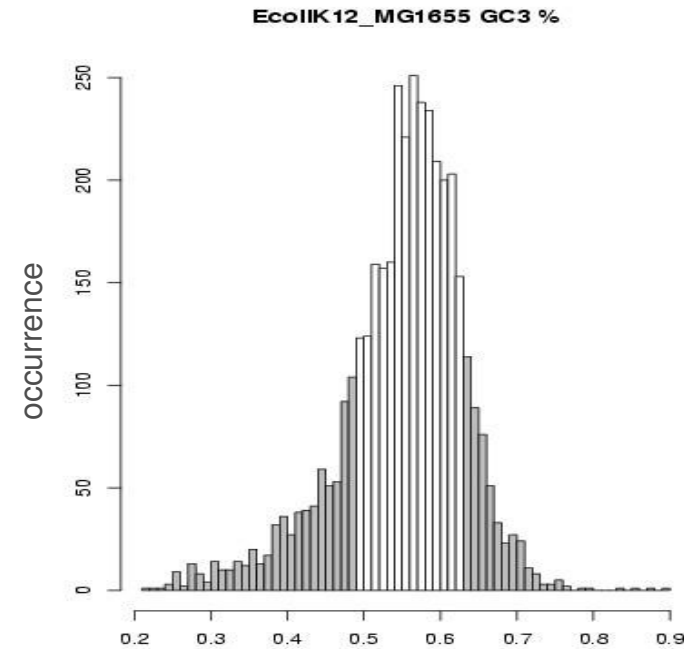
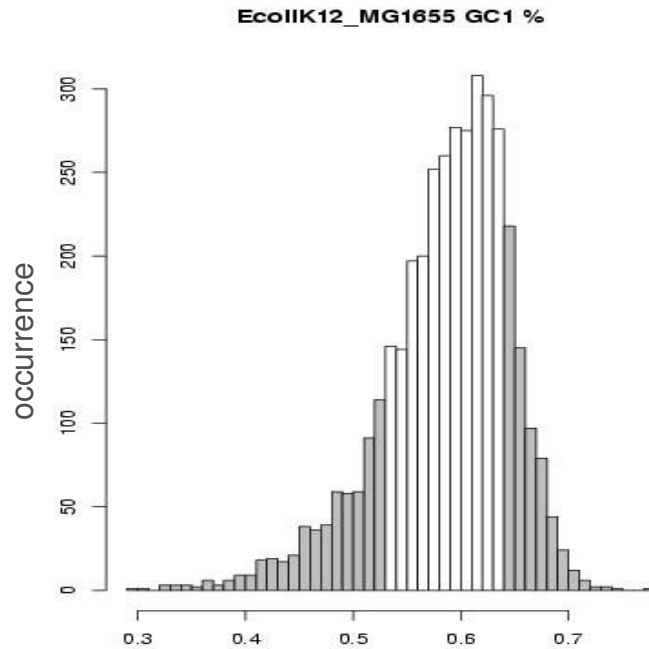
✗ Élaboration d'un consensus de méthodes

- ↗ spécificité ou sensibilité
- ↗ 3 méthodes différentes :
 - % GC position 1 et 3
 - usage des codons
 - signature génomique



**Spécificité
Consensus 2 / 3**

Le % GC1 et GC3



Seuil inférieur = $\text{quartile}_{\text{inf}} - 0,25 \times \text{distance interquartile}$
Seuil supérieur = $\text{quartile}_{\text{sup}} + 0,25 \times \text{distance interquartile}$

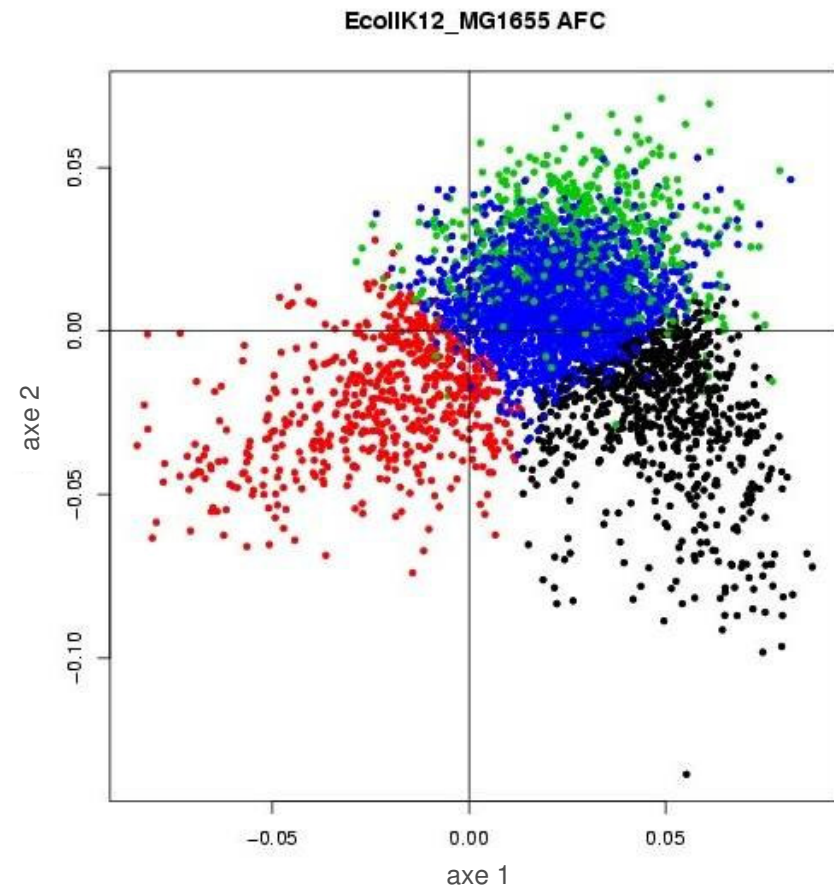
Gènes atypiques : GC1 % ET GC3% atypiques

L'usage des codons



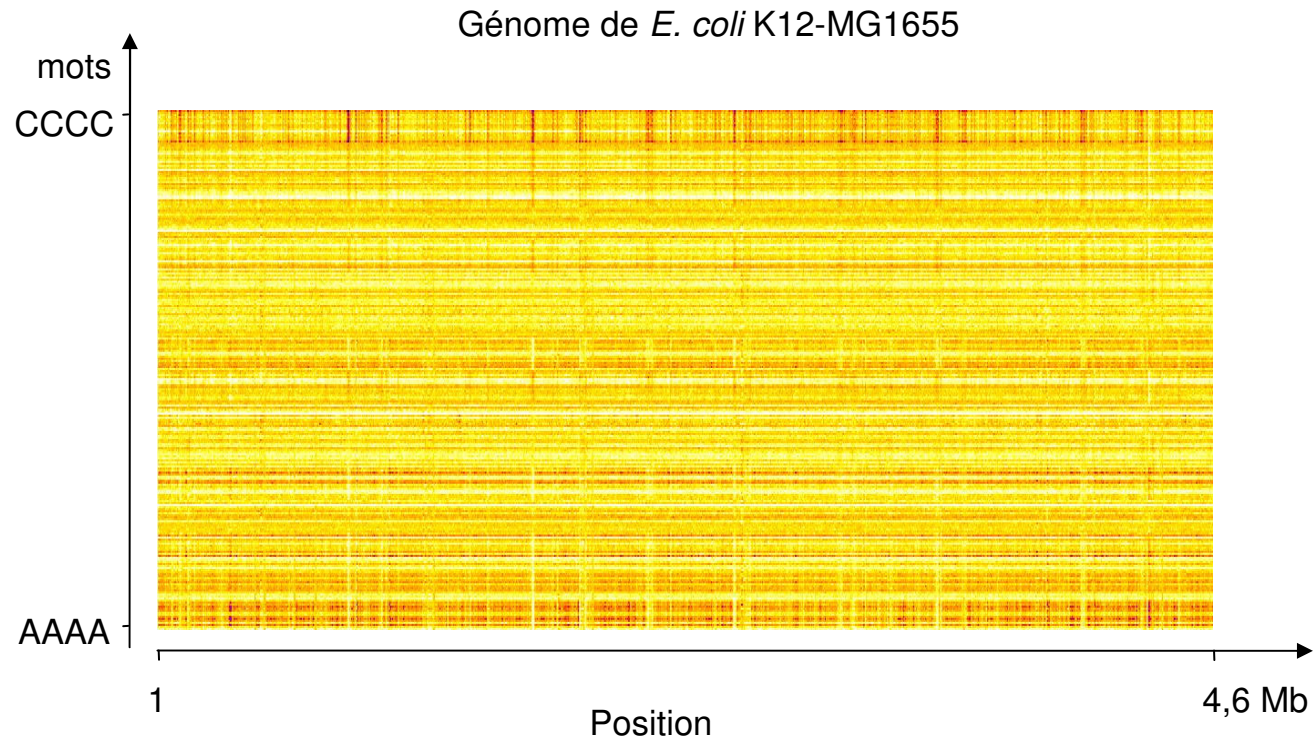
	CCC	...	TTT
Gène 1	0.045	...	0.134
...	...	...	...
Gène 4254	0.182	...	0.267

K-means : 4 groupes

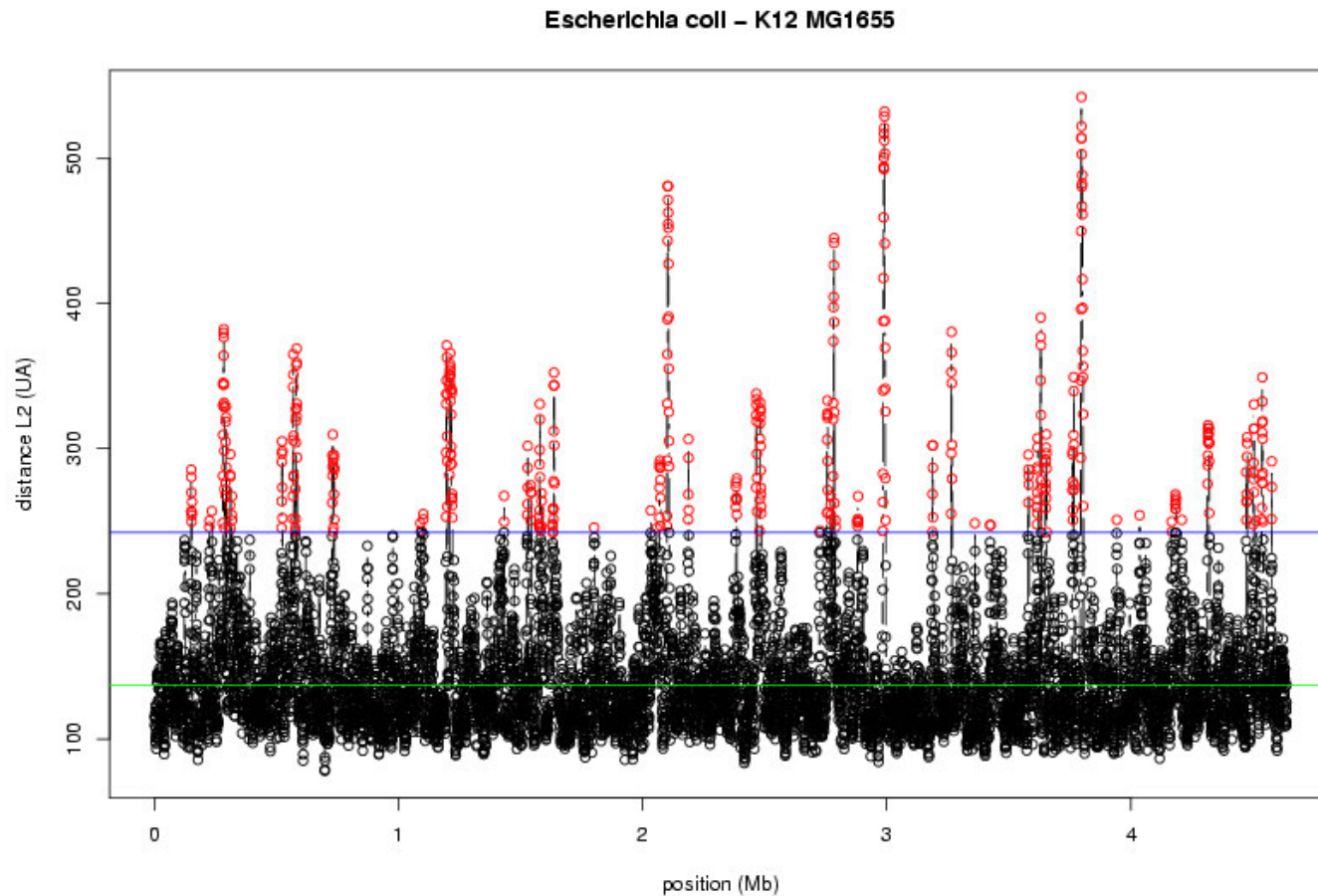


Groupe de gènes "transferts horizontaux potentiels"

Les signatures génomiques



Les signatures génomiques



moyenne :134 UA, limite 237 UA

$$d = \sqrt{\sum (f_i^1 - f_i^2)^2}$$

Recherche systématique de TH - résultats



Regions TH (genome complet)	Nombre	Taille totale (kb)	Tailles (kb)	Nombre de genes	% GC
<i>M. bovis</i>	165	220 (4.35 Mb)	0.3 - 6.9	267 (3953)	62.7 (65.6)
<i>M. tub. CDC1551</i>	207	259 (4.4 Mb)	0.3 - 10.1	342 (4189)	63.4 (65.6)
<i>M. tub. H37Rv</i>	161	217 (4.41 Mb)	0.3 - 9.5	259 (3999)	62.5 (65.6)

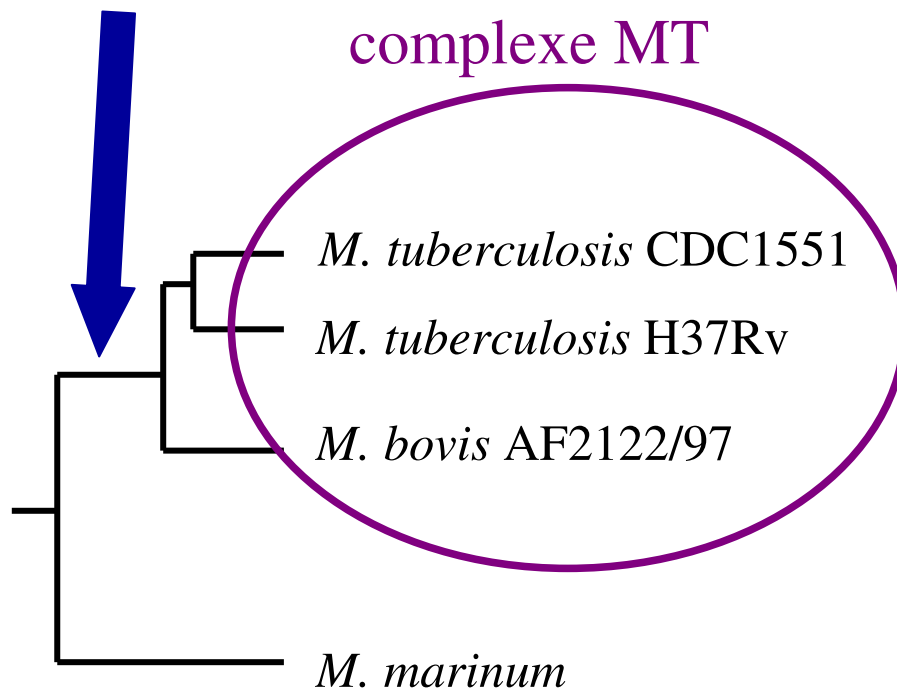


~ 5 % du
génom

Émergence du complexe *Mycobacterium tuberculosis*



Transferts horizontaux ?



TH MT-complexe spécifiques =

1. TH commun aux 3 génomes
2. Absence d'homologue dans *M. marinum*

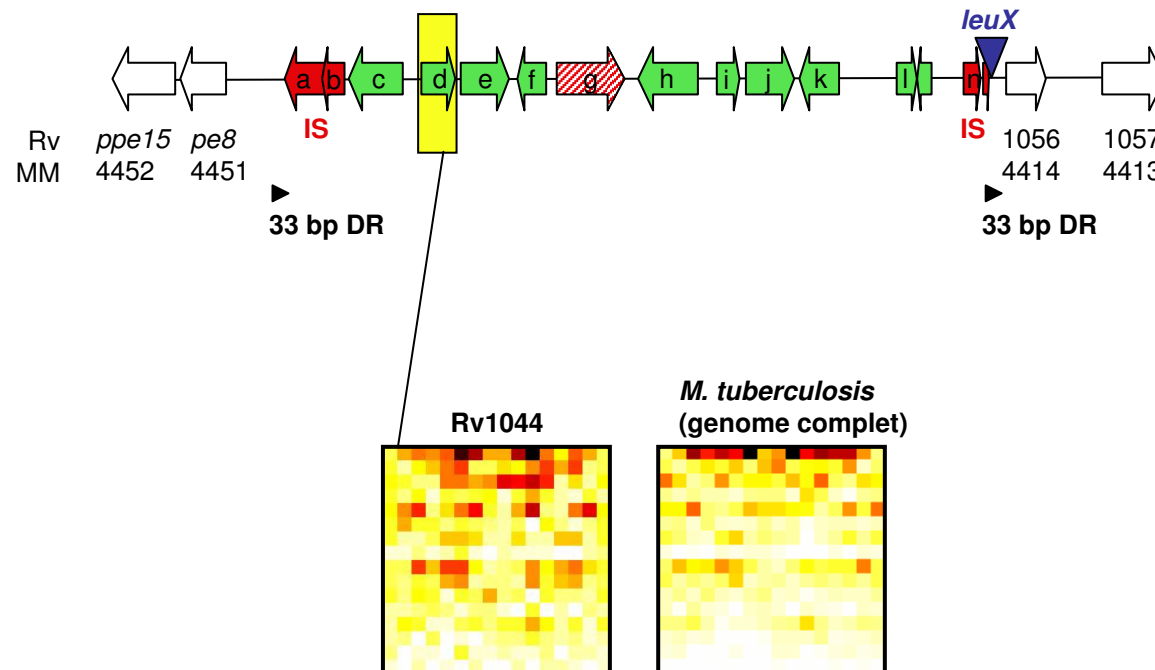
⇒ **BlastP** contre les protéines prédites de *M. marinum*

Transferts horizontaux MT-complexe spécifiques



gene(s) détectés	% GC	Îlots génomiques déduits	Taille (kb)
<i>gca-gmhA-gmhB-hddA</i>	59.5	<i>gca-gmhA-gmhB-hddA</i>	3.4
Rv0301	62.4	Rv0298-Rv0303	2.9
Rv0323c	65.0	Rv0323c-Rv0331	5.5
Rv0656c	65.6	Rv0656c-Rv0666	6.3
Rv1044	64.7	Rv1041c-Rv1055	12.8
Rv1990A	67.6	Rv1982c-Rv1991c	9.2
Rv2307B	54.9	Rv2302-Rv2312	10.9
Rv2804c	69.4	Rv2801c-Rv2830c	27.0
Rv2956	53.7	Rv2954c-Rv2961	7.0
Rv3108-moaA1-moaB1-moaC1	56.7	Rv3108-Rv3126	15.1
Rv3113-Rv3114	58.8		
<i>moeB2</i>	58.5		
Rv3123	68.9		
Rv3189	64.9	Rv3173c-Rv3191c	16.9
Rv3466	66.4	Rv3466-Rv3472	6.3
Rv3902c	51.6	Rv3885c-Rv3902c	21.0

Îlot génomique Rv1041 – Rv1055



	Gene	Fonction prédite	AFC	GC	sign
a	Rv1041c	ISMt1	+	+	-
b	Rv1042c	ISMt1	-	-	-
c	Rv1043c	Serine protease	-	-	-
d	Rv1044	Transcriptional regulator	+	+	-
e	Rv1045	Unknown	+	-	-
f	Rv1046c	Unknown	+	-	-
g	Rv1047	IS1081 transposase	-	-	-
h	Rv1048c	Unknown	+	-	-
i	Rv1049	MarR - Transcriptional repressor	-	-	-
j	Rv1050	Short chain dehydrogenase	-	-	-
k	Rv1051c	Unknown	-	-	-
l	Rv1052	Unknown	+	-	-
m	Rv1053c	Unknown	-	-	-
n	Rv1054	IS	+	-	-
o	Rv1055	IS	NA	NA	NA

groupes « <i>M. prototub.</i> »		Rv0301	Rv0323c	Rv0656c	Rv1044	Rv1053c	Rv1990A	Rv2307B	Rv2804c	Rv2819c	Rv2956	Rv3108	Rv3123	Rv3178	Rv3189	Rv3466
A	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
B	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
D	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
G	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
I	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
M.tub. H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M. bovis BCG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M.tub. Mt14323	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Remaniement des îlots génomiques

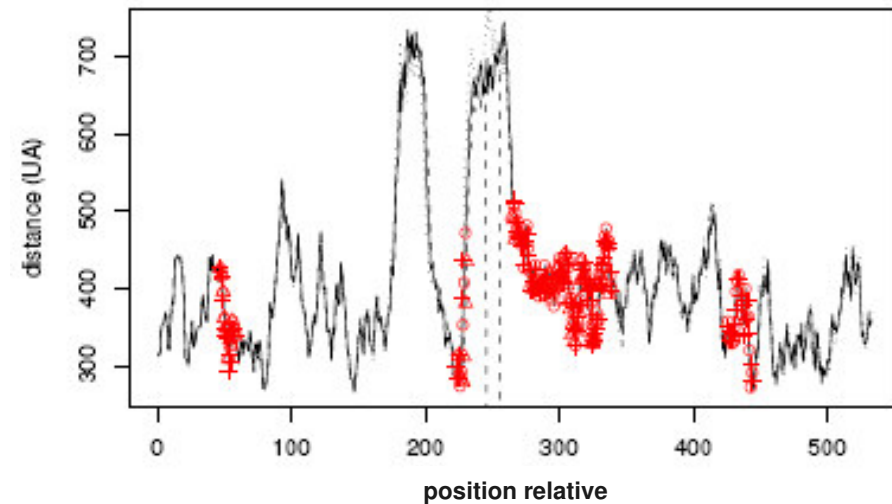


Rv2801c–Rv2830c

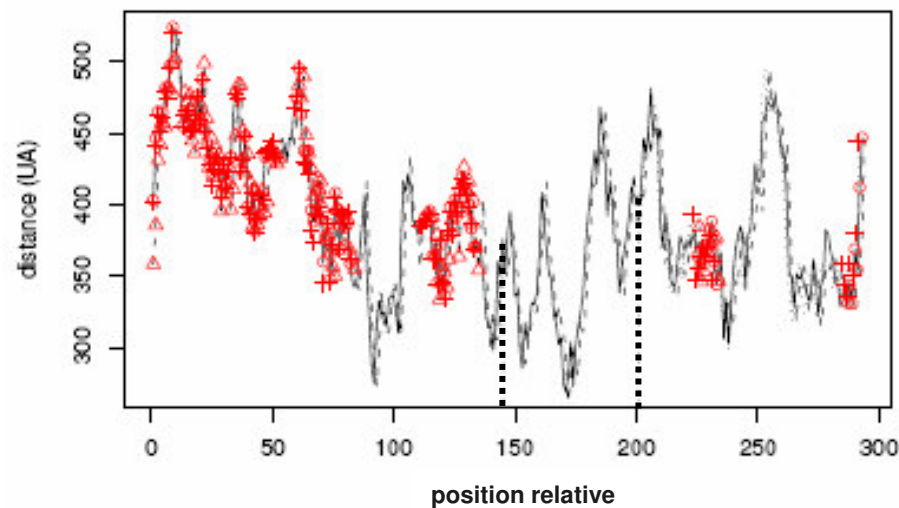
Variation de la distance entre les signatures de fenêtres et la signature du génome complet

- *M. tub* H37Rv
- - - *M. Tub* CDC1551
- *M. bovis*

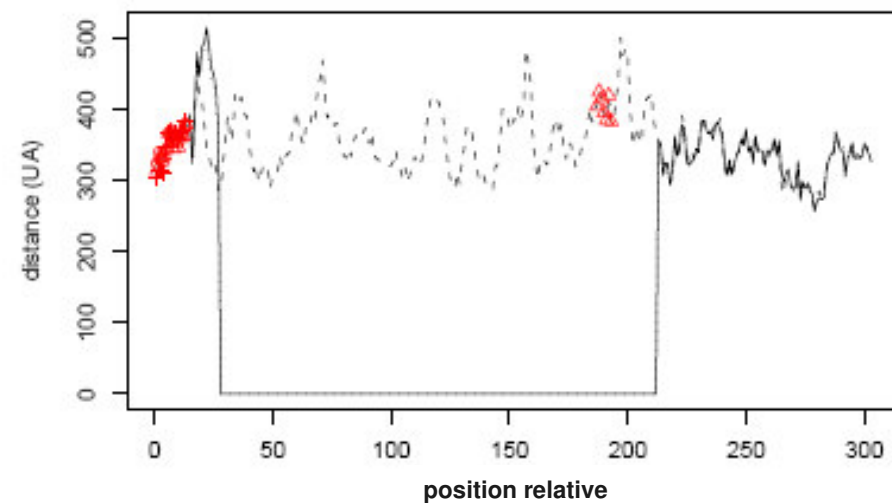
En rouge : gènes détectés par le consensus



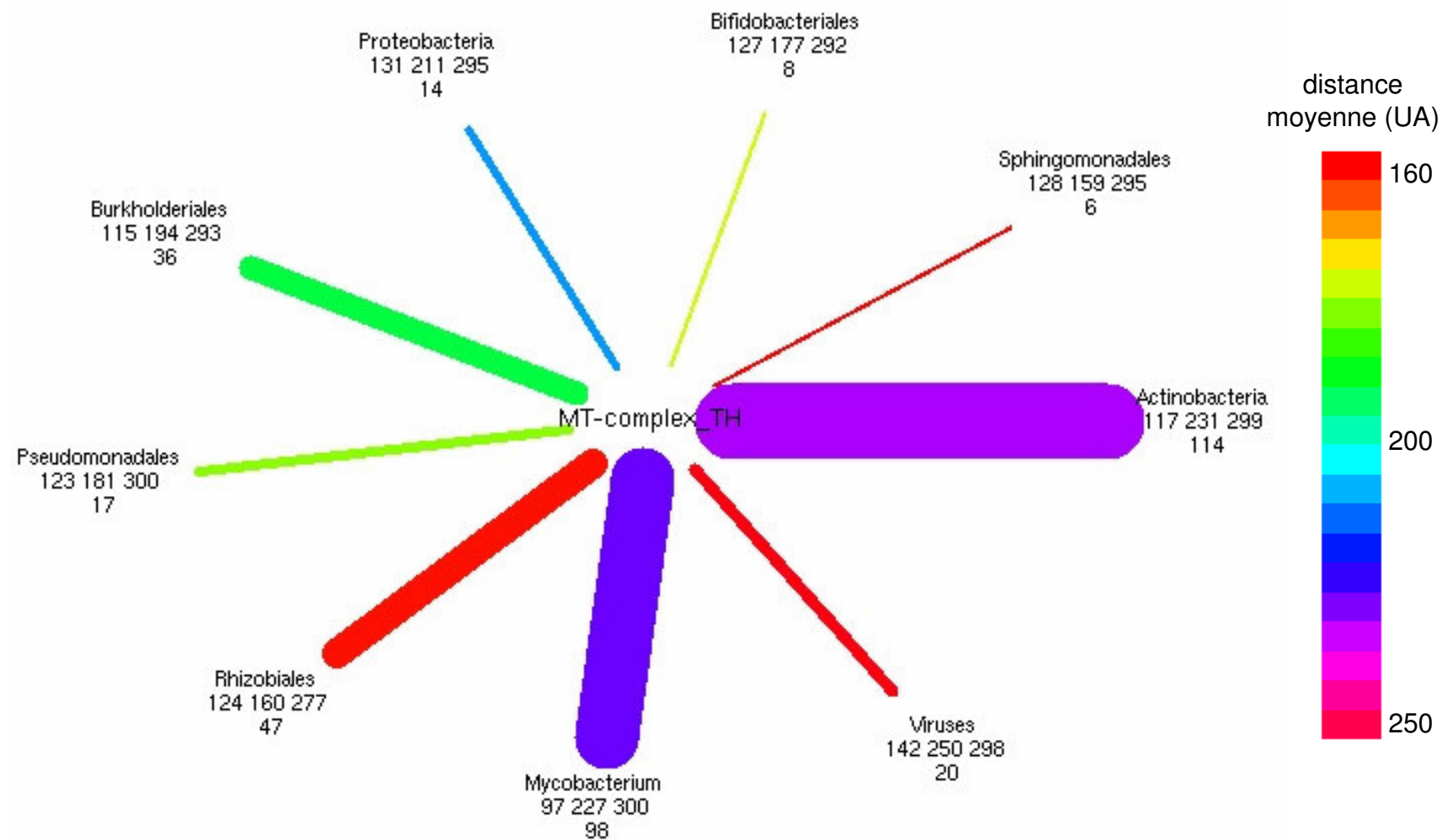
Rv3108–Rv3126c



Rv3466–Rv3472



Origine potentielle des transferts horizontaux



Conclusions et perspectives



Détection des transferts horizontaux

1. Critères paramétriques anormaux
2. Environnement génomique propice aux transferts (IS, régions répétées, PE_PGRS/PPE, ARNt)
3. Remaniement des régions



Importance des transferts horizontaux dans l'évolution du complexe *Mycobacterium tuberculosis*

Perspectives

- ✦ Étude fonctionnelle des gènes impliqués dans les transferts horizontaux (gènes de virulence ?)
- ✦ Caractérisation des TH propres à chaque génome (spécificité de chacune des souches/espèces ?)
- ✦ Extension à des souches cliniques de *M. tuberculosis*

Mutations ponctuelles versus réarrangements

