Un bactériophage exploite le système de communication de son hôte bactérien pour entrer en cycle lytique

Rasha Alqs Matti, Miguel Camacho Rufino, Ugo Hirigoyen, Élisabeth Mazenod, Guillaume Seuzaret

École normale supérieure de Lyon,
Département de biologie, Master biologie,
Lyon, France.

rasha.alqs-matti@ens-lyon.fr

miguel.camacho-rufino@ens-lyon.fr

ugo.hirigoyen@gmail.com

elisa.mazenod@ens-lyon.fr

guillaume.seuzaret@ens-lyon.fr

➤ Les bactériophages, plus communément appelés phages, sont des virus infectant les bactéries. Le cycle viral productif aboutit à la formation de nouveaux virions et peut s'accompagner de la lyse de la bactérie hôte (cycle lytique). Dans le cas des phages dits tempérés, le génome viral peut s'intégrer dans le génome de la bactérie hôte sous forme de « prophage » (cycle lysogénique). Intégré dans le génome de l'hôte, le prophage présente le plus souvent peu d'expression génique et n'est donc plus capable de produire des virions. Ce prophage est alors apparenté à un stade de « dormance » dans le cycle viral des bactériophages. Cependant, cette dormance n'est pas définitive : l'insertion du prophage dans le génome bactérien est réversible, et en s'excisant, le phage peut à nouveau passer en cycle productif et aboutir à la lyse de son hôte.

Il est intéressant de noter que plusieurs bactéries pathogènes chez l'Homme portent des prophages dans leur génome. En réactivant ces prophages, on peut espérer induire le cycle lytique et éliminer spécifiquement ces bactéries pathogènes. L'étude des signaux pouvant provoquer la transition vers le cycle lytique des bactériophages est donc un domaine de recherche primordial.

Afin de réguler certaines fonctions physiologiques, telles que la production de facteurs de virulence ou la formation de biofilms, les bactéries utilisent un mécanisme de communication intercellulaire très conservé appelé *quorum sensing*

[1,2]. Ce système de communication repose sur la sécrétion d'un autoinducteur. Ce terme recouvre une famille de petites molécules de signalisation produites et détectées par les bactéries, dont les changements de concentration dans l'environnement sont le reflet d'un changement de densité bactérienne. Il a été suggéré que le signal que constitue l'autoinducteur pourrait être exploité par des prophages pour induire leur cycle lytique. Ghosh et ses collègues ont ainsi montré en 2009 que la reconnaissance de l'autoinducteur N-Acyl Homoserine Lactone (AHL) par *E. coli* entraîne la production de virions par son phage lysogène λ , ce qui suggère que les phages peuvent exploiter le *quorum sensing* de leur hôte pour déclencher la bascule lysogénique-lytique [3].

Plus récemment, Silpe et Bassler se sont intéressés au mécanisme utilisé par le phage lysogénique VP882 pour entrer en cycle lytique [4]. VP882 est un phage qui infecte des bactéries du genre *Vibrio*, dont *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus*, deux bactéries responsables d'infections entériques chez l'Homme. Comprendre les mécanismes qui déclenchent la transition lysogénique-lytique de VP882 est donc crucial car cela pourrait ouvrir des voies thérapeutiques pour faire face à ces deux pathogènes.

Le *quorum sensing* du genre *Vibrio* est utilisé par VP882 pour déclencher son cycle lytique

La protéine VqmA de *Vibrio cholerae* (VqmA_{VC}) est le récepteur de l'autoin-

ducteur 3,5-diméthylpyrazin-2-ol (DPO) sécrété par les bactéries du genre *Vibrio*. En présence de DPO sécrété par les bactéries environnantes, VqmA_{VC} active l'expression du gène *vqmR* qui conduit à l'inhibition du biofilm bactérien et à la production de facteurs de virulence (Figure 1).

Les auteurs ont d'abord découvert que le génome du phage VP882 code une protéine homologue à VqmA_{VC}, nommée VqmA_{phage} et montré que VqmA_{phage} entraîne la lyse de l'hôte bactérien par VP882, en présence de DPO. Ils ont confirmé ces observations dans des conditions plus physiologiques en montrant que c'est la production de DPO par les bactéries en culture qui déclenche le cycle lytique de VP882 après fixation à VqmA_{phage}. En d'autres termes, le *quorum sensing* de *Vibrio cholerae* régule la transition lysogénique-lytique du phage VP882.

La lysogénie de VP882 est maintenue par la répression transcriptionnelle d'un activateur du programme lytique

Après avoir découvert que VqmA_{phage} induit le cycle lytique en réponse au DPO, les auteurs ont voulu décortiquer les gènes du prophage impliqués dans l'activation de ce programme lytique. Par mutagenèse aléatoire, ils ont généré une banque de phages VP882 mutants, qu'ils ont ensuite utilisés pour infecter des souches de *V. parahaemolyticus*. Ainsi, ils ont identifié un mutant de VP882 qui avait perdu la capacité de lyser son hôte malgré l'expression de

Figure 1. Le quorum sensing (QS) du genre *Vibrio* contrôle le cycle lysogénique-lytique du phage VP882. (A) Schéma du cycle de la bactérie *Vibrio cholerae*. En stade de latence, les bactéries *V. cholerae* restent protégées dans leur biofilm. En milieu favorable, la densité bactérienne augmente, déclenchant le mécanisme de QS dépendant de l'autoinducteur DPO et du récepteur VqmA, qui inhibe la formation du biofilm et favorise la dissémination bactérienne. (B) Le phage profite du mécanisme QS pour sa propre dissémination. Le récepteur VqmA_{phage} (homologue au récepteur bactérien VqmA_{vc}) fixe l'autoinducteur DPO. Le complexe DPO/VqmA_{phage} induit l'expression de *qtip* qui lève l'inhibition du programme lytique en bloquant *cl*, répresseur de la protéine *Q*.

vqmA_{phage}, ce qui suggère que le gène touché, nommé *q*, est nécessaire à l'entrée en cycle lytique. L'expression de *q* suffit à provoquer la lyse en l'absence de VqmA_{phage}. En revanche, en l'absence de *Q* (la protéine codée par *q*), l'expression de *vqmA_{phage}* ne suffit pas à provoquer la lyse. Les auteurs en déduisent donc que *q* est situé en aval de *vqmA_{phage}*. Par homologie de séquences, ils ont pu apparenter *q* à un régulateur du programme lytique et ont ensuite vérifié que *Q* active l'expression d'un opéron contenant trois gènes et qui déclenche la lyse chez *E. coli*.

Sachant que l'expression de *q* par le prophage suffit à déclencher le cycle lytique, les auteurs se sont demandés comment son expression était inhibée lors du cycle lysogénique. En utilisant un gène rapporteur placé sous la dépen-

dance du promoteur de *q*, ils ont mis en évidence que l'élimination des prophages présents dans *V. parahaemolyticus* permet d'augmenter l'activité du promoteur de *q* d'un facteur 25, ce qui montre que VP882 code un répresseur transcriptionnel de *q*. Ils ont nommé *cl* le gène responsable de cette inhibition. VP882 maintient donc son état de prophage grâce à ce répresseur *cl* qui bloque l'expression du gène *q*. Les auteurs se sont alors intéressés au mécanisme qui conduit au cycle lytique de VP882 après activation de VqmA_{phage}.

VqmA_{phage} active l'expression d'un anti-répresseur pour promouvoir la transition lysogénie-lyse de VP882

Les auteurs ont imaginé plusieurs scénarios pour expliquer l'activation du cycle lytique par VqmA_{phage}. D'abord,

ils ont suggéré que le complexe VqmA_{phage}-DPO pourrait activer directement *q* en se fixant à son promoteur, ou réprimer l'expression du répresseur *cl*, permettant ainsi l'expression de *q*. Pour tester ces hypothèses, ils ont utilisé différents plasmides permettant d'exprimer uniquement *vqmA_{phage}*, *q* et *cl* chez *E. coli*. Ils n'ont pas remarqué de changements significatifs dans l'expression de *q* lorsque VqmA_{phage} est exprimé. Ces résultats infirment donc l'hypothèse que VqmA_{phage} active l'expression de *q*, que ce soit directement ou par l'intermédiaire de l'inhibition de *cl*.

Les auteurs ont formulé alors une autre hypothèse : VqmA_{phage} pourrait activer l'expression d'un gène de VP882 qui agirait comme un intermédiaire supplémentaire dans la voie menant à l'expres-

sion de *q* en inhibant l'expression de *cl*. En criblant une banque de fragments de l'ADN génomique de VP882, les auteurs ont identifié le gène *qtip*, permettant à *q* d'être exprimé malgré la présence du répresseur *cl*. *Qtip* n'étant pas capable de se fixer à l'ADN, les auteurs ont fait l'hypothèse qu'il inhiberait *cl* au niveau post-traductionnel. Ils ont pu vérifier par co-immunoprécipitation que *cl* et *Qtip* interagissent physiquement, et leurs analyses en microscopie confocale leur ont permis de montrer que l'induction de l'expression de *qtip* permet de séquestrer *cl* en agrégats. Les auteurs concluent donc qu'une fois activé grâce à *VqmA_{phage}*, *Qtip* agit comme un "anti-répresseur", interagissant physiquement avec *cl* pour l'empêcher de réprimer l'expression de *q*. Ainsi, la protéine *Q* est exprimée et active le programme lytique de VP882 (Figure 1).

Ce mécanisme de régulation de la transition lysogénique-lytique par le *quorum sensing* semble permettre une dissémination optimale des bactériophages, puisque le phage active la formation de virions et la lyse de son hôte lorsque la densité bactérienne est importante. Reste à savoir si cette utilisation du *quorum sensing*, visiblement avantageuse, est répandue chez les bactériophages. Depuis la publication de cet article, Silpe et Bassler ont rapporté l'existence d'autres phages possédant des récepteurs capables de « sentir » le *quorum sensing* de leur hôte [5]. Par ailleurs, Laganenka et al. ont démontré que le bactériophage T1 utilise également le *quorum sensing* de son hôte pour déclencher son cycle lytique [6]. Il est donc possible que le

mécanisme étudié ici ne soit pas rare parmi les bactériophages.

La présence dans le génome du phage d'un gène homologue à celui de l'hôte bactérien peut s'expliquer par le fait que le prophage, en s'excisant, peut également récupérer des fragments d'ADN bactérien. Ces fragments peuvent être conservés en étant répliqués lors du cycle viral suivant, en plus de pouvoir être transmis à une autre bactérie en cas d'intégration. Ainsi, les bactériophages et leurs hôtes participent mutuellement à l'évolution de leurs génomes, ce qui conduit à l'existence de protéines virales et bactériennes homologues, avec une potentielle conservation de la fonction, comme ce qu'on observe dans le cas de *VqmA_{phage}* où le phage réutilise une fonction propre à son hôte.

Vers l'ingénierie des systèmes de transition lysogénie/lyse pour améliorer la spécificité de la phagothérapie

Les auteurs terminent leur article en s'intéressant au développement d'un phage recombinant dont le cycle lytique pourrait être déclenché par un autoinducteur de la bactérie hôte. Ainsi, ils ont utilisé le phage VP882 porteur d'un gène *q* inactivé et un plasmide contenant le gène *q* sous dépendance d'un promoteur activable par *VqmA_{VC}*. Ainsi, l'expression de *q* est alors activée lorsque *V. cholerae* produit du DPO. Cela entraîne alors l'activation du cycle lytique du phage. Ce système pourrait être exploité en médecine pour lutter contre de nombreuses autres espèces de bactéries. Ainsi, en plaçant le gène *q* sous la dépendance d'un promoteur spécifique à la bactérie

hôte et activé par un autoinducteur, il serait possible de créer un système très modulable qui pourrait lyser spécifiquement différentes bactéries, en modifiant uniquement le promoteur d'intérêt.

Ce système pourrait être un très bon moyen d'éliminer spécifiquement certaines bactéries pathogènes, sans affecter excessivement notre microbiote. Ces résultats permettent donc d'envisager la phagothérapie, qui utilise des bactériophages lytiques pour traiter des infections bactériennes et qui était employée en thérapeutique avant l'arrivée massive des antibiotiques, comme une piste thérapeutique pour faire face au défi de santé publique posé par l'antibiorésistance. ♦

A bacteriophage takes advantage of a bacterial communication system to enter in lytic cycle

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Fuqua C, Winans SC, Greenberg EP. Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. *Annu Rev Microbiol* 1996 ; 50 : 727-51.
2. Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005 ; 21 : 319-46.
3. Ghosh D, Roy K, Williamson KE, et al. Acyl-homoserine lactones can induce virus production in lysogenic bacteria: an alternative paradigm for prophage induction. *Appl Environ Microbiol* 2009 ; 75 : 7142-52.
4. Silpe JE, Bassler BL. A host-produced quorum-sensing autoinducer controls a phage lysis-lysogeny decision. *Cell* 2019 ; 176 : 268-80.e13.
5. Silpe JE, Bassler BL. Phage-encoded luxR-type receptors responsive to host-produced bacterial quorum-sensing autoinducers. *MBio* 2019, 10.
6. Laganenka L, Sander T, Lagonenko A, et al. Quorum sensing and metabolic state of the host control lysogeny-lysis switch of bacteriophage T1. *MBio* 2019, 10.

Tarifs d'abonnement m/s - 2020

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement

page 1098 dans ce numéro de m/s