

Génétique bactérienne

I/ Introduction:

- Les caractères héréditaires sont conservés et transmis de génération en génération.
- Ils sont inscrits dans la structure de fragments de molécules d'ADN qu'on appelle gènes dont chacun contient l'information nécessaire à la synthèse d'une protéine spécifique.

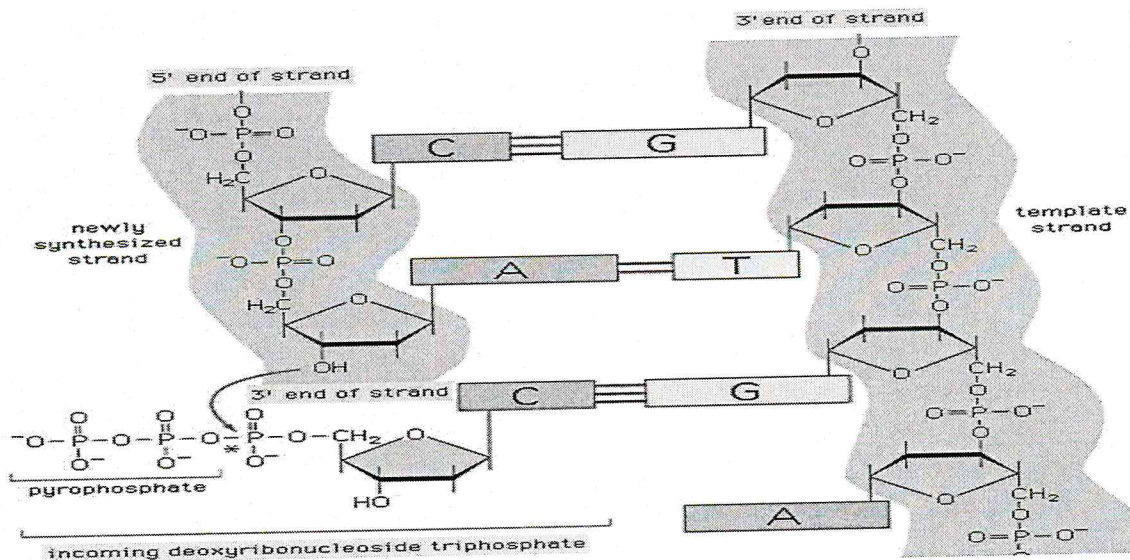
II. Rappels:

II.1. Les acides nucléiques:

II.1.1 L'acide désoxyribonucléique (ADN):

Est une molécule, présente dans toutes les cellules vivantes, qui renferme l'ensemble des informations de l'hérédité. La structure standard de l'ADN est une double-hélice. Chaque brin d'ADN est constitué d'un enchaînement de nucléotides, eux-mêmes composés de bases azotées, d'oses (désoxyribose) et de groupes phosphate.

Bases azotées : La thymine (T) et la cytosine (C) sont de la famille des pyrimidines, L'adénine (A) et la guanine (G) sont de la famille des purines.



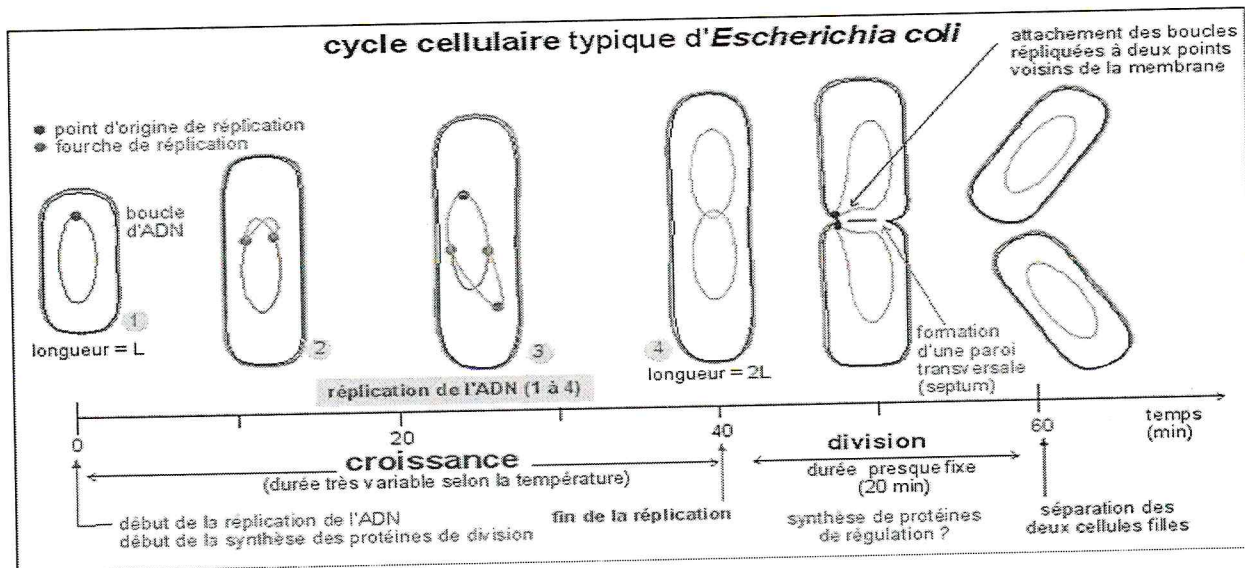
II.1.2 L'ARN: acide ribonucléique:

Est un polymère linéaire comprenant 04 types de nucléotides où le sucre est un ribose et l'uracile U remplace la thymine.

II.2. Réplication de l'ADN:

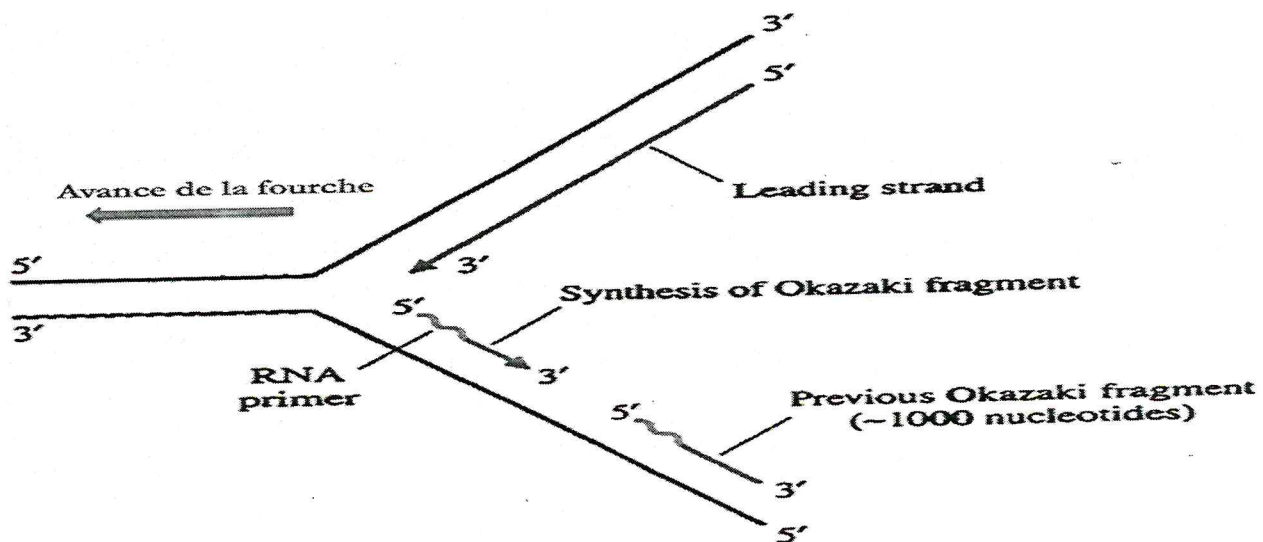
La synthèse de l'ADN ou réplication est un processus semi-conservatif

Avant la division de la cellule, les deux chaînes de l'ADN se séparent et chacune sert de matrice pour la synthèse de la chaîne complémentaire (ADN néoformé).



La réplication est catalysée par un complexe multienzymatique appelé réplicase de l'ADN.

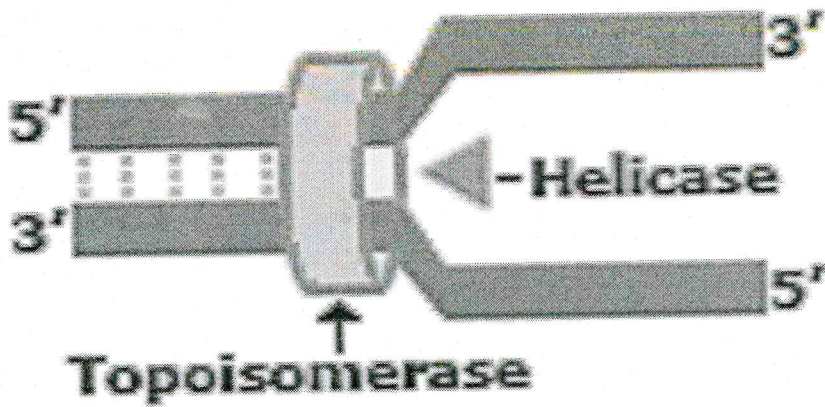
Sur un brin la synthèse se fait directement en copiant la matrice et sur l'autre brin la synthèse se fait par petits fragments d'ADN appelés fragments d'Okazaki



Les enzymes de réplication: On distingue:

1/ Les topoisomérases et les hélicases :

- topoisomérase (ex. ADN gyrase) : enzyme qui catalyse l'introduction ou l'enlèvement des surenroulements dans l'ADN
- Les hélicases séparent progressivement les deux brins d'ADN par rupture des liaisons hydrogènes.



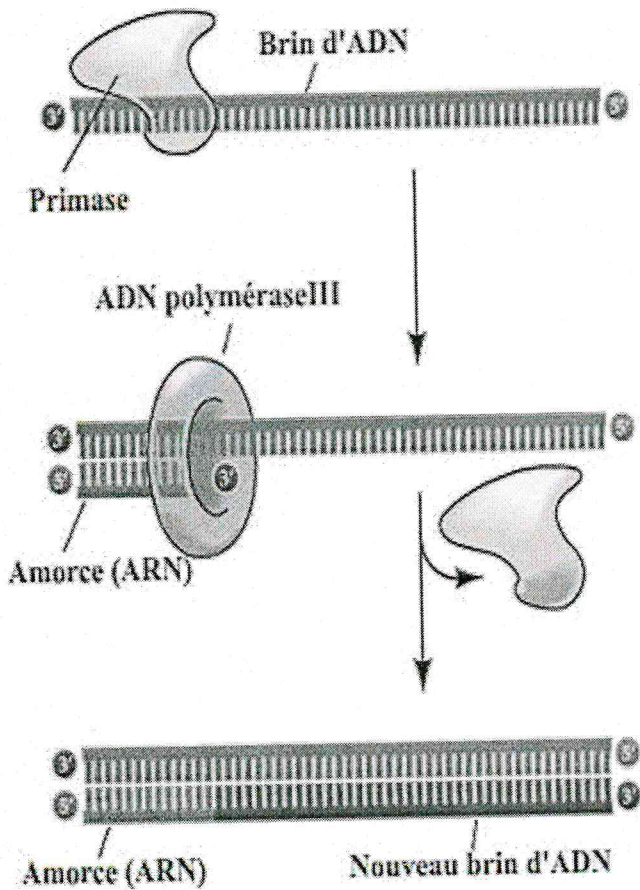
2/ la primase:

C'est une ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise des amorces d'une dizaine de nucléotides.

3/ ADN Polymérase:

- ADN pol III: enzyme de la réplication qui poursuit la synthèse de l'ADN sur l'amorce.
- ADN pol II: activité surtout de réparation
- ADN pol I: hydrolyse l'amorce et les remplace par de l'ADN.

Toutes les ADN polymérase possèdent une activité de correction: activité exonucleasique 3' -> 5'



5/ les ADN ligases: ce sont des enzymes qui assurent la liaison des fragments d'Okazaki

III. Les variations génétiques

III.1. Les Mutations :

a. Définition:

-Une mutation est définie comme une modification brutale héréditaire dans les séquences nucléotidiques d'un ADN => changement permanent. La bactérie parentale non mutante est dite sauvage.

b. Mécanismes moléculaires des mutations:

- Par suppression de toute une séquence (délétion)
- par l'insertion d'une séquence étrangère (macro-insertion)
- Par le remplacement d'un nucléotide par un autre (Mutation ponctuelle):

On parle de **transition**: lorsqu'une base purique est remplacée par une autre base purique, ou une pyrimidique par une autre pyrimidique.

On parle de **transversion** : lorsqu'une base purique est remplacée par une base pyrimidique et vice versa

Les mutations par insertion ou délétion sont, rarement silencieuses, car elles provoquent un déphasage du cadre de lecture, elles s'accompagnent toujours d'une mutation du gène.

Certains sites sont plus fréquemment affectés par des mutations et sont appelés points chauds ou hot spots

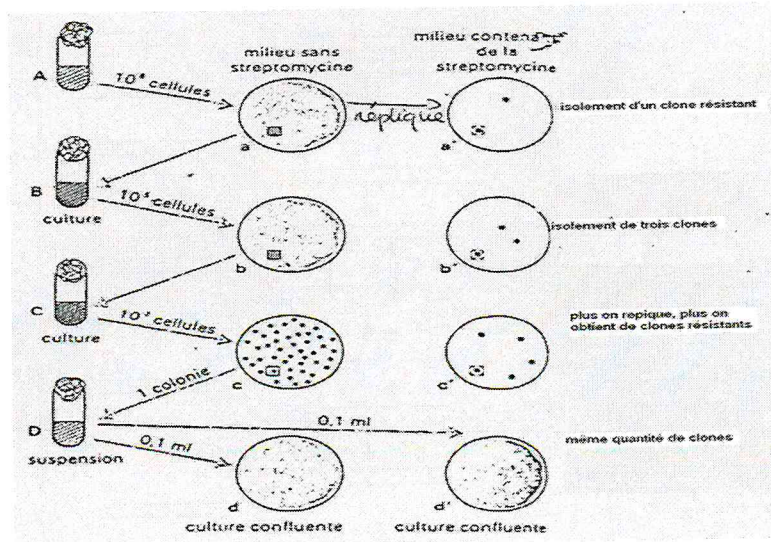
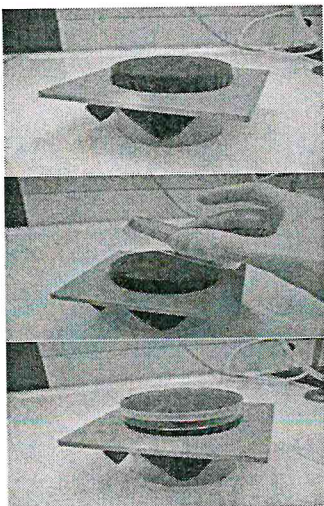
Les mutations affectant des gènes indispensables à la vie bactérienne sont appelées mutations **létales**.

c. Caractéristiques des mutations:

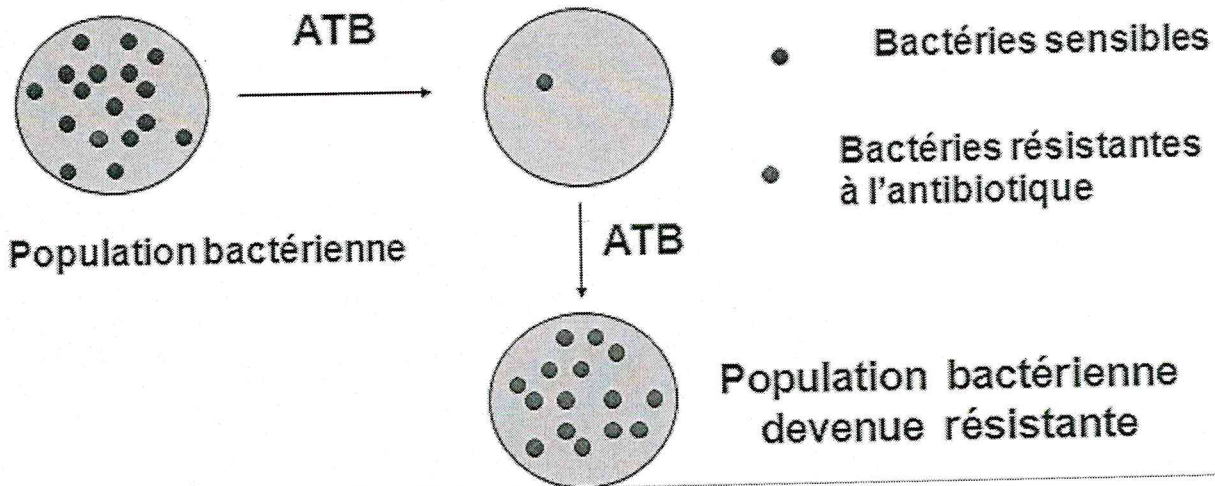
1/Rares: la probabilité d'avoir un mutant pour un caractère donné est de 10^{-6} à 10^{-8}

2/ Spontanées: La bactérie mutante pré-existe au sein de la population avant même tout contact avec l'agent sélectif: elles sont sélectionnées non induite

Expérience de Lederberg



- La technique de réplique sur velours a été mise au point en 1952 par Esther et Joshua Lederberg. Elle permet de démontrer que les mutations spontanées sont aléatoires et existent avant même la sélection sur le milieu de culture. Au fur et à mesure des repiquages, le nombre de mutants augmente malgré le fait que l'on récupère les clones sur des populations qui sont soumises à des pressions de sélections.
- Donc dans la suspension initiale il y avait des mutants => donc l'apparition des mutations est spontanée.



3 - Stabilité : transmissible à la descendance

III.2. Transferts génétiques :

Définition:

- Est un transfert d'ADN en sens unique, à partir d'une bactérie donatrice à une autre, réceptrice;
- L'exogénote = matériel génétique transféré
- L'endogénote = matériel génétique propre

3 modalités: Transformation, conjugaison et transduction

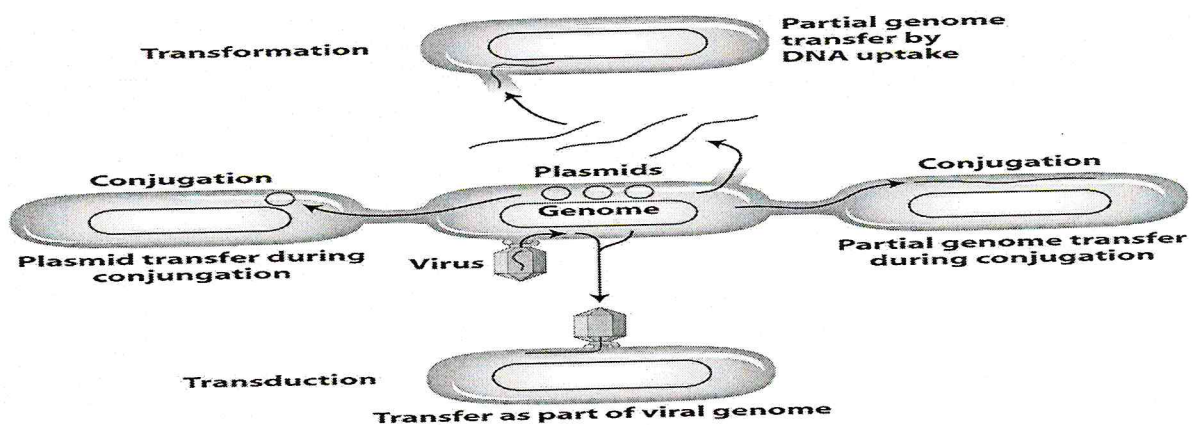
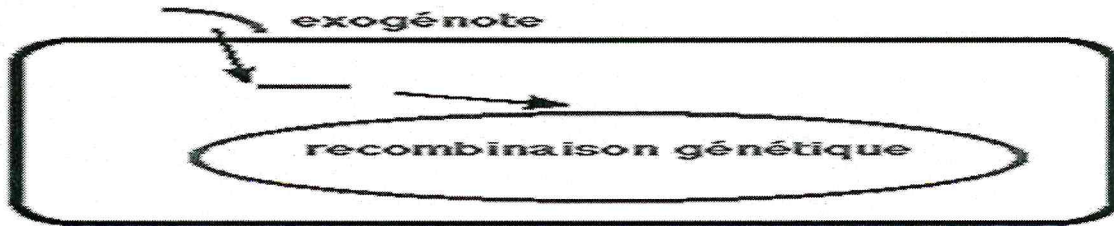


Figure 5-2
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

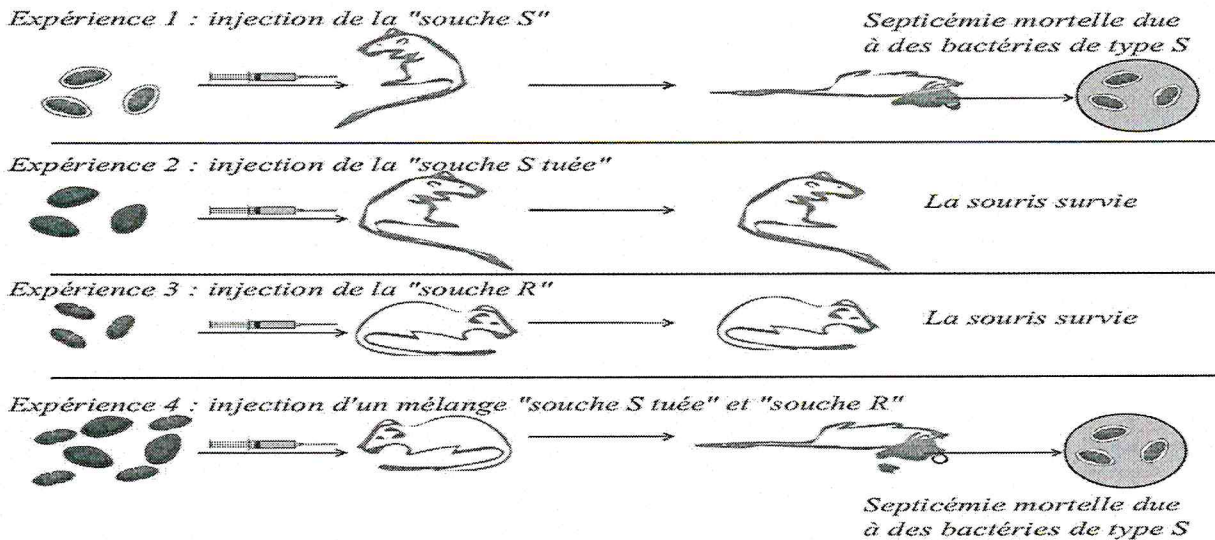
III.2.1/ La Transformation :

- **Définition** : transfert génétique au cours duquel un fragment d'ADN bicaténaire, libre, nu et en solution est capté par une bactérie réceptrice compétente avant d'être éventuellement intégré au chromosome.
- Ces transferts d'acide désoxyribonucléique (ADN) bactérien **doivent être suivis de recombinaison génétique** dite **légitime** (s'il provient d'une même espèce ou d'une espèce voisine) avec acquisition de nouveaux caractères génétiques stables, donc transmissibles à la descendance dénommés recombinants ou transformants.



L'expérience de Griffith

Souche S : souche de *Streptococcus pneumoniae* capsulée.
 Souche R : souche de *Streptococcus pneumoniae* non capsulée.



Conditions nécessaires à la transformation : la transformation dépend :

- d'une part des bactéries et de leur aptitude à être réceptrices pour l'ADN : notion de compétence
- d'autre part de l'ADN transformant et de ses propriétés

1. développement de la compétence de la cellule réceptrice :

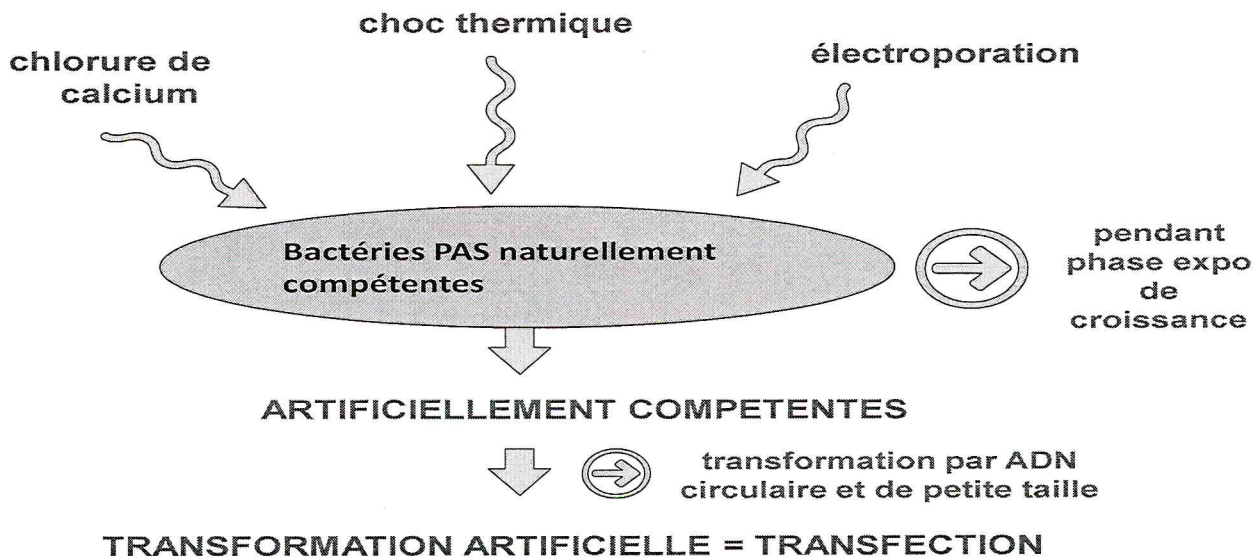
L'ADN ne peut pénétrer que dans des cellules dites **compétentes**.

1.1. La compétence naturelle :

Bactéries naturellement compétentes : *Bacillus subtilis*, *streptococcus* spp, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* spp

Elles ont la capacité de capturer l'ADN libre présent dans l'environnement

1.2. La compétence artificielle



Les caractéristiques de la transformation :

1. **Phénomène spontanée dans la nature :** phénomène rare, fréquence 10^{-3} à 10^{-6}
2. **Phénomène naturel restreint aux cellules naturellement transformables**
3. **Phénomène restreint aux cellules de même espèce ou d'espèce voisine**

L'ADN transformant et l'ADN de la bactérie réceptrice doivent être similaires et la transformation n'est possible qu'entre bactéries d'une même espèce ou d'espèces voisines.

4. **Phénomène qui concerne différents caractères :** forme capsulée devenant non capsulée et réciproquement,

Résistance et sensibilité à un antibiotique, exigence et « indépendance » vis à vis d'un métabolite, caractères morphologiques, de mobilité etc

III.2.2/ La Conjugaison:

Définition: Processus sexuel strict qui nécessite un **contact préalable** et un appariement entre bactéries de sexe différent avec la formation d'un pont cytoplasmique permettant les échanges bactériens dont celui du chromosome.

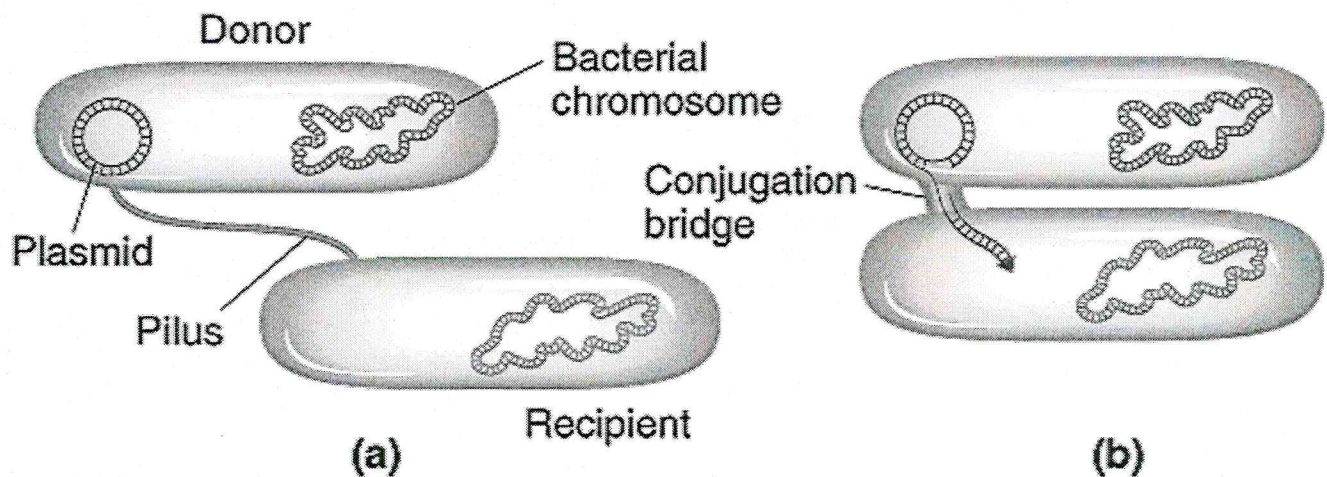
Le **facteur de sexualité ou de fertilité (F)** permet la synthèse de **pilis sexuels** chez la bactérie donatrice ou mâle (qui possède le facteur $F = F^+$) qui vont se fixer à des récepteurs spécifiques sur la surface d'un récepteur de la cellule réceptrice (F^- , le «féminin»);

Le Facteur/Plasmide F : est le premier plasmide à être découvert : Est un "mini-chromosome" d'ADN circulaire (environ 100 kb) qui possède 4 propriétés principales.

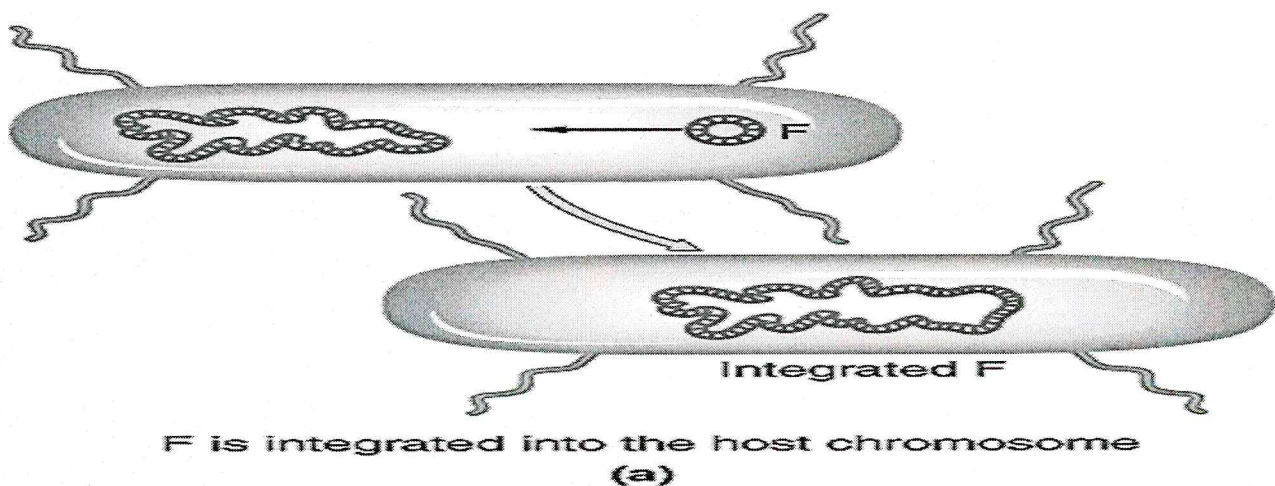
1. Produit des pili

-Permettent l'attachement à d'autres cellules bactériennes (tubes d'attachement)

-Permet le transfert de son ADN à d'autres cellules bactériennes



3 – Le facteur F peut s'intégrer dans le chromosome des bactéries par Recombinaison: aussi appelé épisome. Une partie des bactéries auront le facteur F intégré dans leurs chromosomes: elles sont appelées: **Lignées Hfr** (haute fréquence de recombinaison).



Expérience de Lederberg et Tatum : Transfert entre souches A et B :

J. LEDERBERG et E. TATUM en 1946 mélangèrent dans un milieu liquide, 2 mutants polyauxotrophes d'*E. coli* K12: 10^8 T-L-M+B+ et 10^8 T+L+M-B- (exigence en thréonine, T- ; leucine, L- ; méthionine, M- et biotine B-). Après plusieurs heures de contact, l'étalement de 10^8 bactéries sur un milieu synthétique sans T, L, M et B est suivi, après incubation, de la croissance d'une centaine de colonies à la surface du milieu. Ces clones ainsi que leur descendance sont T+ L+ M+ B+. Il ne pouvait s'agir de mutants doublement réverses (probabilité de l'ordre de 10^{-14}) mais de recombinants.

Preuve de transfert

-souche A = met-, bio-, thr+, leu+, thi+

-souche B = met+, bio+, thr-, leu-, thi-

1) souche A sur milieu minimal = pas de colonies

2) souche B sur milieu minimal = pas de colonies

3) souches A et B sur milieu minimal = colonies → Les souches A et B sont capables de se compléter.

Expérience de Lederberg et tatum

Thréonine
Leucine
Biotine
Méthionine
Thiamine

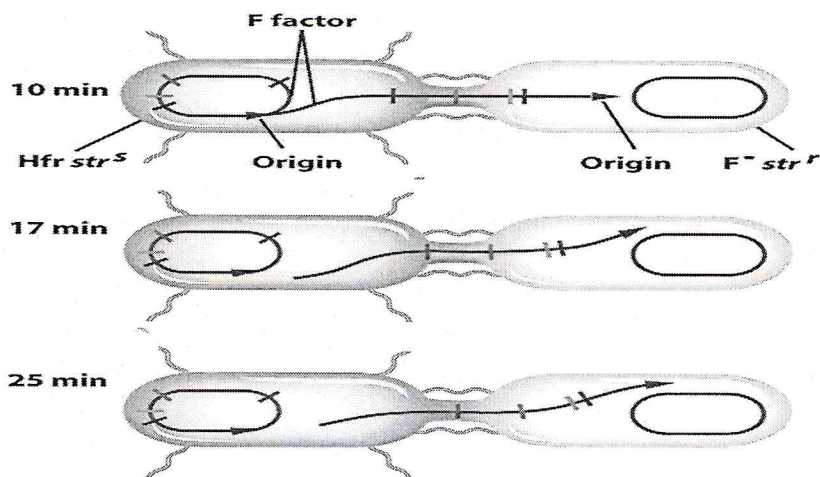
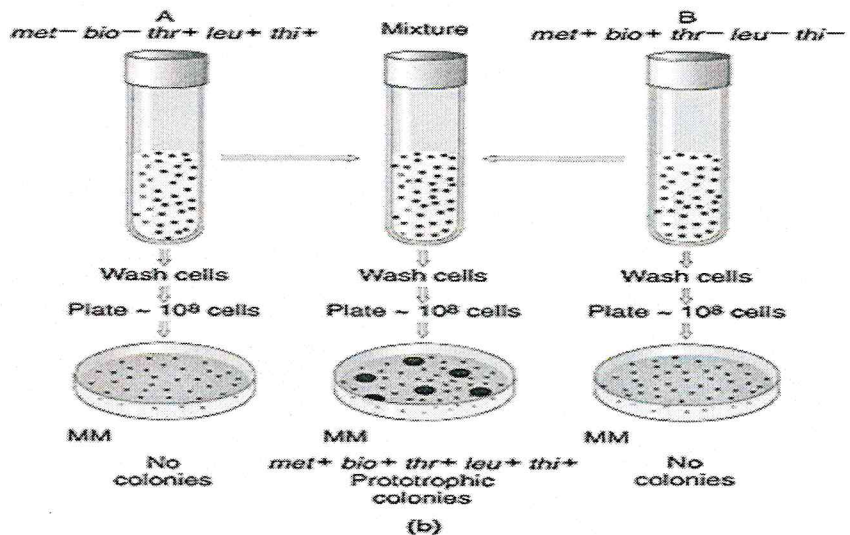


Figure 5-12b
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

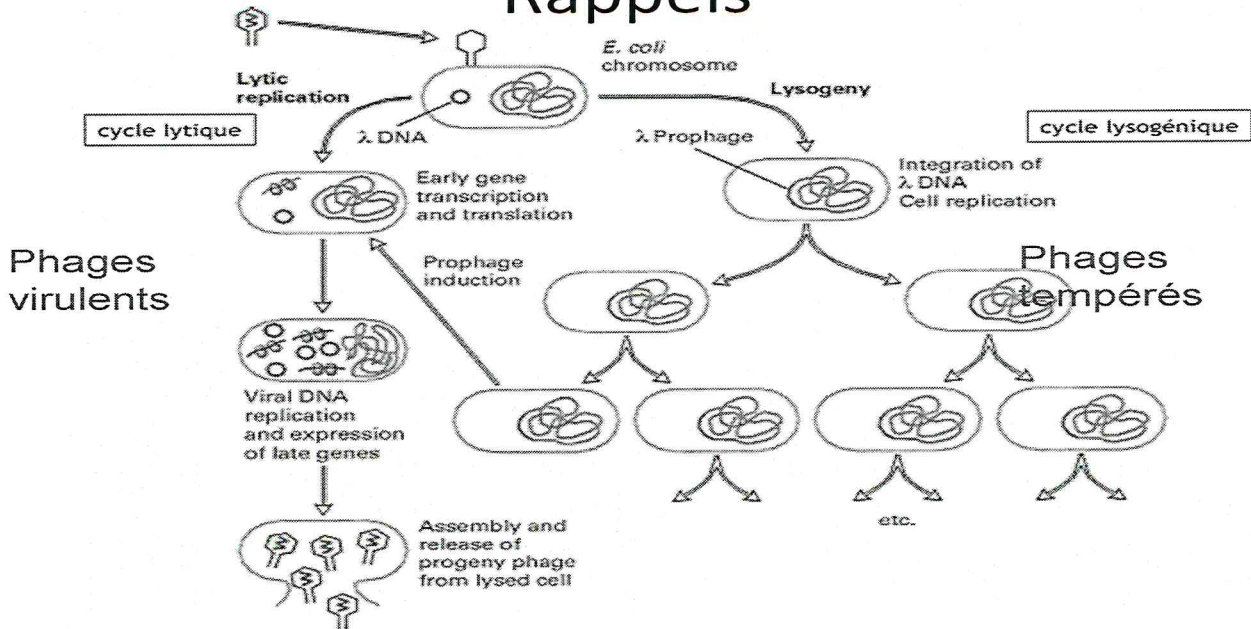
- Plus la conjugaison dure longtemps, plus l'ADN bactérien est transféré
- Environ 100 minutes sont nécessaires pour transférer tout le chromosome bactérien

III.2.3 Transduction et Bactériophages :

Définition: transfert génétique d'un fragment d'ADN chromosomique ou extrachromosomique d'une bactérie à une autre effectué par des bactériophages dits transducteurs

Un bactériophage (ou phage) est un virus n'infectant que des bactéries : Se réplique dans la bactérie ; utilise la « machinerie cellulaire », Peut lyser la bactérie.

Rappels



La transduction résulte d'un **erreur d'encapsidation** : Lors de l'assemblage des virions un fragment de génome bactérien est encapsidé à la place de l'ADN viral. Le phage devient **transducteur**, il est libéré lors de la lyse de la bactérie et pourra injecter de l'ADN bactérien dans une autre bactérie.

Selon les bactériophages, la transduction est un phénomène :

Généralisé : n'importe quel gène bactérien est susceptible d'être transféré à une bactérie réceptrice

Spécialisé: restreint, localisé : le transfert ne concerne que quelques gènes bactériens dont la nature est variable selon le bactériophage

Caractéristiques et applications de la transduction généralisée :

Les deux bactéries donatrice et réceptrice doivent appartenir à la même espèce en raison de la spécificité d'infection du phage.

La quantité d'ADN bactérien encapsidé dépend principalement de la taille de la capsid

Le plus souvent la transduction ne concerne qu'un seul gène

Les Plasmides :

ADN à double brin, circulaire, cytoplasmique douées de réplication autonome et de taille variable. Ils sont médiateurs de nombreuses propriétés permettant une meilleure adaptation des bactéries, bien que non indispensables au métabolisme normal de la cellule-hôte

Réplication des plasmides

- Ils se répliquent de façon **autonomes**, par rapport au génome bactérien, c.-à-d. pas forcément en même temps.
- Le nombre de copies d'un plasmide est régulé par des gènes qui sont portés par le plasmide lui-même.

- Quand il y a 2 – 3 copies du plasmide, on dit qu'il y a peu d'exemplaires, il y en a beaucoup quand il y en a environ une centaine dans la même cellule.
- Certains plasmides ne peuvent pas coexister au sein d'une même cellule, ils appartiennent au même groupe « **d'incompatibilité** ».

Transfert de plasmides = la Conjugaison : On distingue:

-Les plasmides conjugatifs: sont autotransférables grâce à des protéines qui sont codées par les gènes de la région Tra.

-Les Plasmides non conjugatifs « mobilisables »: ne possèdent pas les gènes pour leur transfert, c.-à-d. qu'ils vont profiter des protéines des plasmides conjugatifs, pour être transférés

Fonction des plasmides: La présence des plasmides permet l'acquisition par la bactérie de caractères phénotypiques majeurs :

- Résistance acquise aux antibiotiques (90% des cas de résistance observée).
- Résistance aux métaux lourds (composés mercuriels, bismuth, de plomb.....etc).
- Production de substances pathogènes :

Exemple : *E.coli* entéro-pathogènes, entérotoxiques, entéroinvasifs

Exemple : *Vibrio cholerae*: entérotoxines

- Acquisition de caractères métabolique : hémolysine, fibrinolysine des staphylocoques.
- Les plasmides sans fonction connue sont dits **cryptiques**.