

Chapitre VIII : La génétique bactérienne et virale

Introduction

Les bactéries sont des organismes procaryotes unicellulaires. Elles ont une organisation simple avec une membrane plasmique, la plupart contiennent une molécule unique d'ADN circulaire double brin (quelques-unes en ont plus) et pas de noyau. Les bactéries contiennent de petites molécules additionnelles d'ADN qui peuvent être soit des structures indépendantes, les **plasmides** (capables de s'auto-répliquer indépendamment du chromosome bactérien). Les **plasmides** portent des gènes qui pourraient conférer des propriétés utiles aux bactéries. Il y a de nombreux plasmides différents : les **plasmides de résistance (R)**, les **plasmides de fertilité (F)**, **plasmides de dégradation, de virulence...**etc. Une même bactérie peut contenir plusieurs types de plasmides.

Les bactéries dont **la croissance ne dépend pas** de la présence d'une substance nutritive donnée dans le milieu de culture, elles sont dites : **prototrophes** car elles sont **capables de synthétiser** leurs besoins nutritionnelles. Ex : souche de génotype (met^+ ; bio^+). Alors que les bactéries dont **la croissance dépend** de la présence éléments nutritifs dans le milieu de culture sont dites : **auxotrophes**, car elles sont **incapables de les synthétiser**. Ex : souche de génotype (met^- ; bio^-).

Les bactéries peuvent être résistantes /sensibles à un antibiotique (Amp^R ou Amp^S) ou un **bactériophage (phage ou virus type bactérien)**. ex. *E-colie* : $P1^R$ ou $P1^S$ (type d'un phage).

La génétique bactérienne se fonde sur trois phénomènes ou mécanismes naturels permettant, chez les bactéries d'échange de matériels génétiques (l'entrée d'ADN exogène venant compléter ou remplacer localement l'information génétique endogène). Ces mécanismes sont :

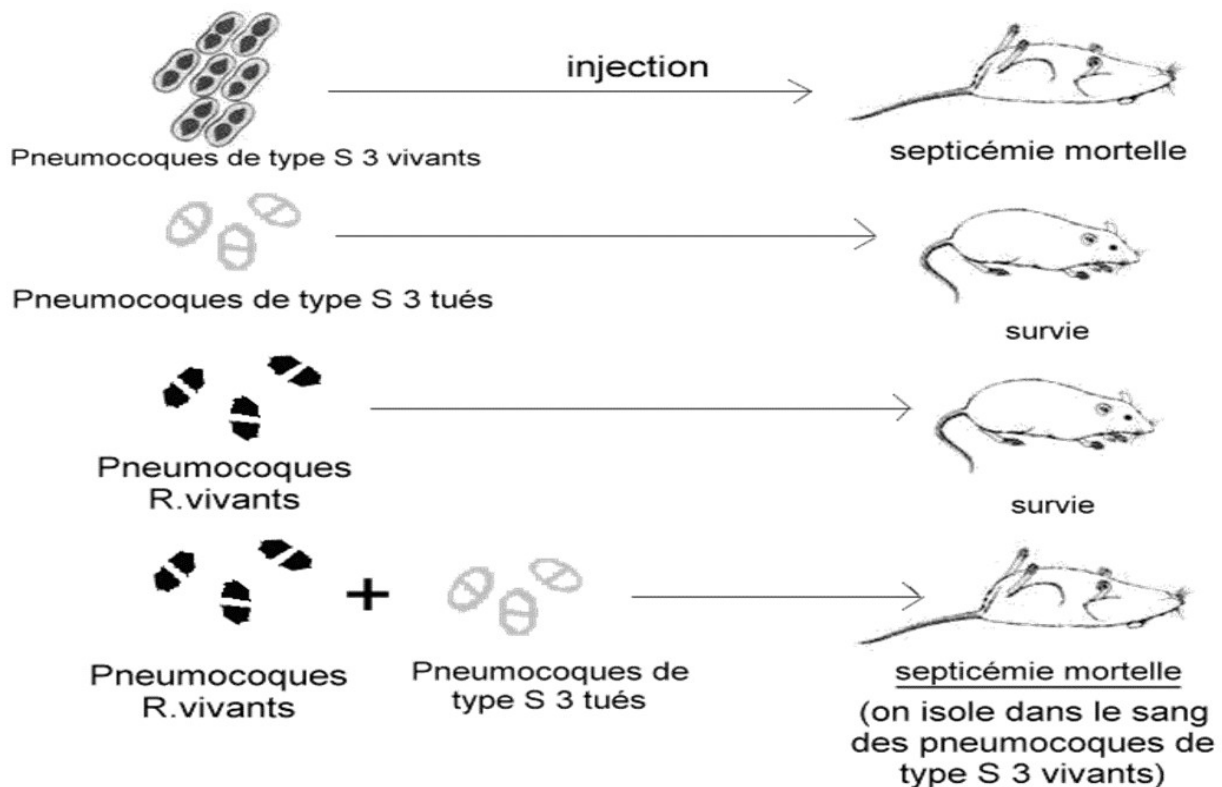
- La transformation
- La conjugaison
- La transduction

Dans tous les cas, l'ADN est transmis de manière **unidirectionnelle** d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice et seul diffère le mécanisme de transfert. Ainsi, le processus de transfert génétique est immédiatement suivi par la **recombinaison** de l'ADN de la bactérie réceptrice, consécutive à l'intégration de l'ADN exogène (ADN de la bactérie donatrice) à l'ADN de la

bactérie réceptrice par un processus de **double crossing over (ou enjambement)**. L'ADN issu est un **ADN recombinant**, différent de l'ADN d'origine de la bactérie réceptrice

1. La transformation

La transformation bactérienne a été observée par GRIFFITH en 1928 chez les *Streptococcus pneumoniae*.



La transformation c'est l'incorporation d'un fragment d'ADN nu d'une bactérie donatrice dans une bactérie réceptrice. Cette dernière (la bactérie réceptrice) est une cellule **compétente** possédant la capacité à laisser entrer de l'**ADN exogène** (dit **exogénote**) qui est susceptible de venir transformer le **génomme endogène** (on dit **endogénote**). L'ADN exogène est dissous dans le milieu à l'état libre (nu), il provient de la lyse du matériel génétique des bactéries mortes. Les bactéries réceptrices doivent porter des protéines de surface qui se lient à l'ADN exogène et le font pénétrer dans les cellules.

Dans la transformation, l'ADN est transféré d'une bactérie à une autre **sans contact ni vecteur** entre elles. Et seules les bactéries de la même espèce semblent s'échanger naturellement des gènes par le mécanisme de transformation.

2. La conjugaison

La conjugaison est le transfert d'ADN (d'origine plasmidique ou chromosomique) d'une bactérie donatrice « **mâle** » à une bactérie réceptrice « **femelle** » par **contact physiologique direct (pont de conjugaison)** et **transitoire** entre les deux bactéries. Le matériel génétique de la bactérie femelle est alors immédiatement recombinaison par l'intégration de l'ADN exogène transféré.

Il existe chez les bactéries un grand nombre de **plasmides conjuguants**, codant pour diverses fonctions : résistance aux antibiotiques, fertilité, production de toxines..., capables de se transmettre par le mécanisme de la conjugaison. Ces plasmides présents chez les bactéries mâles, sont en principe absents chez les bactéries femelles. Leur transfert confère à la bactérie réceptrice des propriétés nouvelles, spécifiquement codées par les gènes des plasmides transférés.

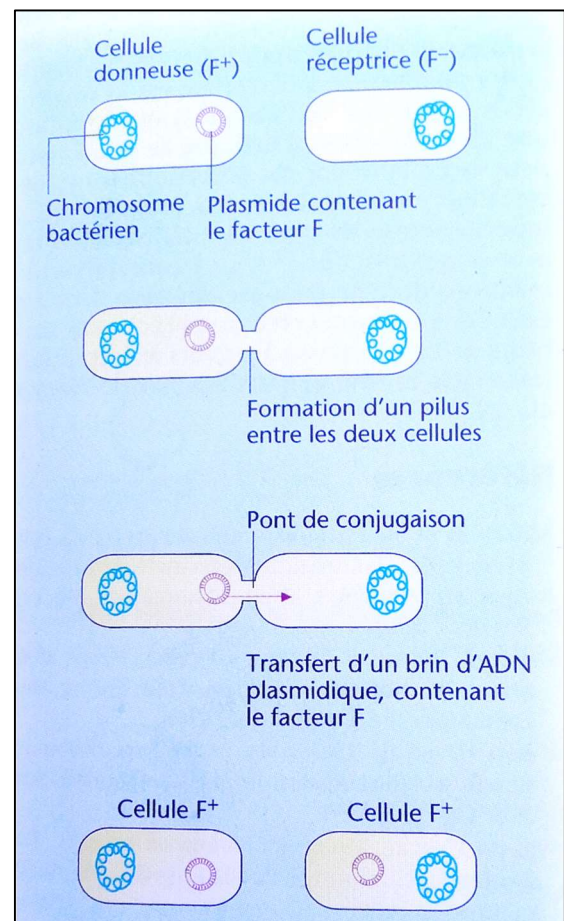
Le **facteur F (facteur sexuel ou facteur de fertilité)** est un plasmide conjuguant (**plasmide F**) présent chez certaines souches d'*E.coli* et possédant des gènes fonctionnels codant pour le processus de conjugaison et pour les structures pariétales d'appariement (**pili F**). Ces pili facilitent le contact inter-cellulaire par la formation du pont de conjugaison.

Le plasmide F peut exister dans la cellule bactérienne dans un état autonome dans ce cas-là les bactéries qui le possèdent sont dites « **mâles** » ou **F⁺** (ce sont les souches donatrices), alors que celles qui sont en dépourvues sont des **femelles** ou **F⁻** (ce sont les bactéries réceptrices). Cependant, si le facteur F est intégré au chromosome bactérien, la bactérie est dite **Hfr** (Haute fréquence de recombinaison). Ces bactéries Hfr ont une fréquence de transfert d'ADN, et donc d'apparition des recombinants, 1000 fois supérieure à celles des cellules F⁺.

On appelle **épisode** les plasmides qui peuvent s'intégrer dans un chromosome.

Conjugaison F⁺ x F⁻ :

Quand les cellules F⁺ et F⁻ sont mélangées, la conjugaison a lieu en formant des paires conjugales par attachement du pilus sexuel mâle (F⁺) à la surface de la cellule F⁻. **Seul le facteur F est transféré** à



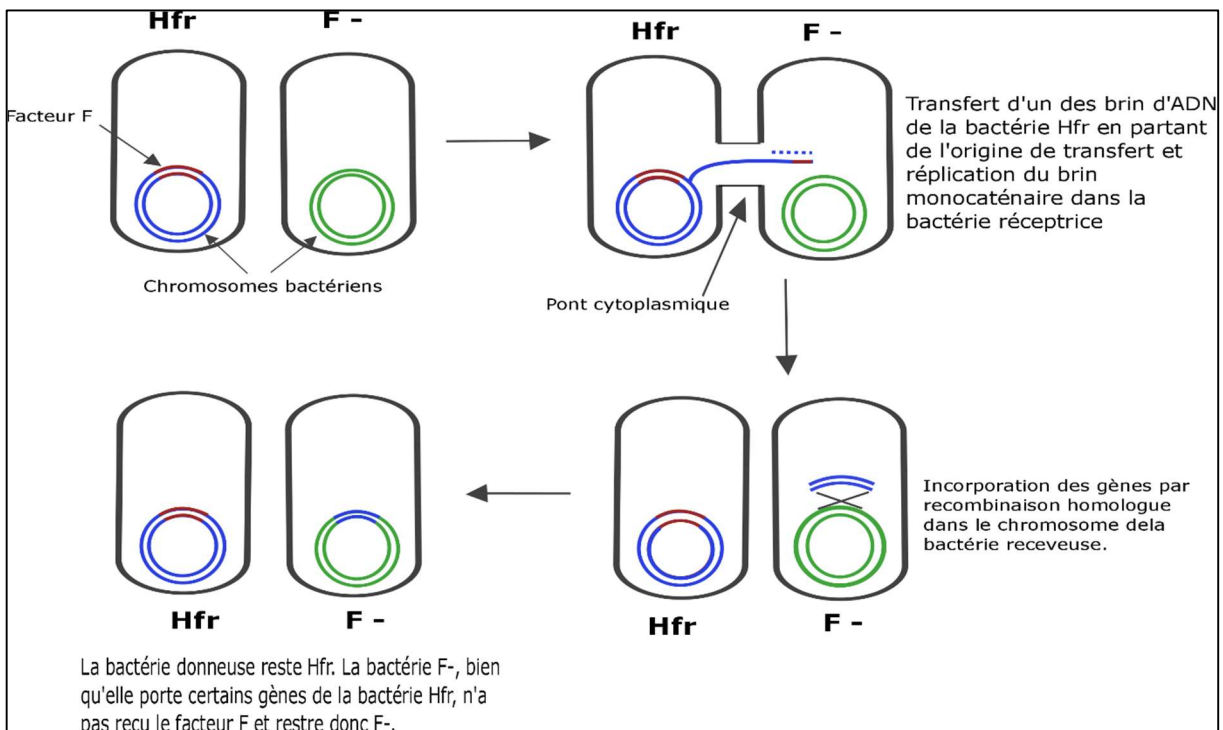
travers les pili. Le transfert commence avec l'ouverture d'un des brins de la double hélice d'ADN. Un brin est transféré à la cellule F- ou il est répliqué et devenu double brin. La cellule F- devient donc F+. De même, le brin restant dans la cellule donatrice (F+) est répliqué simultanément (la cellule F+ reste F+ puisque elle conserve une copie de son plasmide F).

Conjugaison Hfr x F- :

La conjugaison entre les cellules Hfr et F- se déroule de la même façon que la conjugaison entre F+ et F-. Un des deux brins du chromosome est transféré à la cellule F-, mais comme **le facteur F est intégré dans le chromosome du Hfr, il entraîne les gènes qui lui sont adjacents**. Si la conjugaison se prolonge suffisamment longtemps, la totalité du brin sera transféré chez la cellule F- qui aura donc reçu une copie de tous les gènes de la cellule Hfr.

Cependant, il faut que la conjugaison dure au moins 100 minutes pour que le brin chromosomique soit entraîné entièrement dans la cellule réceptrice.

En présence d'un excès de cellules F-, toutes les cellules Hfr se conjuguent mais les cellules recombinantes ne reçoivent presque jamais le facteur F et restent donc F-. Cette situation s'explique par le fait que, lors du transfert chromosomique la rupture du brin d'ADN se localise au point d'attache du facteur F dans le chromosome, le facteur F est le dernier à être transféré.



Le transfert des gènes des chromosomes Hfr dans les cellules F- s'effectuent dans un ordre fixe. Et cet ordre peut être cartographié par la technique de **la conjugaison interrompue**.

Principe de la conjugaison interrompue

- 1- On mélange dans un milieu de conjugaison (milieu de culture) les Hfr et F- (1Hfr pour 20 F-) et on incube dans 37°C.
- 2- à intervalle de temps régulier (5 min), on prélève un échantillon de ce mélange (Hfr x F-) et on agite pour interrompre la conjugaison (agitation casse les ponts cytoplasmiques)
- 3- on étale sur une boîte de pétrie contenant un milieu sélectif pour cet échantillon et on incube à 37°C.
- 4- Après l'incubation, on dénombre les colonies F- recombinées pour 1.2.3 gènes dans les 3 milieux sélectifs différents.
- 5- Ces 3 milieux sélectifs doivent contenir un facteur (**substance**) appelé contre sélectif (soit un antibiotique ou un phage) cette substance permet d'éliminer les parents **Hfr**, ainsi que les parents de F- sont éliminés également, car ils sont de génotypes mutés (**auxotrophe**).

Application numérique :

Génotype de Hfr: Thr⁺bio⁺trp⁺stp^S

Génotype de F- : Thr⁻ bio⁻trp⁻stp^R

Après une conjugaison interrompue, le pourcentage de F- recombinés sont :

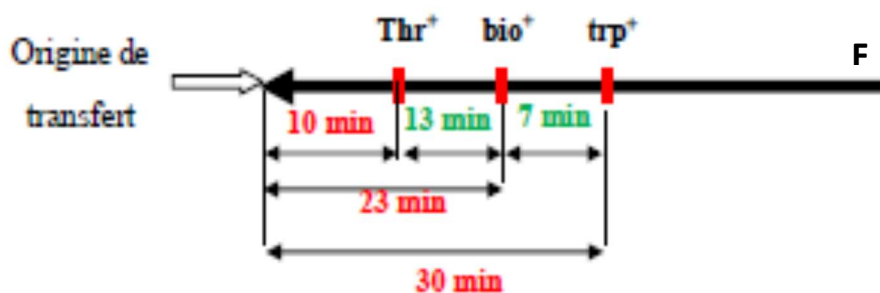
10 min = 43% Thr⁺

23 min = 30% bio⁺

30 min = 15% trp⁺

Carte génétique

Carte génétique de 3 gènes chez *E-coli* après une conjugaison interrompue



3. La transduction

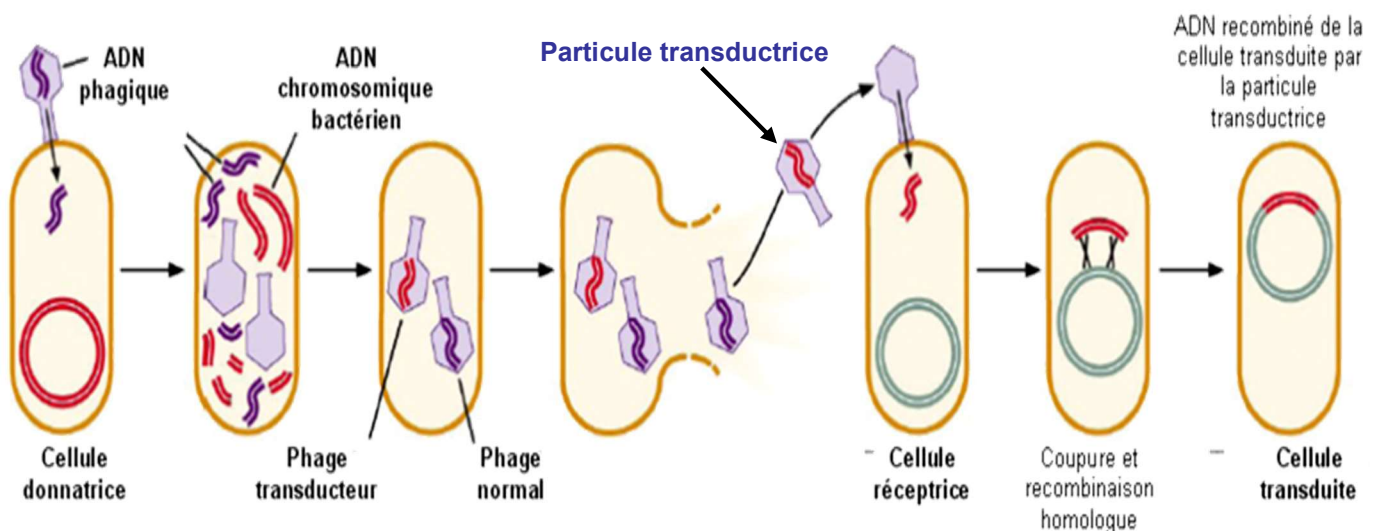
La transduction est le transfert d'un petit segment d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice, **sans contact** et **par l'intermédiaire d'un bactériophage** jouant le rôle de vecteur.

Les virus qui parasitent spécifiquement les bactéries sont appelés **bactériophages** (ou **phages**).

Il existe deux types de bactériophage :

- Phage **virulent**, ou « **lytique** » : car il réplique son génome dans la bactérie et provoque la lyse en fin de cycle, libérant les nouveaux virions. Ex : T4, T2, ...etc.
- Phage **tempéré** : car il intègre son génome dans le génome bactérien sous forme de prophage, et il se réplique avec lui de manière synchrone (en même temps). Une bactérie infectée par un tel phage appelée **bactérie lysogène** et l'infection ne conduit pas forcément à une lyse bactérienne. Ex : phage λ , Mu, P1, ...etc.

L'infection de la bactérie par un bactériophage conduit à une fragmentation du génome bactérien par l'ADN-ase virale, ces fragments d'ADN sont assemblés dans la capsid phagique. Ils remplacent alors le génome viral et forment ainsi des **particules transductrices**. Ces dernières (les particules transductrices) conservent la capacité à infecter des bactéries en raison de la présence des protéines de la capsid du phage, mais comme elles portent seulement de l'ADN bactérien, elles agissent simplement comme un véhicule pour transférer de l'ADN entre les bactéries. Ils sont capables donc, en infectant des bactéries réceptrices, de leur transférer des segments d'ADN qui peut alors s'intégrer au génome de la bactérie réceptrice.



Références

- AMEUR AMEUR Abdelkader (2015). Génétique générale. Editions Al-Djazair
- BOUSSEBOUA Hacène. (2003). Cours de Microbiologie générale, chapitre 5 : génétique bactérienne. Imprimerie de l'université Mentouri Constantine, Algérie.
- Jean-Louis SERRE. (2001). Génétique : Rappels de cours, exercices et problèmes corrigés. DUNOD, Paris.
- EBERHARD PASSARGE. (2008). Atlas de poche de génétique. 3^{ème} édition. Médecine-science, Flammarion.
- P.C Winter, G.I. Hickey & H.L. Fletcher. (2006). L'essentiel en génétique. BERTI éditions, Paris.
- Robert MILLER (1998). Echanges de gènes entre bactéries. Pour la Science N° 245.