

Trois domaines de la vie



BACTÉRIE

Bactérie hétérotrophe
Cyanobactérie (algue bleue ou bleue vert)

ARCHEOBACTÉRIE

Halophiles
Thermophiles

EUCARYOTE

Flagellés
Protistes basaux
Animaux
Plantes
Champignons
Chromistes
Alvéolés
Algues rouges

EUCARYOTES
Cellules
Organismes multicellulaires

Plantes



Algues
microscopiques

Animaux (Protozoaires)

Fungi



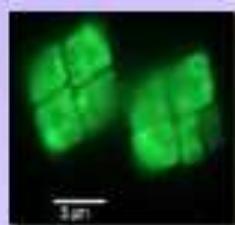
Multicellulaire
(Moisissures)

Amibe



Plasmodium Toxoplasme

BACTERIES
cellules



Cellules de Walsby (carrées)



Filaments, Colonies (cyanobactéries)

bacilles



coques



vibrions



spirochètes



PROKARYOTES

Partie 1: Les bactéries

Chapitre I: Le génome bactérien

Introduction

- Chez les organismes procaryotes, le matériel génétique principale est constitué par une seule structure bicatenaire d'ADN appelée **chromosome** ou **génophore** : cette structure est située dans une zone de la cellule appelée **région nucléaire** ou **nucléoïde**. Le chromosome est circulaire
- La taille du génome est différente pour les diverses espèces bactériennes.

1. Structure du génome bactérien

1.1. le chromosome bactérien.

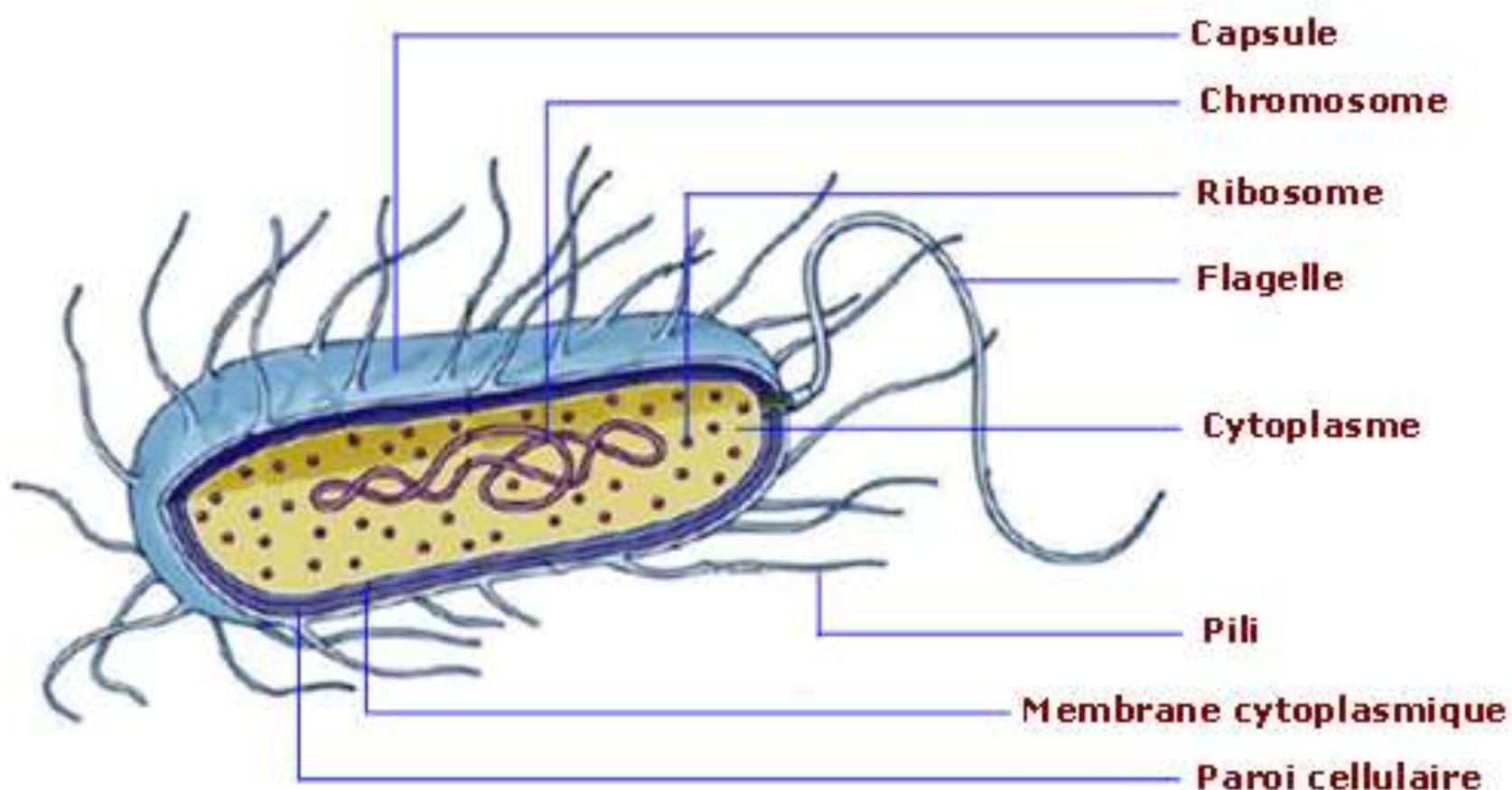


Figure 1 : Structure d'une cellule procaryote (bactérie)

- **Un chromosome circulaire**

- 0,5 à 10 Mb
- 470 à > 1000 gènes
- Densité codante: 80 à 95% (2% chez l'homme)

- **Exceptions:**

- **Chromosomes linéaires**

- *Borrelia burgdorfei* 0,91 Mb
- *Rickettsia typhi* 1,11 Mb
- *Desulfotaleapsy chrophila* 3,52 Mb
- *Streptomyces coelicolor* 8,67 Mb

- **Plusieurs chromosomes**

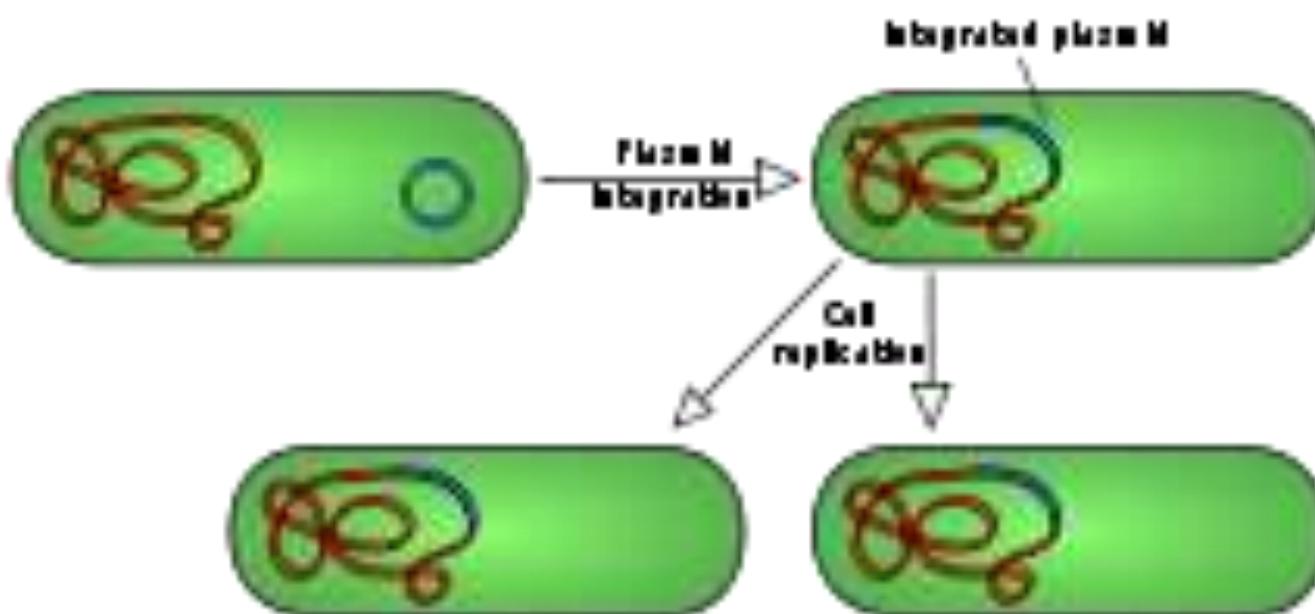
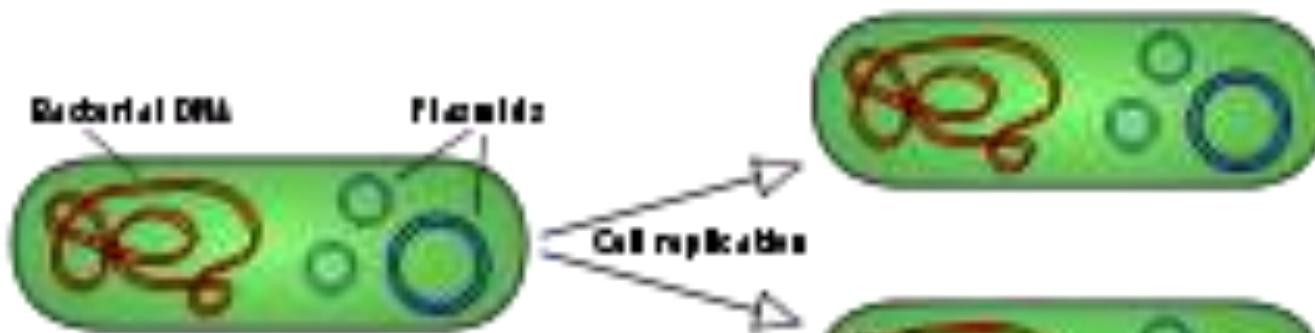
- *Ralstonia solanacearum* 3,72 et 2,09 Mb
- *Agrobacterium tumefaciens* 2,84 et 2,07 Mb
- *Vibrio cholerae* 2,96 et 1,07 Mb
- *Brucella melitensis* 2,12 et 1,18 Mb
- *Deinococcus radiodurans* 2,65 et 0,41 Mb.

1.2. les éléments génétiques mobiles.

1.2.1. Les plasmides

Caractéristiques générales

- Molécules d'ADN circulaire
- Extra-chromosomiques
- Réplication autonome
- Transmis de façon stable au cours des divisions cellulaires
- Non indispensables à la bactérie-hôte
- Confèrent à la bactérie-hôte une grande souplesse génétique
- Présents chez la plupart des espèces bactériennes
- Très différents les uns des autres
- Taille variable entre 1 à 400kb



Mise en évidence

Le terme de plasmide a été créé en 1952 par Lederberg pour désigner tout élément génétique cytoplasmique, comme les plasmides F (facteur F), les plasmides R Les plasmides de résistance aux antibiotiques ont été découverts en 1956 au Japon à l'occasion d'une épidémie de dysenterie bacillaire (*Shigella dysenteriae*) à bacilles résistants.

Propriétés biologiques portées par les plasmides

- Les gènes portés par les plasmides peuvent coder pour la synthèse de protéines qui confèrent des propriétés biologiques diverses : résistance aux antibiotiques (bêta-lactamines, aminosides, phénicols, cyclines, macrolides) chez les bactéries à Gram positif ou négatif ; résistance aux antiseptiques mercuriels, aux métaux lourds (antimoine, argent, bismuth...) ; résistance aux bactériophages. Les plasmides permettent ainsi aux bactéries de s'adapter à un environnement hostile.
- La virulence des bactéries peut aussi être à médiation plasmique : pouvoir pathogène des colibacilles entéropathogènes (diarrhées), pouvoir pathogène des staphylocoques dans l'impétigo (exfoliatine).
- Les plasmides peuvent également coder pour la synthèse de bactériocines qui inhibent la croissance d'autres bactéries (ex. : colicines létales pour les entérobactéries). Ils peuvent aussi porter les gènes qui codent pour le métabolisme du lactose ou de la lysine chez les *Proteus*, la production de H₂S chez *E.coli*, la dégradation du toluène ou de l'octane chez les *Pseudomonas*...

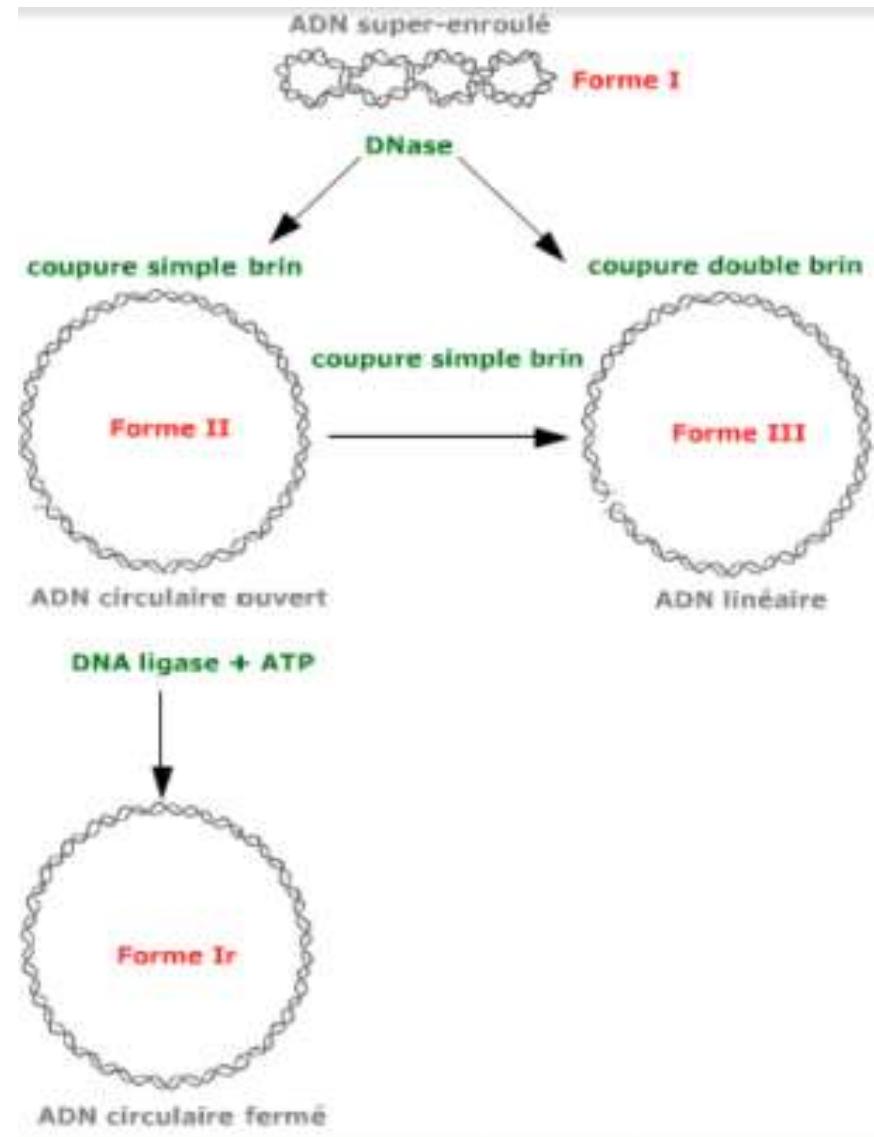


Les plasmides confèrent aux bactéries qui les hébergent de nombreux caractères génétiques par un mécanisme d'addition et non par un mécanisme de substitution. Ils représentent un élément essentiel d'adaptation bactérienne. Ils sont responsables d'épidémies de gènes (notamment de résistance aux antibiotiques), qui ont fait découvrir les transposons, appelés encore gènes sauteurs ou mobiles.

1.2.1.1. Organisation générale des plasmides

Les trois formes des plasmides:

- **Forme I: CCC: Circular Covalently Closed**
(circulaire, covallement fermé)
- **Forme II: OC: Open Circular (circulaire relâché, un des 2 brins coupé)**
- **Forme III: Linéaire**
(2 brins coupés)



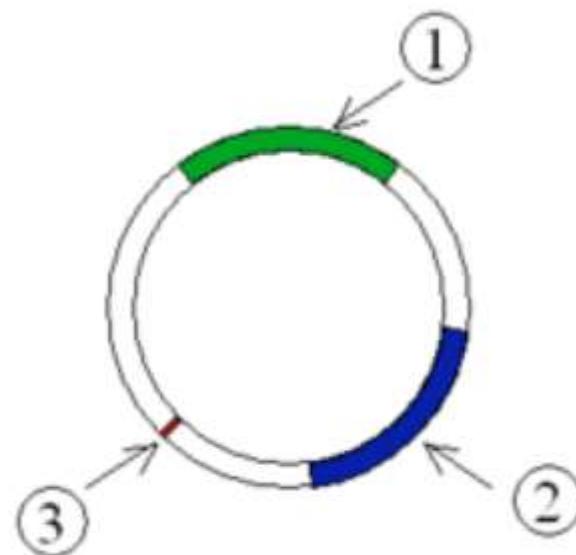
- Les plasmides sont des associations modulaires de gènes regroupés en unités fonctionnelles.
- Ils comportent une zone obligatoire de réPLICATION: Réplicon.
- Ils peuvent comporter :
 - Une région de transfert (opéron **tra**) **chez les plasmides** conjugatifs codant pour: pili et protéines de conjugaison
 - Des éléments génétiques mobiles ou non (IS, Tn, Int)
 - Gènes divers (résistance aux antibiotiques, etc...)

1: Gène codant la résistance à un antibiotique....

2: Gènes de transfert (Tra)

3: Origine de réPLICATION

Schéma d'un plasmide

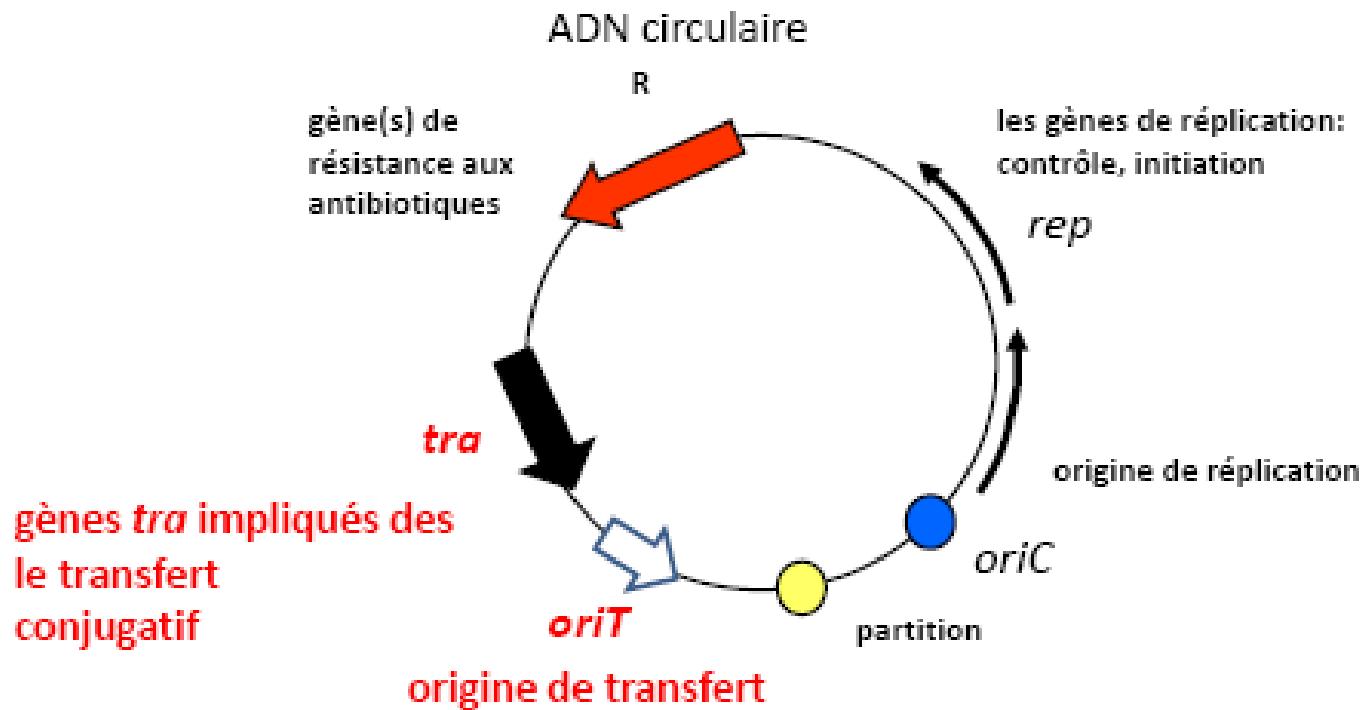


- L'organisation est variable et flexible en fonction du plasmide considéré
- On répartit les éléments du plasmide en :
 - a. Elément obligatoire : représenté par la zone de réPLICATION
 - b. Eléments facultatifs :
 - Région de transfert (Opéron tra) déterminant des Plasmides conjugatifs ou région mob déterminant des plasmides mobilisables.
 - Eléments génétiques mobiles (tn , is) ou non (intégrons)
 - Divers gènes : R aux ATB , métabolisme ...

Gènes codant différentes fonctions

- 1- Les gènes impliqués dans la réPLICATION
- 2- Les gènes de transfERT: Plasmides conjugatifs
- 3- Les gènes conférANT des propriétés supplÉMENTAIRES à la cellule hôte.....

Exemple:



Les gènes impliqués dans la réPLICATION

La fonction ori : c'est l'origine de la réPLICATION (initiation), elle est responsable du **contrôle du nombre de copies** d'un même plasmide présent dans une bactérie.



Ce système de régulation est à l'origine du phénomène d'incompatibilité

- Des plasmides **incompatibles** ne peuvent coexister dans la même cellule, car leur réPLICATION est soumise au même système de régulation donc
 - ils sont fortement apparentés structuralement d'où présence de **fortes homologies ADN/ADN**
- Ces plasmides sont ainsi classés en groupe d'incompatibilité ou **groupe Inc.**

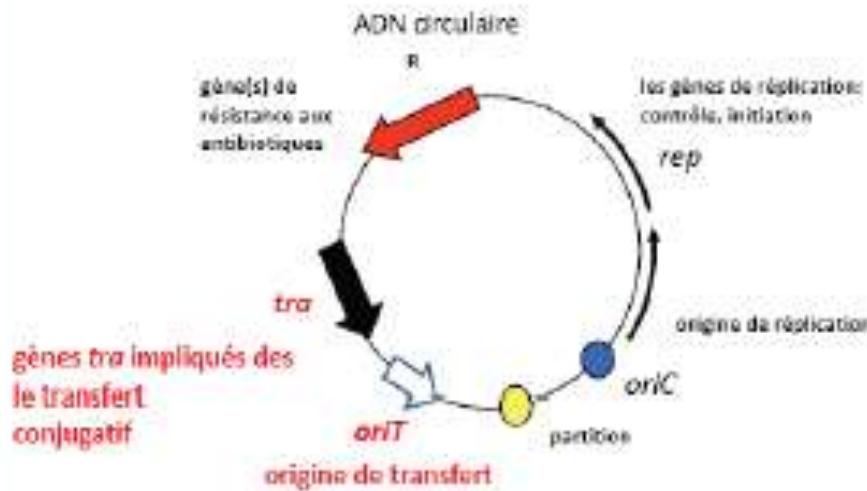
Les gènes de transfert: Plasmides conjugatifs

- Un plasmide conjugal est autotransférable d'une bactérie mâle à une autre femelle par conjugaison.
- Sa taille est supérieure à 30 kb, chez *Escherichia coli* 90 kb , dont 30 à 50 kb pour les gènes nécessaires au transfert conjugal.
- Ces plasmides sont en faible nombre de copies de 1 à 3 par cellule.



Principaux éléments des plasmides conjugatifs

L'opéron *tra* code pour les pili sexuels et pour les protéines nécessaires à la conjugaison.

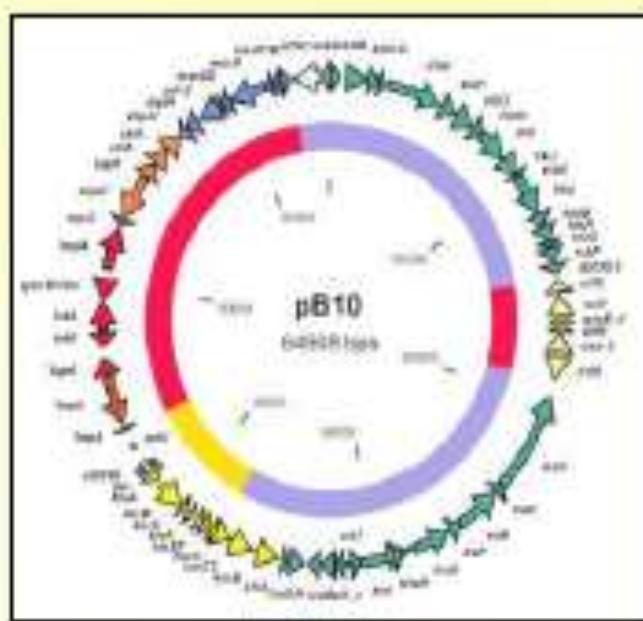


Rôle très important dans la dissémination de l'information génétique et particulièrement des gènes de résistance aux antibiotiques.

Organisation génétique du plasmide pB10

- 72 gènes organisés en modules fonctionnels.
 - Ubiquitaire (groupe IncP-1 β) – Isolé de boues activées.
 - Résistance aux antibiotiques : Amx, Str, Sul, Tet.
 - Efficacité de transfert : jusqu'à 80% de transconjugants par receveuse (sur boîte!).

- Tn501-like (Hg^R)
 - Tn5393c (Str^R)
 - Tn1721-like (Tet^R)
 - IS1071
 - Régulation centrale



RéPLICATION

Mating-pair-formation

Intégron (cl. 1)
(Amx^R - Sul^R)

Transfert Conjugatif

FONCTIONS ET DIFFERENT TYPES DE PLASMIDES :

- Les plasmides sont des éléments facultatifs à la survie bactérienne, mais trouvent toute leur importance dans des situations où une adaptation à des changements relativement rapides de l'environnement de la bactérie s'impose.
- Parmi les fonctions apportées par les plasmides :
 1. Les transferts génétiques : La conjugaison
 2. Résistance aux antibiotiques
 3. Chaînes métaboliques particulières supplémentaires
 4. Facteurs de virulence
 5. Production de bactériocines...

Ceci conduit à 5 types de plasmides :

1. Plasmides de fertilité : permettant les transferts génétiques.
2. Plasmides de résistance : codent globalement pour des facteurs de résistance dans l'environnement (antibiotiques, poisons ...)
3. Plasmide métabolique : permettent l'utilisation de certains nutriments ex : citrate , urée ...)
4. Plasmides de virulence : codent pour divers facteurs de virulence qui permettent la transformation de la bactérie en pathogène ex : pili , toxines ...
5. Plasmides bactériocinogènes : codant pour des bacteriocines tuant les autres bactéries.

1.2.1.2. Classification des plasmides :

1. Taille , Phénotype : peu de valeur car ne tient pas compte de la plasticité des plasmides.
2. Taille , nombre de copies et phénotype : on distingue :
 - a. Les petits plasmides en grand nombre non conjugatifs pouvant être mobilisables dont la réplication est relâchée
 - b. Les gros plasmides conjugatifs en nombre de copies limité dont la réplication est rigoureusement contrôlée.
3. Les groupes d'incompatibilité (Inc)
4. Types pilaires : dans ce cas le pili sexuel peut servir de récepteur aux phages il en découle que des plasmides de même type pilaires sont sensibles au même phages. Mais cette classification est moins sensible que les Inc

1. Plasmides conjugatifs (fertilité)

Les plasmides conjugatifs sont les premiers plasmides qui ont été découverts chez la bactérie *Escherichia coli* dans les années 1950. On les appelle aussi facteurs de fertilité ou plasmides F. Ces plasmides confèrent à la bactérie hôte la capacité de synthèse de pili dit sexuels. Par l'intermédiaire de ces pili, la bactérie porteuse (donneuse) peut transférer une copie du plasmide F par processus de conjugaison bactérienne. Les plasmides F possèdent au minimum une origine de réPLICATION et tous les gènes nécessaires à la synthèse des pili et du transfert du plasmide. Certains plasmides F sont des épisomes, c'est-à-dire qu'ils peuvent s'intégrer dans le génome chromosomique.

2. Plasmides de résistance

Les plasmides de résistance, appelés aussi plasmides ou facteurs R, codent des résistances aux antibiotiques et aux métaux lourds.

En 1959, au Japon, on a retrouvé chez les malades atteints de dysenterie bactérienne une insensibilité à tout traitement antibiotique. En fait, la bactérie responsable, *Shigella dysenteriae*, portait des gènes de résistance à plusieurs antibiotiques encore jamais rencontrés. Par la suite, on en a retrouvé chez d'autres bactéries (comme *E. coli*) et ces plasmides furent baptisés **R Factor** pour facteurs de résistance (R factors que l'on considérait comme des éléments constitués de RTF Factors ou resistance transfer factors).

Ces plasmides peuvent *protéger* la cellule par différents moyens que sont la **modification de cible** (la cible de l'action d'un antibiotique se voit modifiée, rendant la bactérie résistante à cet antibiotique), la **résistance enzymatique** (la bactérie produit une substance -une enzyme-capable d'inactiver directement l'antibiotique en la dénaturant, l'hydrolisant etc. (c'est le cas par exemple des bêta-lactamases), **imperméabilité de l'enveloppe cellulaire** (par modification des porines) et **efflux actif** (lié à des pompes d'efflux) - ces deux mécanismes ayant pour effet d'empêcher la pénétration intracellulaire de l'antibiotique ou de favoriser son extrusion active hors du micro-organisme).

3. Plasmides métaboliques

Les plasmides métaboliques portent des gènes permettant l'utilisation de certains nutriments. Chez *E. coli*, les gènes portés par ces plasmides sont par exemple : l'utilisation du citrate comme source de carbone, la production de soufre, l'hydrolyse de l'urée. Chez les salmonelles on a observé la dégradation du lactose ce qui est totalement inhabituel chez ce genre bactérien. La plupart de ces plasmides codent la synthèse d'une ou de plusieurs enzymes.

4. Plasmides de virulence

Il s'avère que les bactéries pathogènes hébergent très souvent des plasmides conjugatifs qui participent à la pathogénicité. Les plasmides de virulence portent des gènes codant des facteurs de virulence, ayant un rôle dans le pouvoir pathogène des bactéries. Par exemple les *Escherichia coli* entérotoxigéniques (ETEC) responsable de la diarrhée du voyageur (ou *tourista*) hébergent au moins deux plasmides, l'un portant les gènes codant un facteur de colonisation, l'autre codant des toxines.

De même, les déterminants du pouvoir invasif des *Shigella* sont portés par un plasmide (pInv). Chez d'autres bactéries pathogènes (par exemple *Salmonella*), ces plasmides codent un complexe protéique situé sur la paroi de la bactérie : c'est le complexe *pili-adhésine* qui permet à la bactérie d'adhérer sur des récepteurs hydrocarbonés situés à la surface de certaines cellules eucaryotes notamment les entérocytes. Certains plasmides codent des facteurs tumorigènes ; c'est notamment les cas pour la « gale du collet » due à un plasmide Ti (pour *tumor inducing*) hébergé par les bactéries du genre *Agrobacterium*.

5. Plasmides de bactériocines

Les plasmides codent la synthèse d'une protéine extracellulaire dont la biosynthèse est létale pour la bactérie productrice ainsi que pour les autres bactéries non-productrices environnantes. Cependant, ces plasmides codent aussi une deuxième protéine intracellulaire de résistance à cette première toxine. Les bactériocines agissent sur des fonctions vitales de la bactérie.

Chez *E. coli*, on trouvera différentes catégories de bactériocines (colicines codées par les plasmides *col*) et par exemple le gène **colE1** code une endonucléase et le gène **colE3**, une ribonucléase qui inactive les ribosomes.

1.2.1.3. Propriétés des plasmides

- Douées de réPLICATION autonome
- Transmissibles de façon stable à la descendance
- Certains plasmides sont capables de s'intégrer aux **chromosomes**; on appelle ces plasmides **des épisomes**.
- Ils peuvent infecter des bactéries ou être échangés entre elles.

1.2.2. LES TRANSPOSONS

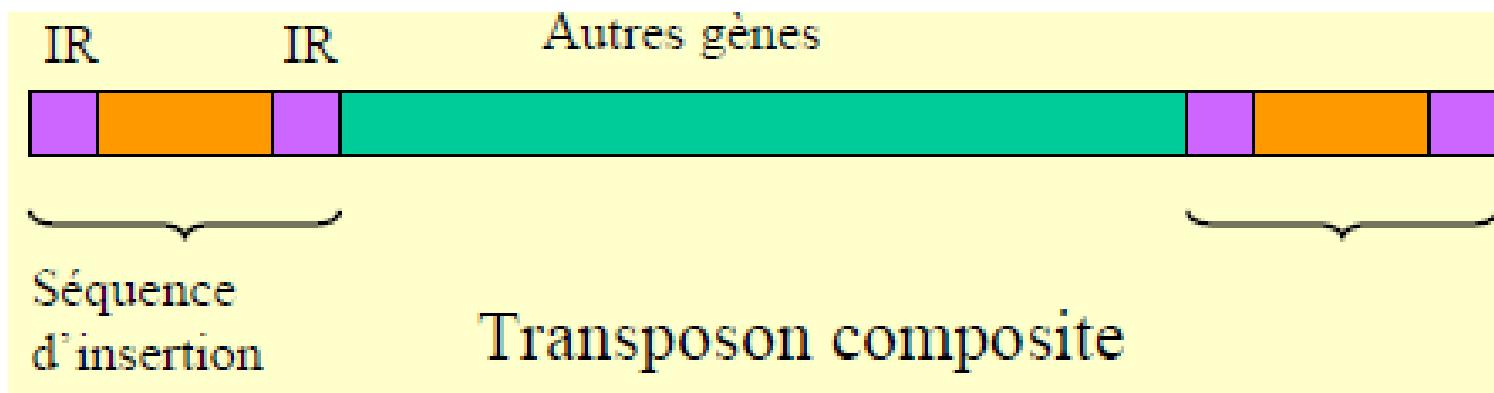
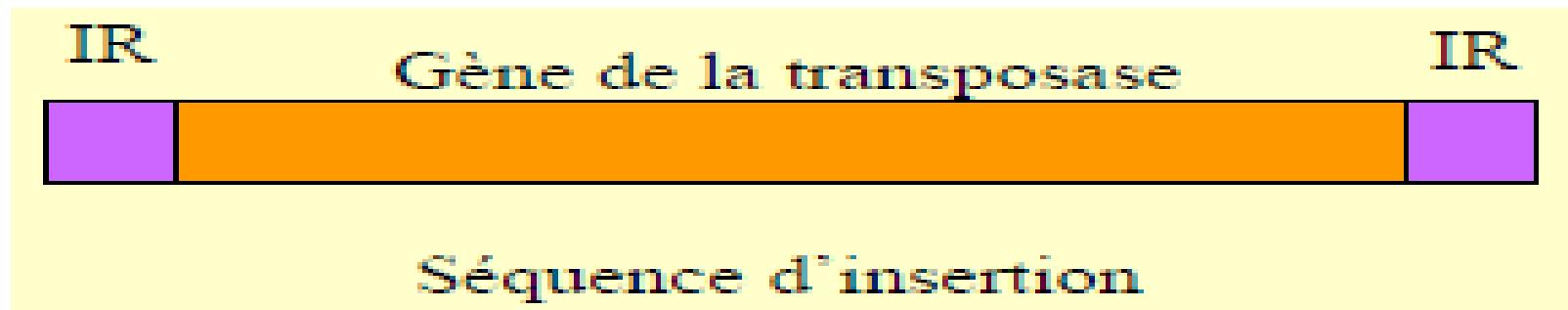
Un élément transposable ou transposon (Tn) peut être défini comme une séquence d'ADN capable de se déplacer dans le génome d'une cellule, de façon autonome ou non. Considérés à l'origine comme « parasites génétiques », puisque responsables de mutations, les éléments transposables ont en grande partie contribué à l'évolution des espèces. Chez les procaryotes, les éléments transposables sont responsables de l'acquisition de nouvelles fonctions telles que la résistance aux antibiotiques, le catabolisme de nouveaux métabolites, ou encore la virulence. Un transposon a besoin d'enzymes spéciales telles une intégrase ou une transposase. C'est habituellement le transposon lui-même qui code pour ces protéines.

Deux types de transposition.

- Transposition conservatrice : Une séquence d'ADN est transférée d'un site à un autre, entre un site donneur et un site accepteur
- Transposition réplicative : l'élément transposable est transféré d'un site à un autre, tout en restant au site original. Cela conduit à une augmentation du nombre de copies de l'élément transposable.

1.2.2.1. Structure générale des transposons

- Le transposon est constitué d'un fragment d'ADN limité de part et d'autre par des séquences répétitives inversées (IR) appartenant à des séquences d'insertion (IS).
- Les séquences d'insertion portent les gènes nécessaires à la transposition, transposase (éléments régulateurs de la transposition) et les marqueurs spécifiques (ex: résistance aux antibiotiques).



1.2.2.2. Différents types de transposons

Les séquences d'insertion (transposons simples)

- Les séquences d'insertion sont les transposons les plus simples de moins de 2,5 kb constituées d'un gène codant la transposase, encadré, pour la plupart, par deux séquences répétées inversées de 9 à 40 pb.
- Ils se déplacent de façon autonome dans le génome et leurs séquences ne codent que pour les protéines nécessaire à leur propre transposition: les transposases. Certaines IS codent pour une seconde protéine : une copie tronquée de la transposase qui assumerait un rôle régulateur de la transposition.

Les transposons complexes (Tn)

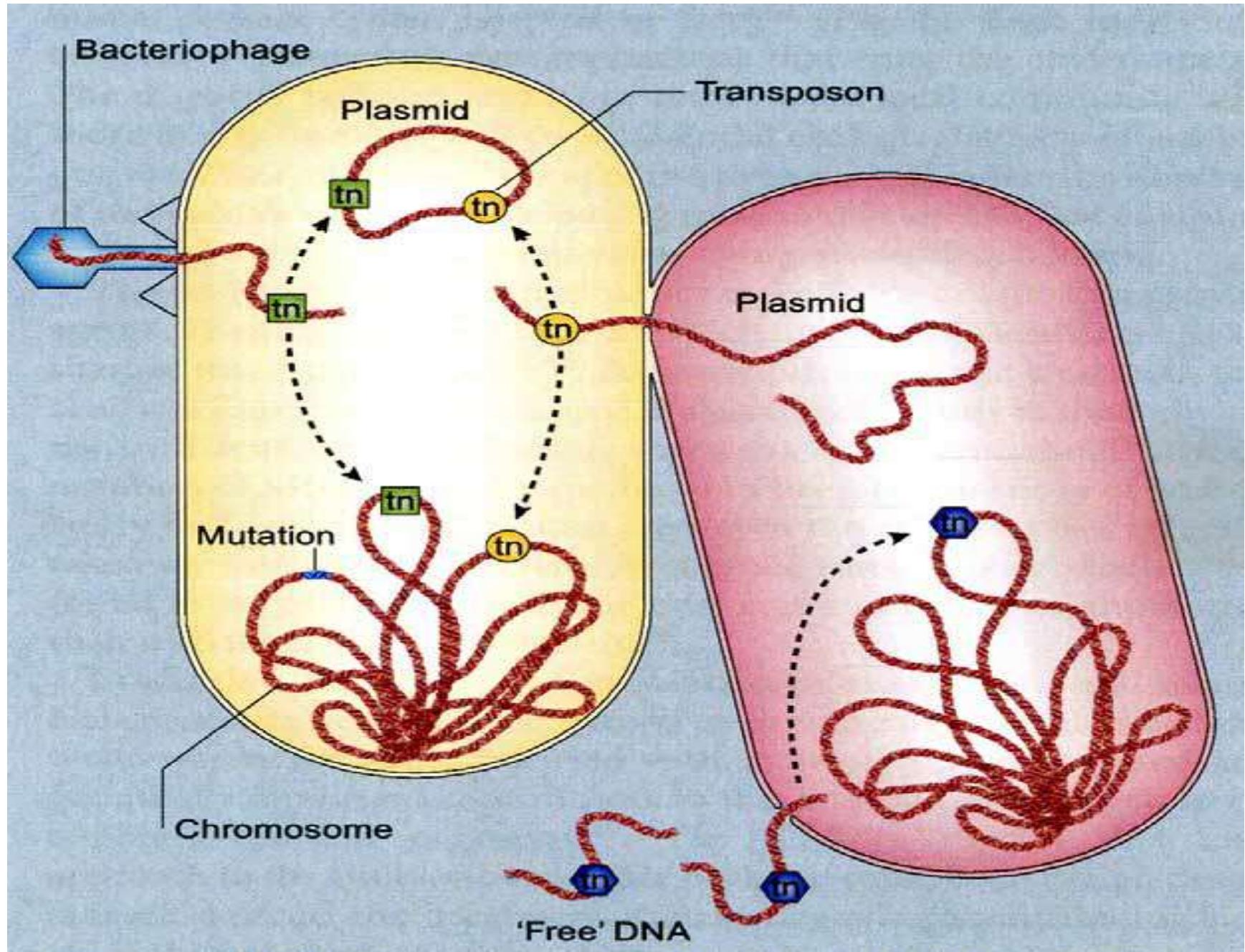
- En plus d'avoir les éléments nécessaires à leur transposition, les transposons portent un marqueur de résistance à un antibiotique. Les transposons composites (Tns), quant-à-eux, portent des IS de chaque côté (les bras) de la résistance à l'antibiotique.
- Ces transposons sont évidemment plus importants en taille. Chaque bras des Tns de chaque côté se termine par des répétitions inversées comme les IS simples. Certains Tns portent des IS identiques de chaque côté du marquer tel que Tn9

- Constitués de l'assemblage de deux IS répétés de façon inversée ou non, les éléments composites peuvent contenir des séquences d'ADN exogènes tels qu'un gène de résistance aux antibiotiques. Seule une des deux IS code pour la transposase , qui assure alors le déplacement d'une seule IS ou de la combinaison des deux. Les transposons *Tn5*, *Tn9 et Tn10* sont les représentants les plus étudiés de cette famille et codent respectivement pour les gènes de résistance à la kanamycine, au chloramphénicol et à la tétracycline.

- Les éléments non composites codent pour une transposase et pour des protéines accessoires de la transposition. Ils ne contiennent pas d'IS mais des séquences terminales inversées (ITR) de 35 à 48 pb. Parmi les éléments non composites, les plus étudiés sont les transposons bactériens *Tn3* et *Tn7*.

Les bactériophages transposables

- Les bactériophages sont considérés comme transposables lorsqu'une partie de leur génome s'intègre dans celui de la bactérie qu'ils infectent. Le bactériophage *Mu transpose chez Escherichia coli une séquence d'ADN contenant les extrémités attL et attR encadrant les gènes codant pour une transposase et une protéine activatrice*



Les autres transposons procaryotes

- Les transposons conjugatifs, tels que Tn916, *constituent une classe particulière d'éléments génétiques mobiles. Ces éléments peuvent conjuguer d'une bactérie à l'autre, par eux-mêmes ou par mobilisation. Ils peuvent aussi être mobiles.*

Séquence d'insertion (IS)



IS	longueur	IR	cible
IS1	768 pb	23 pb	9-8 pb
IS2	1327 pb	41 pb	5 pb
IS3	1400 pb	38 pb	3-4 pb
IS4	1428 pb	18 pb	11-12 pb

Transposon composite

transposon	longueur	module terminal	marqueur génétique
Tn5	5700 pb	IS50	Km, Sm
Tn9	2500 pb	IS1	Cm
Tn1691	2061 pb	IS1	Entérotoxine



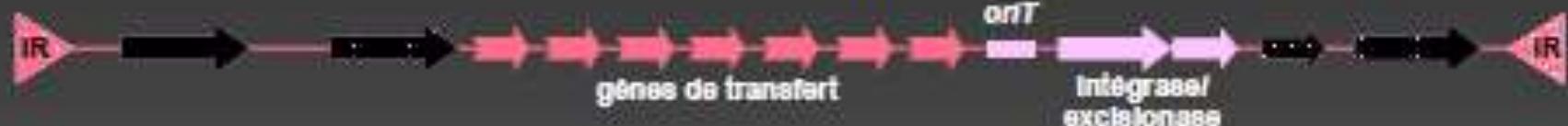
Transposon non composite

transposon	longueur	marqueur génétique
Tn3	5 kb	Ap
Tn4	20 kb	Ap, Sm, Su



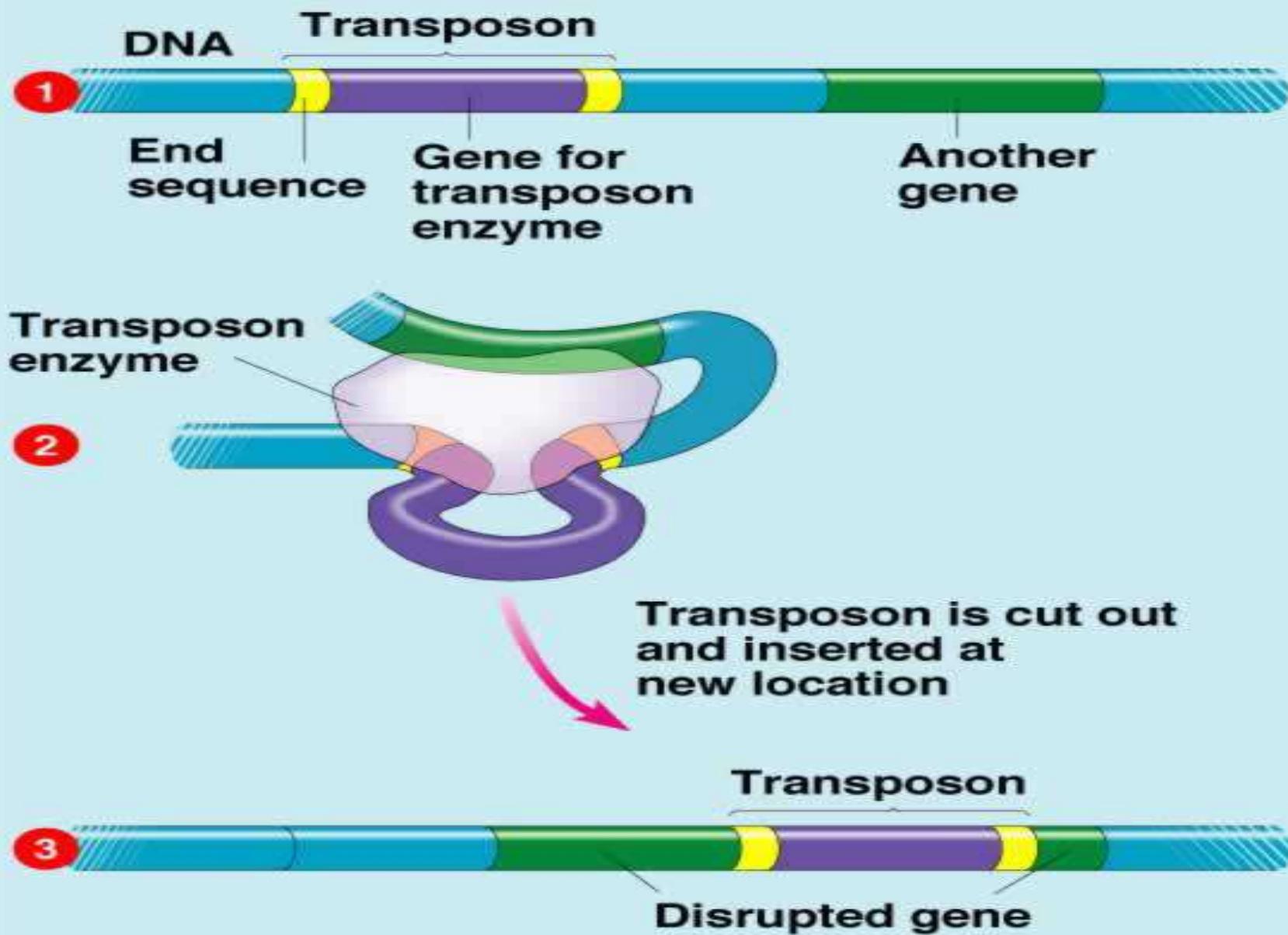
Transposon conjugal

transposon	longueur	marqueur génétique
Tn916	16 kb	Tc
Tn1545	25 kb	Tc, Em, Km

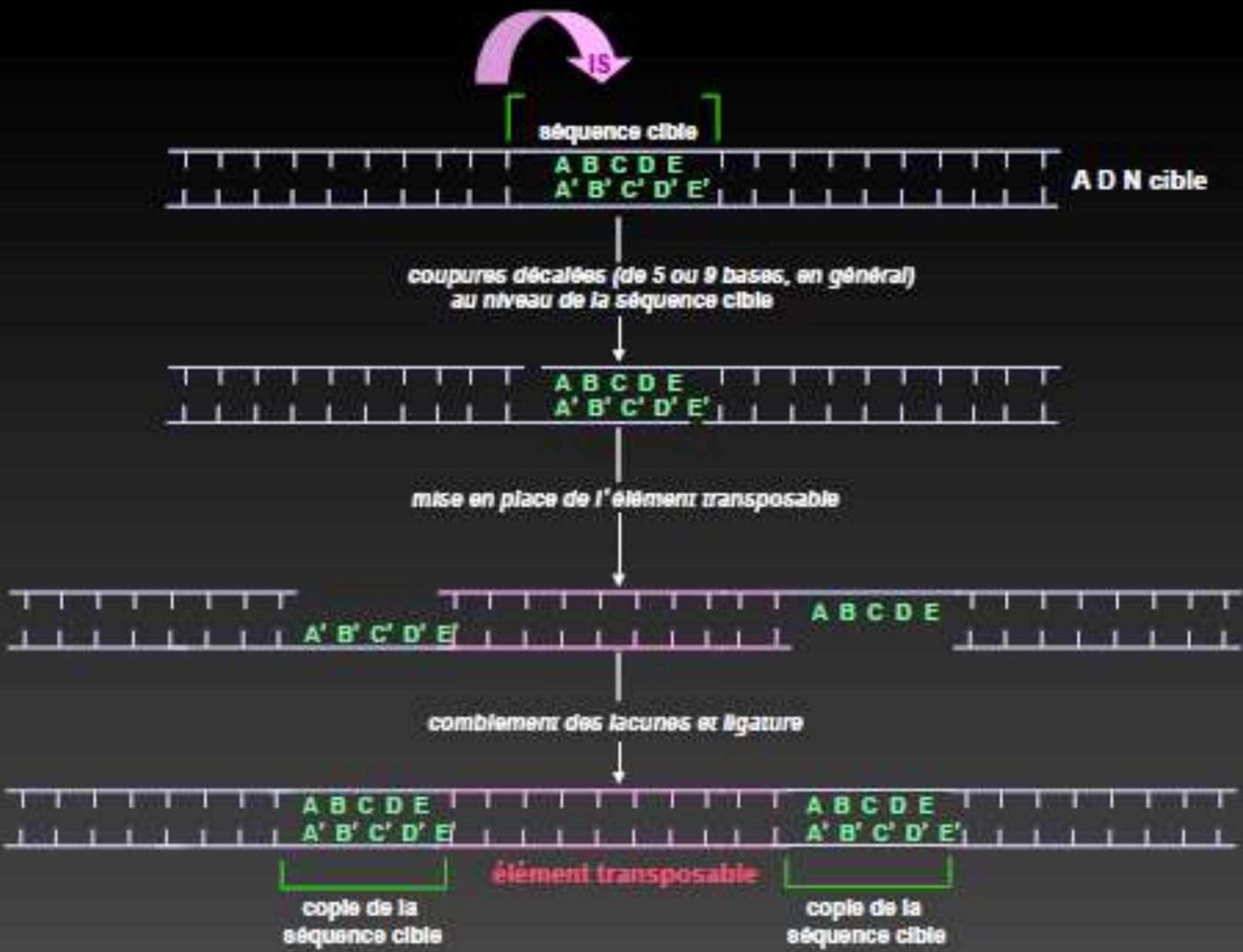


1.2.2.3. Mécanismes de transposition chez les bactéries

Les transposons sont mobiles et ils sautent d'un site donneur (phage, plasmide ou chromosome) dans des sites cibles, qui peuvent être localisés sur une autre région du chromosome bactérien, sur un plasmide ou sur un phage. La séquence cible peut varier en fonction du transposon. Certains transposons nécessitent des séquences spécifiques, qui sont présentes rarement sur le chromosome ou sur les plasmides.



Certains transposons, tels que le Tn10, s'insèrent dans une séquence consensus NGCTNAGCN, où N est un nucléotide quelconque. Cette séquence est présente plusieurs fois dans le chromosome bactérien. D'autres transposons tels que le Tn5 et le phage Mu peuvent s'intégrer potentiellement sur n'importe quel site sans spécificité de séquence.



a. Transposition avec réPLICATION du transposon.

Une copie du transposon s'insère par duplication dans une séquence cible alors que la copie originale reste au niveau du site donneur.
Exemple: Tn3

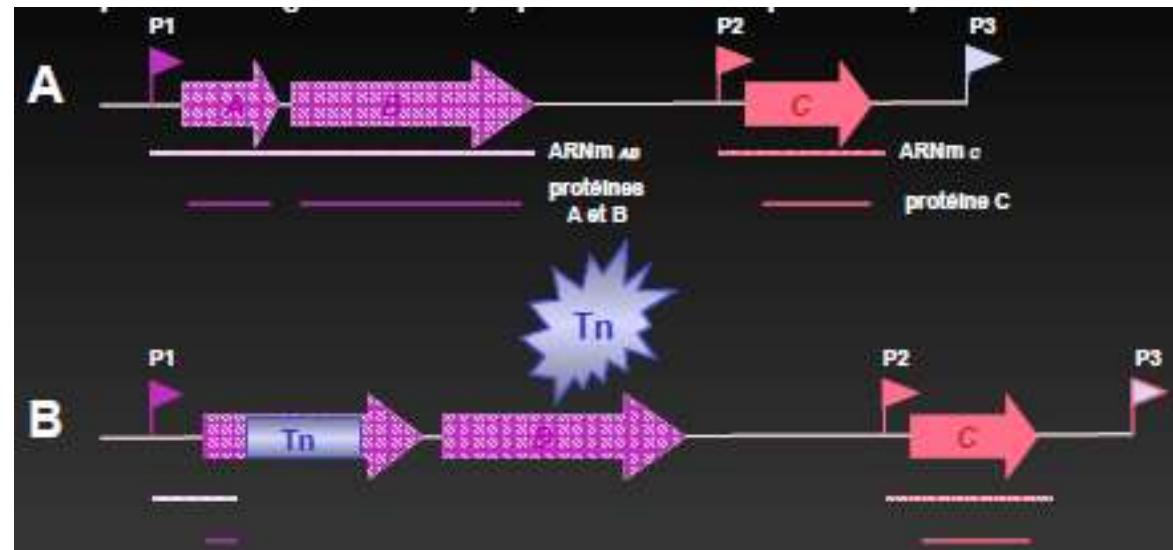
b. Transposition conservatrice

Le processus conservatif consiste en une véritable translocation avec perte du transposon au niveau du site donneur. Exemple: Tn10.

1.2.2.3. Conséquences de la transposition sur l'expression du génome bactérien

- une modification de l'expression des gènes chez la bactérie-hôte

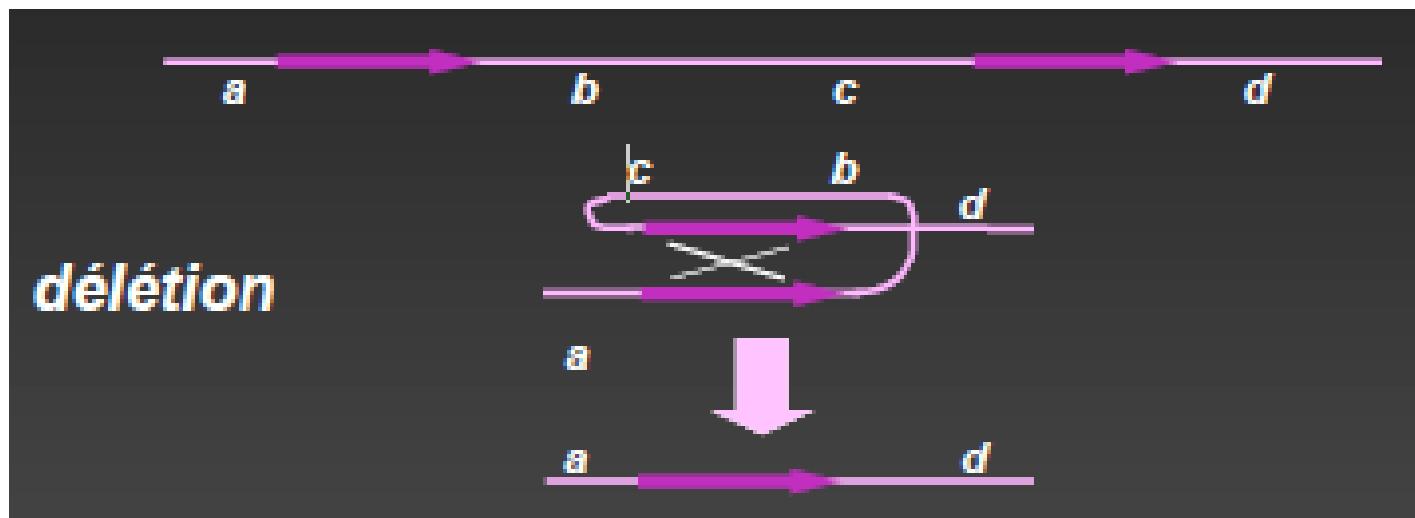
La plupart du temps, il s'agit d'une mutation dite polaire (modification de l'expression des gènes en aval, dépendant du même promoteur)



blocage de la transcription (lié à l'existence de signaux de terminaison aux extrémités des transposons) ou, au contraire, augmentation de la transcription (lié à l'existence d'un promoteur à une des extrémités du transposon et agissant vers l'extérieur du transposon)

- des réarrangements génomiques au hasard (10 - 100kb)

il s'agit de fusion de réplicons (bactérie Hfr), de délétions, de duplications ou d'inversions de séquences nucléotidiques (liés à des processus de recombinaison homologue consécutifs au haut degré d'homologie des ISs)



Les plasmides , transposons et intégrons représentent :

LES SUPPORTS PRINCIPAUX DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES BACTERIES