

Chapitre 2 : Transferts génétiques horizontaux

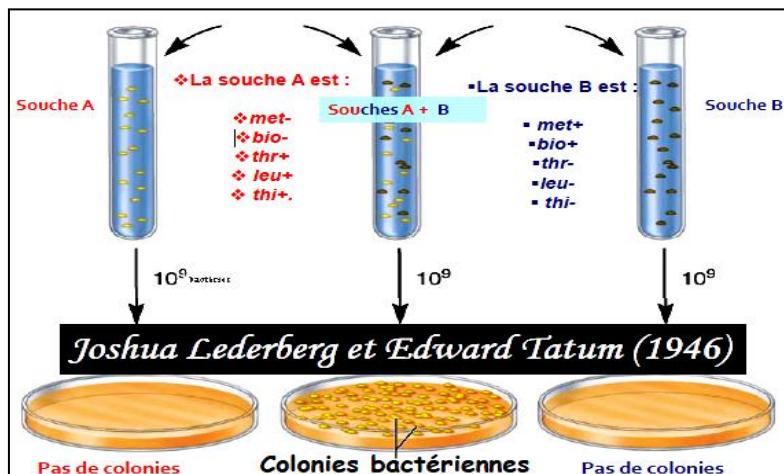
Introduction

La biodiversité est le résultat des modifications du génome des différentes espèces au cours de l'évolution. Ces modifications chez les populations bactériennes peuvent poser un problème dans le traitement des infections bactériennes. Car ces dernières ont acquis des gènes de résistance à certaines molécules antibactériennes. Non seulement ces résistances sont un problème, mais les bactéries possèdent des mécanismes permettant le transfert de ces gènes à d'autres bactéries. Ainsi, une résistance (ou une mutation) apparaissant dans une cellule peut être transmise aux autres cellules. C'est ainsi que la bactérie peut être l'objet de variations génétiques autres que la mutation, par des processus aussi différents que la **transformation**, la **transduction** et la **conjugaison**.

1. La conjugaison

La conjugaison est transfert génétique unidirectionnel d'un fragment d'ADN chromosomique ou plasmidique par contact direct entre deux bactéries « sexuellement » différenciée : une donatrice = mâle et une réceptrice = femelle.

L'expérience de Lederberg et Tatum (1946) est à l'origine de la découverte de la conjugaison. Dans un milieu de culture liquide, ces auteurs ont mélangé deux types de mutants auxotrophes d'*E.coli*. Après plusieurs heures de contact entre les mutants, Lederberg et Tatum ont isolé des *E.coli* T₊ L₊ M₊ B₊ (environ 100 pour 10⁸ *E.coli*). et en ont conclu que la recombinaison s'était produite avec une faible fréquence (10⁻⁶) et exigeait en plus le contact entre les deux types de mutants auxotrophes.

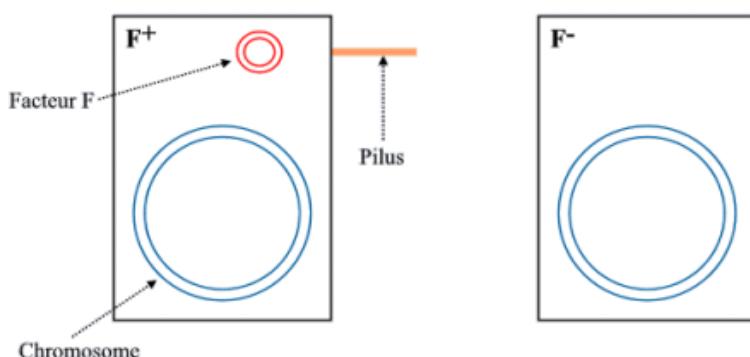


Conjugaison F⁺ x F⁻

La conjugaison est un transfert d'ADN entre une bactérie donatrice et une bactérie réceptrice, qui nécessite le contact et l'appariement entre les bactéries, et repose sur la présence dans la bactérie donatrice ou mâle d'un facteur de sexualité ou de fertilité (facteur F). Celui-ci permet la synthèse de pili sexuels et donne la polarité au chromosome. Le facteur F réside habituellement sur un plasmide. Les souches donneuses sont appelées F⁺ tandis que les souches dépourvues sont appelées F⁻.

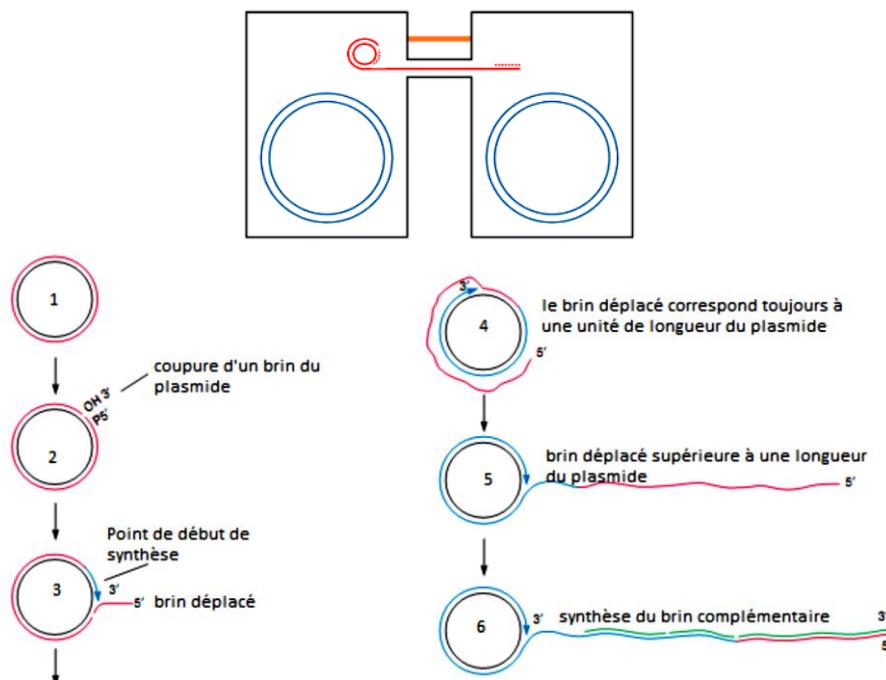
Le pont cytoplasmique formé, le transfert génétique peut commencer. Il ne porte d'abord que sur un brin d'ADN, ce qui permet de restaurer l'intégrité du génome de la bactérie donatrice par un processus de réplication asymétrique. Ce processus de réplication asymétrique a lieu tout près du pont cytoplasmique et met en jeu un site de réplication spécifique.

Facteur F libre dans cellule donatrice

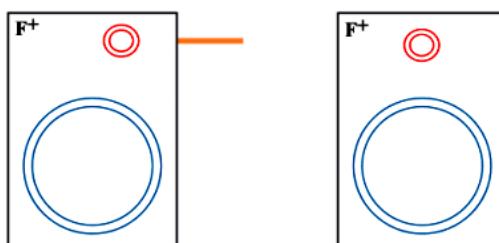


Transfert de l'ADN à partir de l'origine de transfert (ori T) et selon le modèle du cercle roulant

Modèle de réplication du plasmide : Une queue simple brin est générée par une endonucléase au niveau du site *ori T*, l'extrémité 5' migre vers la cellule réceptrice, et peut être converti en la forme double brin par la synthèse d'un brin complémentaire. Alors que le DNA du côté 3' sera répliqué par complémentarité de manière continue, l'extrémité 5' est répliquée de manière discontinue par les Fragments d'Okazaki.



La bactérie réceptrice à acquis une copie du facteur F elle devient F+

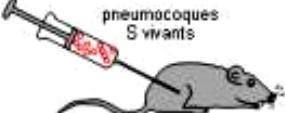
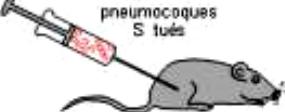


2. Transformation

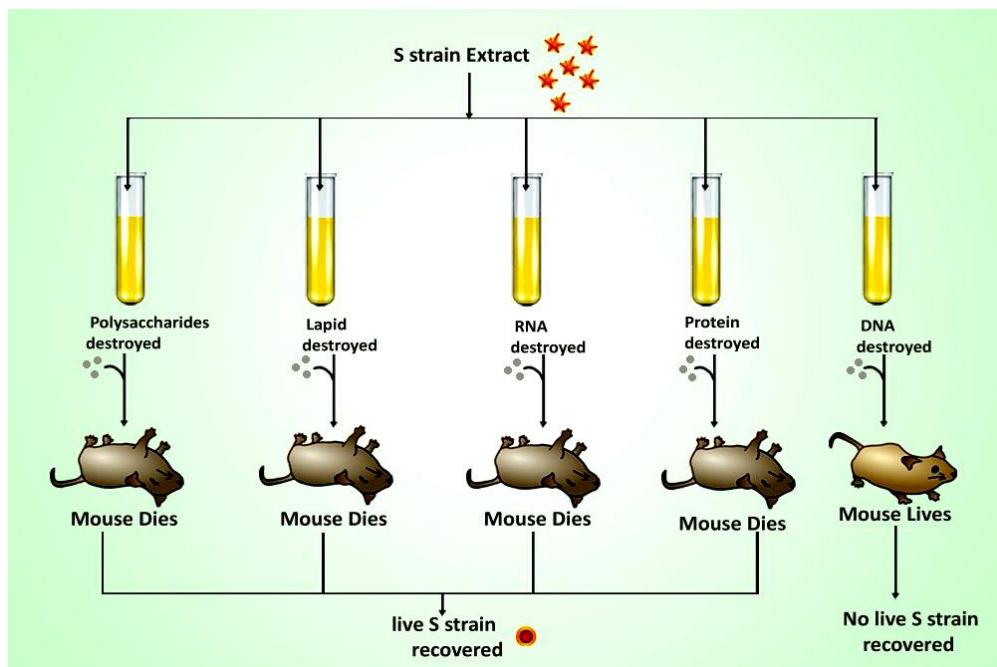
Par définition, la transformation "naturelle" ou physiologique est le premier modèle connu de transfert de matériel génétique, qui est fixé et absorbé par des bactéries réceptrices, dites en état de compétence. Ce modèle a permis de démontrer que l'ADN était le support chimique de l'hérédité en 1944.

2-1- Découverte de la transformation.

En 1928, Frederick Griffith démontre que l'inoculation sous-cutanée à la souris d'un mélange de pneumocoques capsulés (virulents) tués par la chaleur et de pneumocoques acapsulés (non virulents) vivants, entraîne une septicémie mortelle à pneumocoques capsulés vivants. Il y a donc eu transformation ou « réversion » des pneumocoques acapsulés (R) en pneumocoques capsulés (S).

n°	expériences		état de la souris	analyse du sang de la souris
1	pneumocoques S vivants		mort	
2	pneumocoques R vivants		survie	absence de tout pneumocoque
3	capsule détruite pneumocoques S tués		survie	absence de tout pneumocoque
4	pneumocoques S tués + pneumocoques R vivants		mort	
5	pneumocoques S tués et sans ADN + pneumocoques R vivants		survie	absence de tout pneumocoque
6	pneumocoques R vivants + ADN extrait de pneumocoques S		mort	

En 1944, Avery Mac Leod et McCarty ont démontré que la nature du facteur transformant était de l'ADN. Après avoir purifié l'extrait de bactéries S (dénaturation des protéines, lipides et polysaccharides), la capacité de transformation persistait.



Seul l'**ADN** (acide désoxyribonucléique) n'était pas dénaturé par la chaleur et était intégré dans les cellules R par transformation

2.2. Facteurs affectant la transformation

Le transfert, qui est partiel et limité à quelques espèces bactériennes, entraîne l'acquisition par la bactérie réceptrice de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles.

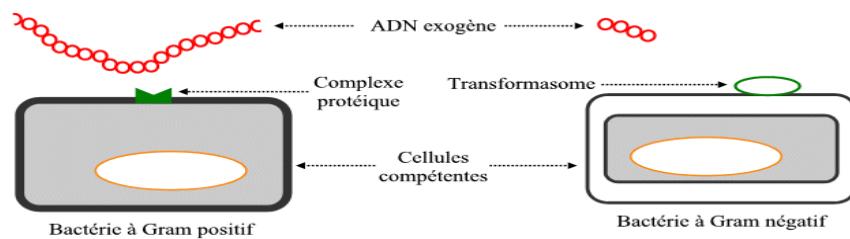
a. Taille de l'ADN

La transformation ne permette que le transfert d'une petite fraction du génome bactérien double brin (<1 %),

b. Compétence du receveur

Certaines bactéries sont capables d'absorber de l'ADN naturellement. Cependant, ces bactéries prennent seulement de l'ADN à un moment précis de leur cycle de croissance quand elles produisent une protéine spécifique appelée facteur de compétence. Cet état de compétence apparaît transitoirement durant 15 à 30 minutes : **pic de compétence** et n'apparaît seulement que chez une fraction de la population bactérienne.

- chez les **Gram +**, dépend de la production d'une substance ou d'un **facteur de compétence** : polypeptide très instable qui stimule la production d'un **complexe protéique** nécessaire à la transformation à la surface de la cellule.
- chez les **Gram -**, est associé à la présence de petites **vésicules membranaires**, appelées **transformasomes**, qui font saillie à l'extérieur de la cellule.



La transformation naturelle ne peut s'observer chez un nombre limité d'espèces bactériennes à Gram positif (*Pneumococcus*, *Streptococcus* et *Bacillus*) ou à Gram négatif (*Neisseria*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Haemophilus*).

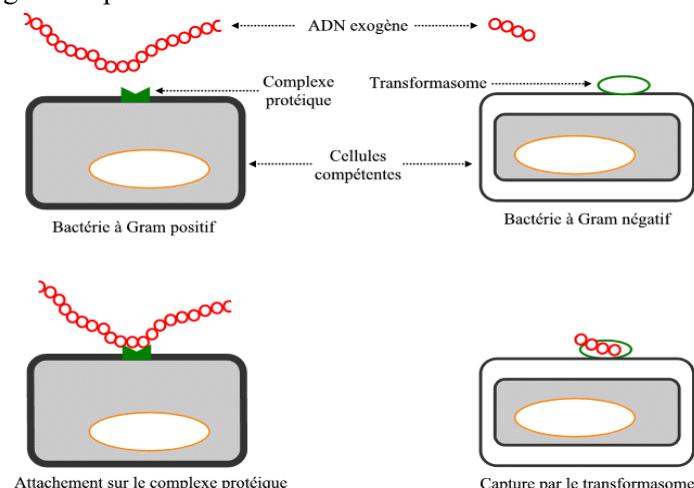
La transformation *artificielle* est précédée du traitement chimique ou enzymatique de la paroi bactérienne avant sa mise en contact avec l'ADN exp: la compétence d'*E.coli* peut être induite in vitro par traitement chimique (CaCl₂ à 0°C).

2.3. Étapes de la transformation Elle se produit selon les phases suivantes :

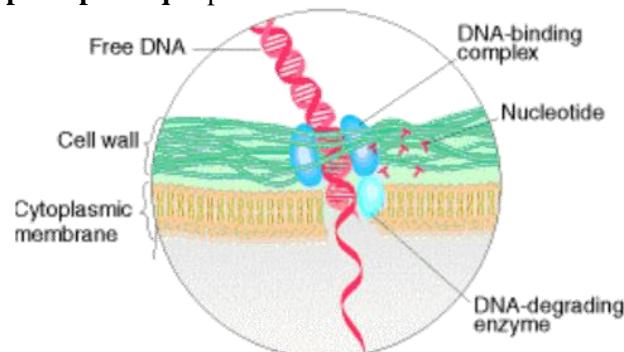
A. L'Interaction et la fixation de l'ADN à la surface de la bactérie

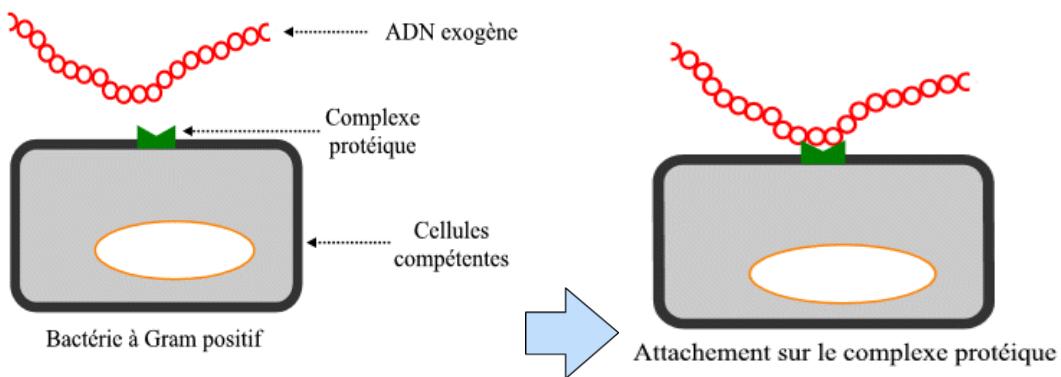
L'ADN double brin exogène est libéré dans le milieu après lyse de cellules bactériennes. Il se fixe généralement de façon aléatoire à la surface de la bactérie réceptrice.

N'importe quelle fraction du génome peut être transférée



Chez les **bactéries à Gram positif**, la capture de l'ADN exogène est assurée par des **polypeptides** capables de lier l'ADN et qui font parti d'un **complexe protéique** présent à la surface de la cellule.

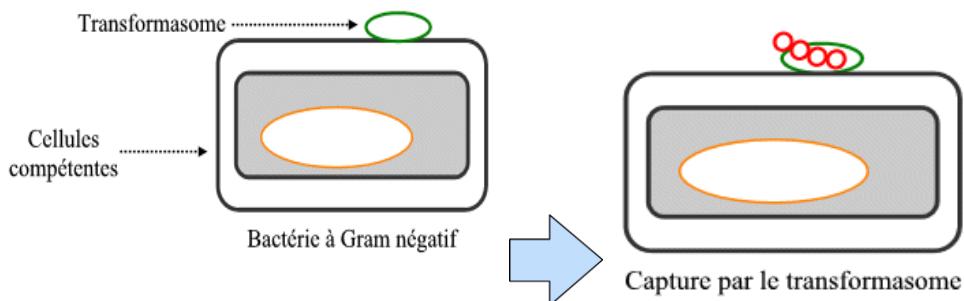




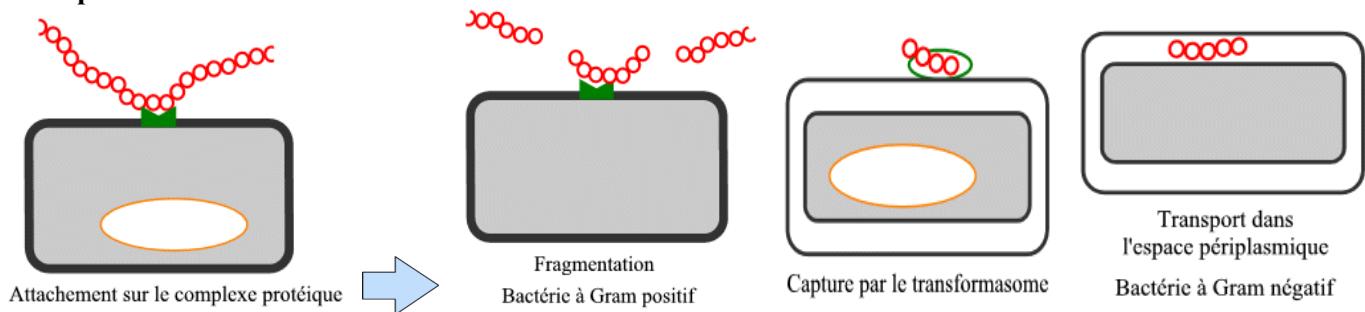
Chez les bactéries à Gram négatif

L'ADN transformant est capturé par les vésicules membranaires ou transformasomes, après reconnaissance de séquences spécifiques de 10 à 11 pb. exemple: la séquence AAGTGCGGTCA pour *Haemophilus influenzae*. Dans ce cas seul des ADN spécifiques peuvent être transformants

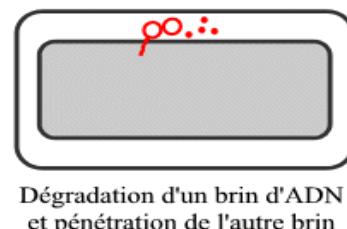
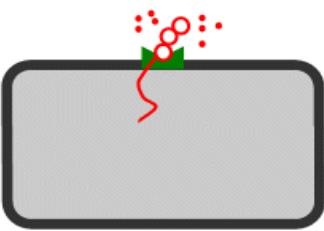
ADN exogène →



B. La pénétration de l'ADN dans la bactérie



Dès sa pénétration chez les Gram + ou juste après sont transport dans l'espace périplasmique chez les Gram -, l'ADN bicaténaire est profondément modifié par une endonucléase.



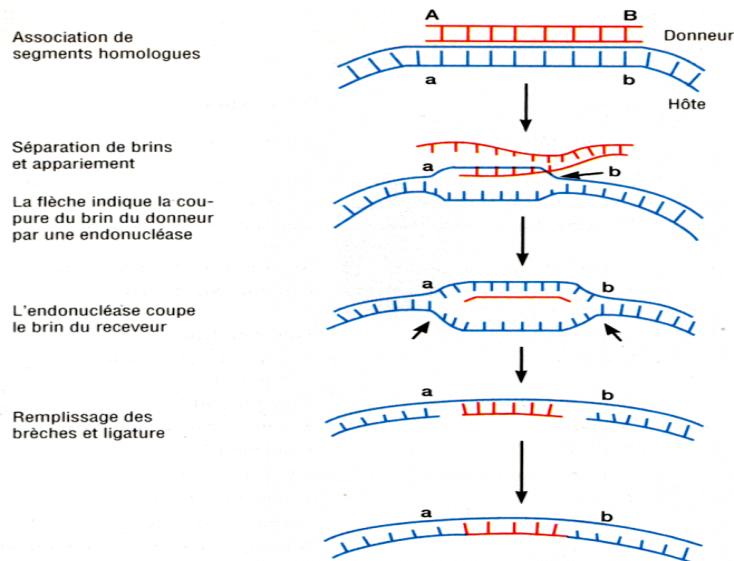
Un brin est dégradé par l'endonucléase, l'autre brin pénètre dans le cytoplasme sous forme monocaténaire. Après pénétration, le brin complémentaire sera fabriqué chez le receveur.

C. La phase d'éclipse et l'intégration par recombinaison

Phase d'éclipse = recherche d'une zone d'intégration au chromosome,

- S'il la trouve : l'ADN exogène est intégré par recombinaison à l'endogénote après création d'une zone en héteroduplex.

- S'il ne la trouve pas : l'ADN est détruit ou bien dilué au cours des divisions cellulaires ultérieures : transformation avortée



Les caractéristiques de la transformation

- **Phénomène spontanée dans la nature, rare, fréquence 10^{-3} à 10^{-6}** : une bactérie transformante pour 10^3 à 10^6 bactéries cultivées
- **Phénomène naturel restreint aux cellules naturellement transformables** : Peu de bactéries sont transformables de façon spontanée : *Haemophilus*, les *Nesseria*, les streptocoques, les *Bacillus*.
- **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.
- **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

3. Transduction :

Par définition, la transduction est le transfert génétique d'un fragment d'ADN chromosomique ou extra-chromosomique d'une bactérie à une autre effectué par des bactériophages dits transducteurs. Les bactériophages sont des virus de bactéries, qui existent sous la forme virulente ou tempérée.

