

# **Troisième année Microbiologie**

---

**Module de Génétique microbienne**

Page facebook ; Domaine SNV :

Biologie, Agronomie, Science Alimentaire, Ecologie

## PROGRAMME :

**Chapitre 1**: Structure et organisation du matériel génétique (chromosome, plasmide, matériel génétique viral).

**Chapitre 2** : Mutation et mécanisme de réparation de l'ADN.

**Chapitre 3** : Recombinaison génétique et éléments génétiques transposables.

**Chapitre 4** : Transfert génétique chez les bactéries (conjugaison, transformation, transduction).

**Chapitre 5** : Génétique des bactériophages.

# CHAPITRE 1 : STRUCTURE ET ORGANISATION DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

## ❖ Structure du matériel génétique :

Les acides nucléiques constituent les éléments de base de matériel génétique, ils sont composés de chaîne linéaire de nucléotides liés entre eux par des ponts phosphodiesters, les nucléotides sont formés par une base purique ou pyrimidique liée à un pentose qui lui-même lié à un groupement phosphate.

- **Chez les organismes procaryotes** : Le matériel génétique est constitué par une seule structure bicaténaire (double brin) d'ADN appelé chromosome. Le chromosome est circulaire enroulé en super hélice qui est lui-même repliée en formant des boucles qui sont maintenues par un support d'ARN, on trouve chez *E.coli* 50 boucles correspondants à 200 tours.
- **Chez les organismes eucaryotes (microbiens)** : Le matériel génétique est très complexe, l'ADN est lié à des petites quantités d'ARN et à des protéines, on peut diviser les protéines liées à l'ADN en deux catégories : les histones et les protéines non histones.

## ❖ L'organisation du chromosome chez les eucaryotes :

A certains stades de division cellulaire, les chromosomes sont formés de deux fines chromatides liées par un centromère dont la taille correspond à

quelques centaines de paires de bases, à l'extrémité du chromatide se trouve la région télomérique, cette région varie d'une espèce de levure à l'autre. Le chromosome est caractérisé par une séquence de gènes non continue, les gènes codants (exons) et les gènes non codants (introns), les chromosomes comportent à côté de séquences de gènes répétitives à faible ou à haute fréquence (protéine structurale), chez les levures et particulièrement *Saccharomyces cerevisiae* ; il n'y a pas de région à haute fréquence, seulement des zones à faible fréquence.

#### ❖ Mécanisme de réplication :

La réplication est le mécanisme qui permet la reproduction des molécules d'ADN , elle débute par l'ouverture de la double hélice en un point spécifique (origine de réplication), chez *E.coli* l'origine de réplication est nommée (oric), cette ouverture est due à l'action d'une hélicase avec l'aide de la topoisomérase qui facilite le déroulement de l'hélice , les brins séparés sont maintenus par des protéines (SSB), un nouveau brin d'ADN appelé un brin directeur est synthétisé de façon continue par l'ADN polymérase , pour synthétiser l'autre brin il faut un court segment (amorce ARN) , ça synthétise et catalyse par l'ARN polymérase, une fois que l'amorce est insérée , l'ADN polymérase peut ajouter des nucléotides à l'extrémité (3'), l'ADN polymérase 1 retire l'amorce ARN et une autre enzyme d'ADN ligase réunit les fragments d'ADN nouvellement synthétisés appelés les fragments (OKAZAKI).

#### ❖ Le plasmide :

Les plasmides sont des structures extrachromosomiales homogènes formés généralement d'ADN bicaténaire circulaire 1-400 kb (kilo base), on les trouve principalement chez les bactéries mais aussi chez certains microorganismes eucaryotes tel que *Saccharomyces cerevisiae* , ils peuvent exister à une copie unique ou à copie multiple , il existe plusieurs types de plasmides qui diffèrent par leurs propriétés .

#### ➤ Les plasmides chez les procaryotes :

- 1- **Plasmide F** : est un plasmide conjugatif qui porte des gènes codants pour les pili sexuels et le transfert d'une copie de plasmide à une autre bactérie.
- 2- **Plasmide de résistance (R)** : porte des gènes qui rendent la cellule hôte résistante aux antibiotiques , aux métaux lourds , aux toxines cellulaires , aux bactériophages et aux radiations (rayon x, ultraviolet...).
- 3- **Plasmide métabolique** : porte des gènes qui déterminent la synthèse des enzymes lesquelles déclenchent le catabolisme des substances.

**4- Plasmide des antibiotiques :** ces plasmides codent la synthèse d'une protéine extracellulaire dont la biosynthèse est létale pour les autres bactéries, on trouve :

- colicine (plasmide P COL E1)
- pyocine chez certaines pseudomonas.

**5-Plasmide de virulence :** il porte des gènes codants des facteurs de virulence ayant un rôle dans le pouvoir pathogène des bactéries.

**EX :** - les plasmides (yop) qui interviennent dans la virulence de Yersinia.

-chez Agrobacterium, le plasmide (Ti) porte une vingtaine de gènes de virulence.

➤ **Les plasmides chez les eucaryotes :**

Les plasmides eucaryotes sont peu nombreux et se rencontrent chez les levures, le plus connu est le plasmide (2μ) de Saccharomyces cerevisiae, ce plasmide à ADN double brin circulaire est présent à raison de 50-100 copies par cellule, sa réplication s'effectue dans le noyau, il est constitué de 6318 paires de bases (pb) dont deux séquences sont identiques mais inversées, il contient une seule origine de réplication (ARS) et quatre gènes impliqués dans la recombinaison et la génèse des deux formes de plasmide (le gène FLP) et dans le contrôle de l'amplification et de la stabilité (REP1-REP2-D), de plus il existe une région (STB) qui joue un rôle dans la répartition des plasmides dans les cellules filles à la méiose et une autre région (FRT) qui est le site de reconnaissance de la protéine (FLP).

## CHAPITRE 2 :

# MUTATION ET MECANISME DE REPARATION DE L'ADN

❖ **Définition de la mutation :**

Est une modification stable et héréditaire du matériel génétique d'un individu

❖ **Caractéristique de la mutation :**

- 1- **La mutation est rare et spontanée :** la rareté de cette mutation peut être mesurée par le taux de mutation (entre  $10^{-2}$  à  $10^{-3}$ ) selon les espèces et le caractère concerné.
- 2- **La mutation est stable et héréditaire :** la mutation est un caractère stable et héréditaire dans le temps car c'est l'ADN qui est modifié et transmet d'une génération en génération.
- 3- **Spécificité et indépendance :** une bactérie mutante peut subir une seconde mutation indépendante à la première.

❖ **Les types de mutation :**

I) **Mutation ponctuelle :** elle met en cause une seule paire de base, on distingue les cas suivants :

1. **Substitution :** lorsqu'une base purique est remplacée par une base purique ou une base pyrimidique est remplacée par une base pyrimidique (transition). Quand une base purique est remplacée par une base pyrimidique (transversion).
2. **Délétion :** une paire de base est perdue, il en résulte une modification de la lecture de l'information génétique.
3. **Insertion :** une paire de base est rajoutée.
4. **Modification :** une paire de base est modifiée, les principales modifications sont :
  - La formation de forme tautomère (modification de structure de bases azotées).
  - La désamination de la cytosine, il devient uracile.
  - La dépurination : la perte de bases puriques
  - La formation des dimers (liaisons covalentes entre deux T ou deux C).

II) **Mutation par remaniement :** cette mutation touche un fragment d'ADN, on distingue les catégories suivantes :

- 1- **Délétion :** il s'agit de la perte d'un fragment d'ADN.
- 2- **Inversion :** il s'agit de retournement d'un fragment d'ADN.
- 3- **Translocation :** est le passage d'un segment d'une position à une autre sur le même chromosome ou sur un autre.
- 4- **Duplication :** il s'agit d'une répétition d'une séquence ou d'un fragment d'ADN.

- ❖ **Taux de mutation** : est la probabilité d'apparition d'un mutant au sein d'une population pendant un intervalle de temps donné, il dépend de la nature de la mutation, de l'agent mutagène et de son dosage.
- ❖ **Les agents mutagènes** : il existe de nombreux agents à pouvoir mutagène ; la plupart peuvent être utilisés pour obtenir une mutation induite :

### **Les agents physiques :**

- **Les radiations ultraviolettes** : les radiations uv les plus efficaces sont celles de longueur d'onde comprise entre 200 et 300 nm, ils s'effectuent essentiellement sur les bases pyrimidiques en donnant une dimérisation (dimers entre deux T ou C) et provoquent également des transitions et des délétions.
- **Les rayons X et γ** : provoquent chez les moisissures des simples et des doubles cassures au niveau des ponts phosphodiester ainsi que des désaminations (perte d'un groupement amine) et déshydroxylation des bases.

### **Les agents chimiques :**

- **Les analogues de bases** : provoquent le changement d'une base au cours de la réplication.  
**EX1** : 5 bromo-uracile ; il s'agit d'un analogue de la thymine qui s'appareille avec l'adenine, ainsi lors de la réplication, la paire A-T est remplacée par G-C.  
**EX2** : aminopurine : analogue de l'adenine, s'appareille avec des bases pyrimidiques.
- **Les agents de transformation** : les acides nitreux (HNO<sub>2</sub>) : ces acides induisent des deshydroxylation et désaminations oxydatives  
**EX** : adenine → hypoxanthine.
- **Les agents intercalants** : leur capacité de s'insérer entre deux paires de bases d'ADN et créer des décalages au sein de la molécule d'ADN produisant le plus souvent des mutations par addition d'une ou plusieurs paires de bases.  
**EX** : Bromure d'éthidium.

### **Les agents biologiques :**

**EX** : les éléments transposables.

- ❖ **Mécanisme de réparation de l'ADN :**

- 1- Par excision (resynthèse) :** l'exposition au U.V provoque des lésions de l'ADN sous forme de liaisons covalentes entre deux T situés sur le même brin d'ADN , la réparation débute par la rupture des ponts phosphodiester par l'action d'une endonucléase et excision des nucléotides impliqués dans la lésion par l'action d'une exonucléase , l'ADN polymérase synthétise la partie excisée puis soude le brin par l'ADN ligase.
- 2- Par recombinaison :** ce système corrige les erreurs introduites durant la réplication de l'ADN , les dimères de deux T ne peuvent être répliqués au niveau de ce site, l'ADN polymérase peut sauter la lésion sans s'arrêter et continuer la synthèse de l'ADN en aval à partir de l'ADN matrice, laisser en place une lacune dans le brin d'ADN synthétisé , cette lacune peut être remplacée par une recombinaison médiée par une protéine (Rec A) avec le brin d'ADN qui contient la séquence.
- 3- Par S.O.S :** le système S.O.S regroupe un ensemble de gènes qui sont impliqués dans la réplication de l'ADN , dans la réparation de l'ADN et dans la division cellulaire, il fonctionne comme un système de type opérateur, on se trouve face à deux états qui utilisent ou non les protéines (Rec A) « protéine de recombinaison chez les procaryotes » :
  - un état non induit durant lequel (lex A : le répresseur) se fixe à l'opérateur en réprimant la synthèse des protéines impliquées dans la réponse S.O.S de la cellule.
  - un état induit avec Rec A qu'il va cliver les protéines (lex A) qui permettent la synthèse des protéines de réparation.

## CHAPITRE 3 :

### RECOMBINAISON GENETIQUE ET ELEMENTS TRANSPOSABLES

❖ **Recombinaison génétique :**

La recombinaison génétique est l'échange de gènes entre deux molécules d'ADN qui donne lieu à la formation de nouvelle combinaison de gènes sur un chromosome, on peut distinguer deux types de recombinaisons :

**a) Recombinaison homologue :** est l'échange de l'information génétique entre deux molécules d'ADN double brin avec des séquences identiques ou très similaires, chez les bactéries l'échange génétique est médié par une protéine Rec A.

**b) Recombinaison non homologue :** il existe plusieurs cas de recombinaison qui se produisent entre les éléments génétiques non homologue avec des sites spécifiques.

**EX :** phage – chromosome

Plasmide – chromosome

Transposant – chromosome

Transposant – plasmide.

❖ **Les éléments transposables :**

Sont des petits segments d'ADN qui peuvent se déplacer par transposition d'une région à une autre, il existe plusieurs types de transposants chez les bactéries :

- **Séquence d'insertion (Is) :** les éléments d'insertion formés de fragments d'ADN qui peuvent s'intégrer sur des sites spécifiques, ils ont une taille de l'ordre d'un millier de paires de bases et possèdent à chaque extrémité de courte séquence terminale identique et inversée. Ces séquences encadrent le gène de la transposase.
- **Transposants complexes :** on peut placer les transposants complexes en deux catégories :
  - **place 1 :** possède des déterminants de résistance à divers produits situés entre deux copies (Is) ou séquence d'insertion, le plus souvent inversées (Tn 10 avec Is 10).
  - **place 2 :** comporte de courtes séquences inversées encadrant à chaque bout un ensemble constitué de gènes de résistance et un gène de transposition (Tn1, Tn3, Tn7).

## CHAPITRE 4 :

## TRANSFERT GENETIQUE



**1- Conjugaison :** La conjugaison est un transfert génétique uni-directionnel qui s'effectue entre des bactéries sexuellement différenciées et qui nécessite un contact étroit entre une bactérie donneuse et une bactérie receveuse. En 1946 Lederberg et Tatum ont trouvés l'existence de transfert génétique entre deux souches poly-auxotrophes ; souche A et B ; la souche A est thr<sup>+</sup>, leu<sup>+</sup>, B<sup>+</sup>, phe<sup>-</sup>, Bio<sup>-</sup>, la souche B est thr<sup>-</sup>, leu<sup>-</sup>, B<sup>-</sup>, phe<sup>-</sup>, Bio<sup>-</sup> ; le mélange de ces deux souches permet l'apparition des colonies recombinantes phototrophes. En 1952 William Hayes montra que les deux souches n'ont pas le même comportement et il démontra qu'il ya une différenciation sexuelle entre les souches A et B. Au cours de la conjugaison le plasmide F se réplique et une copie de son ADN est transférée à la cellule F<sup>-</sup> « grâce au pili sexuel » qui devient alors F<sup>+</sup>, chez certaines bactéries le facteur F s'intègre au chromosome convertissant la cellule F<sup>+</sup> en cellule Hfr (Haute fréquence de recombinaison).

Quand la conjugaison s'effectue entre une cellule Hfr et une cellule F<sup>-</sup> ; le chromosome de la cellule première se réplique et un brin est transféré à la cellule receveuse pour donner une cellule Hfr ou une cellule recombinée.

**2- Transformation :** La transformation est un transfert génétique au cours duquel l'ADN bicaténaire est introduit dans une bactérie réceptrice puis intégrer au chromosome. La transformation a été mise en évidence chez Streptocoques pneumonie par Griffith en 1928, préalablement les travaux d'Avery et ses collaborateurs avaient montrés que l'ADN est la substance responsable de la transformation.

✓ **Mécanisme de la transformation :**

Certaines souches bactériennes sont naturellement compétentes c-à-d qu'elles ont la capacité à capturer l'ADN étranger ; cette compétence a été bien identifiée chez quelques espèces bactériennes telque Streptococcus, Staphylococcus, Neseria, Bacillus subtilus, Hymophylus.

La transformation s'effectue par les étapes suivantes :

- Fixation : l'ADN à l'état bicaténaire se fixe au niveau d'un site récepteur.
- Pénétration : fait intervenir une endonucléase membrabaire qui dégrade l'un des brins et favorise la pénétration de l'autre.
- Intégration : se fait par recombinaison homologue entre les deux brins d'ADN.

- ✓ Chez les bactéries à gramm positif l'état de la compétence nécessite l'apparition à la surface de la cellule d'un complexe protéique.
- ✓ Chez les bactéries à gramm négatif, l'état de compétence et la capture de l'ADN sont associés à la présence de petites vésicules membranaires appelées « transformasomes », l'ADN est capturé par ces vésicules et il est transporté dans l'espace périplasmique et il est dégradé en un seul brin d'ADN.

**3- Transduction :** Par l'intermédiaire d'un phage qui est le vecteur d'exogène, ce phénomène est aussi répandu chez les entérobactéries, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*.

Lors de ce processus, l'ADN bactérien est transféré d'une cellule donneuse à une cellule receveuse après avoir transporté à l'intérieur d'un phage, il existe deux types de transduction :

- ✓ **Transduction généralisée :** due à des phages virulents et un fragment d'ADN bactérien qui peut être au capsid par erreur, la particule virale qu'en résulte incorpore l'ADN dans une autre cellule bactérienne. Cette transduction est qualifiée et généralisée, après les transferts d'ADN dans une autre cellule receveuse, des modalités sont possibles :
  - 1- Le fragment d'ADN va s'intégrer par recombinaison homologue et tous les descendants des bactéries réceptrices portent l'ADN transféré, on dit que la transduction est complète.
  - 2- Le fragment d'ADN reste libre et va peu à peu disparaître, on dit que la transduction est abortive.
- ✓ **Transduction spécialisée (localisée) :** elle est réalisée par des phages tempérés à site d'intégration spécifique, elle ne correspond pas à une erreur lors de capsidation, mais à une excision anormale ou pro-phage, un segment de chromosome est importé, les particules virales qui contiennent ces gènes vont infecter la nouvelle cellule dans laquelle tout le phage peut s'intégrer dans le chromosome bactérien pour former un lysogène.

## CHAPITRE 5 :

# GENETIQUE DES BACTERIOPHAGES

Les bactériophages sont des virus qui infectent les bactéries, sont constitués d'un génome sous forme ADN ou ARN entourés par une capside.

❖ **Classification des phages :**

- 1- **Phage à ADN double brin linéaire** : on trouve dans cette catégorie les phages T1, T2, T3, T4, le phage  $\lambda$  d'*E.coli*.
- 2- **Phage à ADN double brin circulaire** : le phage PM2 de *Pseudomonas*.
- 3- **Phage à ADN simple brin circulaire** : le phage  $\phi$ X174, le phage M13 d'*E.coli*.
- 4- **Phage à ARN simple brin** : on trouve ce type chez les phages MS2, M12, R17, d'*E.coli*.
- 5- **Phage à ARN double brin** : cette organisation est peu fréquente, on trouve le phage Q6 à la particularité de posséder une enveloppe lipidique.

❖ **Cycle de multiplication :**

La multiplication d'un phage comporte 6 étapes :

- 1- **Fixation ou attachement** : l'infection d'un hôte par le phage commence par la liaison du phage à des récepteurs spécifiques à la surface de la cellule.
- 2- **Pénétration** : seul le matériel génétique est injecté dans l'hôte laissant la capside vide à la surface de la cellule.
- 3- **Réplication, transcription et traduction** : l'acide nucléique (ADN ou ARN) est transcrit et traduit pour produire les enzymes qui catalysent la synthèse des nouveaux acides nucléiques phagiques (viraux), elles sont appelées protéines non structurales, et après un certain temps démarre la synthèse des protéines structurales, une fois une quantité suffisante des capsides et acides nucléiques a été synthétisée ; les nouvelles particules du phage s'assemblent.
- 4- **Libération** : de nombreux phages sont libérés après la lyse de la cellule bactérienne.

❖ **Le cycle lytique :**

Si un phage virulent infecte une cellule bactérienne, la réplication de son génome et la synthèse des constituants viraux s'effectuent en différentes phases :

- **Phase hyperprécoce** : un gène traduit pour donner la transcriptase.

- **Phase précoce** : conduit à la synthèse d'une disoxyribonucléase qui clive le génome bactérien, et à la synthèse des enzymes de réplication.
- **Phase tardive** : au cours de cette phase seront synthétiser les protéines structurales, protéines d'assemblage et les lysozymes.

❖ **Le cycle lysogénique :**

Après la pénétration du génome phagique **EX : le phage  $\lambda$  d'*E.coli*** l'ADN phagique se circularise et s'intègre dans le chromosome bactérien, cette intégration fait intervenir l'intégrase ainsi que des sites d'attachement présents sur l'ADN phagique (aTTP) et sur l'ADN bactérien (aTTB).

Le pro-phage reste stable pendant de nombreuses générations.

Le basculement à un cycle lytique est induit par un certains nombre d'agents physiques ou chimiques, en réponse à ces agents, l'ADN phagique est excisé du chromosome par excision anormale, les gènes phagiques s'expriment alors et les protéines capsidiques sont synthétisées, la cellule est lysée et les nouvelles particules phagiques produites seront libérées.