



GENETIQUE BACTERIENNE ET VIRALE

GENETIQUE COURS

DR MAMMERIA AICHA BEYA

2EME ANNEE BIOLOGIE

Univ. Badji Mokhtar Annaba



GENETIQUE BACTERIENNE ET VIRALE

1. Introduction :

Cellule procaryote (Bactérie)

Les procaryotes regroupent les archées et les bactéries.

Les bactéries sont des micro-organismes le plus souvent unicellulaires. Leur taille est réduite entre 1 μm et 10 μm , les plus grosses peuvent mesurer plus de 500 μm .

L'organisme unicellulaire doit assurer toutes les fonctions vitales (se nourrir, proliférer, etc.).

Bien qu'a priori autonome, cette cellule dépend tout de même d'autres cellules.

1- Morphologie et association des bactéries

Se présentent sous formes sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), plus ou moins spiralées (spirilles), etc.

Les bactéries se regroupent : par paire (diplocoque, diplobacille) par tétrade ou en amas plus ou moins réguliers (staphylocoque) et en chaînettes (streptocoques, streptobacilles).

2- Structures cellulaires d'une bactérie

Les bactéries (figure 1) n'ayant pas de noyau (ADN double-brin circulaire libre dans l'hyaloplasme)

Les bactéries se reproduisent par scissiparité ou fission binaire (asexuée). Le matériel génétique est dupliqué (par répllication de l'ADN), puis la bactérie s'allonge et se produit la synthèse d'un septum transversal au milieu de la cellule, aboutissant à la séparation des deux cellules filles identiques à la cellule mère (figure 7). Donnant des cellules identiques (Clones) : colonie.

Or, à la fin des années 1940, on démontra que les bactéries pouvaient échanger des gènes.

On identifia trois modes de recombinaison bactérienne. Unidirectionnels, ces transferts :

- N'affectent qu'un seul des deux organismes impliqués dans l'échange de matériels génétique ;
- Reposent sur l'existence de bactéries donatrices (l'exogénote) et de bactéries réceptrices (l'endogénote) ;
- N'exigent pas nécessairement de contact entre les organismes échangeurs.

Ces modes de transfert de gènes sont la transformation, la conjugaison et la transduction.

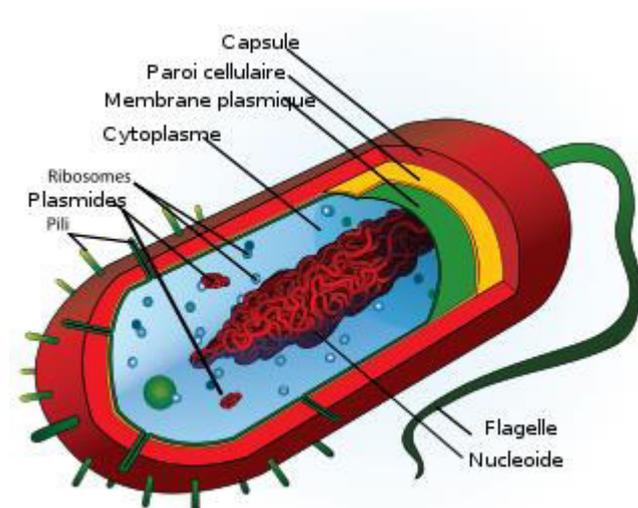


Figure 1 : Schéma de l'ultrastructure d'une cellule bactérienne typique (Wikipedia).

2-1 : Paroi bactérienne

C'est une enveloppe rigide et résistante, présente chez toutes les bactéries à l'exception des mycoplasmes.

La composition de la paroi est différente selon les groupes de bactéries. La coloration de GRAM, met en évidence deux types de parois :

A- Gram positif : La paroi des cellules gram-positives est formée d'une seule couche homogène de peptidoglycane de 20 à 80 nm d'épaisseur qui se trouve à l'extérieur de la membrane plasmique.

Figure 2: Composition chimique des parois bactériennes Gram +.

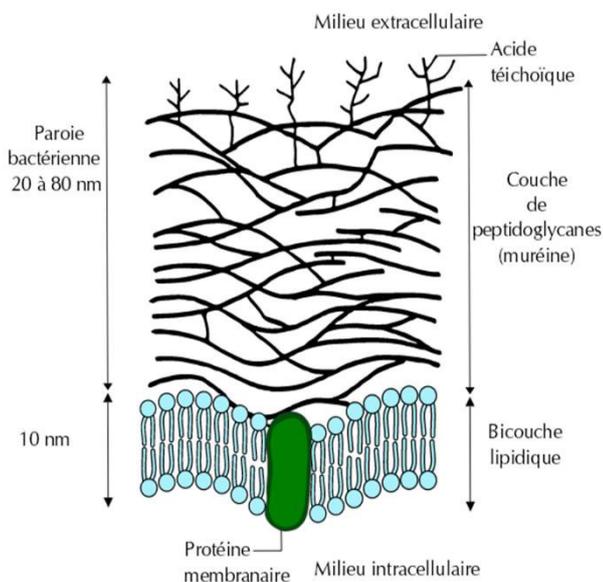
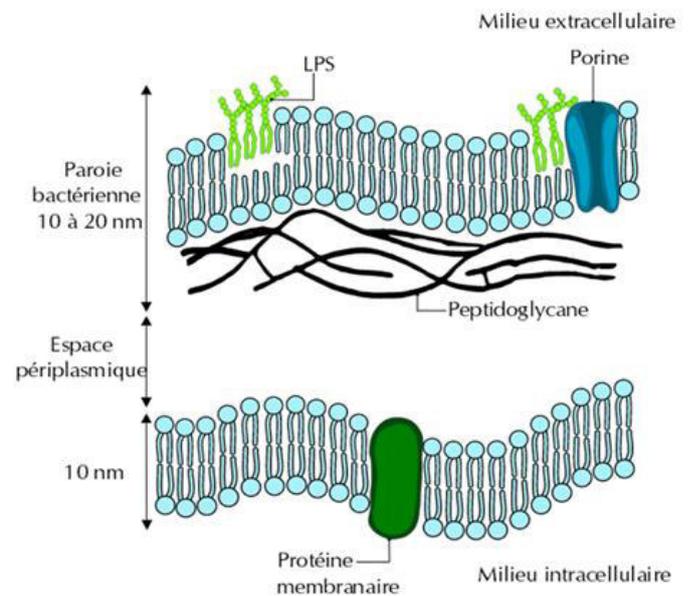


Figure 3: Composition chimique des parois bactériennes Gram -



Le peptidoglycane des Gram + est traversé latéralement par de grandes chaînes polymériques qui le relient à la membrane plasmique.

Leurs paroi épaisse, leur donne une résistance à la déshydratation, aux chocs physiques et aux antibiotiques.

B- Gram négative :

La paroi est fort complexe, contient une couche de peptidoglycane entourée d'une membrane externe épaisse de 10 à 20 nm. Il y a souvent un espace visible au microscope électronique entre la membrane plasmique et la membrane externe, cet espace s'appelle espace périplasmique ou périplasma. La membrane externe est en contact direct avec le milieu extérieur. Elle est essentiellement composée de phospholipides organisés en bicouche (hydrophile à l'extérieur et lipophile à l'intérieur) mais contient aussi de nombreuses protéines intrinsèques (transport) : porines.

La membrane externe est reliée au peptidoglycane par la lipoprotéine de BRAUN.

Énormément de bactéries Gram négatif (par exemple la Salmonella) possèdent aussi un composé nommé lipopolysaccharide (LPS). Ce composé pathogène s'active lors de la lyse de la bactérie.

- Coloration de Gram

Hans Christian GRAM qui l'a mis au point 1884, permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, pour les classifier.

Réalisation de la coloration

1. Coloration primaire : on verse quelques gouttes de violet de gentiane (cristal violet) :

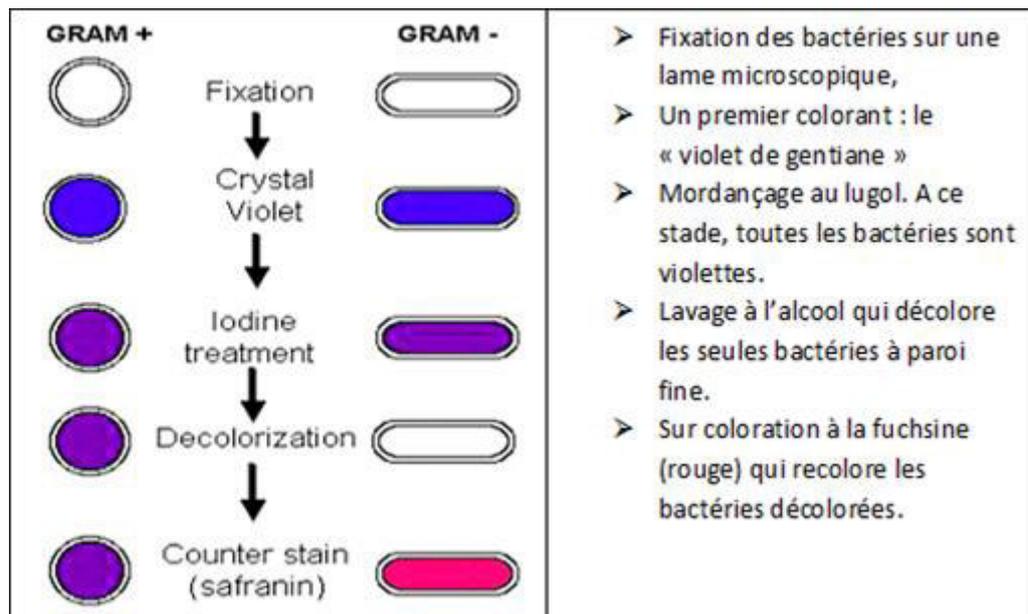
Le violet de gentiane traverse les parois et membranes et se fixe sur les composants cytoplasmiques et colore en violet le contenu de la bactérie.

2. Fixation : avec une solution de lugol (iodure de potassium iodée) : permet de fixer la coloration interne.

3. Décoloration : avec de l'alcool ou un mélange alcool-acétone : décolore le cytoplasme des bactéries qui seront dites « Gram - ». Leur Paroi pauvre en peptidoglycanes (plus fine), va laisser passer l'alcool ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane.

Le contraire, pour les bactéries « Gram + » dont la paroi est imperméable à l'alcool car elle est composée d'une couche de peptidoglycane plus importante, resteront violettes.

4. Re-coloration : on ajoute de la safranine ou de la fuchsine. Cette contre-coloration permet de visualiser au microscope en teinte rose les bactéries Gram - déjà décolorées. Les bactéries à Gram + restent violettes.



I- La transformation génétique

La transformation est le transfert de gènes résultant de l'absorption d'ADN nu par une cellule receveuse à partir d'une cellule donneuse. Certaines bactéries (ex : Bacillus, Haemophilus, Neisseria, Pneumococcus) peuvent absorber de l'ADN à partir de l'environnement et l'ADN absorbé peut être incorporé dans le chromosome du receveur.

Historique (rappel) :

- En 1928, Frederick Griffith a constaté qu'en injectant à une souris des pneumocoques de souche R ("rough" et non virulents) ainsi qu'une petite quantité de pneumocoques S ("smooth", virulents) tués, la souris meurt et on récupère des pneumocoques des deux souches dans son sang. Griffith en a déduit l'existence d'un "principe transformant" appelé transformation.
- En 1944 Oswald Avery, reprendra les travaux de Fred Griffith et mettra en évidence le stockage de l'information génétique sur l'ADN où il utilisera des souches de pneumocoques S (smooth) virulents et R (rough) non virulents. À la différence des travaux de Griffith il injectera des mélanges des 2 souches (souche R + acides nucléiques de S). Il en déduira que l'ADN est le support de l'information génétique car il constatera que les souris meurent lorsqu'on leur injecte les acides nucléiques (ADN) de S, la souche virulente.

-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 (bactéries compétentes). D'autres bactéries ne sont pas capables d'absorber de l'ADN naturellement, mais on peut l'induire *in-vitro* par traitement chimique (ex : CaCl₂).

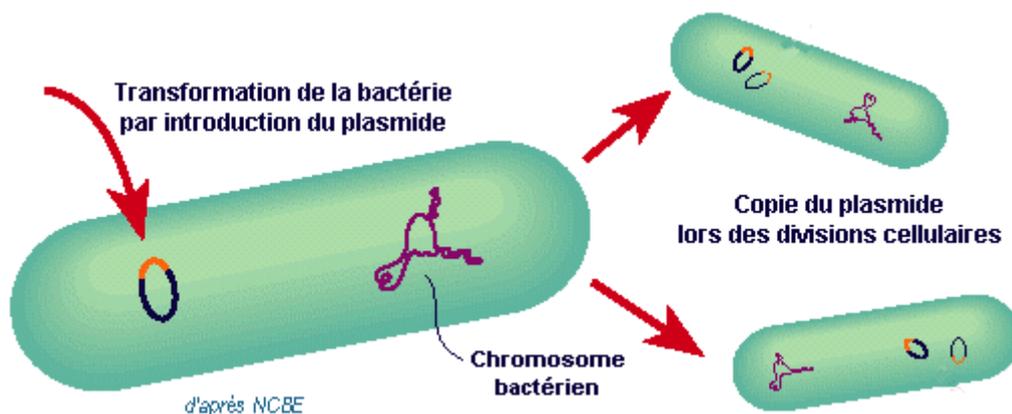


Figure 4. La transformation bactérienne.

2. Etapes de la transformation

2.1. Absorption de l'ADN

L'absorption d'ADN diffère pour les bactéries en fonction qu'elles soient Gram + ou Gram -. Dans les bactéries Gram+ l'ADN est absorbé sous la forme d'une molécule simple brin et le brin complémentaire est fabriqué chez le receveur. Par contraste, les bactéries Gram - absorbent l'ADN sous forme de double brin.

2.2. Recombinaison légitime/homologue/générale

Après que l'ADN du donneur ait été internalisé, un évènement de recombinaison réciproque a lieu entre le chromosome et l'ADN donneur. Cette recombinaison nécessite une homologie entre l'ADN donneur et le chromosome ce qui résulte en la substitution de l'ADN entre le receveur et le donneur comme illustré sur la figure 5.

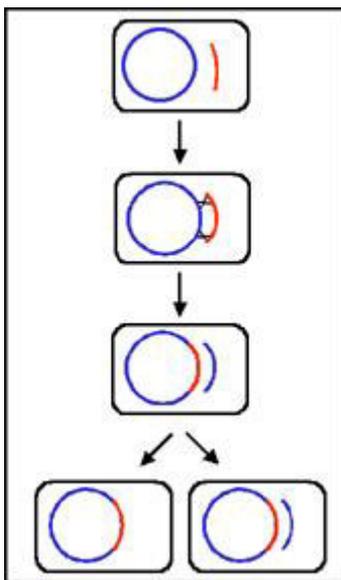


Figure 5 : Recombinaison générale. L'ADN donneur (en rouge) et l'ADN receveur (bleu).

La recombinaison nécessite les gènes (recA, B et C) et une homologie entre les ADN impliqués. Ce type de recombinaison est appelé légitime ou homologue ou générale. A cause de la nécessité d'une homologie entre les ADN du donneur et de l'hôte (seulement l'ADN de bactéries fortement apparentées qui peut se transformer de manière efficace).

II. Conjugaison bactérienne :

C'est le transfert unidirectionnel d'ADN d'un donneur (mâle) à un receveur (femelle) par contact physique direct entre les cellules.

Le matériel génétique échangé un plasmide, ou un fragment du chromosome se fait par un tube de conjugaison appelé le pilus sexuel.

1. Types de reproducteurs chez les bactéries

A. Donneur

Pour que la Bactérie soit donneuse, faut qu'elle contient dans sa cellule un morceau supplémentaire d'ADN circulaire appelé facteur F.

Le facteur F (fertilité ou facteur sexuel) : Ces morceaux d'ADN extrachromosomiques sont des réplicons indépendants (répliquer de manière autonome), ont le nom générique de **plasmide**.

Le facteur F porte des gènes qui sont nécessaires à sa réplication et pour sa capacité à transférer de l'ADN au receveur, le facteur F code pour produire un pilus sexuel (pilus F) à la surface de la bactérie, important pour le processus de conjugaison.

Les plasmides comportent souvent des gènes conférant des avantages sélectifs :

Plasmide de résistance : porte des gènes codant pour des enzymes capables d'inactiver ou de modifier certains antibiotiques et confèrent une résistance aux antibiotiques chez les bactéries qui les contiennent.

Plasmide de virulence : porte des gènes codant pour des toxines ou autres substances dangereuses, rendant les bactéries plus pathogènes.

Plasmide métaboliques : porte des gènes d'enzymes qui métabolisent divers substances telles que des sucres, des pesticides, etc.

B. Receveur

Absence du facteur F.

Les pili (singulier pilus)/ Fimbriae

Des appendices composés de piline (PM= 17000), (Gram -). (Visible au microscope électronique à transmission), fixés au niveau de la membrane cytoplasmique, en existe deux types selon leurs fonctions (figure 8):

Les pili communs : Permettent aux bactéries d'adhérer à certaines surfaces comme les muqueuses et sont donc des facteurs de virulence. Ils sont distribués en grand nombres autour de la bactérie, environ une centaine.

Les pili sexuels ou pili F : Permettent la conjugaison dans le but d'échanger des plasmides. Ils sont plus longs que les pili communs et en plus faible proportion, entre un et quatre.

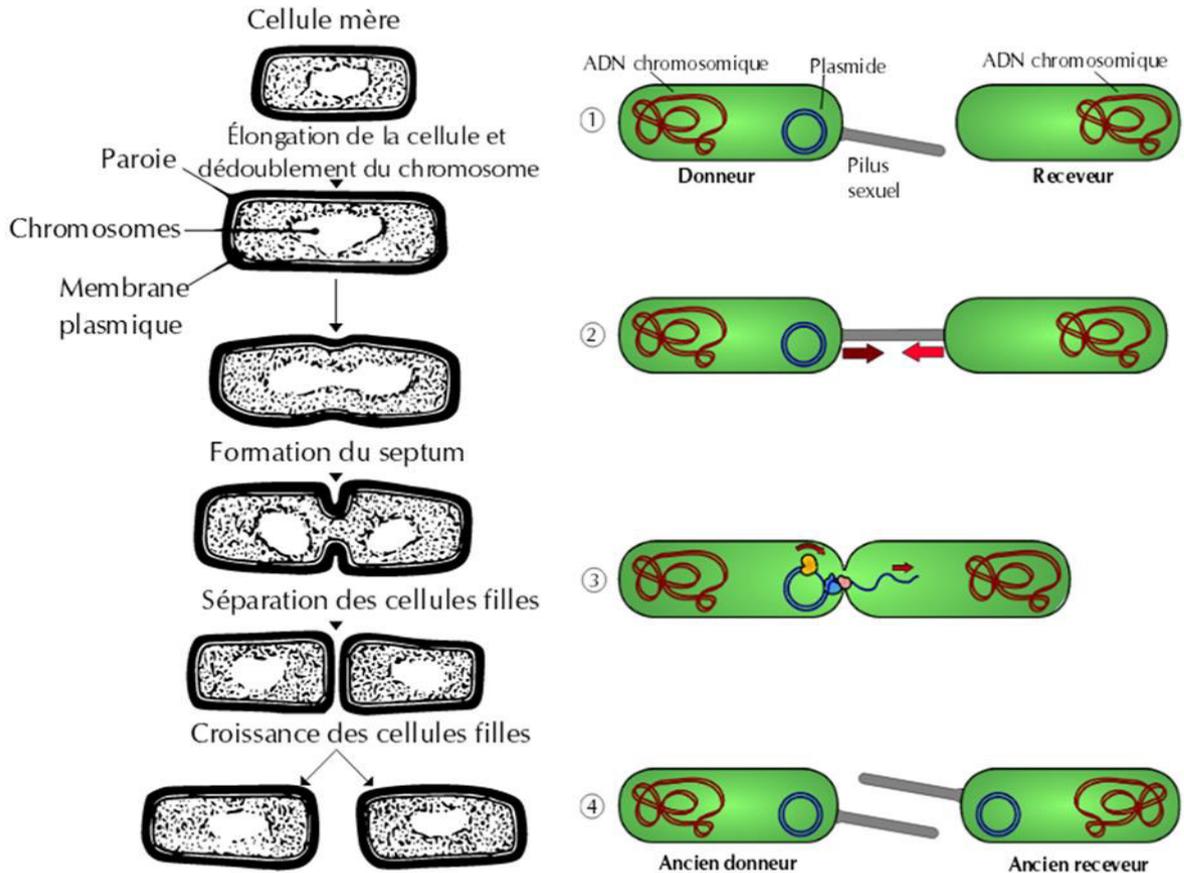


Figure 7. Gauche – Reproduction d’une cellule bactérienne/ Droite– Schéma de conjugaison bactérienne. Wikipédia

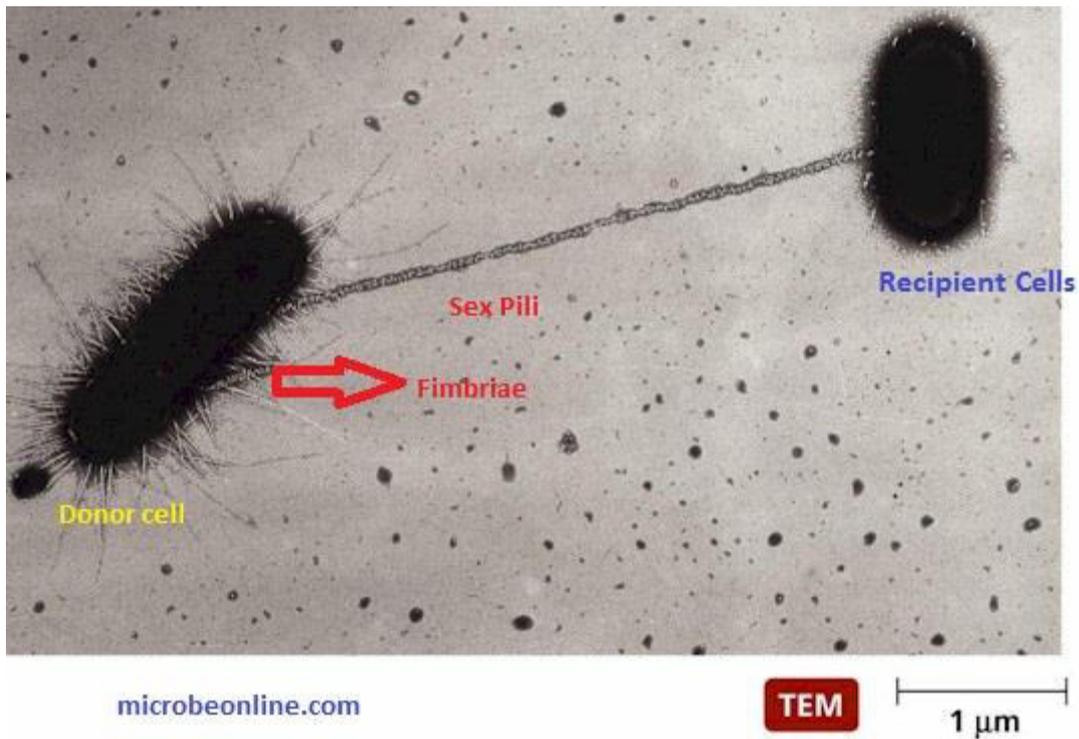


Figure 8: Pilus sexuel et commun (Wikipedia)

2. Etats physiologiques du facteur F

A. Autonome (F⁺) :

-Il n'y a pas de gène chromosomique associé avec le facteur F dans les souches F⁺. (le facteur F porte seulement les gènes nécessaires pour sa réplication et pour le transfert d'ADN).

-Lors de croisements entre les types F⁺ et F⁻ le F⁻ devient F⁺ alors que le F⁺ reste F⁺. Ainsi, le facteur F est infectieux.

B. Intégré (Hfr)

Dans cet état le facteur F n'est plus autonome, il est intégré dans le chromosome bactérien via un évènement de recombinaison on parle d'**épisode**.

Lors de croisement entre les types Hfr et F⁻ le F⁻ devient rarement Hfr et Hfr reste Hfr.

Hfr, pour Haute Fréquence de Recombinaison, capable de transférer des marqueurs chromosomiques avec une fréquence 1000 fois plus importante

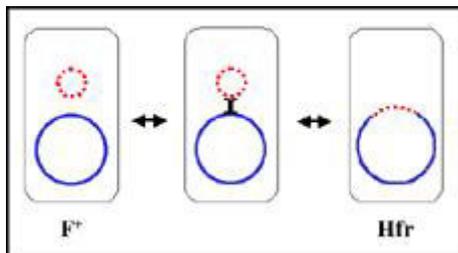


Figure 9 : Etats physiologiques du facteur F. (facteur F intégré)

C. Autonome avec gènes chromosomiques (F')

Dans cet état le facteur F est autonome mais il porte quelques gènes chromosomiques.

Les facteurs F' sont produits par excision du facteur F d'un Hfr (figure 5b). Parfois quand le facteur F est excisé d'un chromosome Hfr, les gènes du donneur situés de part et d'autre du facteur F peuvent être excisés avec le facteur F générant un F'. Les facteurs F' sont nommés selon les gènes chromosomiques qu'ils portent.

Lors de croisements entre F' et F⁻ le F⁻ devient F' alors que le F' reste F'. De plus il y a de fortes fréquences de transfert des gènes chromosomiques de F'.

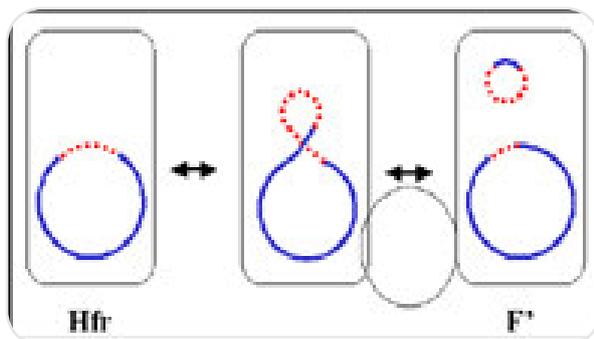


Figure 10 : Etats physiologiques du facteur F. (facteur Autonome avec gènes chromosomiques (F'))

3- Transfert du plasmide lors de la conjugaison

Le transfert entre les organismes donneur et accepteur de plasmide se fait en 4 étapes

- 1- Reconnaissance entre donneur (F+) et accepteur (F-) grâce au pilus sexuel et certaines protéines présentes sur l'extérieur de la membrane de la bactérie receveuse ;
- 2- Transfert d'un des deux brins du plasmide (de la bactérie donneuse à la receveuse et synthèse, en même temps, du brin complémentaire chez la bactérie donneuse afin de garder un plasmide avec un ADN double-brin).
- 3-Synthèse du brin complémentaire chez l'accepteur
- 4- Recirculisation du plasmide chez l'accepteur

Le transfert du matériel génétique s'effectue d'une bactérie donatrice, qualifiée de mâle à une bactérie receveuse, qualifiée femelle.

Le facteur F confère trois propriétés particulières à la cellule qui le porte :

- Il permet la production de pili sexuels,
- Il donne la capacité de transférer l'ADN dans une autre cellule,
- Il empêche la cellule d'agir comme cellule receveuse.

III. Transduction :

La transduction est le troisième mode de transfert génétique chez les bactéries. La transduction est le transfert d'information génétique à partir d'un donneur vers un receveur via vecteur viral le bactériophage. Découvert par Zindel et Lederberg en 1952, ce processus est réalisé sans contact direct. On distingue : la transduction restreinte ou spécialisée et la transduction généralisée.

1. Types de transduction

a. Transduction généralisée

La transduction généralisée est une transduction au cours de laquelle n'importe quel gène bactérien de donneur peut être transféré à un receveur (figure 11)

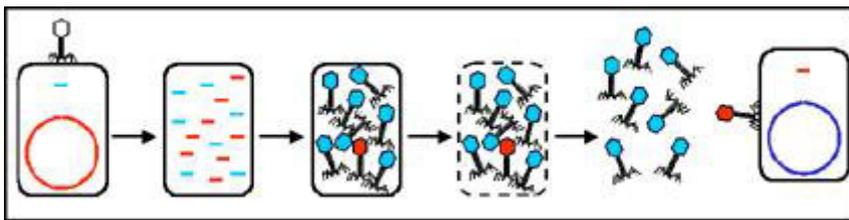


Figure 11 : Mécanisme de la transduction généralisée

- Bactériophage

Un phage se compose d'un «chromosome» d'acide nucléique (ADN ou ARN), entouré d'une paroi de protéines. Le bactériophage infecte la 1^{ère} bactérie (donneuse) et y injecte son ADN viral à travers la paroi de la cellule. De nouveaux phages s'y développent, et intègrent une partie du génome bactérien dans leur capsid de phage. Lors de la libération des phages, vont infecter d'autres bactéries. Les virus comportant une partie d'ADN bactérien vont l'injecter dans la nouvelle bactérie receveuse.

- Cycles lysogénique et lytique

L'ADN intégré se recombine avec le chromosome bactérien. L'intégration peut ensuite entraîner soit une réponse lysogénique, soit lytique.

- Lorsque la réponse lysogénique se produit, l'ADN viral n'est pas exprimé ; l'ADN viral est un **prophage (silencieux)**. La bactérie est dite **lysogène**. Ne présente pas de conséquence sur la vie de la bactérie, peut devenir lytique sous l'effet d'un stress (rayonnement ultra-violet, pression...).
- La réponse lytique consiste en la production d'un grand nombre de phages, et ensuite à l'éclatement de la bactérie infectée.

- **Lyse** : Rupture et mort d'une cellule bactérienne à la suite de la libération de la descendance d'un phage infectant.

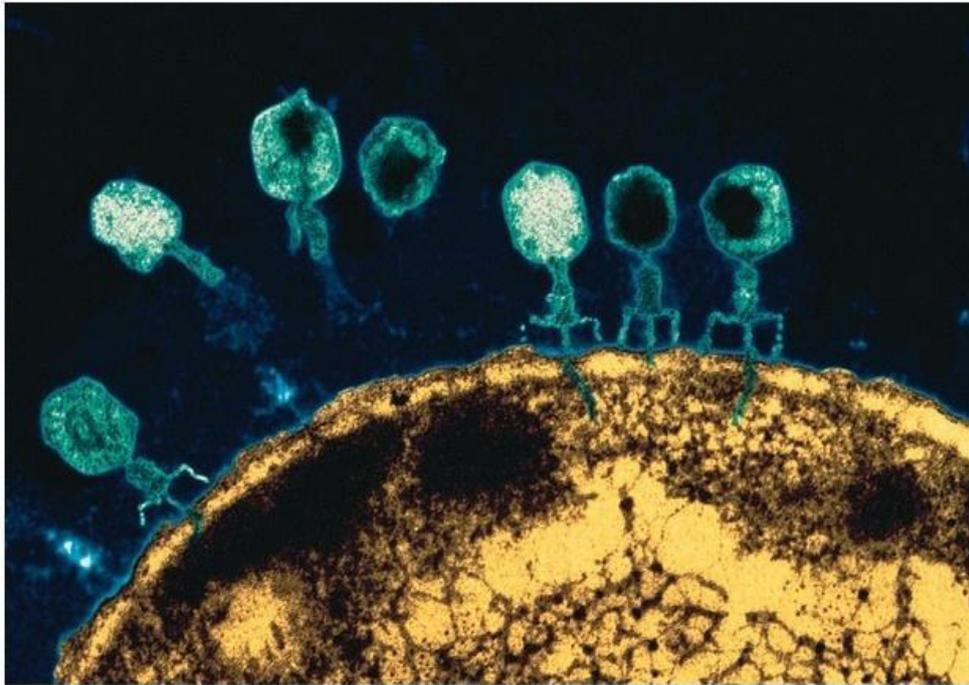


Figure 12 : Bactériophage se fixant à une bactérie

b. La transduction spécialisée : seuls quelques gènes bien déterminés sont transférés d'une bactérie à une autre.

Seules certaines parties de l'ADN bactérien peuvent être transduites. La transduction résulte d'une excision impropre du génome viral, ce qui entraîne la formation d'un génome hybride (phage-bactérie). Donc dans des conditions normales, l'ADN phagique est excisé dans son intégralité. On obtient la libération d'une molécule d'ADN hybride constituée d'un fragment d'ADN phagique et d'un fragment d'ADN bactérien.

VI-Infection Mixte (Virus)

Un virus est une entité biologique nécessitant un hôte, souvent une cellule, dont il utilise le métabolisme et ses constituants pour se répliquer. La virologie est la science qui étudie les virus. Elle est étudiée par des virologues ou virologistes.

Les virus existent sous une forme, **extracellulaire** (unité matérielle indépendante : **virion**), les virus sont infectieux, constitués au minimum d'un acide nucléique englobé dans une capsid de protéines. **Intracellulaire** (virus intégré, forme dormante), à l'intérieur de la cellule hôte, les virus peuvent se répliquer de façon indépendante par rapport au chromosome, mais non indépendamment de la cellule hôte.

1. Caractéristiques

Un virus, est un parasite intracellulaire obligatoire, incapable de se multiplier par division, il a besoin pour cela d'infecter une cellule hôte. Composé d'une ou plusieurs molécules d'acide nucléique (soit d'ADN, soit d'ARN, simple ou double brin), entourées d'une coque de protéines (capsid), ou d'une enveloppe. Ne possédant aucune enzyme pouvant produire de l'énergie.

Un virus fait 250 nm, d'autres « géants » ou « girus », comme mimivirus avec sa taille de 400 nm possèdent à la fois d'ADN et d'ARN. Les pandoravirus sont de nouveaux virus plus grand avec 1 000 nm de taille (Découvert en 2013).

2. Recombinaison et réassortiment

L'échange des gènes homologues est faisable chez les virus semblable lors de l'infection d'une même cellule.

A l'exp le VIH (Virus diploïde) en évolution peut donner lieu à de nombreux sous-types, lui permettant de se multiplier rapidement. La polymérase passera d'un brin à l'autre au cours de la réplication, favorisé, par la présence simultanée de deux exemplaires du génome.

Dans les populations humaines lorsqu'il y a une forte transmission du virus, les infections mixtes avec plusieurs sous-types sont possible avec des formes recombinantes des deux virus «parents ».

Des infections mixtes peuvent survenir en impliquant par exp un virus d'oiseau et un virus humain, les segments des virus (Fragments d'ARN), qui sont au nombre de 8 codant pour les protéines, peuvent se mélanger et donner lieu à de nombreux variants.

Le réassortiment, qui peut survenir lorsque le génome du virus est segmenté (virus de la grippe, influenza A), qui est à l'origine un virus d'oiseaux aquatiques et dans ces espèces de nombreux types différents de ce virus sont présents.

Les virus issus de ces infections mixtes présentent des combinaisons variées de segments provenant des 2 virus d'origine. La cellule infectée va synthétiser un nouveau virus issu du brassage du génome des deux parasites. Il se produit, en fait, le même type de recombinaison génétique qu'au moment de la reproduction sexuée des eucaryotes (voir figure 13).

Des réassortiments avec des conséquences moins importantes existent également : récemment on a décrit un virus influenza A H1N2 (hémagglutinine 1, neuraminidase 2) qui est un virus réassorti à partir des deux types circulant d'influenza A, H1N1 et H3N2

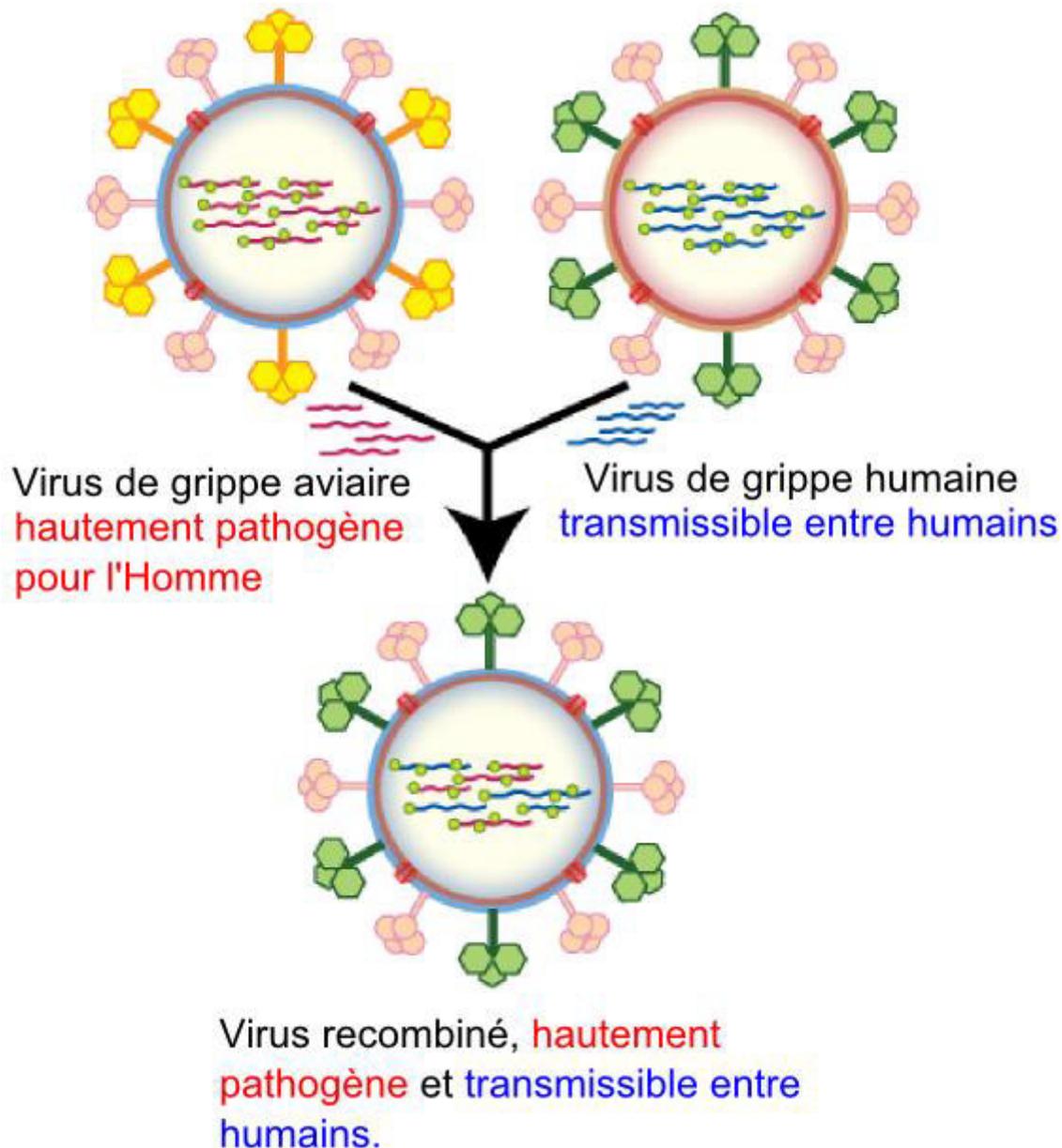


Figure 13 : La recombinaison du virus de la grippe, par réassortiment (Wikipedia)

Références

J. Lederberg, 1952, *Physiol. Rev.* 32, 403-430.

Watanabe T., *Infective heredity of multiple drug resistance in Bacteria*. *Bacteriol Rev* 1963;27:87-115

Gene Mayer. *Bacteriologie – chapitre huit. Echange d'information génétique.*, PhD. University of South Carolina School of Medicine. Columbia SC. USA. Emilie Camberlein, PhD. Maître de conférence en Biochimie. Université de Nantes. Faculté des Sciences et des Techniques

Philippe N, Legendre M, Doutré G, Couté Y, Poirot O, Lescot M, Arslan D, Seltzer V, Bertaux L, Bruley C, Garin J, Claverie JM, Abergel C., « Pandoraviruses: amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes », *Science*, vol. 341, no 6143, 19 juillet 2013, p. 281-6.

Dr. Mammeria Aicha Beya
2^{ème} Tronc-commun Biologie-Univ. Annaba- Cours Génétique

<http://www.virologie-uclouvain.be>