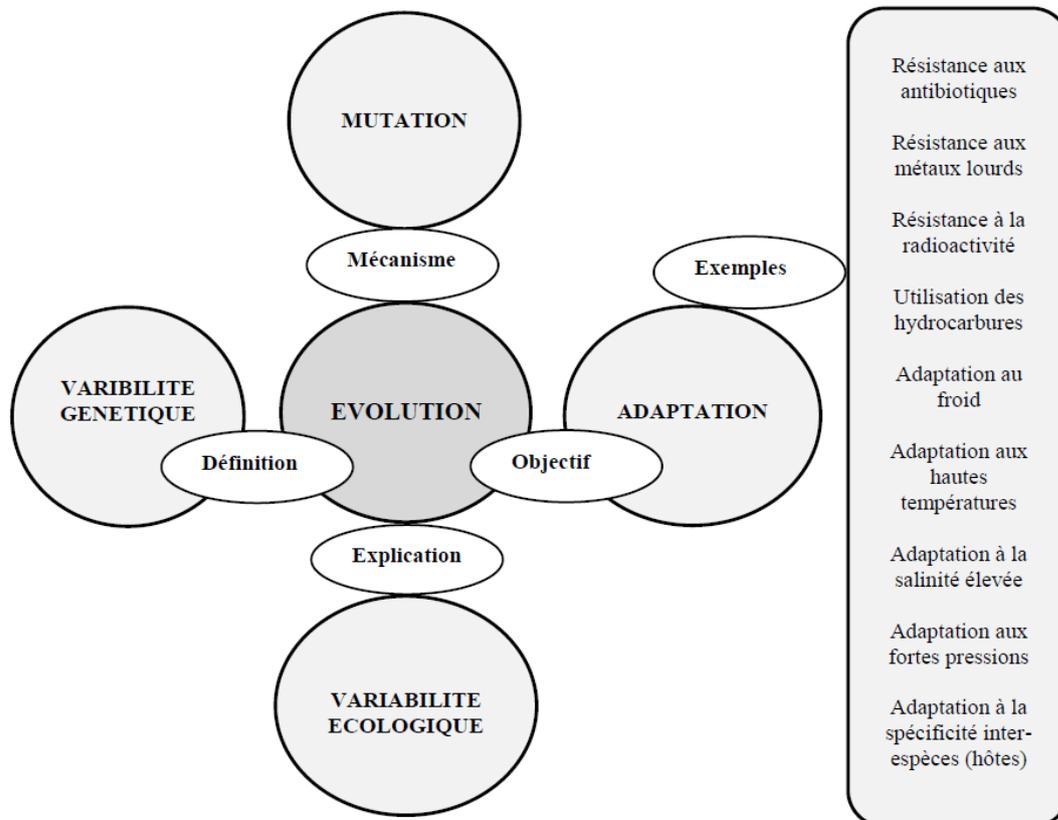


Introduction

Le résultat de l'effet d'une mutation introduite dans les gènes d'animaux supérieurs ou de plantes demandera des dizaines d'années, car leur vitesse de reproduction se mesure en années et leur nombre est relativement faible.

Au contraire, les effets d'une nouvelle mutation sur une bactérie peuvent être observés quelques heures sur les millions de cellules issues de la cellule d'origine. Si l'environnement change au-delà de leurs possibilités de réponse par l'expression de gènes existant dans leur génome, leur seule alternative est que l'un d'entre eux puisse muter de telle façon qu'apparaisse un nouveau caractère compatible ou adapté au nouvel environnement.

Les nouveaux caractères qu'une bactérie peut obtenir par un échange génétique lui permettent de s'adapter à de nouveaux environnements bien plus rapidement que par l'intermédiaire de mutations. Cette adaptabilité est importante dans les circonstances où la nouvelle information génétique acquise permet à la bactérie de survivre dans un environnement qui était auparavant létal.



Pouvoir adaptatif et plasticité vivante (Boubendir A., 2024)

PLASMIDES

Les plasmides présents dans les bactéries sont généralement des molécules circulaires d'ADN double brin. Comme une cellule bactérienne peut être dépourvue de plasmide, de nombreux plasmides existent à l'état monocopie et certains sont présents en plusieurs exemplaires, pouvant aller jusqu'à 20 ou 30 copies par cellules.

La majorité, mais non la totalité des plasmides, peut être transférée d'une bactérie à une autre par un processus appelé conjugaison. Généralement, seuls des membres très proches d'un genre bactérien peuvent échanger des plasmides, mais certains plasmides qualifiés d'ubiquitaires peuvent être transférés à des bactéries phylogénétiquement éloignées.

Les plasmides porteurs de résistance aux antibiotiques : Plasmides R

Un groupe très important de plasmides est constitué par les facteurs R (ou plasmides R) qui codent pour des déterminants de résistance aux antibiotiques. Il existe de nombreux mécanismes différents de résistance aux antibiotiques codés par des plasmides, les plus connus sont :

- La synthèse d'enzymes qui détruisent l'antibiotique
- Altération de la structure de la membrane de façon que l'antibiotique ne puisse pas entrer dans la cellule et atteindre sa cible.
- Modification de la cible moléculaire de l'antibiotique ce qui rend la cellule résistante.
- Action des pompes à efflux qui chassent les molécules d'antibiotique de l'intérieur à l'extérieur de la cellule bactérienne, etc.

La prévalence des plasmides R parmi les bactéries pathogènes (responsables de maladies) est un sérieux problème pour les médecins traitant les maladies infectieuses car la présence de ces plasmides peut limiter le choix d'antibiotiques efficaces pour le traitement de l'infection.

De plus, un plasmide peut acquérir des déterminants de résistance additionnels à partir d'autres facteurs R ; ainsi, des plasmides porteurs de multi-résistances aux antibiotiques sont fréquents (Figure 01).

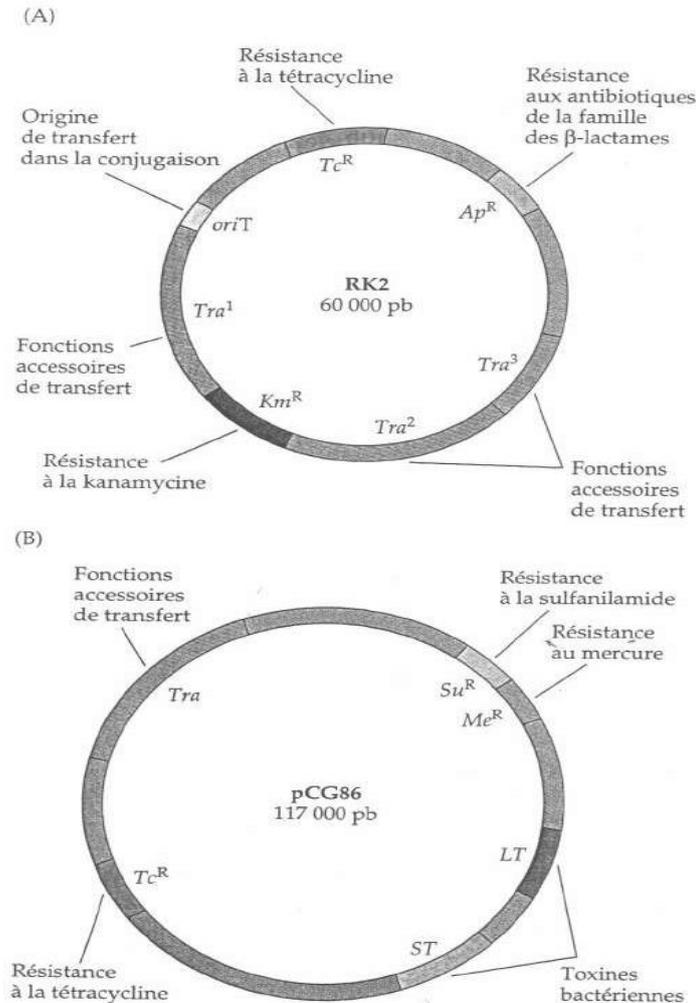


Figure 1.

Les plasmides de virulence

Les plasmides des bactéries pathogènes peuvent porter des gènes nécessaires pour la virulence qui leur confèrent la pathogénicité.

En plus aux gènes de résistance aux antibiotiques, le plasmide peut également porter des gènes codant pour des adhésines, molécules de surface nécessaires pour la colonisation des muqueuses. (Figure 01).

Egalement les plasmides peuvent coder pour des facteurs hémolytiques, protéines qui détruisent les membranes de nombreuses cellules, y compris les globules rouges.

Chez les bactéries Gram-positives, ils peuvent aussi coder pour la synthèse de toxines comme chez *Bacillus anthracis*. Un groupe de toxines insecticides est codé par un plasmide présent chez *Bacillus thuringiensis*, de même des neurotoxines sont codées par un plasmide codé par *Clostridium*.

L'infection de certaines plantes par l'agent pathogène *Agrobacterium tumefaciens* porteur du plasmide Ti, inducteur de tumeur, conduit à la formation de la gale du collet.

Un autre groupe de plasmides peut coder pour des protéines toxiques pour d'autres bactéries. Ces protéines bactéricides appelées bactériocines sont codées par des plasmides spécifiques appelés plasmides bactériocinogènes.

Plasmides codant pour des protéines impliquées dans des métabolismes particuliers

Certaines fonctions métaboliques peuvent également être codées par des plasmides, comme la biodégradation de molécules organiques complexes chez certaines espèces de *Pseudomonas*.

En effet, les plasmides peuvent coder pour des voies métaboliques de dégradation de composés aliphatiques ou aromatiques tels que le toluène, le benzène, le naphthalène, les octanes, les décane, etc. Comme de nombreux polluants environnementaux sont des molécules organiques complexes, les bactéries porteuses sont des candidates de choix pour la bioremédiation. De plus certains plasmides peuvent coder pour des fonctions de résistance aux métaux lourds.

LES ECHANGES GENETIQUES CHEZ LES BACTERIES

La bactérie peut acquérir une nouvelle information génétique, à savoir de nouveaux segments d'ADN, par trois mécanismes différents :

- la transformation, dans laquelle la cellule bactérienne « absorbe » de l'ADN libre présent dans l'environnement.
- la conjugaison, où l'ADN est transféré via un plasmide d'une cellule bactérienne à une autre.
- la transduction, où un bactériophage emporte de l'ADN bactérien d'une cellule à une autre.

TRANSFORMATION

La découverte de la possibilité de transformer une bactérie pour lui faire acquérir des caractères héréditaires par exposition à une solution d'ADN, a constitué un des faits marquants de l'histoire de la génétique. La démonstration a été menée dans une expérience en par Avery et al. (1944).

Ils ont décrit la capacité pour une souche de *Streptococcus pneumoniae* avirulente (n'entraînant pas de maladie) dépourvue de capsule protectrice, de synthétiser de nouveau une capsule et de devenir virulente, après exposition en présence d'ADN libre de souches virulentes (Figure).

Les auteurs ont ensuite montré que la possibilité de transformer une souche avirulente de *S. pneumoniae* en souche virulente, par une solution d'ADN de souche virulente, était perdue quand cette solution était soumise à l'action d'ADNases, mais pas après exposition à des protéases ni à ARNases. Ces résultats confirment que l'information génétique transmise par transformation, est portée par l'ADN et non par les protéines ou l'ARN.

Toutes les bactéries sont potentiellement capables d'être transformées à partir du moment où elles sont compétente. La compétence de transformation est caractérisée par un état membranaire particulier durant lequel la paroi généralement relativement rigide peut permettre le transport de macromolécules d'ADN relativement grosses (ce phénomène est particulièrement rare chez les bactéries).

Chez certaines bactéries comme *Haemophilus*, *Streptococcus* ou *Neisseria* la compétence est exprimée pendant un stade particulier de la division cellulaire, pendant lequel la paroi cellulaire permet le passage de l'ADN. Ces genres bactériens possèdent une compétence naturelle car leurs cellules ne nécessitent aucun traitement particulier pour augmenter leur capacité d'absorption d'ADN.

Cependant, toutes les bactéries ne sont pas naturellement compétentes, mais un traitement des cellules par du chlorure de calcium ou de rubidium ou par un choc thermique peut conduire à une altération de leur enveloppe, les rendant compétentes, cette forme de compétence est appelée compétence artificielle.

Lors de la transformation bactérienne, l'ADN linéaire est alors une cible privilégiée pour l'hydrolyse par des enzymes intracellulaires spécifiques de la dégradation de l'ADN linéaire. Cet ADN peut échapper à l'action de ces enzymes en s'intégrant dans le chromosome de la cellule réceptrice, en général par recombinaison par un seul événement de crossing-over.

CONJUGAISON

La conjugaison est un mécanisme d'échange d'ADN par l'intermédiaire d'un plasmide. La majorité, mais pas tous les plasmides sont transférables, capables de promouvoir leur propre transfert comme celui d'autres plasmides, et même de fragments d'ADN chromosomiques.

Les bactéries qui contiennent ces plasmides transférables sont dites bactéries donneuses ; les cellules qui reçoivent le plasmide sont les cellules réceptrices. Par analogie avec le transfert sexuel chez les organismes eucaryotes supérieurs, la bactérie donneuse est souvent appelée male et la réceptrice femelle (Figure).

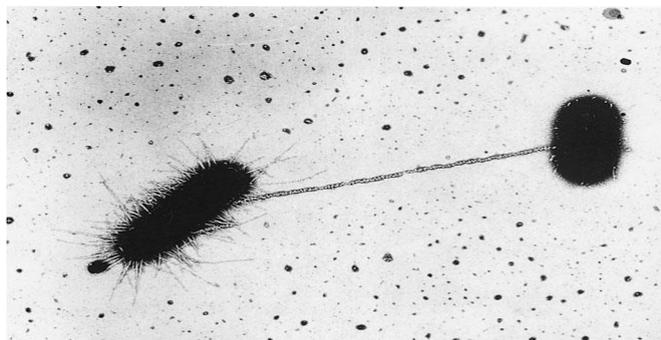


Figure. Microscopie électronique de la conjugaison bactérienne.

De nombreux gènes cellulaires sont dédiés à la promotion du transfert d'ADN par conjugaison. Ces fonctions de transfert impliquent différents gènes, comme ceux qui codent pour les composants du pilus et les protéines impliquées dans la régulation de l'expression et la biogenèse du pilus. Le pilus est un organelle formé à la surface de la cellule donneuse, qui reconnaît et initie le premier contact avec la cellule réceptrice.

Le processus de conjugaison peut être divisé en plusieurs étapes (Figure).

- contact initial entre la cellule donneuse et réceptrice vis les pili.
- stabilisation du contact et association étroite entre les deux cellules.
- formation d'un canal dans les parois cellulaires bactériennes.
- linéarisation de l'ADN plasmidique par une cassure à un site spécifiques appelé origine de transfert *oriT*.
- transfert de l'extrémité 5' du brin d'ADN dans la cellule réceptrice. Ce brin est converti en une molécule d'ADN circulaire double brin. La synthèse du brin complémentaire d'ADN est très probablement initiée avant même la fin du transfert du plasmide F.

Le transfert par conjugaison, décrit pour les plasmides F ou par les plasmides R, nécessite que le plasmide contienne toute l'information nécessaire pour son propre transfert. Ces plasmides sont appelés autotransférables. Ainsi, le transfert par conjugaison d'un plasmide autotransférable dans une cellule réceptrice, convertit cette dernière en cellule donneuse qui acquiert intégralement la capacité de se conjuguer avec d'autres cellules réceptrices.

Cependant tous les plasmides ne sont pas autotransférables. Certains plasmides ne possèdent pas certains gènes codant pour des protéines nécessaires pour les fonctions de transfert, et sont alors incapables de se transférer dans d'autres cellules. Ces plasmides ne sont pas pour autant condamnées à résider en permanence dans une cellule bactérienne donnée.

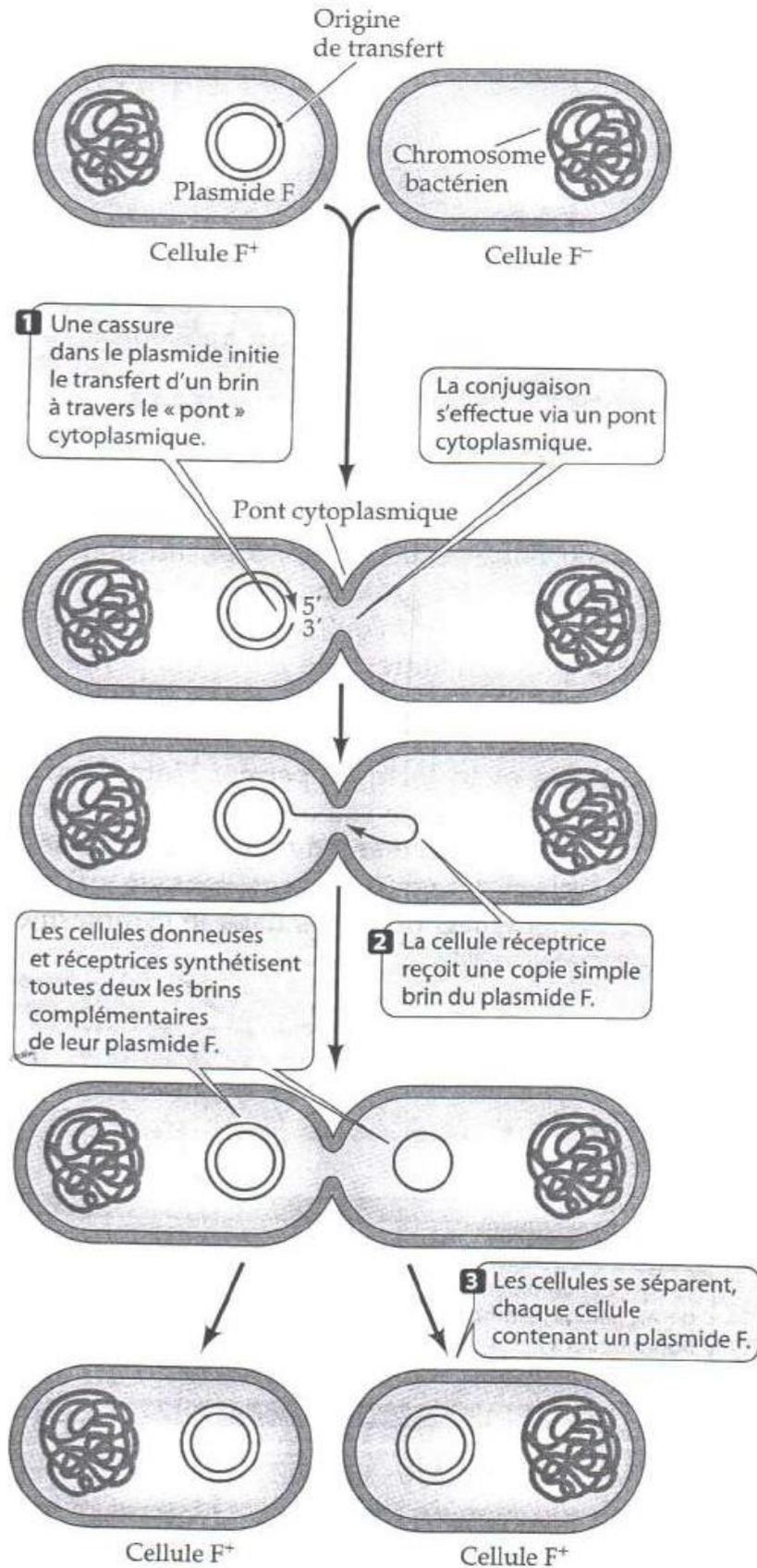


Figure. La conjugaison bactérienne. Transfert du plasmide F d'une cellule donneuse à une cellule réceptrice par conjugaison. Ce transfert terminé, les deux cellules possèdent une copie intacte de plasmide F et se comportent comme des cellules donneuses.

Une bactérie pouvant contenir plus d'un type de plasmide, les plasmides non autotransférables ont la possibilité d'acquérir diverses fonctions de conjugaison à partir d'autres plasmides.

Un plasmide dépourvu, par exemple, des gènes codant pour des protéines impliquées dans la formation des pili, peut être transféré dans une cellule réceptrice, si la cellule donneuse abrite un autre plasmide contenant ces gènes. Ce plasmide auxiliaire (helper) est ainsi capable de mobiliser un autre plasmide pour son transfert. Il est à noter que, contrairement aux plasmides autotransférables, la cellule recevant un tel plasmide incomplet dans ces fonctions de transfert ne devient pas une cellule donneuse, sauf si elle abrite déjà un plasmide auxiliaire.

Les plasmides dépourvus d'oriT ne sont pas transmissibles, même en présence de plasmides auxiliaires. Cependant, ces plasmides peuvent posséder des fonctions de transfert et agir comme des plasmides auxiliaires. Les plasmides dépourvus d'oriT ou d'une fonction de transfert peuvent être transmis d'une cellule à l'autre en effectuant de l'auto-stop sur un élément transmissible. Ceci peut se produire si les deux plasmides présentent une séquence homologue conduisant à la fusion des deux éléments en plasmide chimérique. Le transfert du plasmide chimérique est initié par l'oriT du composant issu du plasmide transmissible.

Echanges de gènes chromosomiques via un plasmide

Chez les bactéries, les transferts de gènes par l'intermédiaire des plasmides autotransférables ne sont pas retraits aux gènes localisés sur ces plasmides. De nombreux plasmides conjugatifs (transférables par conjugaison) peuvent également transférer des gènes chromosomiques. Chez le plasmide F et plusieurs plasmides R, cette propriété de transférer également des gènes chromosomiques, est définie comme la capacité à mobiliser le chromosome.

Le plasmide F peut entraîner le transfert de gènes chromosomiques par deux mécanismes liés qui nécessitent tous deux la formation de cellules à haute fréquence de recombinaison (cellules Hfr) où le plasmide F est intégré dans le chromosome (**Figure**).

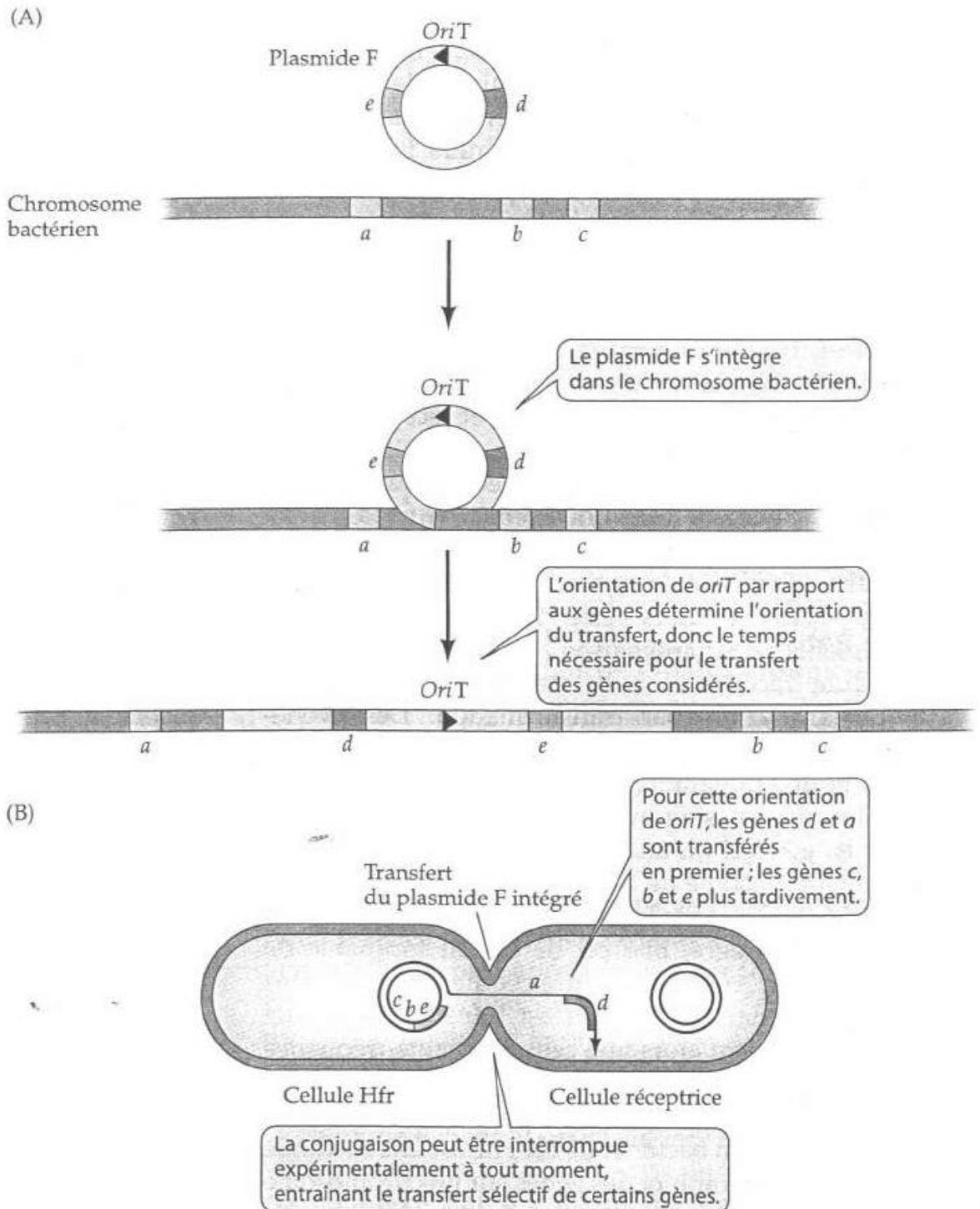


Figure. Cellules à haute fréquence de recombinaison.

(A) Formation d'une cellule Hfr et (B) transfert de gènes chromosomiques dans une bactérie réceptrice. Les positions relatives des gènes sur le chromosome bactérien peuvent être déterminées en mélangeant bactérie donneuse et réceptrice, en interrompant la conjugaison à différents temps, et en plaçant les bactéries sur milieu approprié afin d'identifier les gènes transférés.

L'intégration du plasmide F ne s'effectue pas au hasard, il s'intègre au niveau de petit nombre de sites préférentiels sur le chromosome. Tous ces sites d'intégration présentent une séquence courte d'ADN en commun. Après intégration du plasmide F, les cellules peuvent initier un processus de conjugaison identique à celui décrit pour le plasmide F extra-chromosomique.

Le chromosome entier d'une cellule donneuse peut être transféré dans une réceptrice, entraînant la formation d'une cellule diploïde, contenant un chromosome Hfr. Cependant, l'association entre cellule donneuse et réceptrice n'est pas généralement très forte et la quantité d'ADN chromosomique donneur transférée est directement proportionnelle au temps de contact entre les deux cellules.

La conjugaison bactérienne via Hfr est une méthode utile pour cartographier des gènes sur un chromosome bactérien. La conjugaison est contrôlée expérimentalement où elle est interrompue à des temps variables, généralement en l'agitant très vigoureusement (la suspension peut être placée dans un mixer), ce qui entraîne la rupture des contacts cellulaires. Les cellules réceptrices qui ont intégré de l'ADN issu de la cellule donneuse sont alors sélectionnées par croissance sur milieu spécifique (mutant auxotrophe, résistance / sensibilité aux antibiotiques).

Cependant, une excision imparfaite a parfois lieu, entraînant une partie de l'ADN chromosomique. Les gènes immédiatement adjacents au site de recombinaison deviennent alors partie intégrante du plasmide excisé. Ces plasmides sont appelés plasmides F' ou R'. Le transfert d'ADN d'une cellule donneuse F' ou R' à une cellule réceptrice s'effectue par le même mécanisme que celui du plasmide **F ou R (Figure)**.

Les cellules réceptrices, possédant les mêmes gènes que ceux transférés avec le plasmide F', elles deviennent alors partiellement diploïdes pour ces gènes ou *mérodiploïdes*, c'est à dire contenant deux copies d'un même gène dans une cellule.

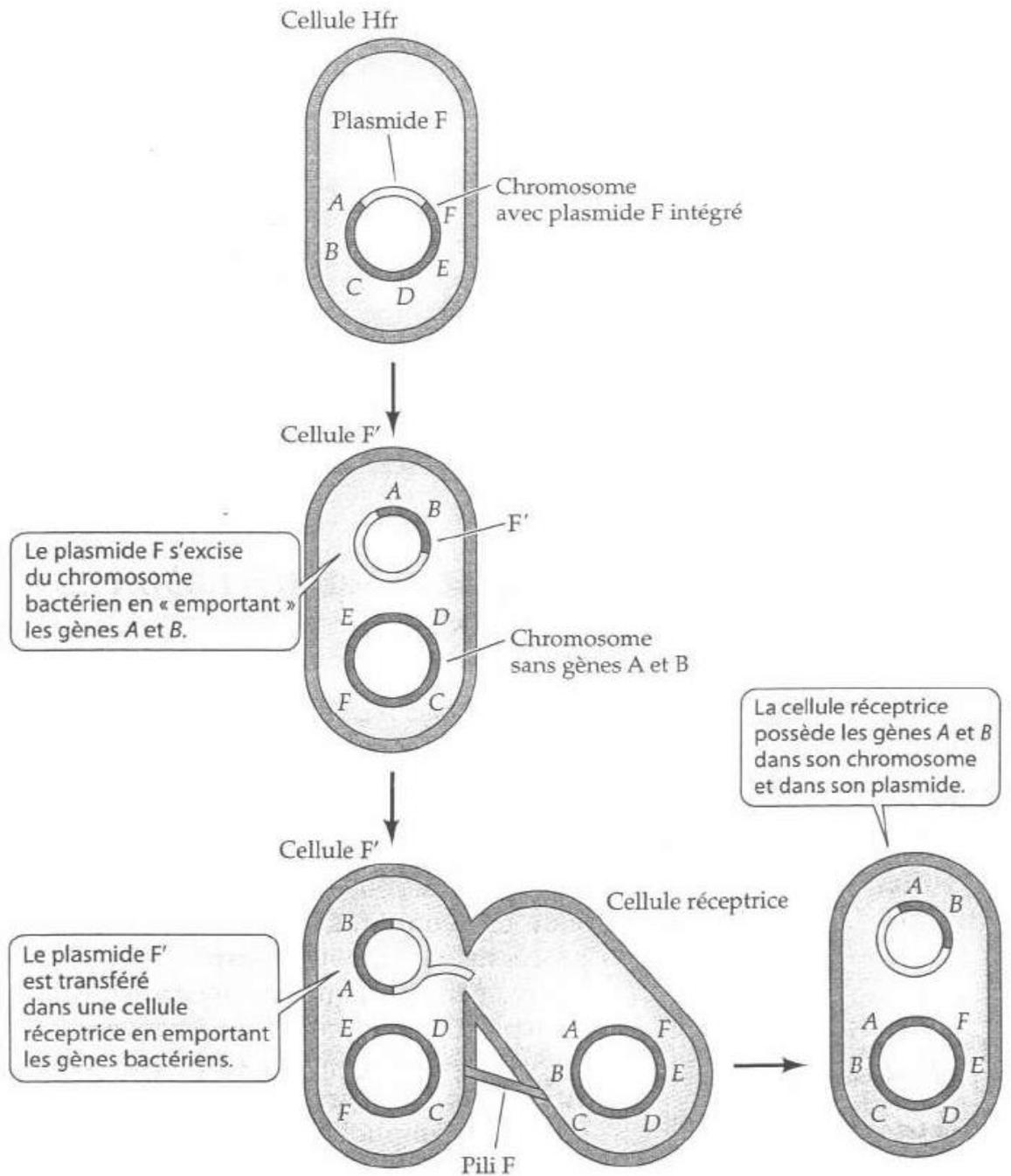


Figure. Formation d'une cellule F' à partir d'une cellule Hfr, et transfert d'une séquence d'ADN chromosomique à une cellule réceptrice.

TRANSDUCTION

La transduction est le processus par lequel les gènes sont transférés de cellule à cellule par le biais de particules bactériophages. Deux mécanismes de transduction fondamentalement distincts sont réalisés par les bactériophages.

La transduction généralisée permet le transfert de tous les gènes bactériens à une fréquence faible mais constante. Dans la transduction spécialisée, au contraire, certains gènes sont transférés à très haute fréquence et d'autres gènes transférés à faible fréquence ou non transférés.

Transduction généralisée

La transduction généralisée est réalisée par certains bactériophages virulents (Figure). Après infection d'une cellule, ces bactériophages subissent un cycle complet de réplication. Durant le processus d'infection, le chromosome de l'hôte est dégradé et l'ADN est utilisé comme source de blocs de nucléotides pour synthétiser le génome du phage.

Occasionnellement, de relativement gros fragments d'ADN génomique restent dans le cytoplasme lorsque les phages forment leur capsid. Des erreurs d'encapsidation, peu fréquentes, conduisent à l'incorporation de l'ADN bactérien à la place de l'ADN phagique. A la fin du cycle d'infection, la cellule se lyse et libère les phages produits.

Bien que la grande majorité des capsides contiennent de l'ADN de phage et soient de ce fait pleinement capable de se lier à des cellules hôtes pour réaliser de nouveaux cycles infectieux, les rares capsides contenant de l'ADN bactérien vont également se lier à de nouvelles cellules hôtes et injecter dans le cytoplasme leur contenu génomique.

Cette interaction entre cellule et phage ne conduit pas à la mort cellulaire car l'ADN introduit ne code pas pour les constituants de particules virales. Cependant, la cellule hôte possède alors un fragment d'ADN génomique provenant d'une autre cellule. Ce fragment d'ADN se comporte comme tout fragment d'ADN introduit par un mécanisme d'échange de gène tel que la transformation.

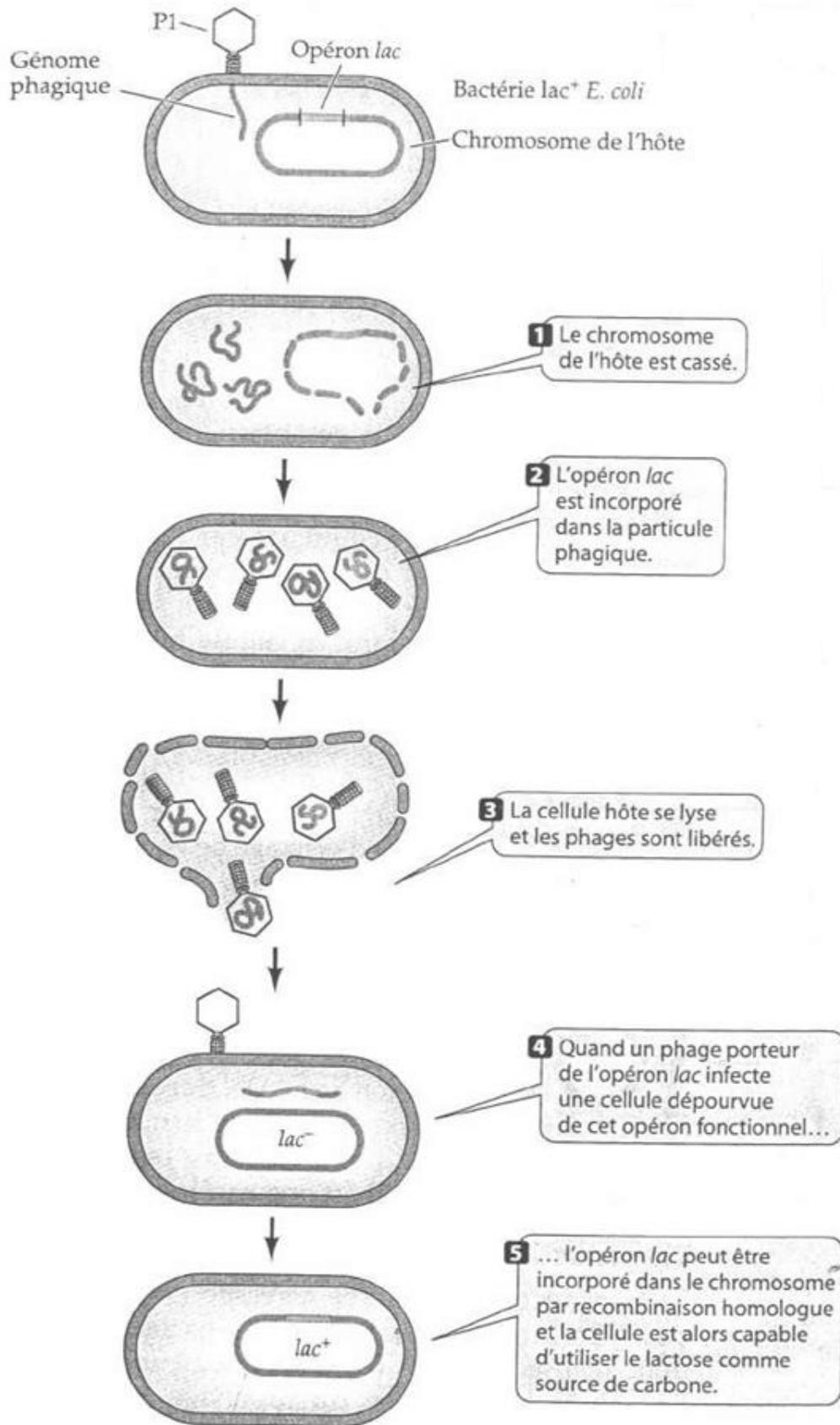


Figure. Transduction généralisée.

Transduction généralisée réalisée par le bactériophage P1

Transduction spécialisée

La transduction spécialisée nécessite l'incorporation de l'ADN viral dans le chromosome bactérien et n'est donc réalisée que par les virus lysogéniques. Elle a lieu après la formation du prophage, avec l'intégration de l'ADN viral au niveau d'un site spécifique du chromosome de la cellule hôte.

Le prophage se réplique donc pendant plusieurs générations avec le chromosome bactérien, dont il fait partie intégrante. Occasionnellement, il peut s'exciser et initier un cycle virulent, supposant la réplication de l'ADN viral, l'encapsidation et la lyse de la cellule hôte. Cette excision peut être parfois imprécise et entraîner une partie d'ADN chromosomique flanquant l'ADN viral (Figure).

Cet ADN excisé est alors inclus dans l'ADN viral ; il se réplique avec lui et est encapsidé dans chaque particule virale produite. Après la lyse cellulaire, les bactériophages virulents libérés vont infecter de nouvelles cellules hôtes, conduisant à la réplication virale et à nouveau cycle virulent.

Cependant, comme pour le bactériophage initial, le virus transduit peut débiter un cycle de lysogénie supposant l'intégration chromosomique de l'ADN viral. Si la cellule hôte présente des séquences homologues aux séquences d'ADN bactérien transmises par le bactériophage, des événements de recombinaison réciproques sont susceptibles de se réaliser, conduisant à l'incorporation stable de ces gènes dans le chromosome bactérien indépendamment de l'établissement d'une lysogénie.

La transduction spécialisée permet le transfert par des phages de gènes situés à proximité du site d'intégration du prophage lysogène. Bien que ce processus ne puisse impliquer que ces gènes proximaux, il est extrêmement efficace, car une fois l'erreur d'excision réalisée, les gènes bactériens font alors partie intégrante de l'ADN viral et sont de ce fait très efficacement transférés.

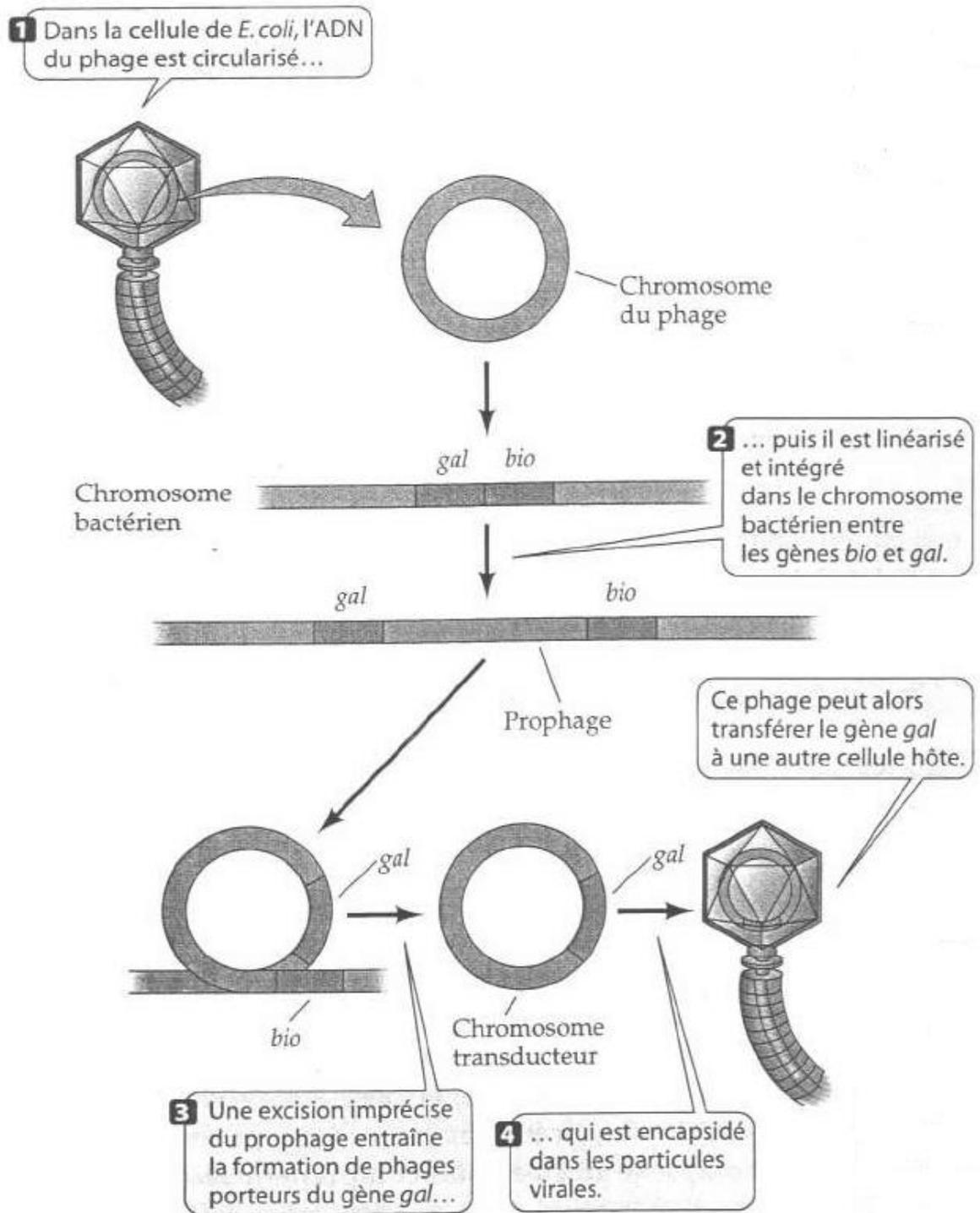


Figure. Transduction spécialisée

Transduction spécialisée réalisée par le bactériophage lambda.

ELEMENTS GENETIQUES MOBILES ET TRANSPOSONS

Ce cours a traité jusqu'à présent des échanges génétiques de fragments d'ADN transférés d'une cellule à l'autre en étant intégrés dans des unités phagiques ou plasmidiques. Occasionnellement, un gène peut être déplacé d'un endroit à l'autre sur le même chromosome, ou entre le chromosome et un plasmide contenu dans la même cellule. Ce processus est appelé transposition.

Ces mouvements génétiques par transposition, supposent des événements de recombinaison entre l'ADN transposé et son site d'intégration. Le mécanisme particulier impliqué ne nécessite pas la présence de séquences homologues comme pour la recombinaison générale (recombinaison non homologue).

La recombinaison spécifique de site suppose la présence de séquences d'ADN spécifiant le site de transposition, et celle d'une machinerie enzymatique spécifique qui catalyse l'événement de transposition.

Séquence d'insertion

La séquence d'insertion ou IS est la forme la plus simple d'un gène mobile. Un certain nombre de séquences d'insertions ont été caractérisées dans des bactéries, d'une taille allant de 700 à 5000 pb. Tous ces éléments IS ont une caractéristique commune : ils contiennent à leurs extrémités de courtes séquences répétées inversées de 16 à 41 pb. Les IS codent également toutes pour au moins une enzyme, appelée transposase, qui catalyse spécifiquement la recombinaison spécifique de site réalisée lors de la transposition.

La transposition d'un élément IS dans un nouveau site peut entraîner l'apparition de mutations si elle entraîne la rupture d'une séquence codant pour un polypeptide. La présence de ce grand fragment d'ADN dans un opéron (groupe de gènes transcrits à partir d'un seul et même promoteur) peut entraîner des mutations polaires, c'est-à-dire empêcher l'expression de tous les gènes situés en aval du site d'intégration. Ce phénomène s'explique par l'incapacité pour l'ARN polymérase de traverser un élément IS, probablement en raison de l'existence de signaux de terminaison de transcription situés dans ces éléments.

Les transposants

Les transposants sont des formes plus complexes d'éléments génétiques mobiles, qui sont caractérisés par la présence d'autres gènes, en complément des gènes nécessaires pour la transposition. La plupart des gènes communément rencontrés dans les transposants sont ceux codant pour des protéines impliquées dans les mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cependant, d'autres gènes tels que ceux codant pour des toxines ont également été retrouvés dans des transposants.

Classification des transposants

La forme la plus simple de transposant est le transposant composite, qui est un élément génétique mobile dans lequel on trouve deux IS de part et d'autre d'un gène. La transposition implique alors la translocation d'une copie de l'élément entier (les deux IS et le gène) dans un nouveau site, en utilisant la transposase codée par un des deux IS.

Les transposants composites peuvent servir comme source de transposition de séquences IS car celles-ci, si elles comportent bien le gène codant pour la transposase fonctionnelle, peuvent se transposer indépendamment du transposon composite. Deux exemples de ces transposons sont présentés dans la **Figure**. Certains transposants composites, comme le transposant Tn5 représenté sur cette figure, contiennent des gènes codant pour des multi-résistances à des médicaments.

Une classe distincte de transposons se caractérise par l'absence d'éléments IS à leurs extrémités, comme par exemple le transposon Tn3 (**Figure**). Ce transposon est un segment d'ADN limité à ses extrémités par de courtes répétitions inversées de 38 pb. À l'intérieur de ce transposon, des gènes codent pour des résistances aux antibiotiques (β -lactamase dans le Tn3), et deux gènes sont impliqués dans la transposition : un codant pour la transposase et l'autre pour la résolvasse, qui est une endonucléase.

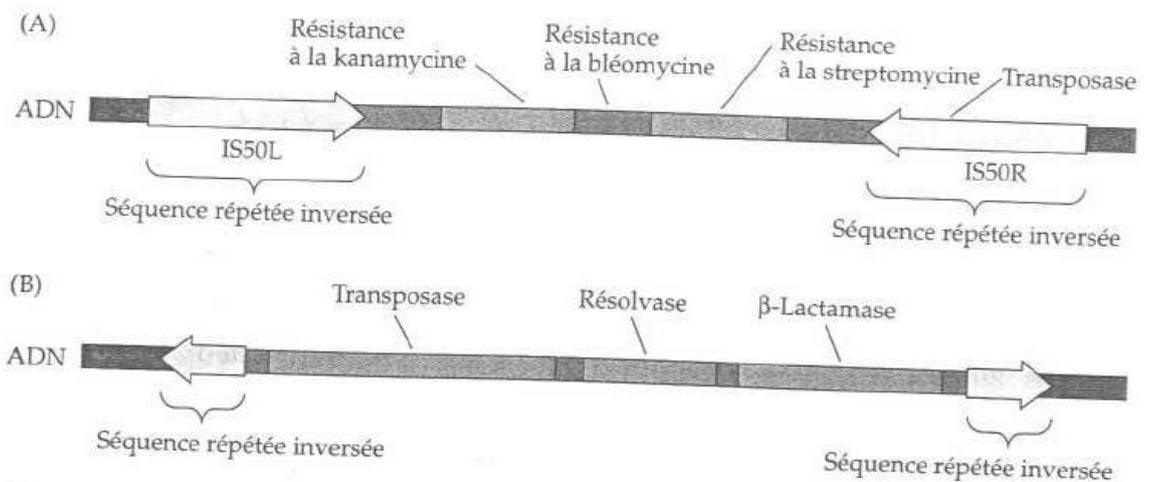


Figure. Les transposants composites.

Structures d'éléments transposables bactériens. Un transposant composite contient des gènes codant pour des protéines impliquées dans les résistances aux antibiotiques flanqués de deux séquences d'insertion. (A) Le transposon Tn5 est représenté ici avec ses séquences répétées inversées. (B) Transposon Tn3.