

## TD 3 (Partie du Chapitre 2 la cellule bactérienne)

### 2.4- Le chromosome bactérien

#### 2.4.1- La morphologie du chromosome bactérien

Les éléments nucléaires mis en évidence chez les bactéries sont fréquemment appelés « chromosome bactérien », l'observation des coupes ultrafines par le microscope électronique sur des cellules fixées, déshydratées puis incluses dans une solution résineuse (Kellenberger) a révélé des faits du plus haut intérêt sur l'architecture supramoléculaire de ce chromosome :

- L'appareil nucléaire n'est pas entouré d'une membrane contrairement au noyau des cellules eucaryote et rien ne prouve qu'il existe plus d'un chromosome par noyau.
- Le corps chromatinien présente une structure fibrillaire. Les fibrilles ont un diamètre de 20 à 60 Å et ils sont constitués principalement sinon exclusivement d'ADN. Elles sont enroulées les unes dans les autres en faisceaux parallèles, formant ainsi une véritable corde. Elles garderaient la même structure au cours du processus de division.

#### 2.4.2- Le chromosome circulaire

Les expériences de transfert génétique et surtout le phénomène de conjugaison ont permis de mieux préciser les fonctions du matériel génétique de la bactérie. L'analyse de ces fonctions laisse supposer que les caractères héréditaires de la bactérie sont localisés sur un seul groupe génétique de liaison, autrement dit sur le chromosome qui n'aurait ni commencement ni fin. Le chromosome de la bactérie support des gènes serait donc circulaire. Ces observations sont aussi confirmées par les résultats obtenus par Cairnes en utilisant d'autres méthodes « technique d'autoradiographie », ou ils montrent que le chromosome bactérien est formé d'une longue et unique molécule d'ADN formant une structure continue.

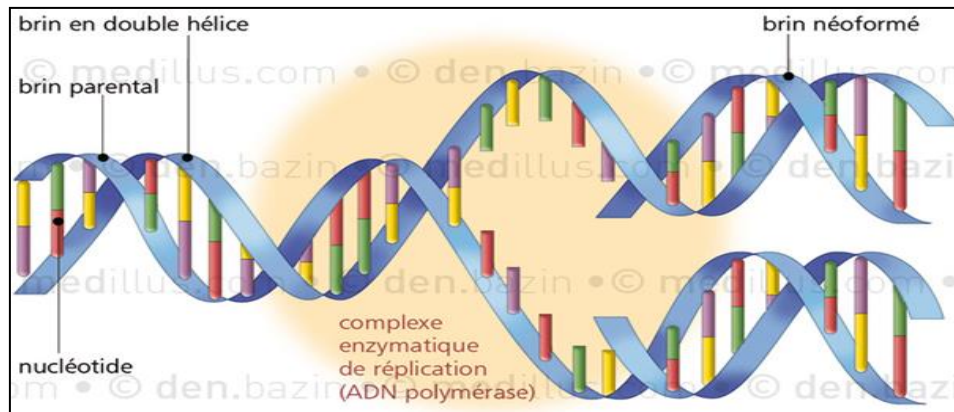
Ces deux types d'expériences basées sur des principes différents et aboutissant à des mêmes conclusions ont montrés plus ou moins la structure du chromosome bactérien qui n'est autre qu'un filament fin, unique, continu et circulaire formé d'une double chaîne d'ADN. Son PM est de  $3 \cdot 10^9$  et le nombre de paires de bases est de  $5 \cdot 10^6$  environ, échelonnées le long de la double hélice. A l'image de l'ADN des cellules eucaryotes qui est couplé à des protéines basiques telle que les histones, il est possible que l'ADN bactérien soit neutralisé, non par des histones qui d'ailleurs n'ont jamais été isolés chez les bactéries, mais des polyamines telles que la spermine et spermidine.

#### 2.4.3- Réplication chimique «Le modèle de Jacob et Brenner»

La vitesse de progression de la fourche de réplication est constante dans les conditions expérimentales assez larges. Avec *E.coli* pour un temps de génération de 40 minutes à 37°C, le temps requis pour le doublement de la molécule d'ADN est de 40 minutes. Si, en revanche, des conditions plus favorables permettent un temps de génération plus court, par exemple, de 20 minutes, de nouvelles fourches de réplication sont formées avant que le premier cycle de duplication ne soit achevé. Il est facile d'enduire que le démarrage du cycle de réplication est soumis à un contrôle. Cette initiation nécessite, en effet, d'une protéine spécifique, l'initiateur. Il est vraisemblable que la programmation de cette synthèse intervienne au cours de la phase finale du cycle de division. Le site d'initiation de la synthèse autrement dit le point où commence la séparation de la double chaîne d'ADN (fourche) est appelé le **réplicateur**. Selon le modèle de

**Jacob et Brenner**, le site répliqueur et le gène commandant la synthèse de l'initiateur formeraient une unité autonome de réplication appelée **réplicon**.

L'accomplissement du cycle de réplication du chromosome est immédiatement suivi par la formation d'un septum transversal de division. De même la synthèse complète du septum de division est le point de départ pour un nouveau cycle de réplication du chromosome.



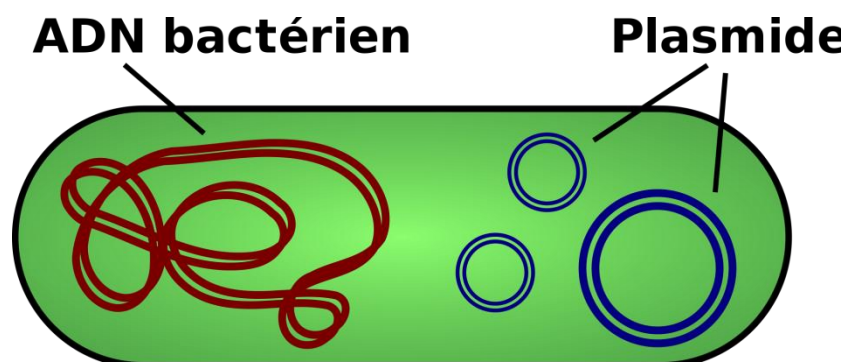
**Figure 9 : Réplication semi conservative.**

## 2.5- Plasmide

La cellule bactérienne peut contenir des éléments génétiques extrachromosomiques, capable d'autoreproduction, que Lederberg en 1952 a proposé d'appeler des Plasmides. Pour marquer leur caractère indépendant par rapport aux gènes portés par le chromosome. Cette définition à l'époque, s'appliquait uniquement aux facteurs sexuels F que Lederberg avaient découverts quelques années auparavant. Mais ce n'est uniquement en 1959 que la communauté scientifique a compris la véritable nature de ces éléments et son rôle biologique en découvrant chez les Shigelles une multirésistance aux antibiotiques.

### 2.5.1- Structure et propriétés physiques

. Globalement les molécules de l'ADN plasmidique sont de petites tailles, le 1/100 environ de celle du chromosome. Leur enroulement serré (torsadé) leur assure probablement un encombrement minimal et leur confère une grande résistance. Leur poids moléculaire varie d'environ de 1 mégadaltones (PM= 1 million) à plus de 100 mégadaltones, c'est-à-dire comparable à celui de l'ADN viral.



**Figure 10: schéma d'ADN et plasmide bactérien.**

## 2.5.2- Réplication

La réplication plasmidique est comme celle du chromosome, étroitement régulée au niveau de sites membranaires. Le modèle de Jacob et Brenner est parfaitement applicable. Elle est sous la dépendance d'un grand nombre de gènes. Des plasmides auxquels de longs fragments d'ADN ont été excisés demeurent en effet viables. Il est possible de retirer les deux tiers du plasmide de Staphylocoque sans affecter ses fonctions de réplifications. Cependant une délétion au niveau d'une petite région, dite « région interdite » supprime la viabilité du plasmide. Cette région porteuse des gènes impliqués dans la réplication est appelés « unité de conduire de réplication ».

La réplication d'un plasmide et sa régulation pourrait se dérouler conformément au schéma suivant (**Fig.11**). Elle est déclenchée par une protéine dite initiateur sous la dépendance d'un gène de réplication. Celui-ci est contrôlé par une autre protéine, le répresseur, codée par un gène. Dans un premier temps, une ADN polymérase traverse la séquence origine au niveau du site promoteur, l'ARN formé sert d'amorce à la synthèse d'ADN. Par action seconde, elle dissocie les deux brins d'ADN qui constituent des boucles par appariement intracaténaire des bases. Ces boucles, reconnues par conduit à la synthèse de l'ADN plasmidique. Cette réplication est indépendante de la réplication du plasmide ; plus le plasmide est grand plus le nombre de copie d'un plasmide varie entre 1 et 100 selon la taille du plasmide ; plus le plasmide est grand plus le nombre de copie est faible. La transmission des plasmides de génération en génération doit naturellement mettre en œuvre un mécanisme assurant l'égale répartition (bipartition) des copies dans les cellules filles.

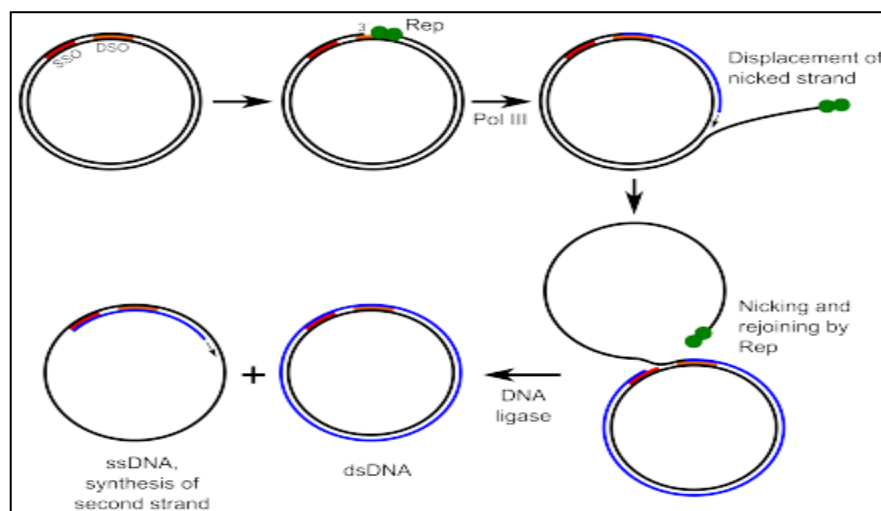


Figure 11 : Réplication du plasmide.

## 2.5.3- Propriétés des plasmides

La découverte des plasmides a conduit les biologistes à reconsidérer totalement les concepts de traditionnels de la génétique. La notion du potentiel génétique constant et stable au cours du temps devrait être remise en cause. De nombreux caractères génétiques de la cellule bactérienne sont en effet variables, labile puisque subissent des pertes ou des gains, et mobiles car transférables d'une cellule à une autre transposables en des sites différents d'une même cellule, ils doivent ces propriétés à leur insertion plasmidique.

### 2.5.3.1. Résistances aux antibiotiques et aux métaux lourds

Plusieurs mécanismes permettent d'expliquer la résistance aux substances toxiques induites par des gènes plasmidiques. Dans le cas le plus simple (pénicilline, aminosides, chloramphénicol) l'antibiotique est détruit par une enzyme. Dans d'autres cas, l'agent toxique ne peut accéder à la cible cellulaire....etc. Généralement, on estime que la résistance plasmidique intervient dans plus de 90% des cas observés en clinique, les 10% restant étant dus à la résistance chromosomique. La résistance plasmidique est aussi observée, de plus en plus fréquemment avec les métaux lourds. Les plasmides interviennent dans la résistance aux composés mercuriels et aux sels de cadmium et au plomb chez les Staphylocoques et chez les bacilles à Gram (-).

### 2.5.3.2. Production de substances à rôle pathogène

L'un des exemples les plus remarquables et les plus étudiés est rencontré chez *E. coli* ou on définit trois groupes responsables des diarrhées : se sont les *E. coli* entéro-pathogènes, les *E. coli* entérotoxiques et les *E. coli* entéro-invasifs. Le pouvoir pathogène de ces trois germes est sous la dépendance de déterminants plasmidiques responsables de la synthèse d'entérotoxine et de certaines substances qu'on appelle des facteurs de colonisation et qui assurent l'adhérence des bactéries à l'épithélium intestinal puis son envahissement.

### 2.5.3.3. Production des bactériocines

En 1915, Gratia décrit une action antagoniste spécifique entre deux souches d'*E. coli*. Les substances responsables sont dites bactériocines. Ce sont des protéines dont la biosynthèse est létale et dont l'adsorption est conditionnée par la présence d'un récepteur spécifique. Le nom des bactériocines est toujours dérivé de l'espèce bactérienne ou du genre bactérien sur lequel elles agissent ; colicine (*E. coli*), pyocine (*Pseudomonas*), vibriocines (*Vibrio cholerae*).

### 2.5.3.4. Caractères métaboliques

Un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d'origine plasmidique. Ils ont été particulièrement observés chez *Enterobacteriaceae*, utilisation du citrate, production d' $H_2S$ , hydrolyse de l'urée, dégradation du saccharose, du lactose..... Les plasmides qui codent pour ces propriétés inhabituelles chez des souches sauvages sont dites plasmides métaboliques. Leur présence constitue une source d'erreur non négligeable pour l'identification des souches de microorganismes. D'autres fonctions ont aussi un support plasmidique ; il s'agit principalement de la fixation de l'azote chez les *Enterobacteriaceae*, la dégradation des produits chimiques par les *Pseudomonadaceae*, la production des pigments, la synthèse de la fibrinolysine, de l'hémolysine et de la coagulase chez les *Staphylococcus*.