

## CHAPITRE I :

### INTRODUCTION: BACTERIE, STRUCTURE et COMPOSITION

#### 2.4. Cytoplasme et ses inclusions

Dans le cas de la cellule procaryote, le cytoplasme est la substance contenue à l'intérieur de la membrane plasmique (Fig. 01). Le cytoplasme est épais, aqueux, semi-transparent et élastique. Il est constitué d'eau à environ 80% et contient surtout des protéines (enzyme), des glucides, des lipides, des ions inorganiques et un grand nombre de composés de faible masse moléculaire (riche en molécules et nutriments ce qui augmente le taux du métabolisme et dans celui de croissance). Les ions inorganiques sont présents dans le cytoplasme à des concentration beaucoup plus élevées que celles qui existent dans la plupart des milieux.

Dans les cellules procaryotes, les principales structures du cytoplasme sont la région nucléaire (contenant l'ADN), des particules appelées ribosomes et des réserves sous forme de dépôts appelées inclusion (granules). Il dépourvue de certaines caractéristiques de la cellule eucaryote tels que : le cytosquelette, le réticulum endoplasmique, mitochondrie, ....

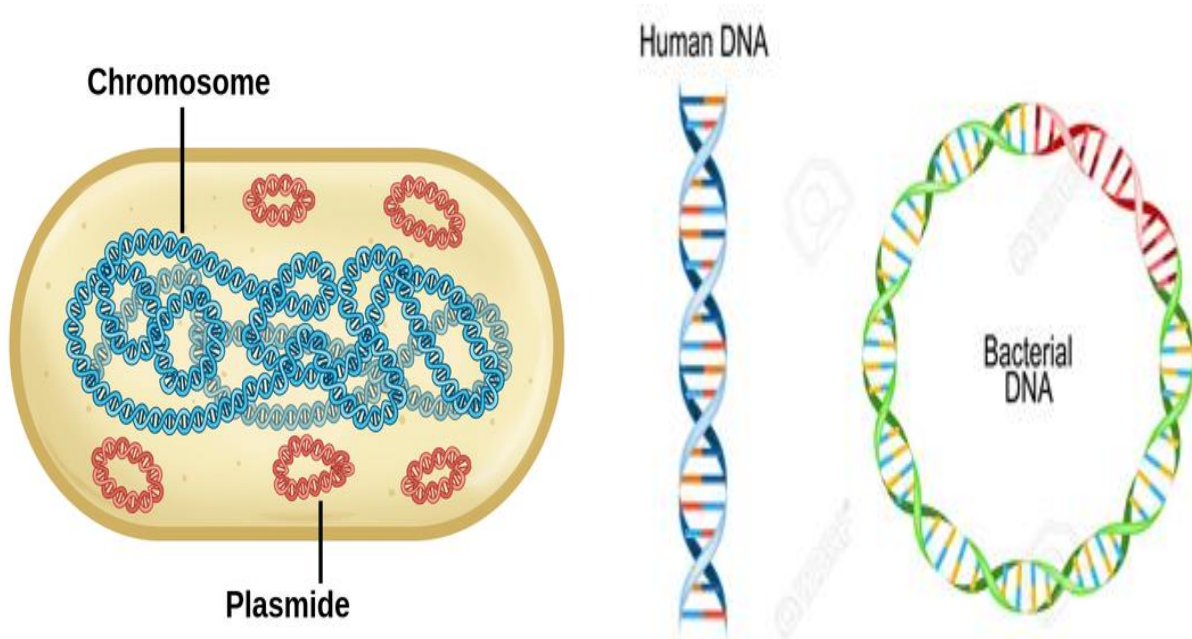
##### 2.4.1. Matériel génétique

Le génome bactérien est le plus petit des cellules vivantes. Comme pour le reste du monde vivant, il est formé d'ADN et constitue le support de l'hérédité des bactéries. Il stocke et contrôle toutes les informations nécessaires aux activités et aux fonctions bactériennes.

Le génome bactérien est principalement concentré dans le **chromosome** qui code toutes les fonctions vitales cellulaires. Mais les bactéries et quelques autres protistes comme les levures, ont l'originalité de posséder, en plus des structures d'ADN extra-chromosomiques et indépendantes

De point de vue médical, toute action qui perturbe l'intégrité du cytoplasme en altérant ses composants va porter préjudice à la bactérie et finira par provoquer sa destruction. Les composants du cytoplasme sont donc la cible de plusieurs antibiotiques.

appelées les **plasmides** (Fig. 15), qui sont responsable de l'expression phénotypique de nombreux caractères métaboliques additionnels.



**Figure 15:** Matériel génétique bactérien

#### 2.4.1.1. Chromosome

Le chromosome bactérien est composé d'une molécule unique d'ADN circulaire.

##### a. Composition

Le chromosome des bactéries est composé d'ADN (80%), associé à de l'ARN et des protéines. A cause des nombreux résidus phosphates impliqués dans sa structure, la molécule d'ADN est très riche en charge électrique négative. Les histones (assurant l'équilibre électrique et la stabilité chimique du chromosome des cellules eucaryotes) n'existent ni chez les bactéries ni chez les archaébactéries sauf dans le genre *Thermoplasma* (même structure et caractéristiques chimiques de l'ADN des eucaryotes).

Le chromosome, une fois déroulé, mesure 1.2mm chez *E. coli*, soit 1000 fois la taille de la bactérie. Il est formé d'environ 4.7 millions de paires de bases, d'un poids moléculaire de  $2.9 \cdot 10^9$  Daltons, ce qui correspond à environ 3800 gènes. La taille du génome est variable entre espèces bactériennes avec un intervalle de  $0.8 \cdot 10^6$  à  $8 \cdot 10^6$  paires de bases. Cette taille est nettement

inférieure à celle du chromosome des cellules eucaryotes, mais elle reste largement supérieure à celle des virus.

Le chromosome des Mycoplasmes (le plus petit génome bactérien) à une longueur de 260µm et un poids moléculaire de  $4.5 \cdot 10^8$  Daltons. Cette taille implique la présence d'information génétiques considérablement réduites et explique leur état de parasite obligatoires.

## **b. Structure**

Le génome des cellules procaryotes à une structure fondamentalement différentes de celle des cellules eucaryotes. En effet, et alors que chez l'ensemble des cellules eucaryotes l'ADN génomique est répartie sur plusieurs chromosomes diploïdes qui ont tous une structure linéaire et sont rassemblés dans le noyau, le matériel génétique principale des bactéries est *haploïde* et typiquement composé d'une molécule unique d'*ADN bicaténaire* et *circulaire* (Fig. 15). Qualifiée aussi de chromosome. Elle est en suspension libre dans le cytoplasme cellulaire ou elle est enroulée en un anneau compact, fermé par des liaisons covalentes. Son poids moléculaire varie de  $1 \cdot 10^9$  à  $8 \cdot 10^9$  Daltons, selon les espèces bactériennes.

L'ADN bactérien a une structure bicaténaire, c'est-à-dire constitué de l'association complémentaire de deux brins monocaténares appariés en une double hélice, ce type de structure étant général chez l'ensemble des organismes vivants. Chez les bactéries, il est appelé **génophore** ou **chromosome**, par analogie aux chromosomes des cellules eucaryotes qui sont bien plus structurés et différenciés.

La double hélice de l'ADN est généralement enroulée de manière définie en une cinquantaine de boucles. Sous l'action de l'ADN-gyrase, ces boucles présentent un enroulement supplémentaire sur elle-même, le **sur-enroulement**, qui donne à la molécule d'ADN son aspect compact et régulier.

### **Très important :**

Aucune membrane ne sépare l'anneau d'ADN bactérien du cytoplasme cellulaire et il n'y a donc pas de noyau individualisé. Ce caractère original est spécifique dans le monde vivant. Il est partagé avec l'ensemble des organismes

Il semble que seul l'ADN non surenroulé soit actif, le bon fonctionnement des enzymes liées aux processus d'enroulement/déroulement et de surenroulement est donc vital à l'expression des différents segments du génome.

L'espace cytoplasmique du chromosome appelé **région nucléaire** ou **nucléotide**. Il a une forme très variable selon les espèces et leurs états physiologiques. Chez une cellule en division, l'espace occupé est très important et les ribosomes sont absents de la zone occupée par le nucléotide.

Il est à noter l'exception de quelques bactéries dont la molécule d'ADN est linéaire, *Borrelia burgdorferi*, alors que *Rhodobacter sphaeroides* possède deux chromosomes.

#### **2.4.1.2. Plasmides**

Les plasmides sont des molécules d'ADN cytoplasmiques et extra-chromosomiques (Fig. 15), capables de se répliquer de manière autonome, par rapport au chromosome bactérien. Il existe une large variété de plasmides, communément répliqués chez les bactéries et les archaébactéries, ils sont présents aussi chez certains microorganismes eucaryotes comme les levures.

Les plasmides sont formés de l'ADN qui se distingue de l'ADN des bactériophages, dont certains peuvent aussi intégrer le chromosome bactérien (prophage) par deux caractères fondamentaux : ils ne provoquent aucun dommage aux cellules bactériennes qui les hébergent et ils n'ont aucune existence autonome, à l'état libre en dehors des bactéries.

##### **a. Composition et structure**

Les plasmides sont typiquement des molécules d'ADN bicaténaire, circulaire et surenroulé, mais il existe quelques plasmides de structure linéaire. Leur poids moléculaire varie en moyenne de 0.5 à 400 Mégadaltons, soit environ  $1/1000^{\text{ème}}$  à  $1/20^{\text{ème}}$  de la taille du chromosome bactérien. Généralement, les plasmides sont formés de séquences de nucléotides sans homologie avec le chromosome bactérien, ce qui montre qu'ils lui sont étrangères.

Les plasmides sont tous extra-chromosomiques. Ils sont de taille différente et une même bactérie peut héberger de nombreux plasmides distincts les uns aux autres, avec un nombre variable pour chaque type de plasmide, à la fois en fonction de leur propre nature et selon les espèces bactériennes. Certains plasmides sont présents en nombre réduit : 1 à 10 copies, alors que d'autres sont beaucoup plus nombreux : 10 à 100 copies et parfois même beaucoup plus.

## **b. Transfère**

Les plasmides sont transférés **verticalement** aux cellules filles, normalement en nombre égal au moment de la division cellulaire, ils sont également transmis **horizontalement** : c'est-à-dire de cellule à cellule, présente dans le même milieu et appartenant ou non à la même espèce. Dans ce cas, le transfère se fait selon deux mécanismes : la conjugaison ou la mobilisation.

Quoi qu'ils soient conjuguant ou non, et en plus du transfère par **conjugaison** (transfère d'une copie de l'ADN du plasmide conjuguant d'une cellule donatrice à une cellule réceptrice comme facteur de fertilité F et plasmide R; contacte sans fusion) ou **mobilisation** (transfère du plasmide non conjuguant lors le transfert du plasmide conjuguant ; association des deux plasmide par des liaisons covalentes (intégration et formation d'un ADN plasmidique hybride) ou des liaisons transitoire (sans intégration)), les plasmides peuvent également être transmis par **transduction** (transfère par l'intermédiaire d'un bactériophage) ou par **transformation** (absorption d'ADN dissous présent en solution dans le milieu).

## **c. Fonction**

Les propriétés codées par les plasmides et bénéficiant à la cellule hôte sont très diverses et couvrent de nombreux domaines. Certains plasmides portent plusieurs gènes à la fois, conférant ainsi plusieurs propriétés phénotypiques à la cellule hôte. Les principales fonctions codées par les plasmides sont les suivantes :

- Production de toxines, de facteurs de pathogénicité, de facteurs de virulence, ... ;
- Production d'antibiotique et de bactériocines ;
- Résistance aux antibiotiques et à divers agents antagonistes : métaux lourds, rayonnements, bactériophages, ... ;
- Propriétés métaboliques diverses : dégradations de composés spécifiques, synthèse de métabolites spécifiques, nodulation, ...

### **2.4.2. Ribosomes**

Les ribosomes sont les principales structures intra-cellulaires bactériennes, leur taille, densité et nombre sont plus faible par rapport à ceux des cellules eucaryotes. Ils sont disséminés dans le cytoplasme et communs à toutes les bactéries.

### a. Structure et composition

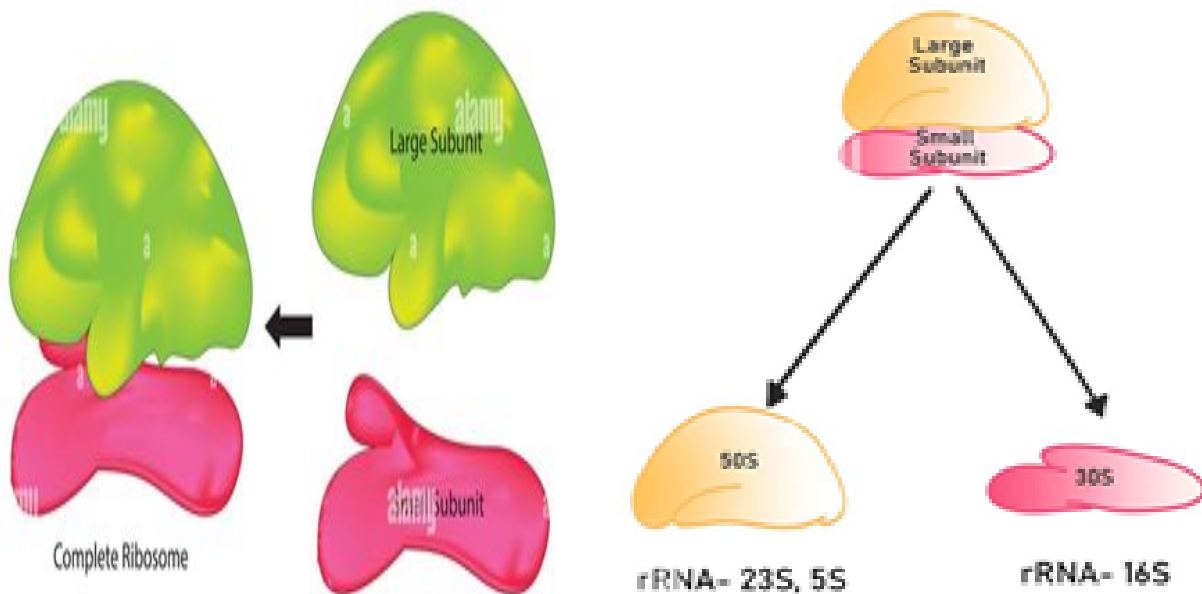
Les ribosomes apparaissent au microscope électronique comme des particules de forme sphérique, de 18nm de diamètre. Ils sont composés de deux sous-unités, comprenant chacune des *protéines* et un type d'ARN appelé *ARN ribosomal* (ARNr) (Fig. 16).

Ils peuvent être séparés par ultracentrifugation et se caractérisent par un coefficient de sédimentation de 70S (unités Svedberg), alors que les ribosomes des cellules eucaryotes, plus grands et plus denses, sédimentent à 80S. Les ribosomes procaryotes sont formés de deux sous-unités distinctes : une petite sous-unité 30S (contient une molécule d'ARNr) et une grosse sous-unité 50S (contient deux molécules d'ARNr) (Fig. 16), composées globalement de 65% d'ARN et de 35% de protéines. L'ARN ribosomal représente 80 à 90% de l'ARN cellulaire. Les protéines ribosomales sont spécifiques à chaque sous-unité.

Les cellules bactériennes contiennent de 5000 à 50000 ribosomes, ce nombre élevé donne au cytoplasme son aspect granuleux. Ce nombre fluctue en fonction de plusieurs facteurs et notamment de l'espèce considérée, du taux et de la phase de croissance des bactéries. Chez *E. coli* en croissance, le nombre des ribosomes peut atteindre 18000, il représente alors le quart de la masse cellulaire.

#### Très important :

Du point de vue médicale, plusieurs antibiotiques agissent sur les bactéries en ciblant les ribosomes, ce qui entraîne l'arrêt de la synthèse des protéines bactériennes. C'est ainsi que la **streptomycine** et la **gentamicine** se fixe à la sous-unité 30S et nuisent à la synthèse des protéines. D'autres antibiotiques, tels que **l'érythromycine** et le **chloramphénicol**, perturbent la synthèse des protéines en s'attachant à la sous-unité 50S. En raison des différences entre les ribosomes des eucaryotes et ceux des procaryotes, les antibiotiques peuvent tuer la cellule microbienne sans porter atteinte aux ribosomes cytoplasmiques de la cellule hôte eucaryote.



**Figure 16 :** Composition d'un ARNr bactérien

## **b. Fonction**

Les ribosomes forment la structure cellulaire de synthèse des protéines, effectuée de manière continue dans le cytoplasme par la polymérisation des acides aminés, liés les uns aux autres. Dans les cellules en phase active de biosynthèse protéique (bactéries en croissance), les ribosomes forment une chaîne de plusieurs unités « enfilées » les unes à la suite des autres sur un brin d'ARNm. Ils sont alors appelés **polysome**.

### **2.4.3. Inclusions cytoplasmiques**

On trouve dans le cytoplasme de la cellule procaryote plusieurs types de dépôts de réserve, appelés **inclusion**. La cellule y accumule certain nutriment quand ils sont en abondance et les utilisent quand le milieu s'appauvrit. Elles sont diverses et leur présence est facultative. Elles sont rencontrées chez certaines bactéries et sont alors représentées par des granules de réserve et/ou vacuoles gazeuses.

#### **2.4.3.1. Granules de réserve**

Certaines bactéries accumulent dans leur cytoplasme des réserves de substrats nutritifs, quand leurs précurseurs sont présents dans le milieu en excès par rapport aux besoins de croissance.

Ces réserves correspondent à des granules, au contact direct du cytoplasme ou limité par une mince enveloppe de lipides mais n'est pas une membrane.

Les granules de réserves constituent un stock disponible, quoique limité, de carbone, d'azote, ou même de divers composés minéraux.

#### **a. Réserves carbonées**

Ces réserves peuvent servir de source d'énergie et de carbone à l'absence de tels composés dans le milieu de croissance. Elles sont de nature lipidique ou glucidique et sont limitées en quantité. Certaines espèces bactériennes sont capables de cumuler les deux formes de réserve (Cyanobactéries, bactéries pourpre), tandis que d'autres en sont dépourvues (*Acinetobacter*, bactéries vertes)

- De nombreuses bactéries comme les Entérobactéries, les *Bacillus* et les *Clostridium* mettent en réserve des polysaccharides sous forme d'**amidon** ou plus souvent le **glycogène** (polymères ramifiés de glucose), granules de polysaccharides. Leur présence peut être révélée par l'application d'iode aux cellules. En présence d'iode, les granules de glycogène sont brun rougeâtre et les granules d'amidon sont bleu.

- Les réserves carbonées sont plus communément encore stockées sous la forme de lipides, inclusion lipidique, puisqu'elles sont plus énergétiques. Elles sont observées chez divers genres bactériens tels que : *Vibrio*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Spirillum*, *Micrococcus* et d'autres genres. Les bactéries stockent les lipides sous forme d'*acide poly-β-hydroxybutyrique*. On détecte les réserves lipidiques en traitant les cellules par des colorants liposolubles tels que noir Soudan.

#### **b. Polyphosphates**

Des polyphosphates associés à la région nucléaire, appelés **volutine** (par ce que décrits pour la première fois chez *Spirillum volutans*) ou **granules chromatiques** (à cause de leur coloration rouge en présence de colorants basiques) peuvent représenter jusqu'à 50% des phosphates cellulaires. Le phosphore est intégré à la composition des acides nucléiques, des phospholipides, des acides téichoïques et des nucléotides (ATP, NAD<sup>+</sup>, ...).

Il existe d'autres inclusions de réserve comme celles de fer, azote, de soufre, ....



#### **2.4.3.2. Vacuoles à gaz**

Les principales bactéries aquatiques photosynthétiques comme : les Cyanobactéries (certaines espèces non pigmentées), des bactéries halophiles et quelques *Clostridium* possèdent des vacuoles intracytoplasmiques gazeuses (ou vacuoles à gaz) qui ont un nombre varie de quelques unités à plusieurs centaines. Elles sont de forme cylindrique: 75nm de diamètre pour 200 à 1000nm de long et sont disposées en parallèle à périphérie des flagelles.

Chaque vacuole est constituée de plusieurs *vésicules à gaz* alignées formant un cylindre creux recouvert d'une membrane protéique rigide de 2nm à un seul feuillet, imperméable à l'eau mais perméable aux gaz. Les variations du volume de leur contenu gazeux permettent aux bactéries de modifier leur densité volumique spécifique et d'adapter ainsi, en milieu aqueux, leur niveau d'immersion à la profondeur la plus favorable à leur croissance. La présence de vacuoles à gaz chez les bactéries entraîne, par ailleurs, une sensibilité significative à la pression atmosphérique.

#### **2.4.3.3. Autres inclusions**

##### **a. Carboxysomes**

Ce sont des corps polyédriques, de 50 à 500nm, présents chez les bactéries dont la seule source de carbone est le CO<sub>2</sub> (bactéries autotrophe) comme : les Cyanobactéries, les bactéries nitrifiantes et les thiobacilles. Ces structures contiennent l'enzyme ribulose 1.5-diphosphate carboxylase (Carboxydismutase), enzyme clé du cycle de CALVIN, responsable de la réduction de CO<sub>2</sub> en composés organiques.

##### **b. Magnétosomes**

Des espèces bactériennes telle que *Aquaspirillum magnetobacticum*, découverte seulement dans les années 1970, nage à l'aide de flagelles bipolaires en s'orientant systématiquement dans le sens du champ magnétique terrestre : vers le nord dans l'hémisphère nord et vers le sud dans l'hémisphère sud.

Ce phénomène est contrôlé par les magnétosomes qui sont constitués de cristaux agglomérés de **magnétite** (Oxyde de fer: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), localisé dans le cytoplasme. Ils représentent jusqu'à 0.4% du poids bactérien et sont composés ordinairement d'une vingtaine de particule, alignées en chapelet

à la périphérie immédiate des flagelles. Les magnétosomes sont entourés d'une membrane unitaire formée de protéines, de glycoprotéines et de phospholipides.

### **c. Chromatophores**

Ce sont des structures cytoplasmiques présentes chez les bactéries photosynthétiques, ils renferment les **bactériochlorophylles** qui sont des pigments photosynthétiques de structure légèrement différente de celle des chlorophylles végétales, mais elles ont la même fonction et le même mécanisme d'action. Elles captent l'énergie lumineuse des photons par le processus de la photosynthèse dans laquelle peuvent aussi être impliqués d'autres types de pigments photosynthétiques : caroténoïdes des archaébactéries halophiles, phycobiline des cyanobactéries.