

Notions de génétique bactérienne

I/Le génome bactérien

E.coli

Bactéries = procaryote

1 seul chromosome

- =ADN circulaire bicaténaire
- +Les gènes essentiels des bactéries
- Fortement replié sur lui même = nucléoïde
- 10 % du volume cytoplasmique

Pas de membrane nucléaire

processus de | réplication de l'ADN
transcription de l'ADN en ARNm
synthèse des protéines

dans le même compartiment
cellulaire

plasmides

ADN circulaire **extrachromosomique**
réplication autonome

- * une grande variété de bactéries
Gram+ et Gram-
- * Levure
- * certains protozoaires

+ gènes non « vitaux ».

Les propriétés déterminées par des plasmides

1/Formes de virulence

Capsule

structures de fixation → Pili

2/Résistance aux antibiotiques

3/ Formation de nodules par les fixateurs d'azote « atmosphérique »

→ *Rhizobium* → symbiose avec les légumineuses.

4/Production d' ATB par les *Streptomycètes* et d'exoenzymes par *Bacillus*.

5/Dégradation de substances polluantes

bactéries saprophytes de l'environnement

6/ Conjugaison bactérienne:

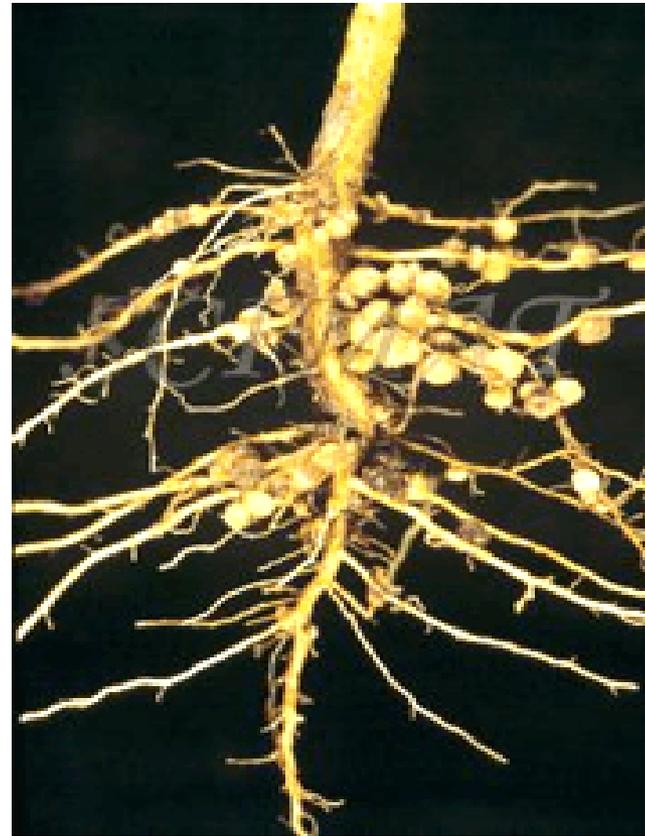
Ori T = origine du transfert → plasmide

conjugaison des plasmides

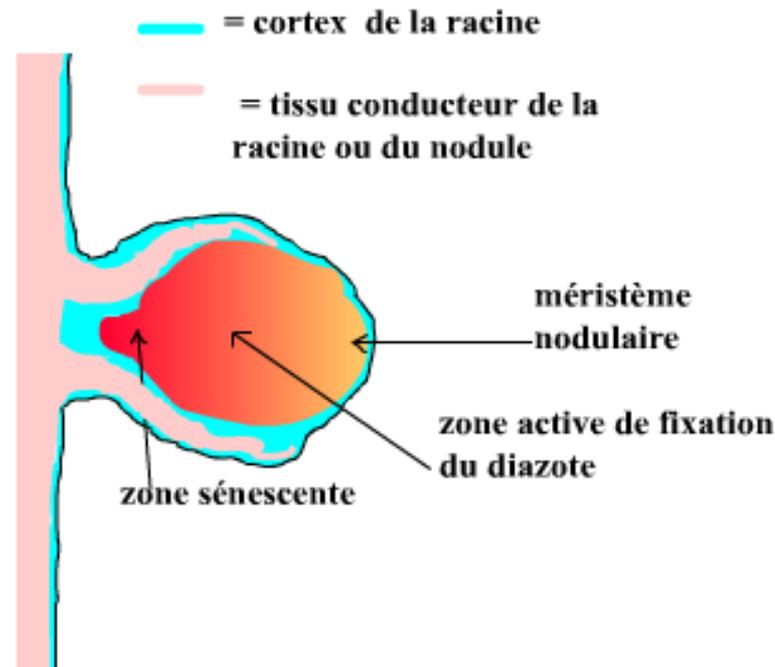
conjugaison des chromosomes qui ont intégré Ori T

→ **Chromosome Hfr**

Rhizobium – nodules racinaires



Rhizobium – nodules racinaires

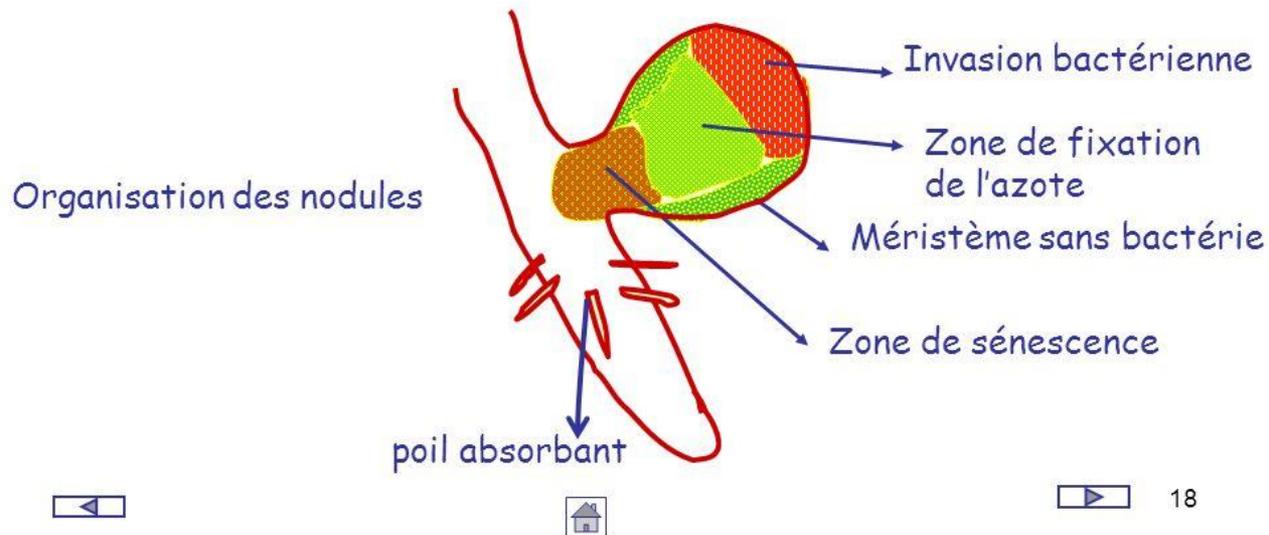


1/2 racine en coupe longitudinale montrant un nodule fonctionnel

Rhizobium – nodules racinaires

Les associations plantes- bactéries

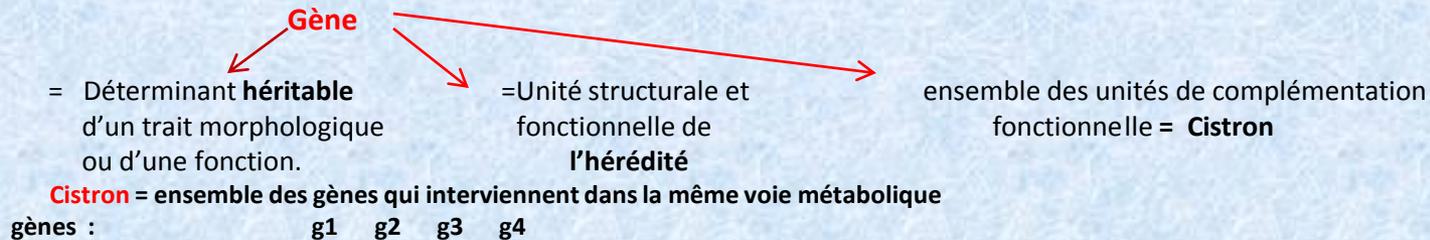
Les bactéries forment sur les racines des nodosités dont l'organisation est complexe. L'entrée des bactéries se fait par les poils absorbants des fines racines. Les bactéries envahissent ensuite les tissus de la racine et y forment des colonies symbiotiques. La durée de fonctionnement de ces symbioses est limitée à trois semaines.



II/Gène,mutation:

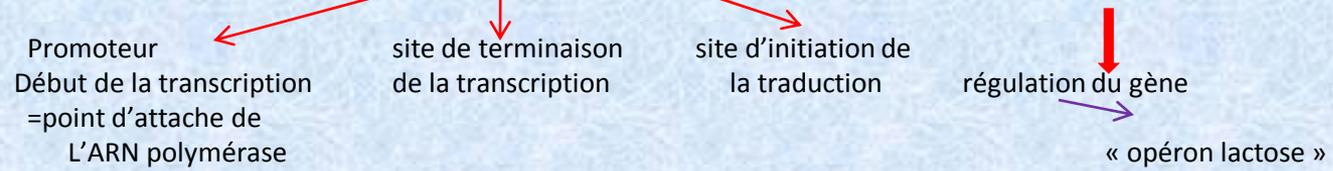
II.1/Definition et nomenclature du gène

a/Définitions :



gène = segment ADN → spécifie séquence des acides aminés → structure d'un polypeptide

Gène = ses séquences + séquences ADN permettant son expression + séquences en cis qui le contrôlent



Gène → **polypeptide**

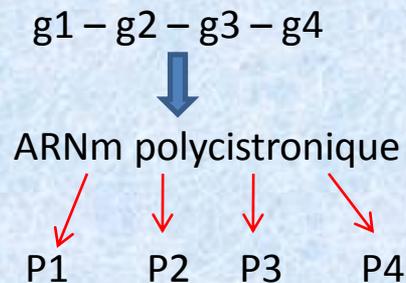
cistron → **polypeptide**

Différence entre ARNm Procaryote et Eucaryote

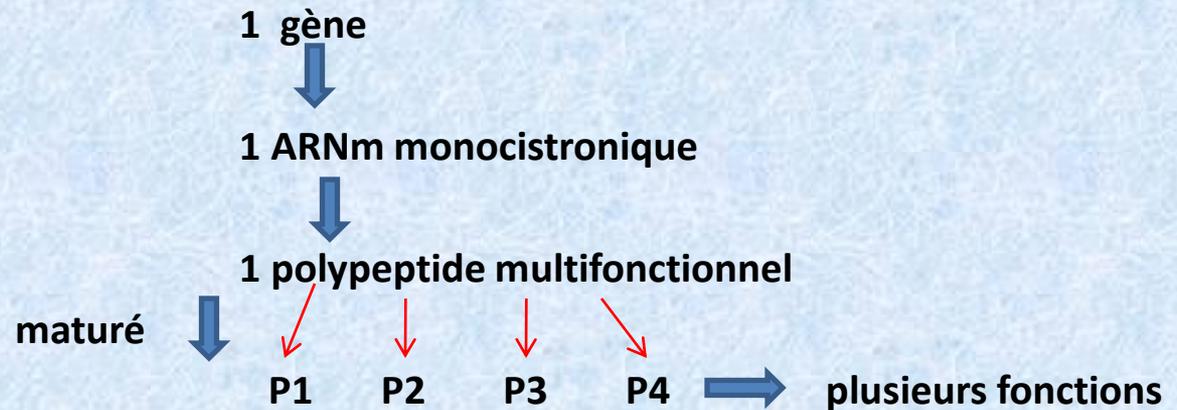
Bactéries

Les gènes codant pour les enzymes
D'une voie métabolique sont exprimés

De **façon coordonnée**
transcrit
↓
un messenger polycistronique
traduit
↓
polypeptides distincts



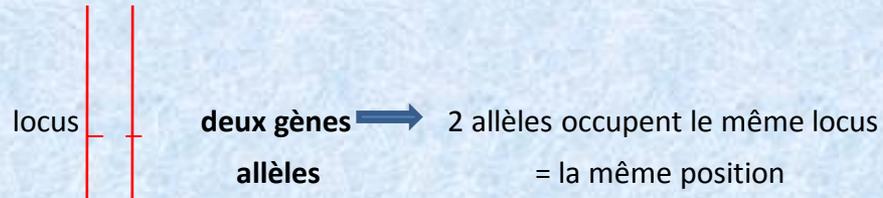
Eucaryotes



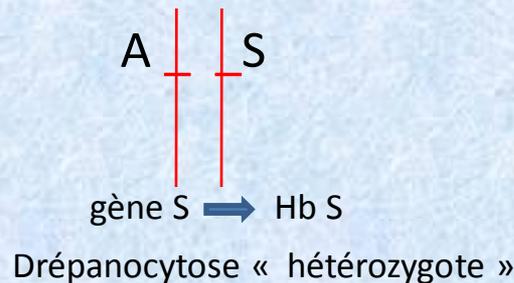
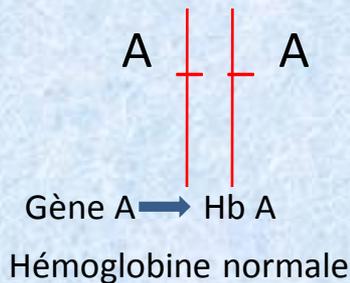
Allélisme : différence entre Eucaryotes et procaryotes

Eucaryote

2 chromosomes homologues



exemple: Les hémoglobinopathies



Bactéries

un seul chromosome



b/Nomenclature:



évoque le phénotype produit par le gène ou sa mutation

Le génotype



trois lettres minuscules

caractères italiques

Exemple: *arg* = gène de biosynthèse de l'arginine

lac = gènes de voie d'utilisation du lactose → synthèse de l'enzyme Béta galactosidase

str = gènes de résistance à la streptomycine . → *str(A)* , *str(B)* , *str(c)*

des gènes de la même voie métabolique de résistance

ordre d'intervention dans la voie

str(A₁) , *str(A₂)* , *str(A₃)* → allèles de A .

allèle sauvage → signe + en exposant : *arg A⁺* , *lac Z⁺* , *str A⁺*

Le phénotype

mêmes symboles , → lettres normales + 1^{ère} lettre majuscule

Arg⁻ = auxotrophie pour arginine .

Arg⁺ = prototrophie pour arginine.

II.2/ Les mutations et leurs origines:

a/définitions et caractères:

La mutation

= changement de l'information génétique au niveau d'un gène



changement dans le caractère

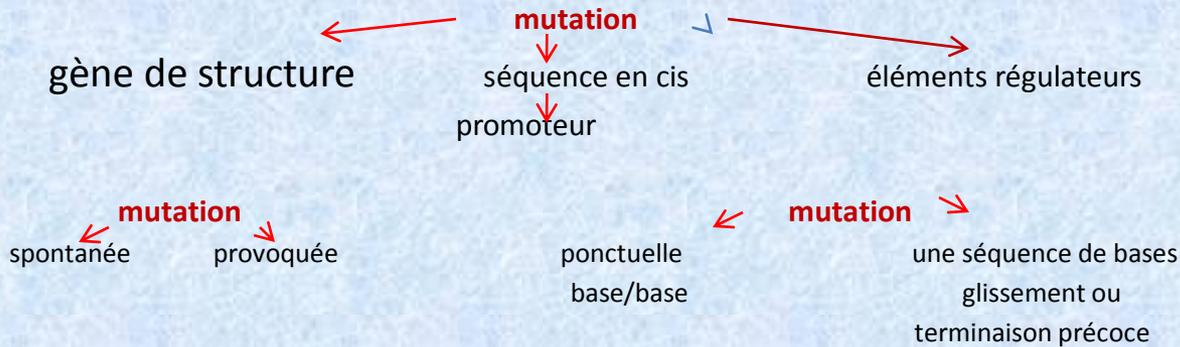


Exp1: bactéries prototrophes → auxotrophe vis-à-vis d'un métabolite

Exp2: La résistance aux ATB. → Bact sensible → bact résistante.

- *par changement de la cible de l'ATB → pénicilline et paroi bactérienne
- *par synthèse d'enzymes inhibitrices d'ATB.
- *par imperméabilité à l'ATB.

Propriétés des mutations



La fréquence de mutation

= nombre de cellules mutées / nombre de cellules totales = $f_m \ll 1$ (10^{-7} , 10^{-8})

Le taux de mutation pour un gène

= probabilité de mutation pour un gène « P »

Les mutations sont indépendantes

Exp: Erythromycine Es → Er : $P = 5.10^{-8}$
 Lac- → Lac+ : $p = 2.10^{-7}$

obtention d'une double mutation a une faible probabilité

« P » d'une double mutation = $5.10^{-8} \cdot 2.10^{-7} = 10^{-14}$.

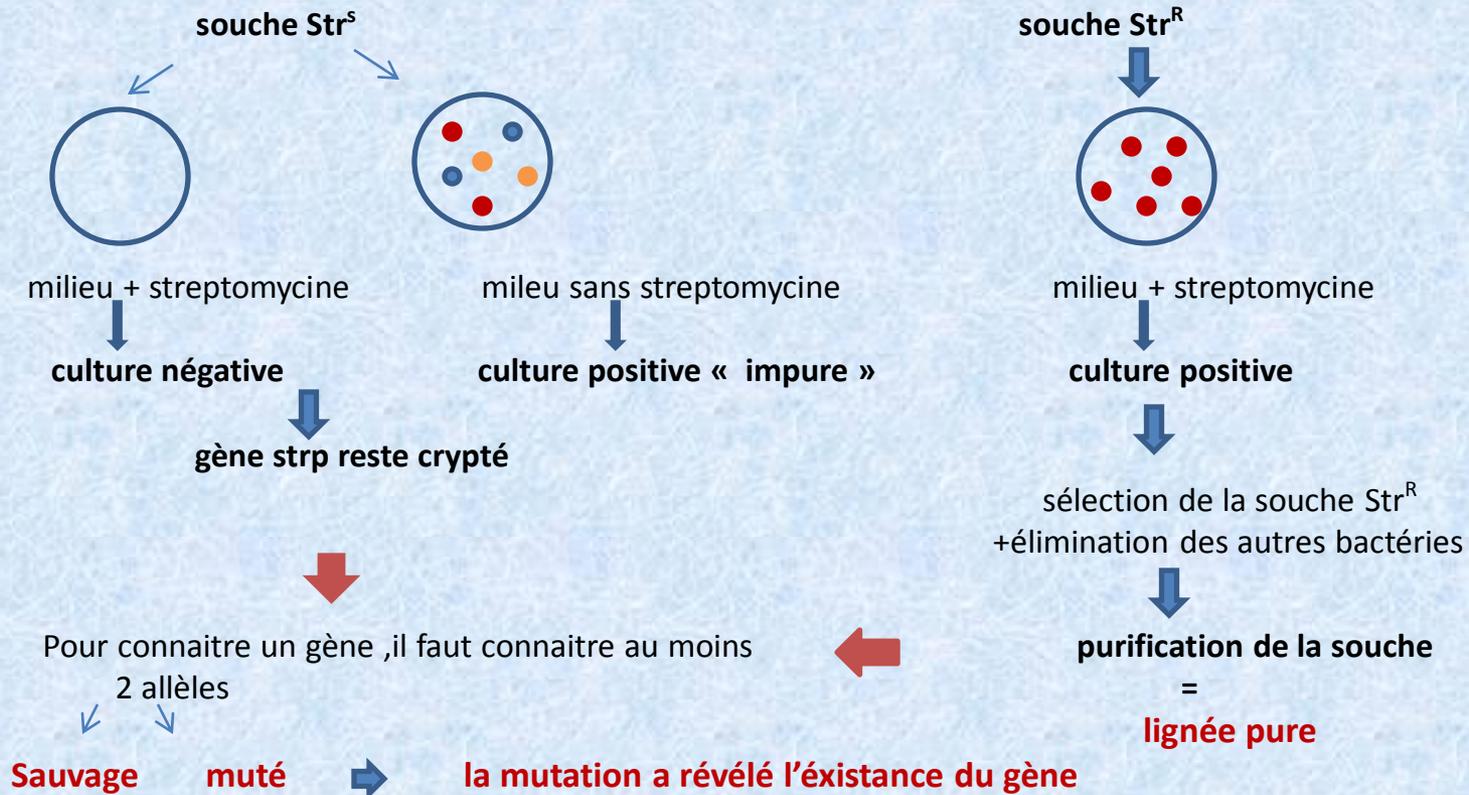
Les mutations sont réversibles + « P » différente d'apparition

la mutation d'un gène n'entraîne pas sa perte

Avantage de la mutation → révèle l'existence du gène

Mise en évidence d'un gène

Gène = sensibilité à la streptomycine
Mutation = résistance à la streptomycine



b/ Les agents mutagènes et mutation: mutagenèse

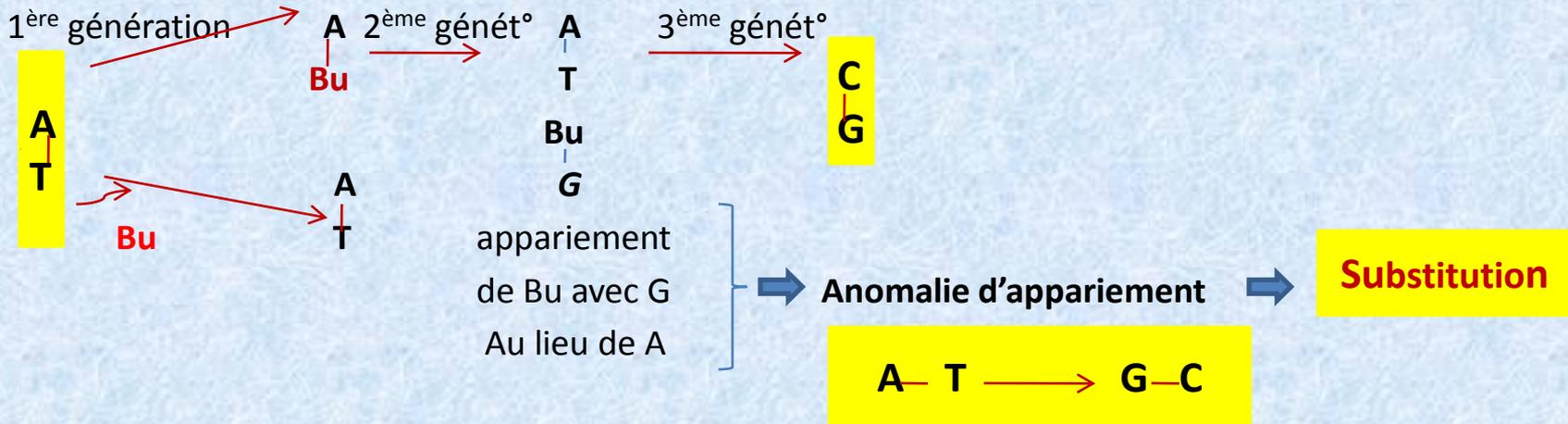
Analogues de bases

incorporés dans l'ADN à la place d'une base normale

↓
appariement incorrecte

↓
substitution

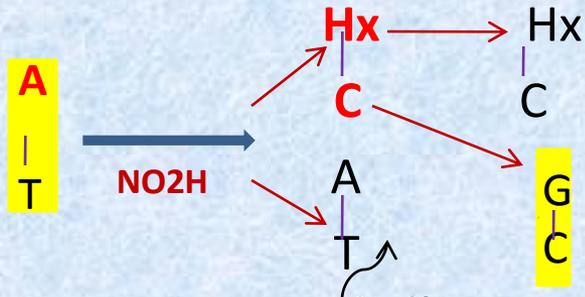
Exp : 5 bromo -désoxyuracile = analogue structural de la thymine → Le méthyl de la thymine
remplacé par un atome de brome (Br)



Agents de désamination

modification des propriétés d'appariement → **Transition**

Exp : Acide nitreux .
désamine l'adénine → hypoxanthine



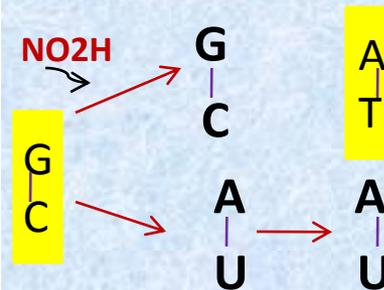
Appariement de l'Hx avec cytosine Au lieu de la thymine

*(C , T) = bases pyrimidiques

Transition

A T → GC

désamine la cytosine en uracile



Appariement avec A au lieu de G

*(G ; A) = bases puriques

Transition

GC → AT

Les agents alkylants:

« Les nitrosamines »

Modifie les propriétés d'appariement des bases

+

base plus labile

sites apuriniques ou apyrimidiques

réparation = excision de la région endommagée et resynthèse fidèlement la séquence normale

Exp: **Action sur la guanine**
alkylation de la guanine en position 7 (T° et PH physiologiques)

7-alkylguanine

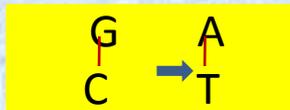
déstabiliser la liaison au désoxyribose

excision de la 7.alkyl-guanine de l'ADN

réparation

Transition non réciproque

Base remplacée par une base
De même nature (purique → G, A)



transversion

Base remplacée par une base de nature
différente (pyrimidique → C, T)



Transversion réciproque



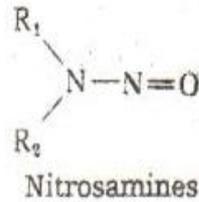
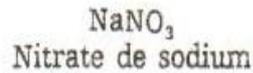
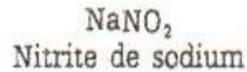
Transversion non réciproque

Tableau 1 : Effets de quelques mutations hypothétiques d'une seule base sur l'activité biologique des produits protéiques résultants

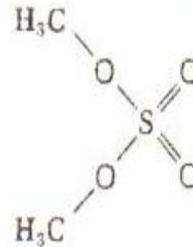
<i>Mutation</i>		<i>Triplet DNA "sauvage" (non muté)</i>	<i>Triplet muté</i>
Substitution d'une seule base ne provoquant pas de modification dans la séquence en aminoacides : <u>mutation silencieuse</u>	matrice DNA codon RNA Aminoacide	(3')-GCT-(5') (5')-CCA-(3') - Pro -	-GGA- CCU- - Pro -
Mutation d'une seule base provoquant la modification d'un aminoacide sans altérer l'activité biologique de la protéine parce que le remplacement de l'acidoacide ne se fait pas en un point critique et également parce qu'il ressemble à l'acidoacide normal : également mutation silencieuse		(3')-TAA-(5') (5')-AUU-(3') - Ile -	-GAA- -CUU- - Leu -
<u>Mutation létale</u> d'une seule base : un résidu de sérine essentiel à l'activité enzymatique est remplacé par une phénylalanine, ce qui donne un produit inactif sur le plan enzymatique		(3')-AGA-(5') (5')-UCU-(3') - Ser -	-AAA- -UUU- - Phe -
<u>Une mutation faible</u> dans laquelle la modification d'un aminoacide fournit une protéine qui conserve au moins une partie de son activité normale		(3')-CGT-(5') (5')-GCA-(3') - Ala -	-CCT- -GGA- - Gly -
<u>Une mutation hypothétique</u> bénéfique dans laquelle le remplacement d'un aminoacide produit une protéine avec une activité biologique augmentée, donnant à l'organisme muté un avantage ; il n'est pas possible de prévoir quels sont les remplacements d'acidoacides qui sont avantageux.		(3')-TTC-(5') (5')-AAG-(3') - Lys -	-TCC- -AGG- - Arg -

Figure 1:
 Certains agents chimiques peuvent altérer la structure des bases puriques et pyrimidiques du DNA. Ces agents sont appelés mutagènes parce qu'ils peuvent provoquer une mutation permanente, héréditaire si leurs effets ne sont pas réparés. L'agent de désamination le plus actif est l'acide nitreux qui peut être formé à partir de divers précurseurs (a). Les agents d'alkylation (b) interviennent en transférant un groupement alkyle à un atome d'oxygène ou d'azote d'une base altérant ainsi ses liaisons hydrogène caractéristiques. Des analogues des bases (c) provoquent des mutations en remplaçant une base normale au cours de la synthèse du DNA conduisant ainsi à un appariement de bases incorrect. Les groupements toxiques ou anormaux sont indiqués en couleur.

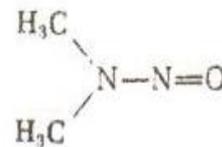
(a) Précurseurs de l'acide nitreux



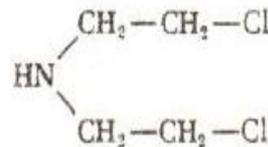
(b) Agents d'alkylation



Diméthylsulfate

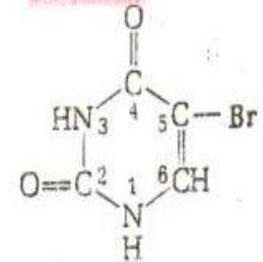


Diméthylnitrosamine

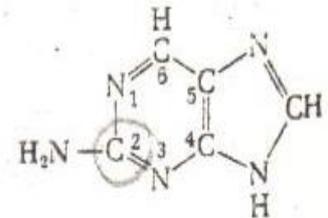


Moutarde à l'azote

(c) Analogues des bases



5-Bromouracile



2-Aminopurine

Les agents intercalants

Les acridines ↔ la proflavine,

intercalent leurs cycles aromatiques entre les bases de l'ADN



des glissements d'un brin d'ADN par rapport à l'autre



des additions ou des délétions de nucléotides



un glissement du cadre de lecture → Une autre protéine

même activité

activité différente

la mutation est dite silencieuse

Leur action est très peu réversible (28%).

Les agents intercalants

UU **U** CUG CAA CGA GAC UGU..... ARNm1
Phe **Leu** **Glu** **Arg** **Asp** **Cys** **Prot1**

délétion (D) acridine

UUC UGC AAC **A**GAG ACU GU ARNm2
Phe **Trp** **Asn** **Glu** **thr** **val** **Prot2**

addition(A) acridine

UUC UGC AAC AGA GAC UGU ARNm3
Phe **Trp** **Asn** **Arg** **Asp** **Cys** **Prot3**

Mutations non sens

ponctuelles



un changement de bases, au niveau des codons



les codons stops ou codons non-sens

UAA **Ochre**

UGA **Opal**

UAG **Amber**



arrêt de la synthèse de la protéine



mutations suppressibles

➡ Ces mutations peuvent donner des protéines.

Mutations par délétion, transposition, ou inversion

Les mutations précitées ponctuelles



mutations qui couvrent des séquences entières d'acides nucléiques.

Non réversibles

pas de recombinaison avec une mutation ponctuelle préexistence

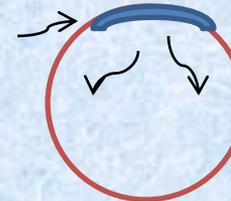
Délétion

= perte physique d'un fragment de l'acide nucléique (1%)

- spontanément
- Rayonnements ionisants (UV, X...).
- Acide nitreux.

Transposition

séquences spécifiques
= éléments transposables
= **transposons**



L'insertion quasi - aléatoire d'éléments transposables dans le génome

- 1/ les transposon interrompent des séquences codantes → fonctionnement perturbé de l'ADN polymérase → **perturbation ou interruption de la réplication**.
- 2/ des déplacements de séquences d'un réplicon vers un autre. → **la fusion de réplicons**,
- 3/ **des délétions**,
- 4/ **des inversions**

Inversions

juxtapositions nouvelles
↓
nouvelle séquence
↓
caractère nouveau

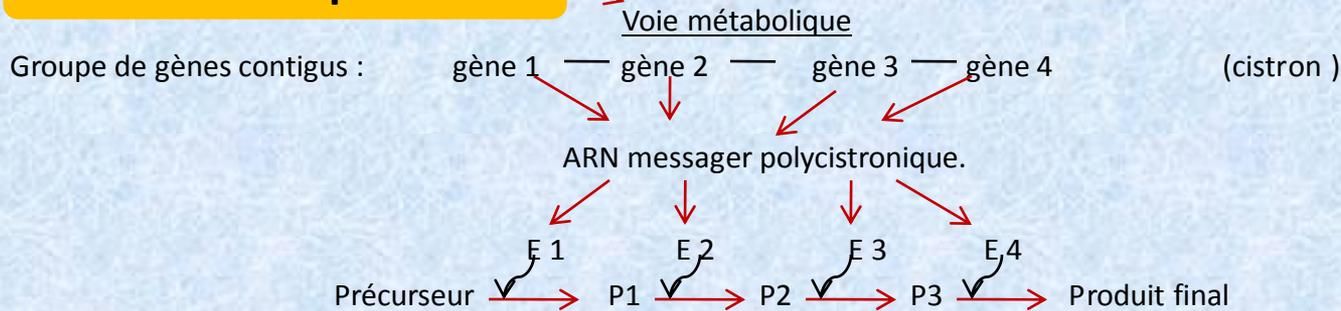


Mutations pléiotropes

L'effet de la mutation n'est pas limité au gène atteint
s'étend à l'expression de plusieurs gènes

non contigus
contigus

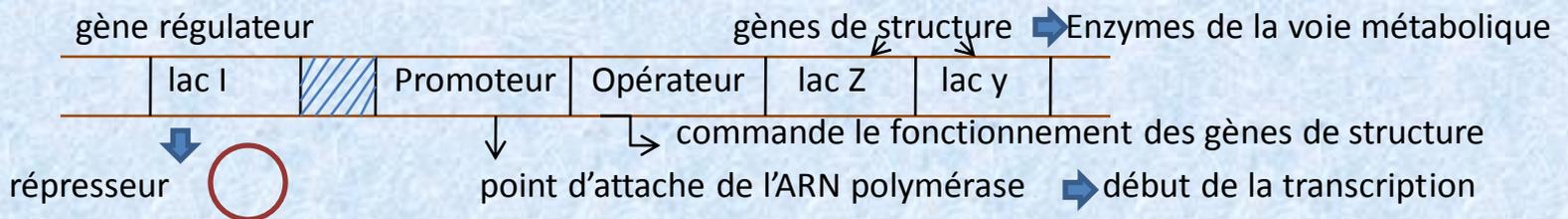
Les mutations polaires



Les mutations des gènes régulateurs

activateurs
répresseurs

Exemple: Opéron lactose .



Mutations réverses



Elles rétablissent le phénotype sauvage.

Les mutants mutateurs



**Mutants qui diminuent
la fidélité de la réplication.**

**Exp : Mutant pol A
de l'ADN polymérase I.**

**Mutants qui diminuent
la correction post répllicative.**

**Exp : Les mutants des enzymes
mut H et mut U.**

II.3/Système de correction des mutations = Réparation du DNA.

a/ Système de correction des défauts d'appariement,
les additions et les délétions:

systèmes mut d'E.coli = Système hex de { Streptococcus pneumoniae.
Hemophilus influenzae

Systèmes enzymatiques

Mut U = hélicase → déroule le double brin d'ADN.

Mut H = Endonucléase → incision → élimination de la base mal appariée

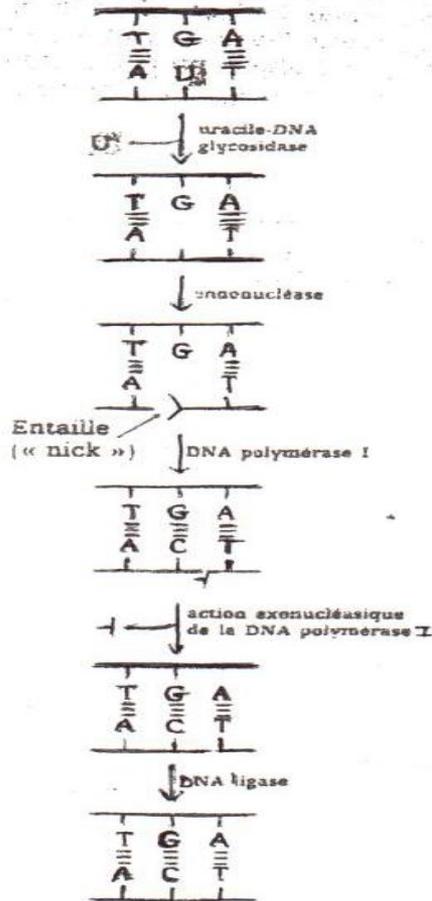
ADN polymérase → appariement correcte des bases.

L'ADN ligase → liaison entre les nouvelles bases .

→ Les transitions sont corrigées plus efficacement que les transversions,

→ la correction est plus efficace dans les régions riches en paires. **G = C (de grande stabilité)** (PL1, fig2).

Figure 2
 Réparation de la transformation spontanée de la cytosine en uracile. L'uracile peut être retirée par voie enzymatique et le désoxyribose phosphate "vide" remplacé par le résidu désoxycytidine phosphate correct.



a/ Système de correction des défauts d'appariement, les additions et les délétions:

Mut U = hélicase ↓

déroule le double brin d'ADN.

Mut H = Endonucléase

➔ incision ➔ élimination de la base mal appariée

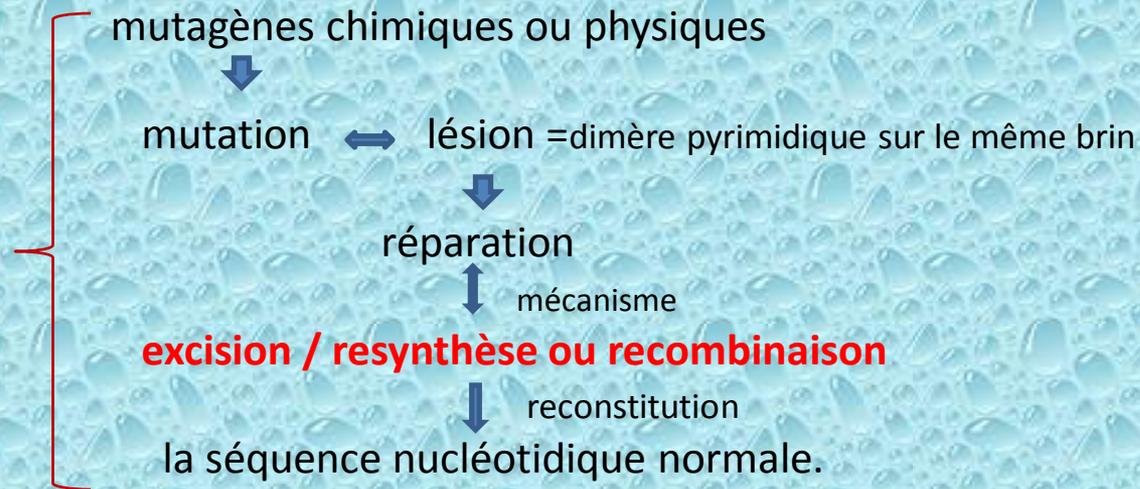
ADN polymérase ↓

appariement correcte des bases.

L'ADN ligase ↓

liaison entre les nouvelles bases .

2/Système de réparation des lésions dans le DNA chez E.coli :

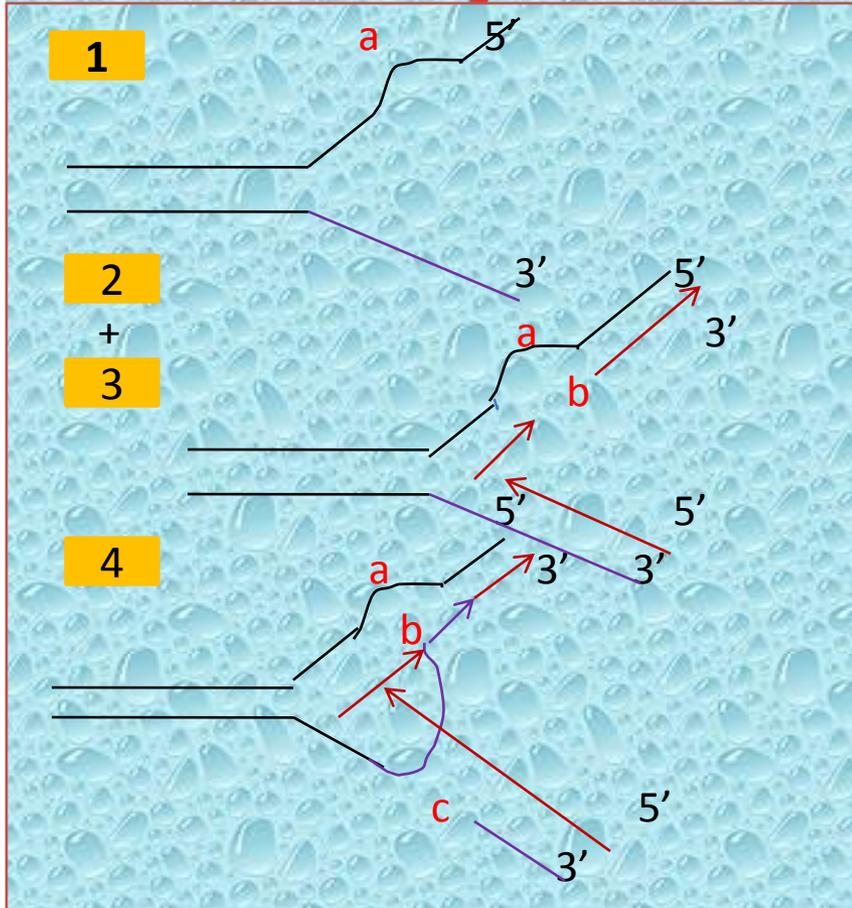


Si ces systèmes sont saturés ou incapables de réparer certaines lésions



système SOS = générateur de mutations.

Réparation d'une lésion dans l'ADN par recombinaison



- 1** Lésion « a » dans l'ADN parental. ↓
- 2** Interruption locale de la réplication ↓
- 3** Apparition d'une brèche « b » dans le brin répliqué ↓
- 4** L'autre brin parental est introduit dans la brèche et ligaturé avec le brin néosynthétisé ↓
- 5** La brèche « c » créée dans le brin parental est comblée par l'ADN polymérase I prenant comme Matrice l'autre brin néosynthétisé.

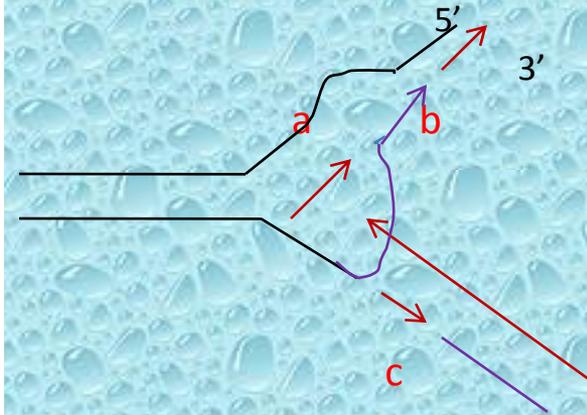


Tableau 1: Systèmes bactériens de correction et de réparation de l'ADN. Extrait de *Introduction à l'analyse génétique*, de Suzuki, D.T., Griffiths, A.J.F., Miller, J.H. & Lewontin, R.C., Editions De Boeck-Université, Bruxelles (1991).

Mode d'action	Fonctions et gènes impliqués	Lésion(s) réparée(s)
Elimination directe de la lésion	Alkyltransférases (<i>ada, alk A, alk B, aid,...</i>) Enzymes photoréactivantes (<i>phr,...</i>)	Bases alkylées Photodimères pyrimidiques UV
Excision généralisée	Excinucléase (<i>uvr A, B, C</i>)	Photodimères pyrimidiques UV Adduits volumineux
Excision spécifique	Endonucléases AP (<i>xth, nfo,...</i>) ADN glycosylases (<i>ung, tag,...</i>)	Sites apuriniques/apyrimidiques Uraciles, hypoxanthines, bases modifiées
Réparation postréplivative	repérage des défauts d'appariement (<i>mut L, mut S</i>) endonucléase (<i>mut H</i>) hélicase (<i>mut U</i>)	Bases appariées de façon incorrecte
	repérage et élimination des paires G::T (<i>mut L, mut S,...</i>)	Paires G::T résultant de la désamination de la 5-meC
	réparation par recombinaison (<i>rec A, ruv,...</i>)	discontinuités dans un brin néosynthétisé au niveau de lésions du brin parental
	réparation par recombinaison (<i>rec A, rec N</i>)	cassures double brin
	Système SOS (<i>rec A, umu D, umu C,...</i>)	discontinuité dans un brin néosynthétisé au niveau de lésions du brin parental ; réplication peu fidèle de la séquence endommagée

II.4/ Réponse SOS:

= réparation infidèle

plusieurs gènes
des produits

Perturbation de la réplication



l'ADN polymérase peut franchir l'obstacle = lésion



incorporation erronée de bases sur l'ADN fils
malgré la lésion sur l'ADN matrice



diminution de fidélité



une mutation.

II.5) Réponse adaptative :

L'exposition des bactéries à de faibles doses d'agents mutagènes → Alkylants



adaptation des bactéries à la présence de l'agent mutagène



Les bactéries engendrent des enzymes qui éliminent les alkylants.



les bactéries deviennent capables de résister à des expositions massives ultérieures.

III) Recombinaison génétique chez les bactéries :

=

- ➔ Echange du matériel génétique après transfert de celui-ci d'une cellule bactérienne donatrice à une autre réceptrice.



conjugaison bactérienne
transduction
transformation

- ➔ l'échange se fait à l'intérieur de la même cellule.

Transposon

d'un plasmide vers le chromosome
du chromosome vers le plasmide
du chromosome vers une autre partie du chromosome

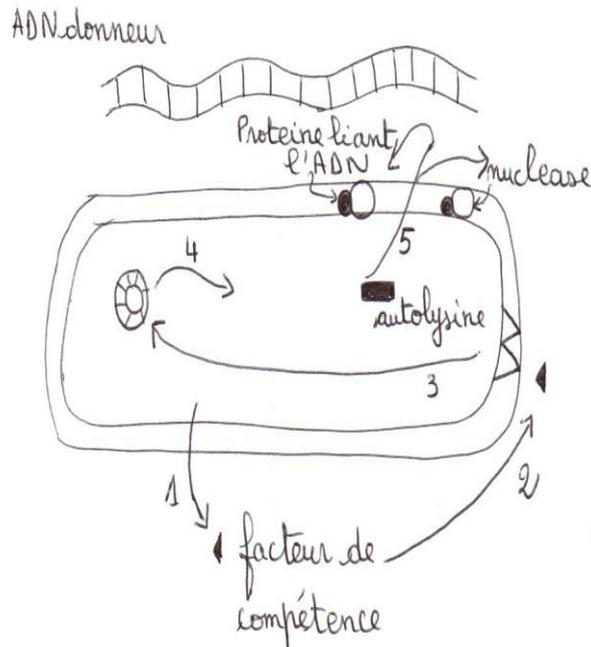
III.1) Transformation :

Transformation naturelle :

Etapes du processus

- ▶ autolyse de la cellule donatrice ;
- ▶ Libération de l'ADN dans le milieu ;
- ▶ **Développement de la compétence par la bactérie réceptrice.**
- ▶ **Interaction et fixation de l'ADN exogène** à la surface de la bactérie réceptrice.
- ▶ **Pénétration** de l'ADN.
- ▶ **Intégration** de l'ADN donneur dans le génome et expression de l'ADN transformant.

Transformation artificielle



Etape I : Développement de la compétence de la cellule réceptrice.

➔ Extraction du matériel génétique de la cellule donatrice, puis pénétration dans la cellule réceptrice et intégration (PL2, fig3).

← Développement de la compétence de la cellule réceptrice:

Le facteur de compétence

interagit

un récepteur à la surface cellulaire

Expression de certaines protéines spécifiques de la compétence

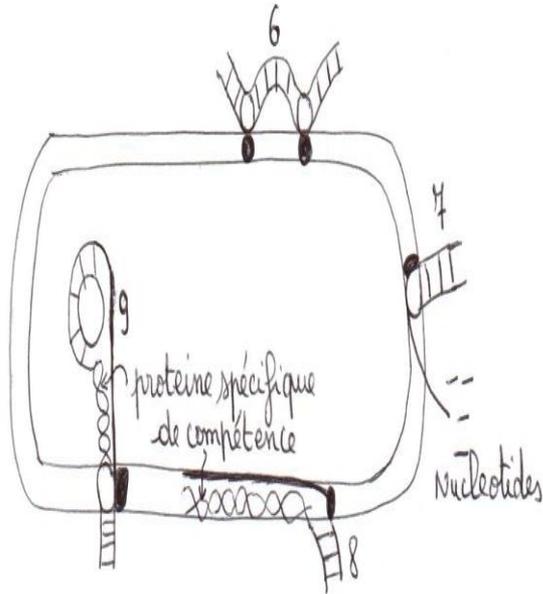
autolysine

démasque

une protéine associée à la membrane et qui se lie à l'ADN

une nucléase.

Transformation artificielle



Etape II: Transformation.

Fig 3: Transformation.

suite

Transformation

Etapes du processus

Un long fragment **d'ADN double brin** est fixé à plusieurs sites de la surface cellulaire. ↓

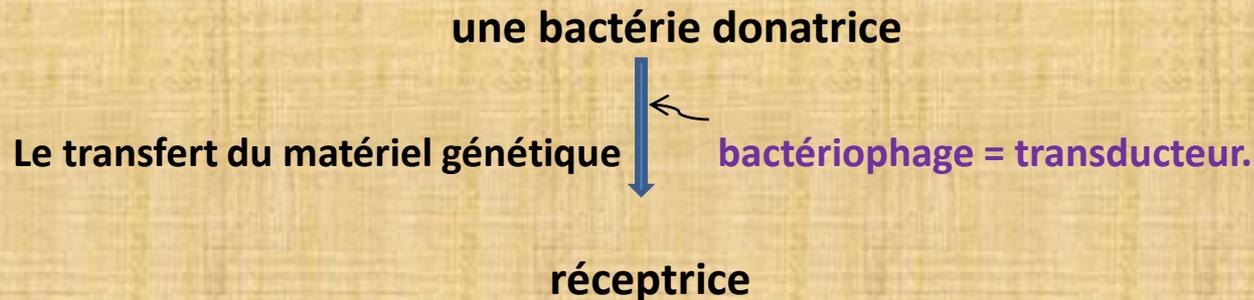
progressivement entaillé et coupé ↓

▶ Un des brins du fragment coupé est dégradé par la nucléase
nucléotides libérés dans le milieu

▶ l'autre brin s'associe à **une protéine spécifique de la compétence.**
entre dans la cellule ↓
se recombine avec l'ADN de la bactérie endogène.

En général, un seul caractère est transformé au cours du phénomène même si les bactéries donatrice et réceptrice diffèrent par de nombreuses propriétés.

III.2) Transduction



Les différents types de transduction :

La transduction généralisée et non spécifique

N'importe quelle région du chromosome du donneur peut être transduite (pl 3, fig4)

La transduction abortive

L'exogénote n'est pas intégré dans la bactérie réceptrice. il est dilué au cours des divisions.

La transduction restreinte et spécifique

(PL4, fig 5).

➔ La transduction est restreinte:

Avec d'autres bactériophages, un groupe de gènes seulement, situé au voisinage du point d'attachement du prophage peut être transduit.

➔ La transduction est spécialisée : exemple → le phage Lambda (λ) fournit

deux types de phages transducteurs

↙
Ceux qui transduisent les gènes de la voie de dégradation du galactose.

↘
Ceux qui transduisent les gènes de la synthèse de la biotine (planche 4', fig 6).

➔ Les propriétés susceptibles d'être transduites sont nombreuses : Pouvoir de fermenter les sucres. Résistance aux antibiotiques etc.

➔ Ce phénomène peut être reproduit chez : *Escherichia, shigella, proteus, pseudomonas, vibrio, bacillus, staphylococcus* etc.

Transduction généralisée et non spécifique

Transfert du gène α^+ de la bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un phage virulent. N'importe quelle région du chromosome du donneur peut être transduite

1^{ère} étape: Infection de la bactérie donatrice « gène α^+ » par un phage virulent.

ne s'intègre pas à l'ADN de l'hôte + réplication

1/ Injection de l'ADN du phage.

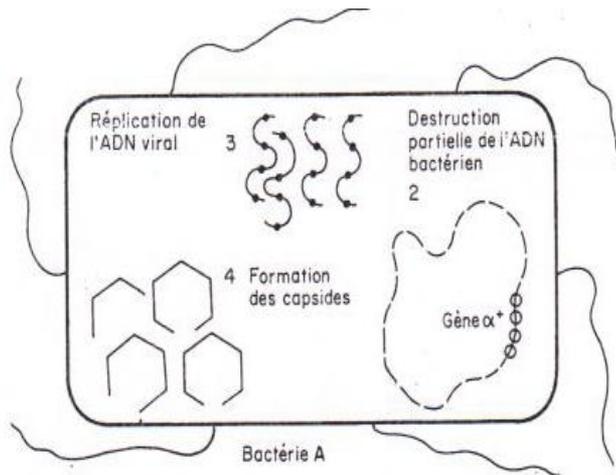
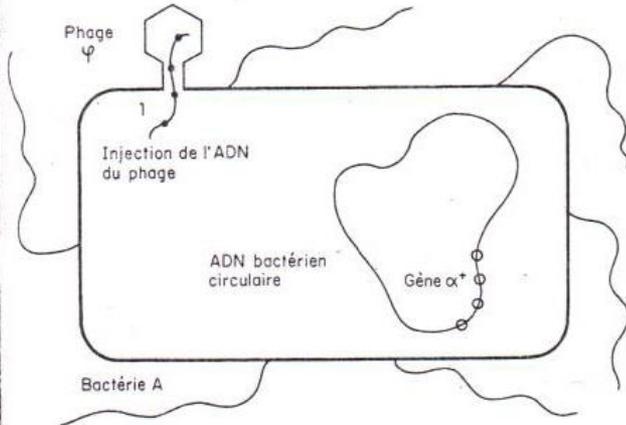
2/ Destruction partielle de l'ADN bactérien

gène « α^+ » reste

intact

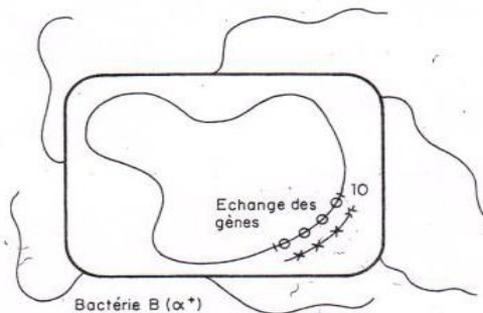
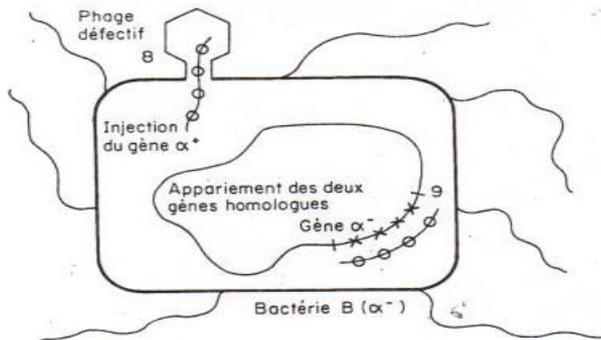
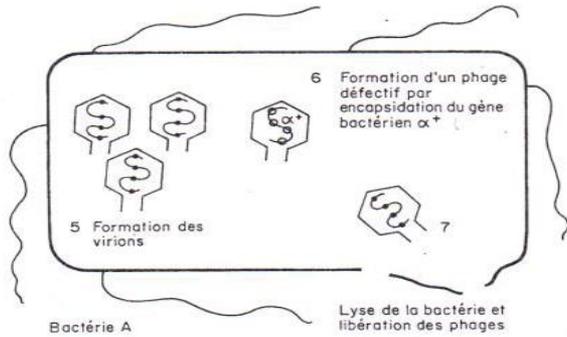
3/ réplication de l'ADN viral .

4/ formation des capsides.



Transduction généralisée

suite



5/formation des virions par encapsidation des gènes.

6/Formation d'un phage défectif par encapsidation du gène bactérien.

7/Lyse de la bactérie et libération des phages .

2^{ème} étape: Infection de la bactérie réceptrice « α^- » par le phage défectif(contient le gène α^+)

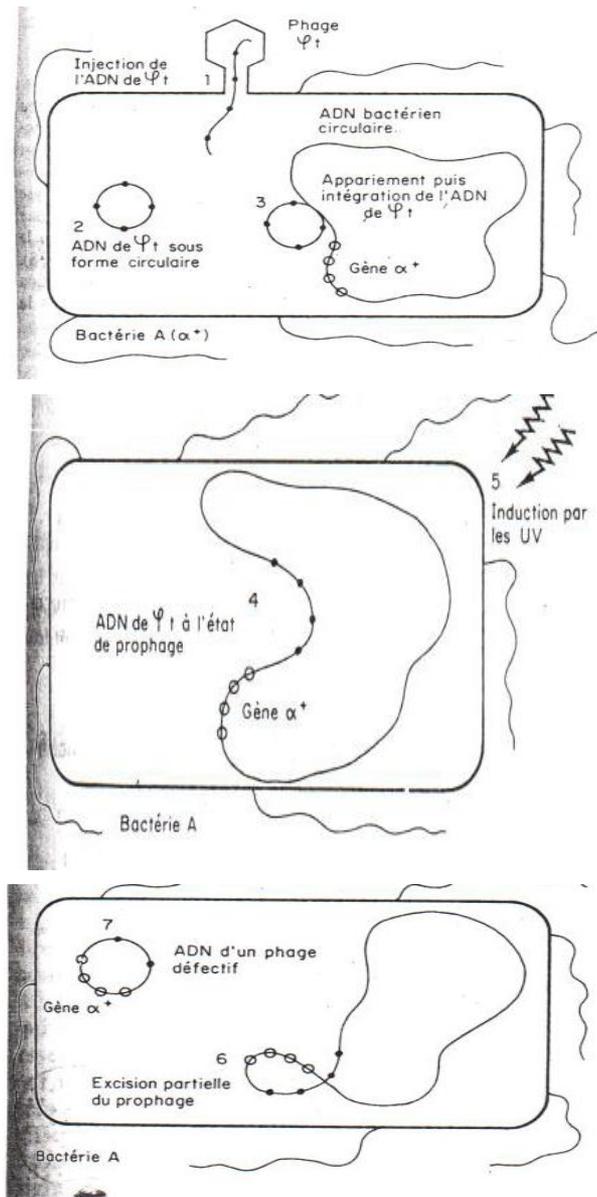
8/ Injection du gène α^+ .

9/ Appariement des 2gènes homologues α^+ et α^- .

10/Echange des 2 gènes



la bactérie réceptrice devient α^+



Transduction restreinte

➔ Transfert du gène α^+ de la bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un phage lysogénique. ➔ un groupe de gènes seulement, situé au voisinage du point d'attachement du prophage peut être transduit

1^{ère} étape: Infection de la bactérie donatrice « gène α^+ » par un phage tempéré=phage lysogénique

s'intègre à l'ADN de l'hôte, sans réplication

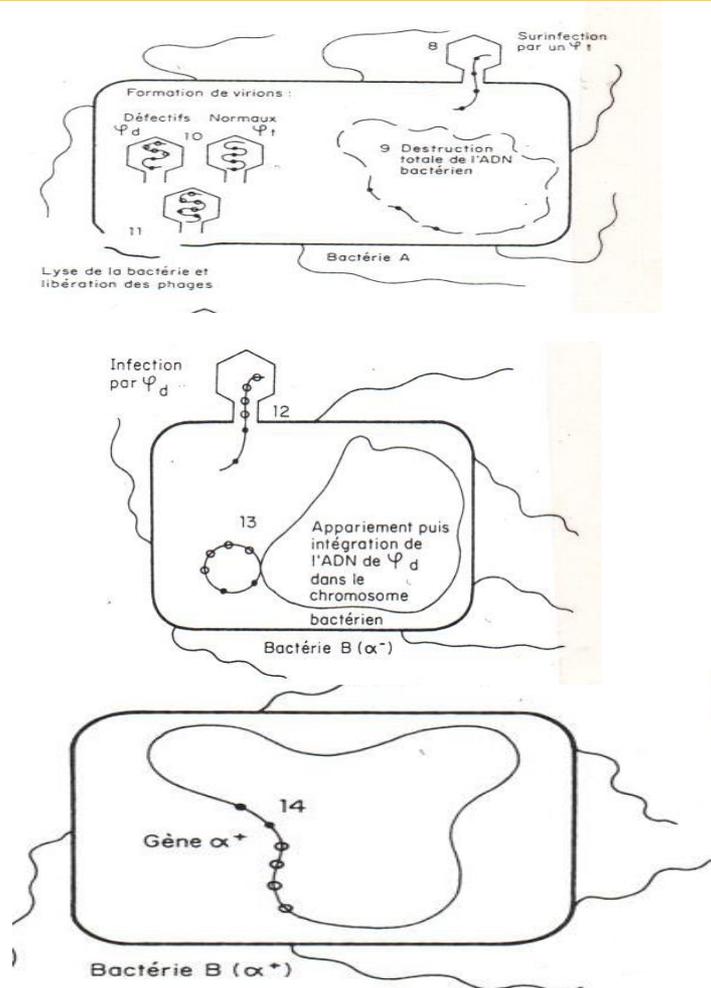
- 1/ Injection de l'ADN « linéaire » du phage t.
- 2/ L'ADN du phage t sous forme **circulaire**.
- 3/ Appariement puis intégration de l'ADN du phage t .
- 4/ADN du phage t à l'état de prophage .
- 5/Induction par les UV du cycle lytique

6/Excision partielle et asymétrique du prophage

gènes du phage perdus + 1 gène bact emporté

7/ADN d'un phage défectif. ➔ Véhicule les gènes bactériens
= gènes du phage + gène α^+ de la bact donatrice.

Transduction restreinte SUITE



- 8/Surinfection par un phage t ↓
déclenchement du cycle lytique= ↓
 9 /destruction totale de l'ADN bactérien
 10/formation de virions normaux
 Encapsidation ↓ de l'ADN phagique
 +virion défectif → encapsidation d'ADN du phage défectif+ gène α^-
 11/ Lyse de la bactérie .

2^{ème} étape: Infection de la bactérie réceptrice « gène α^- » par le phage défectif

- 13/Appariement puis intégration de l'ADN DU phage défectif dans le chromosome bactérien
 14/Bactérie réceptrice → α^+

Transduction restreinte et spécifique

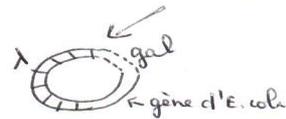
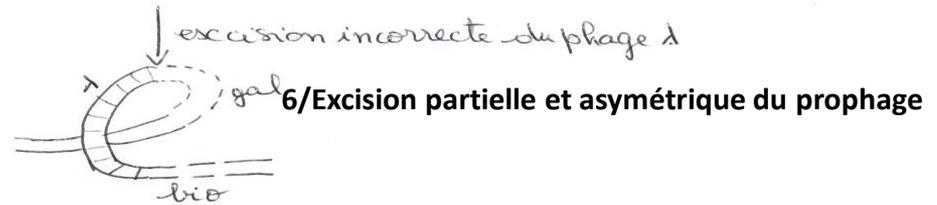
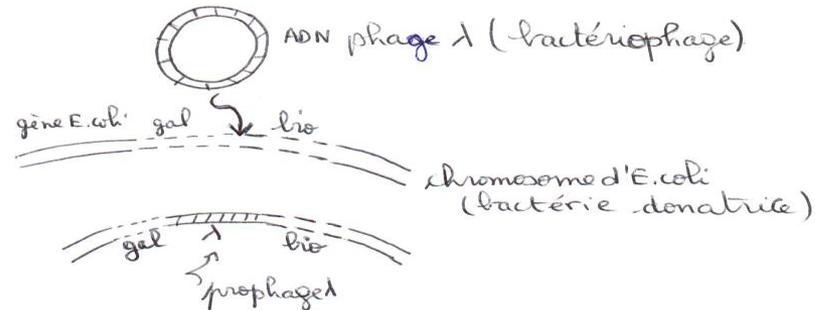
La transduction est spécialisée : exemple → le phage Lambda (λ) fournit deux types de phages transducteurs



➔ Ceux qui transduisent les gènes de la synthèse de la biotine

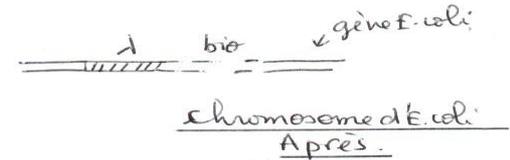
➔ Ceux qui transduisent les gènes de la voie de dégradation du galactose.

Planche 4'



Phage λ transducteur

va infecter une nouvelle bactérie \Rightarrow transfert des gènes de la bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice.
 \Rightarrow Phage λ transduit le gène gal.



\Rightarrow incomplet, défectif, a perdu une ou plusieurs de ses propriétés.

bio : gènes de la synthèse de la biotine.
gal : gène de la synthèse de la galactokinase.
(gènes de la dégradation du galactose).

Fig 6 : Transduction restreinte et spécifique (phage $\lambda \rightarrow$ gène gal)

III.3) Transposons (PL5, fig 7 et 8).

La transposition est le transfert d'un fragment d'ADN

du plasmide vers le chromosome } intégration des 2 ADN dans la
du chromosome vers le plasmide } même cellule → fusion de réplicons .
du chromosome vers une autre partie du même chromosome.

Transposons du 1^{er} groupe

→ Les séquences d'insertion (IS)

 = éléments transposables les plus simples 
le gène d'une **transposase** **des séquences répétées inverses,**
= enzyme qui catalyse **essentielles pour la transposition.**
l'excision de l'élément « aux extrémités »

→ Les transposons composites

deux copies d'une même IS sont insérées aux 2 extrémités d'une molécule d'ADN
 dans la même orientation ou dans des orientations inverses.
plusieurs gènes → des gènes de résistance à des antibiotiques + un gène d'entérotoxine.

Insertion d'un transposon dans un ADN receveur

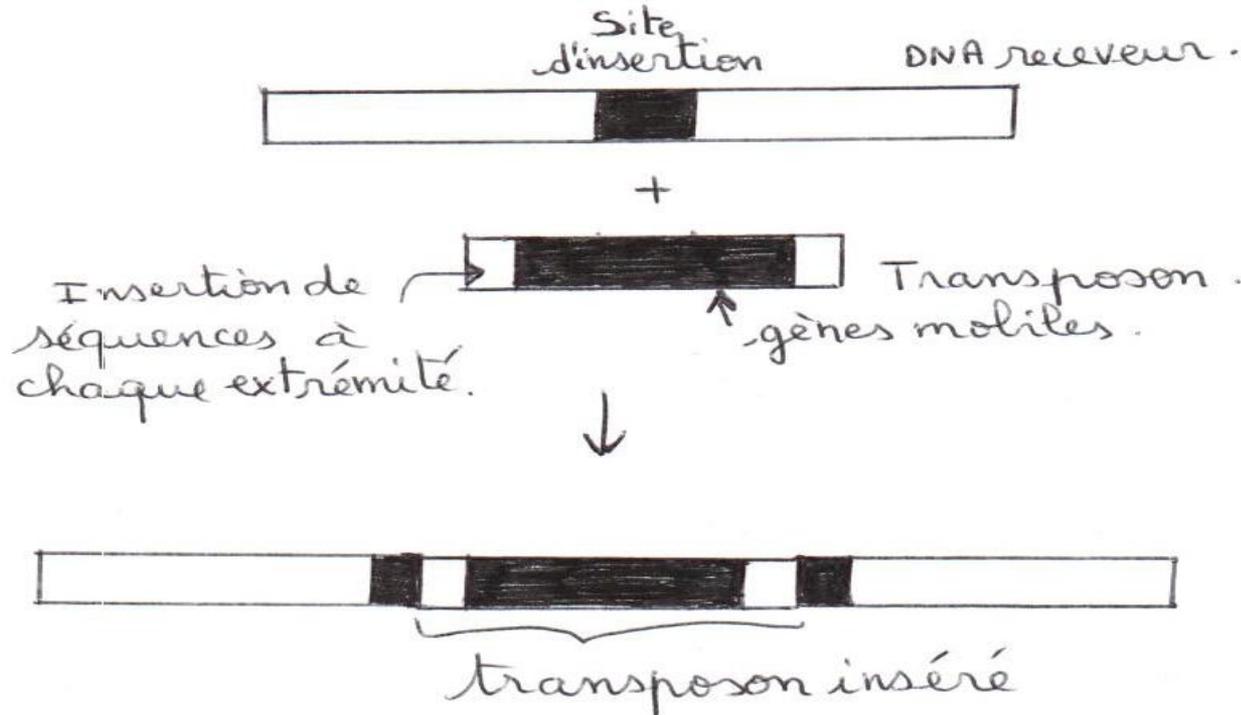


Fig 7. Insertion d'un transposon dans un DNA receveur. En chaque extrémité du transposon se placent des séquences d'insertion inversées.

a / Transposon simple = séquence d'insertion

b / Transposon composite

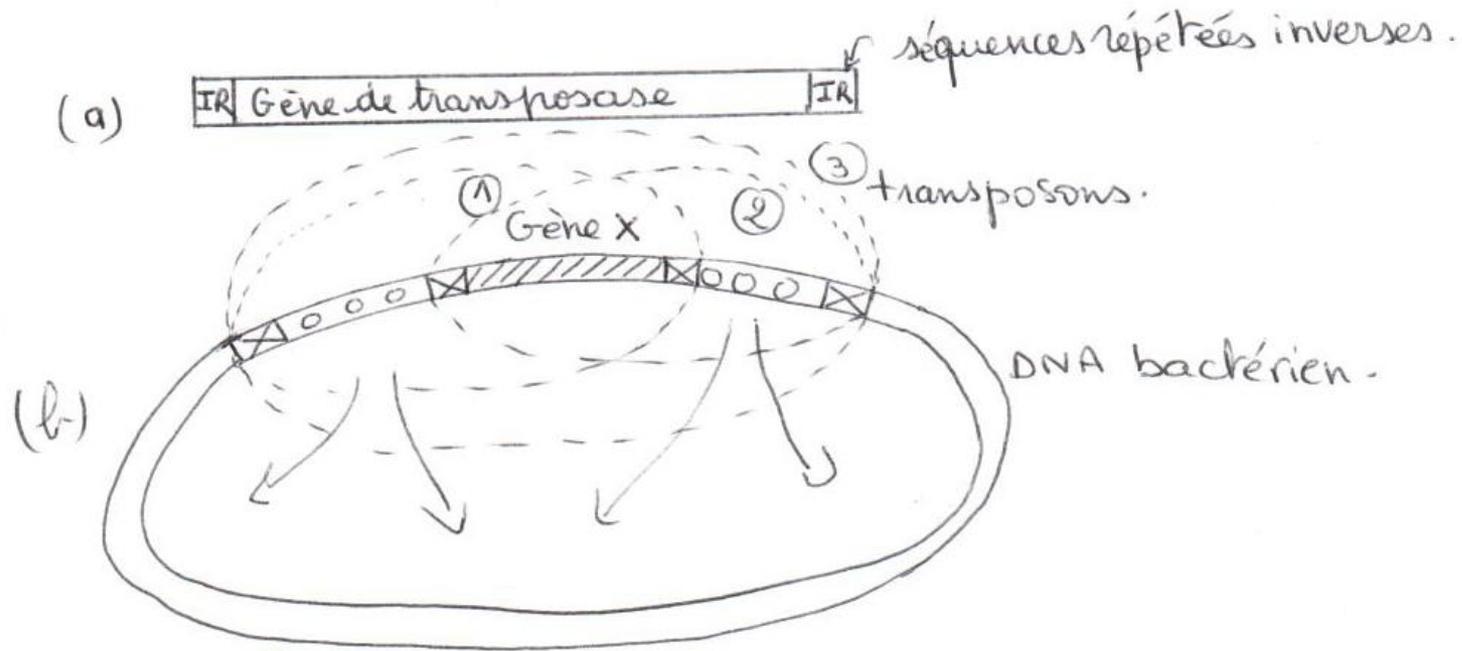


Fig 8 : (a) = séquence d'insertion = simple transposon.
(b) = transposon composite.

a / Transposon simple=séquence d'insertion

b/Transposon composite

IR =séquences répétées inverses

Gène de transposase



b/ 3 Transposons

3^{ème} situation

2^{ème} situation

1^{ère} situation

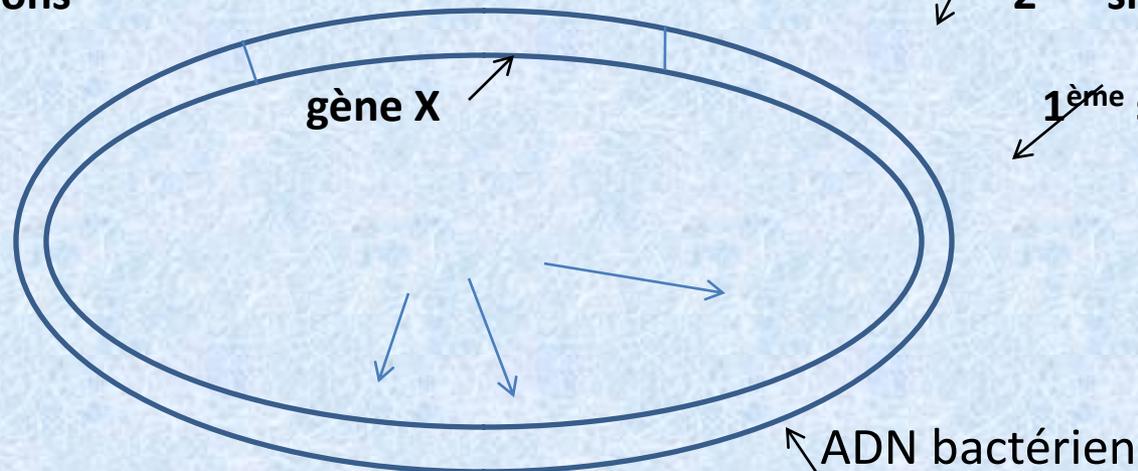


Fig 8 :

III.4) Conjugaison bactérienne : (PL6, fig9).

=

= parasexualité bactérienne

= transfert de l'ADN d'une cellule donatrice



contact étroit entre les deux cellules

à une cellule réceptrice

Transfert plasmidique

Transfert chromosomique



Plasmides conjugatifs

chromosome Hfr



Plasmides non conjugatifs

Transfert plasmidique

Plasmides conjugatifs

- ➔ organisent leur propre transfert par conjugaison
- ➔ masse moléculaire > 30 mégadalton
60 chez le plasmide F d'E.coli
- ➔ nombre de copies /cellule faible (1 à 3).
- ➔ La conjugaison entre bactéries
 - de même espèce,
 - d'espèces éloignées.

plasmides non conjugatifs

- ➔ ne sont pas autotransmissibles par conjugaison
- ➔ petite taille → 0.5 à 50 méga
- ➔ nombre de copies élevé par cellule.
- ➔ Leur transfert peut se réaliser par « **mobilisation** » par un autre plasmide (**autotransférable**) présent dans la même cellule.

Plasmides conjugatifs

Synthèses cellulaires déterminées par la présence du facteur F

⇒ La formation de **récepteur de surface** de nature polysaccharidique

↓
reconnaissance.

⇒ Synthèse de **pili sexuels** = câbles d'amarrage.

↓
fixation.

⇒ Un **pont cytoplasmique**

↓
Transfert d'ADN.

Les 2 étapes majeures de La conjugaison

⇒ **La reconnaissance** du partenaire

↓
formation de **contacts cellulaires étroits**  **les pili**

⇒ **L'incision**

↓
transfert d'un brin de l'ADN du plasmide conjugatif **couplé à la réplication de l'autre chaîne** du donneur

Conjugaison bactérienne

La formation de **récepteur de surface** de nature polysaccharidique



reconnaissance.

Synthèse de **pili sexuels** = câbles d'amarrage.



fixation.

Un **pont cytoplasmique**



Transfert d'ADN.



Figure 9
Micrographie électronique de deux *E. coli* en contact durant une conjugaison. [Aimablement communiqué par le Dr Lucien Caro.]

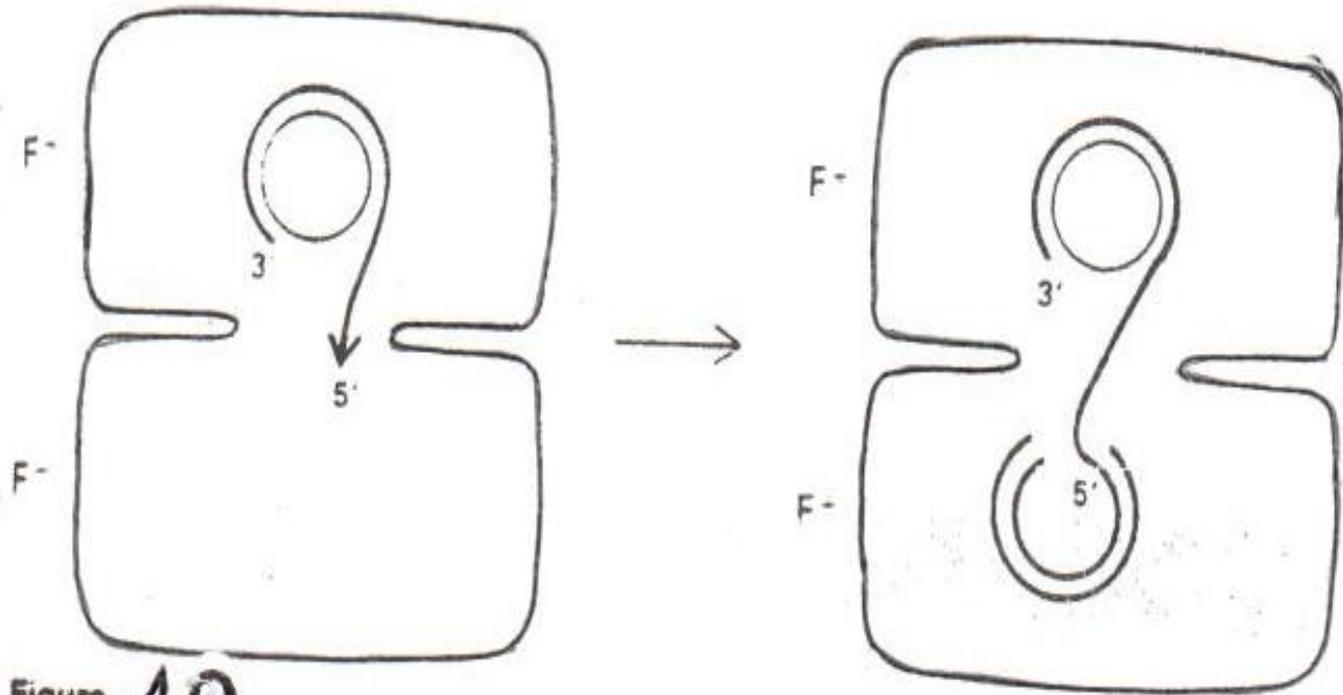


Figure 10

Modèle proposé pour le transfert de l'information au cours de la conjugaison. Le facteur R surenroulé du donneur F^+ se déroule après avoir été coupé. Le transfert de l'une des chaînes du facteur R au receveur F^- est couplé à la réplication de l'autre chaîne du donneur. Une chaîne complémentaire est alors synthétisée dans le receveur. [D'après G. J. Warren, A. J. Twigg, and D. J. Sherratt. *Nature* 274 (1978) : 260.]

Transfert chromosomique : (PL6, fig 11 et 12) (PL6' → fig13) (PL6'', fig14) et (PL7 → tableau2).

Formation du chromosome Hfr

Les facteurs conjugatifs → facteur F,R, facteurs primes
s'intègrent spontanément dans le chromosome
au niveau de sites particuliers

$$10^{-3} < \text{fréquence} < 10^{-4}$$



naissance de souches donatrices de type Hfr = haute fréquence de recombinaison

des molécules d'ADN sans la séquence oriT = origine du transfert



mobilisées

recombinaison avec un réplicon porteur Ori T.

le gène O du facteur F est l'origine d'un transfert orienté du chromosome de la cellule mâle à la cellule réceptrice → transfert unidirectionnel du matériel génétique suivi de recombinaison

Fig 11: Formation du chromosome Hfr

Fig 12: Formation du plasmide F'

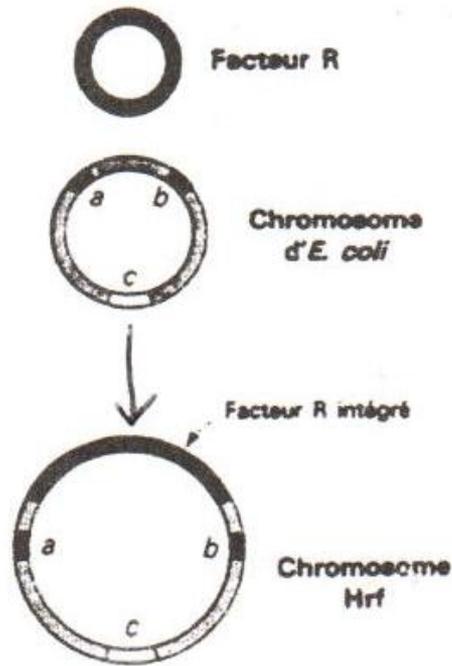


Figure 11
Diagramme schématique montrant la formation d'une cellule Hfr par l'intégration d'un facteur F⁺ dans le chromosome d'E. coli.

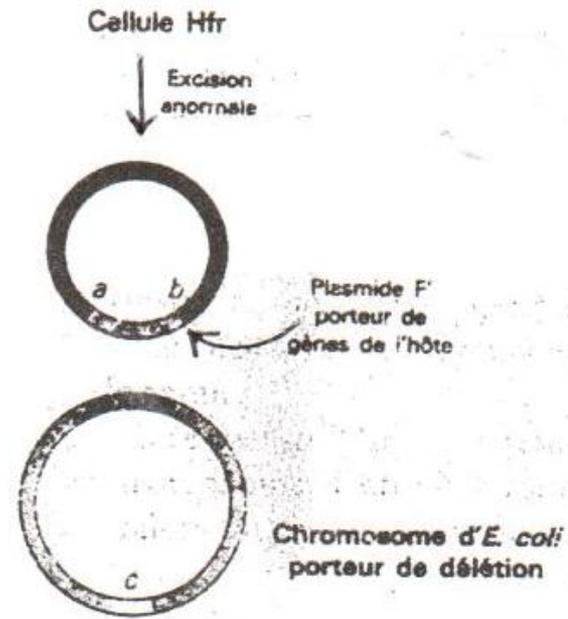
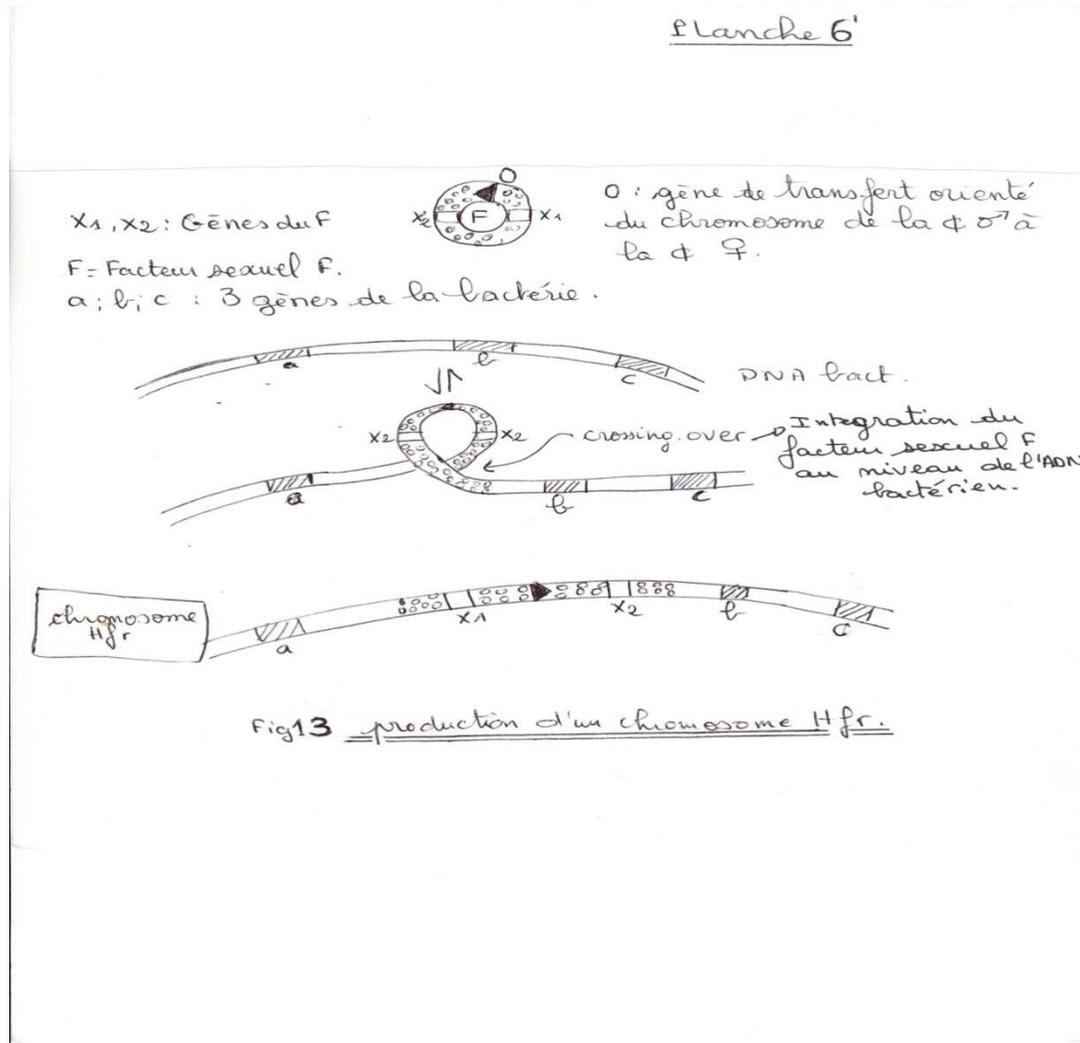


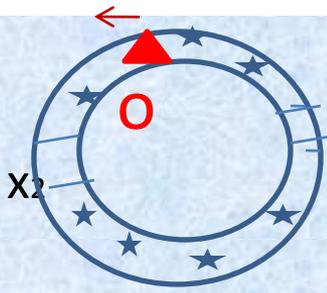
Figure 12
Une excision anormale conduit à la formation d'un plasmide F', qui contient un morceau du chromosome d'E. coli

Formation du chromosome Hfr



plasmide

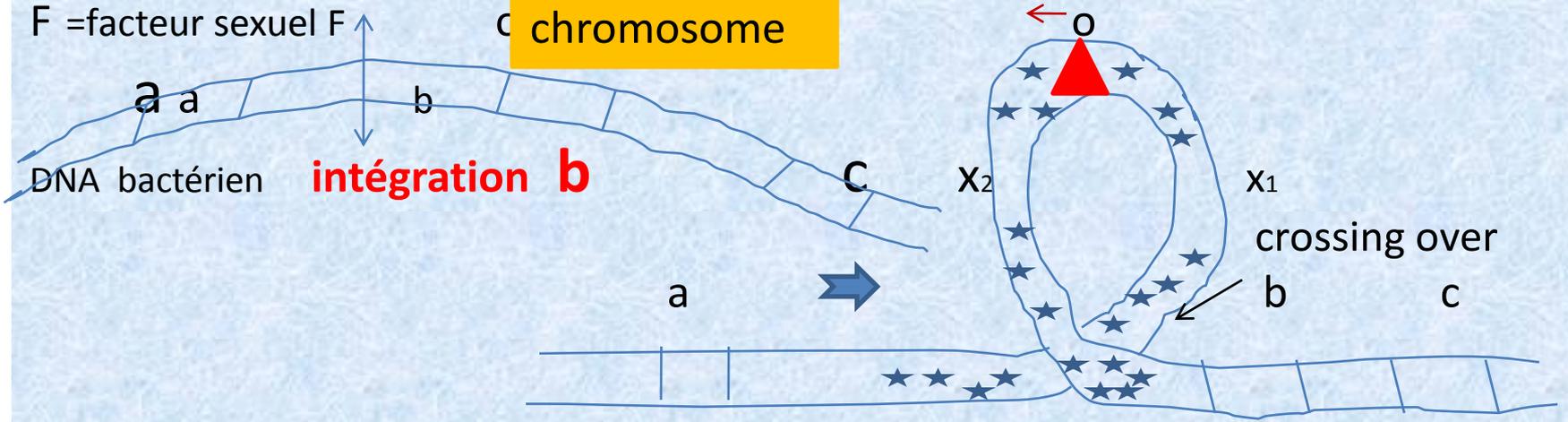
X1, X2: gènes de F



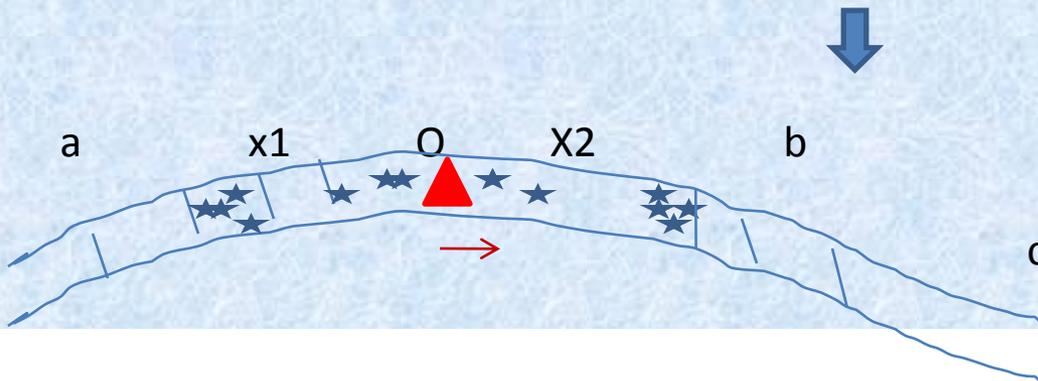
X1 O:▲ gène de transfert orienté
la cellule mâle à la cellule femelle

F =facteur sexuel F

chromosome



Chromosome Hfr



production d'un
chromosome Hfr

principe du transfert du chromosome Hfr

- similaire à celui des plasmides conjugatifs
- Les plasmides de petite taille/chromosome



transfert du plasmide plus facile et plus fréquent

- le plasmide une fois transféré ne s'intègre pas dans l'endogénote → reste autonome.

le chromosome
s'intègre à ADN
Hôte

Remarque : Le facteur F est une unité autonome et indépendante de réplication = **réplicon**
présente trois ou quatre copies chez les bactéries
chez les **mutants Hfr**, le facteur F n'est plus autonome, mais intégré au génome bactérien → **un épisome.**

transfert du chromosome Hfr

→ le gène O du facteur F est l'origine d'un **transfert orienté** du chromosome de la cellule mâle à la cellule réceptrice



Ori T en 1^{er} puis la suite des gènes progressivement

→ **transfert unidirectionnel** du matériel génétique



cellule réceptrice F-

→ recombinaison

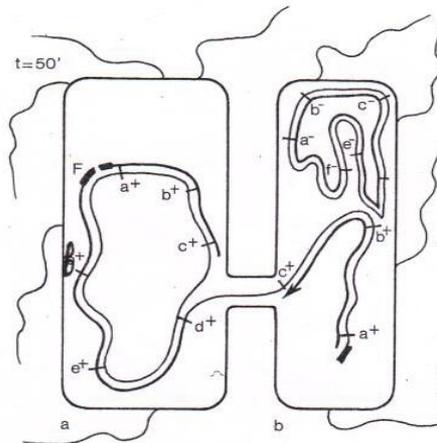
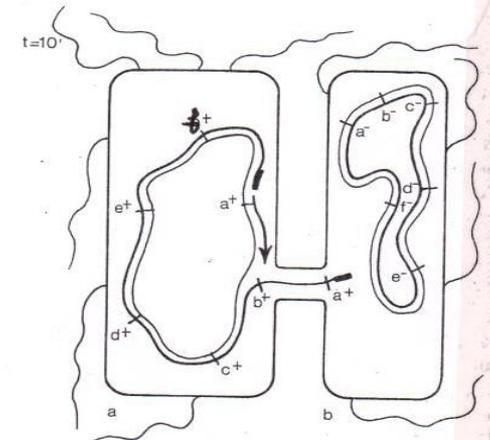
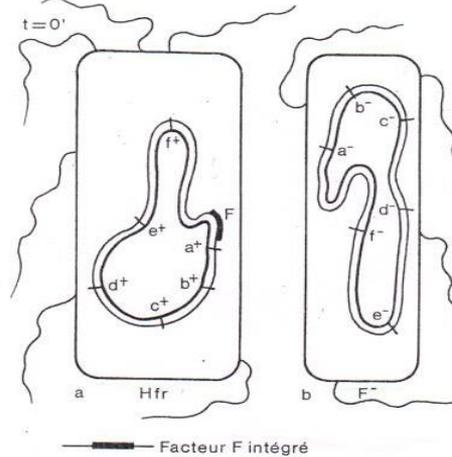


Fig. 1.4 Conjugaison bactérienne.

Soit la bactérie A, Hfr et la bactérie B, F⁻. Six gènes vont servir de marqueurs : a, b, c, d, e, f. Ces gènes sont fonctionnels chez la bactérie A, non fonctionnels chez la bactérie B. Le transfert commence environ 5 min après le contact au niveau du facteur F intégré. Un seul brin est transféré. Il est de suite remplacé par réplication dans la bactérie A (→). Le transfert est orienté (a = origine) et dure environ 60 à 90 min pour la totalité du chromosome. Le brin transféré est répliqué chez la bactérie B (→) et sera intégré par recombinaison (échange) au niveau de l'endogénote de la bactérie B.

Eléments génétiques mobiles

Eléments génétiques mobiles chez *Escherichia coli*

Type	Tailles (kb)	Caractéristiques
Plasmides		
Facteur F (fertilité)	93	Confère le caractère mâle, transmissible par conjugaison.
Facteurs F'	> 100	Transportent des gènes d' <i>E. coli</i> en plus des gènes du facteur F.
Facteurs R (résistance)	4 à 117	Transportent des gènes de résistance aux drogues ; certains transportent aussi des gènes de conjugaison.
Facteurs colicinogènes	6 à 141	Transportent des gènes pour la production de colicine (toxine) ; certains transportent aussi des gènes de conjugaison.
Phages lysogéniques		
Lambda	48	Certains (peu) transportent des gènes d' <i>E. coli</i> (<i>gal</i> ou <i>bio</i>) en plus des gènes viraux.
Mu	38	Tous les phages mu transportent un petit fragment du génome d' <i>E. coli</i> .
Séquences d'insertion (IS)	0,8 à 1,4	Les gènes encadrés par une paire de IS sont mobiles.