

**République Algérienne Démocratique et
Populaire Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté de Sciences de la Nature et de Vie et de Sciences de la
Terre et de l'Univers**

Département de biologie



Poly copié de cours

Présenté aux étudiants de troisième année

Microbiologie Générale

Intitulé de la matière :

GENETIQUE MICROBIENNE

Elaboré par : **Dr AYED Hayette**

SOMMAIRE

I) Génome bactérien

1) Génome bactérien

- 1-1 Chromosome bactérien
- 1-2 Topoisomères de l'ADN
- 1-3 Nucléotide
- 1-4 Plasmides
 - 1-4-1) Plasmides conjugatifs
 - 1-4-2) Plasmides non conjugatifs
- 1-5- Matériel génétique des virus : le génotype
- 1-6- Structure de l'ARN

2 Réplication de l'ADN bactérien

- 2-1) ADN polymérase I
- 2-2) ADN polymérase II
- 2-3) ADN polymérase III
- 3- Élément nécessaire pour la réplication
- 4- Mécanisme de la réplication chez *E. coli*

II Mutations et Systèmes de Réparation

I) Mutations

- 1- Historique
- 2- Définition de la mutation
- 3- Propriétés générales
- 4- Agents responsables des mutations
 - 4-1 - Agents physiques
 - 4-2- Agents chimiques
 - 4-3- Agents enzymatiques
- 5- Différents types de mutations
 - 5-1 Classement selon la nature et la localisation
 - 5-2 Classement selon l'agent mutagène
 - 4-3) Selon des conséquences sur la réplication et la transcription
 - 4-4) Selon la conséquence sur la succession en base

Systèmes de réparation de l'ADN

- II-1- Systèmes de correction des défauts d'appariement
 - 1-a) Correction dirigée par les séquences GATC méthylées
 - 1-b) Correction par excision de très courte séquence
 - 1-c) Coupure double brin suivie de recombinaison
- II-2) Système de lésion dans l'ADN
 - II-2-1) Élimination directe des lésions
 - II-2-2) Réparation par excision et synthèse
 - II-2-3) Réparation post-répllicative
 - II-2-4) Réparation par recombinaison
 - II-2-5) Système SOS

III Transferts génétiques et éléments transposables

1) Transferts Génétiques

Introduction

- 1) Transformation
 - 1-1 Etapes de la transformation
 - 2) Conjugaison bactérienne
 - 2-a) Transfert $F^+ F^-$
 - 2-b) Transfert conjugatif HFr F^-
 - 2-c) Transfert conjugatif $F^+ F^-$
 - 3) Transduction
 - 3-1) Généralisée
 - 3-2) Transduction spécialisée
- 3-3 Transduction et virulence

2 Éléments génétiques transposables chez les procaryotes

Introduction

- 2)-1 Transposons
 - 2-1-1) Transposons de type I
 - 2-1-2) Transposons de type II
 - 2-1-3) Transposon de type III
- 2-2 Différents types de transposons de type II (bactériens)
 - 2- 2-1 Séquence d'insertion (IS)
 - 2- 2-2 Transposons composite
 - 2-2-3 Transposons conjugatifs
- 2-3- Mécanismes de la transposition
 - 2-3-1 Transposition réplivative
 - 2-3-2 Transposition non réplivative
 - 2-2-3 Transposons conjugatifs
- 2-4- Les intégrons
 - 2-4.1. Définition
 - 2-4.2. Structure des intégrons

IV) Système de Restriction Modification : Enzymes de Restriction

Introduction

- 1-Enzymes de restriction
- 2-Activité enzymatique
- 3-Nomenclature
- 4-Classification
 - 4-1 Enzymes de classe I
 - 4-2 Enzymes de classe II
 - 4-3 Enzymes de classe III
- 6-Caractéristiques de coupure

V) Régulation de l'expression des gènes chez les procaryotes

Introduction

- 1-Régulation transcriptionnelle
 - 1-a) Notion d'opéron

I-a-1) Opérons inductibles

A) Régulation positive

A-1 Mécanisme du contrôle positive

B) Régulation négative

B-1) Mécanismes du contrôle négatif

1-a -2) Opérons répressibles

Structure de l'opéron tryptophane

A) En absence du tryptophane

B) En présence du tryptophane

C) Contrôle de la transcription de l'opéron tryptophane par atténuation

C-1) Atténuation

VI) Bactériophages

1 Historique

2 Définition

3 Classification et structure

4 Biologie des bactériophages

4-1) Cycle lytique

4-2) Cycle lysogénique

5 Composition des membranes cellulaires des bactéries à gram positive et négative et type de bactériophage infectieux

Références bibliographiques

Génome bactérien

DRAYED

1) Génome bactérien

La composition génomique de nombreuses bactéries peut consister en deux composantes, à savoir un chromosome qui porte des gènes pour toutes les fonctions essentielles et leur régulation, et une composante extra-chromosomique mais «autonome»: plasmide initialement identifié pour réaliser les fonctions requises pour sa propre réplication et sa distribution.

I-1) Chromosome bactérien

L'ADN d'une cellule bactérienne, comme *E coli*, est une molécule circulaire double brin souvent assimilée à un chromosome bactérien. Chez *E coli*, cette molécule d'ADN contient 4,6 millions de paires de bases et mesure 1.3mm ; elle est circulaire et est emballé dans une région de la cellule appelée **le nucléoïde** (visible comme un amas, ou une série d'amas, qui occupe $\approx 1/3$ du volume de la cellule) où il s'organise dans environ 50 boucles (ou domaines) liées à une protéine squelette attachée à la membrane cellulaire. A l'intérieur de cette structure, l'ADN n'est pas en réalité une molécule double brin circulaire, mais il est super-enroulé négativement ; c'est -à-dire qu'il est enroulé autour de lui-même et il est aussi associé à plusieurs protéines, les plus communes d'entre elles étant les protéines HU, HLP-1 et H-NS. Ce sont des protéines de type histone like. Cette organisation permet à l'ADN de participer de façon simultanée à la réplication, La transcription, la traduction et à la recombinaison et permet une réponse adaptée et rapide aux variations de l'environnement. Dans la plus part des cas l'ADN s'organise sous forme de chromosome unique et circulaire, cette unicité fut postulée par Wollman et Jacob en 1957. Dans quelques cas très rares en plusieurs chromosomes, et parfois en chromosome linéaire

Table 1 : nombre, forme et taille de chromosome chez certaines bactéries

<i>Bactérie</i>	Chromosome (N,forme, taille(Mb))
<i>P.aeruginosa</i>	1 seule chromosome (6.3)
<i>Vibrio cholera</i>	2 chromosomes circ (2.9 + 1.1)
<i>Brucella suis 1</i>	2 chromosomes circ (2+1)
<i>Brucella suis 3</i>	1 chromosome circ (3.1)
<i>Borellia</i>	1 chromosome linéaire (0.9)
<i>A.tumefaciens</i>	1 Chro.circ(3) ; 1chro.lin.(2,1)

I-2) Topoisomères de l'ADN

I-2-a) Etat relâché: C'est la configuration la plus stable de la molécule d'ADN où la contrainte sur la double hélice est minimale (10pb).

I-2-b) Etat superenroulé: La double hélice peut être enroulée de manière négative (le super-enroulement se fait dans le sens opposé au sens droit de la double hélice); il est très fréquent *in vivo* car c'est la plus accessible aux enzymes de réplication et transcription. Le super enroulement positif se fait dans le même sens au sens droit de la double hélice, il est rencontré *in vitro* (fig 2)

I-3) Nucléotide

Il est équivalent fonctionnel au noyau ; la condensation du chromosome plus de 1000 fois par son association avec des protéines forme le nucléotide. Les régions métaboliques actives se trouvent vers l'extérieur, parce que c'est là que se trouve l'ARN naissant et les ribosomes.

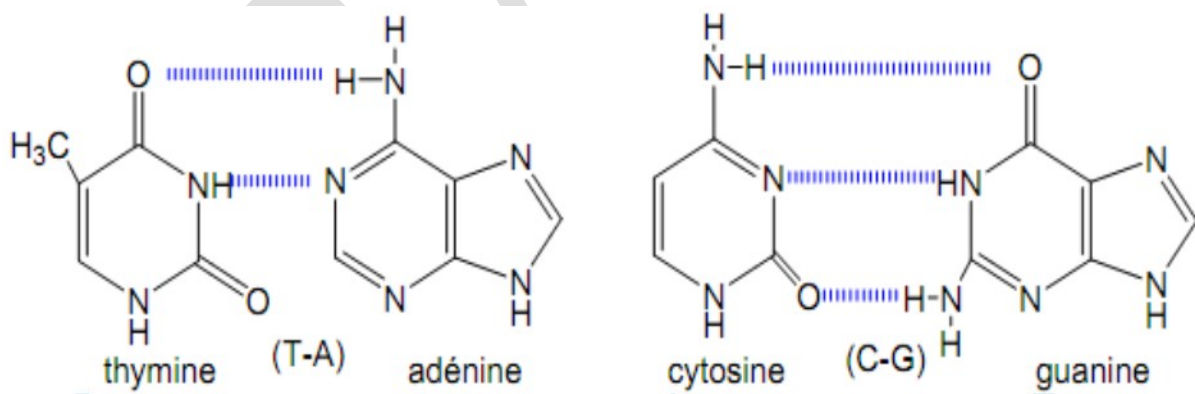


Fig.1 : Complémentarité entre les bases

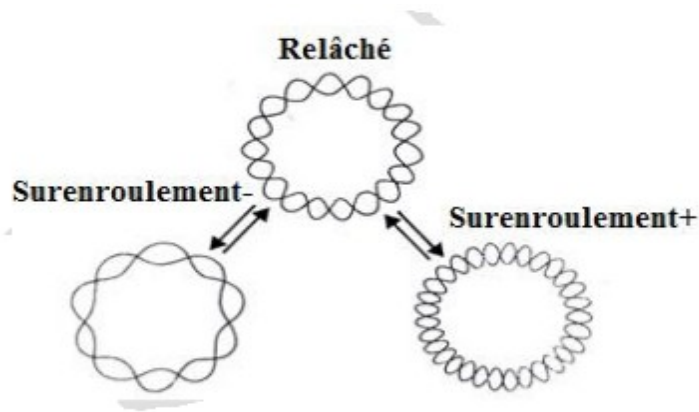


Fig.2 : Topoisomères de l'ADN bactérien

I-4) Plasmides

Ce sont des éléments extra chromosomiques hyper torsadés, Ils ont une structure homogène et formés généralement d'ADN bicaténaire circulaire. ils sont beaucoup plus petits que le chromosome bactérien et de taille très variable (0.5 à 500Kb). Ils sont médiateurs de nombreuses propriétés permettant une meilleure adaptation à la bactérie, bien que non indispensables au métabolisme normale. Se sont des unités de répllication autonome (se sont des réplicons). Ils possèdent leur propre origine de répllication et se répliquent en générale de façon indépendante du chromosome bactérien. Il existe des plasmides conjugatifs et des plasmides non conjugatifs

I- 4-1) Plasmides conjugatifs : permettent la conjugaison et le partage avec d'autres espèces bactériennes

I-4-2) Plasmides non conjugatifs : transmis essentiellement par un processus de transformation. Certains plasmides peuvent, dans certaines conditions, s'intégrer au chromosome ; ainsi que le font certains bactériophages ; les éléments génétiques de ce type sont appelés **épisode**. Ces plasmides peuvent conférer certains avantages aux bactéries, comme la résistance à des antibiotiques ou des métaux, ou pour la production d'antibiotiques, de pigments, ou peut fournir des capacités cataboliques inhabituelles comme des facteurs de virulence (toxines), fertilité, etc. Ils peuvent également induire des tumeurs végétales, et d'autres réponses symbiotiques et pathogènes chez les plantes et les animaux.

I-5-Matériel génétique des virus=le génophore

Les virus peuvent être considérés comme des gènes mobiles protégés par une enveloppe protectrice dont la forme la plus simple est la capsid protéique. Ce génophore peut être soit

de l'ADN ou l'ARN et est organisé de différentes manières simple ou double brin. Il peut être linéaire ou circulaire. Le génophore peut être orienté positivement : dans le même sens de l'ARN_m ou négativement et il est très petit. Ils ne codent que quelques fonctions. Pour leur réplication ils dépendent donc totalement de la cellule hôte.

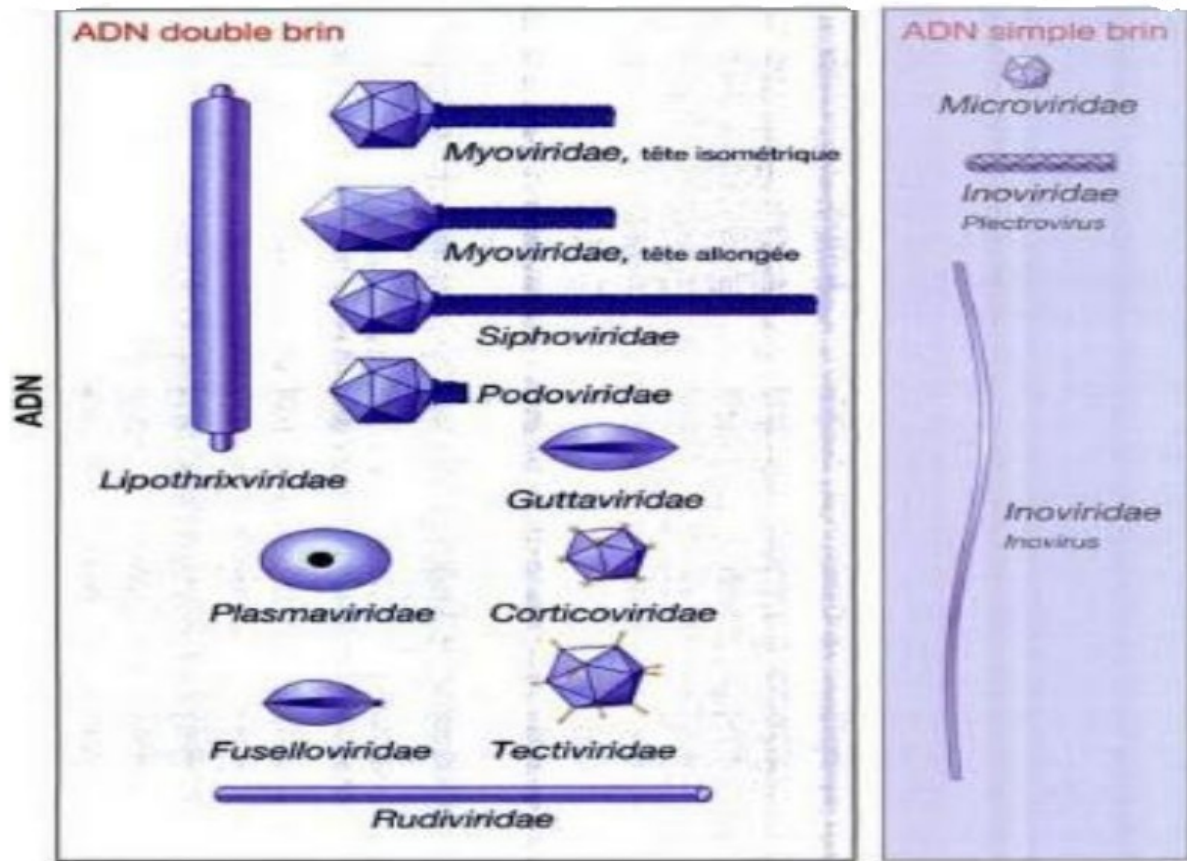


Fig.3 : Nature de l'ADN viral

I-6- Structure de l'ARN

C'est un acide ribonucléique monocaténaire, un brin d'ARN peut se plier sur lui même pour former une structure en épingle à cheveux, les règles d'appariement de deux brins d'ARN sont différents ($G \equiv C$, et $A = U$). La cellule contient trois types d'ARN : ARNr, ARNm, et ARNt qui diffèrent par leur structure et leur fonction. Il existe d'autre type de petits ARN, ARNsn et ARNsc qui peuvent s'associer avec des protéines pour former des complexes ARNsn-Protéine intervenant dans l'épissage du pré-messager et dans la polyadénylation (chez les eucaryotes)

Réplication de l'ADN bactérien

1) Réplication de l'ADN bactérien

IL s'agit d'un processus complexe auquel participent les produits au moins de 25gènes. La réplication du chromosome est semi-conservative (fig 4). C'est-à-dire que sur les deux brins de toute molécule d'ADN, il y a toujours un brin ancien et un brin néoformé. En effet, à chaque cycle de réplication, il y a séparation des deux brins de l'ADN parental, et simultanément, une copie de chaque brin parental est synthétisée pour donner deux molécules d'ADN, chacune contenant un brin parental et un brin fils (fig5a et 5b).

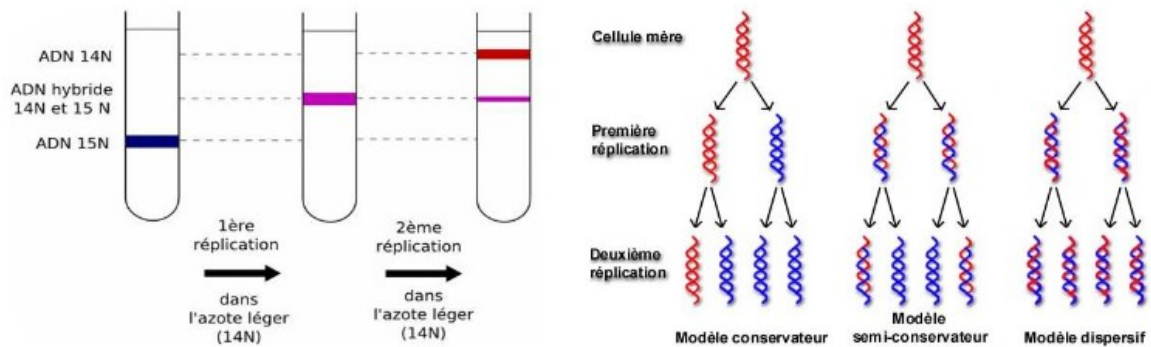


Fig.4 : Expérience de Meselson et Stahl

Fig.5a : Modèles de la réplication

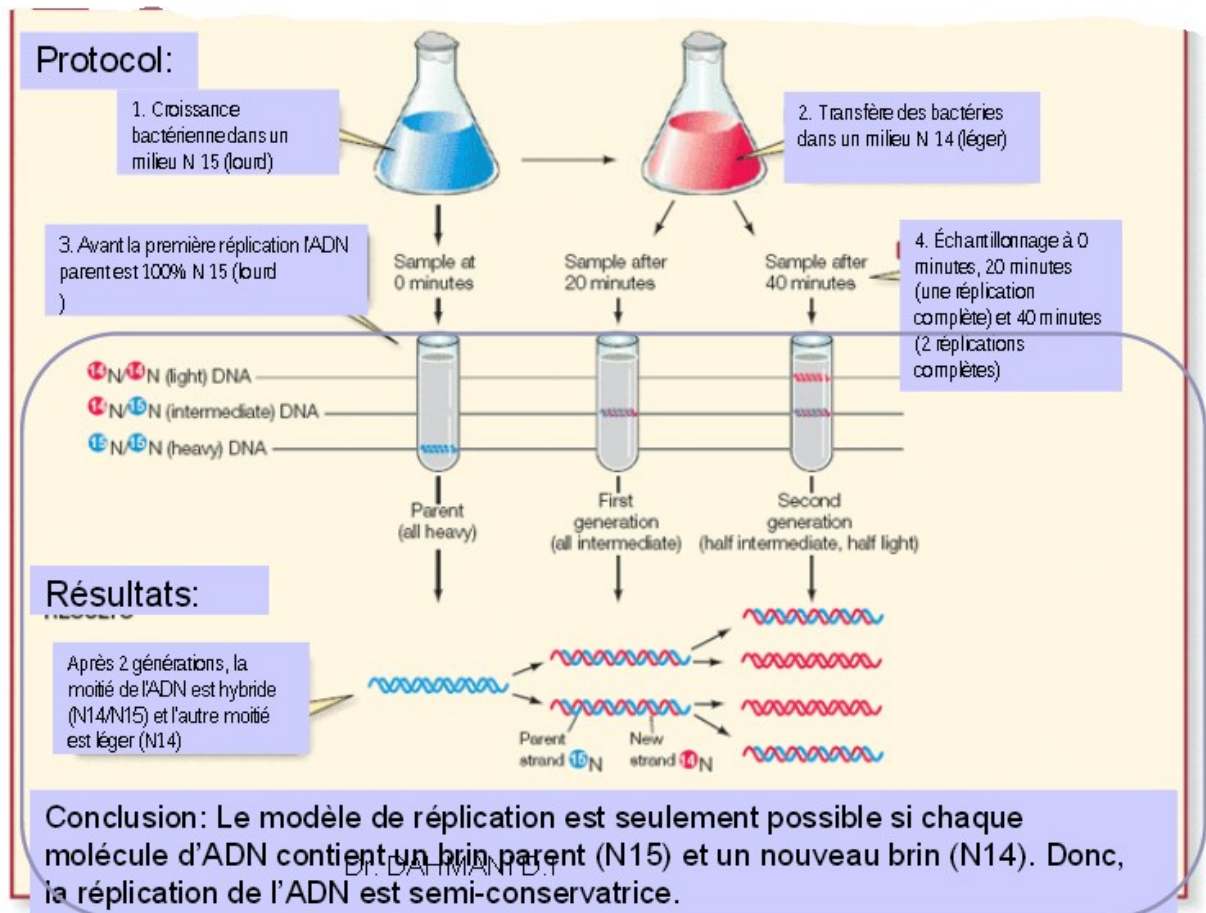


Fig. 5b : Réplication semi conservative de l'ADN

Les enzymes qui effectuent la réplication chez les procaryotes sont de trois types chez *E coli* :

2-1 ADN polymérase I : sa masse moléculaire est de 109 KDa et elle est liée à un ion Zn^{+} c'est la plus abondante (95%) : elle est surtout impliquée dans la réparation mais peut jouer un petit rôle dans la réplication. Elle polymérise dans le sens $5' \rightarrow 3'$ à faible vitesse (670nucléotide /min) .Elle possède des activités exonucléase $5' \rightarrow 3'$ et $3' \rightarrow 5'$

2-2 ADN polymérase II : sa masse moléculaire est de 110 KDa dotée d'activité polymérase et exonucléase $3' \rightarrow 5'$

2-3 ADN polymérase III : est très active dans la réplication : il s'agit d'une enzyme multimérique à sept sous -unités (sous unités $\alpha, \beta, \delta, \gamma, \epsilon, \theta, \tau^{16}$) d'une masse moléculaire variable en fonction de l'organisation des sous-unités (souvent de l'ordre de 250KDa). Cette enzyme polymérise à grande vitesse dans le sens $5' \rightarrow 3'$ et possède les activités exonucléase $5' \rightarrow 3'$ et $3' \rightarrow 5'$

Ces enzymes sont capables d'auto correction (c'est des endonucléases de restriction et ADNases non spécifiques) phénomène important dans la fiabilité de la réplication (Fidélité de la réplication).

3-Elément nécessaire pour la réplication

✚ ADN parental

La réplication se fait toujours à partir d'un modèle d'ADN appelé « matrice » d'ADN (*template en anglais*). En fait, non seulement un brin d'ADN sert de modèle, mais encore, ce modèle est conservé dans la nouvelle molécule.

✚ Nucléotides

Il faut que soient présents, bien évident des nucléotides, encore faut-il ce soient les nucléotides propres à l'ADN et donc :

-à désoxyribose ;

-avec Q C G et T (et non U) sous forme de nucléotides triphosphates qui apporteront l'énergie nécessaire à la réaction

✚ Enzymes

Plusieurs enzymes vont intervenir, par exemple :

- Pour permettre au deux brins d'ADN de s'écarter ;
- Pour accrocher les nucléotides les uns aux autres ;
- Et encore pour d'autres réactions que nous allons bientôt découvrir

✚ Cations divalent

La présence des ions Mg^{++} est indispensable à la synthèse d'ADN.

3-Mécanisme de la réplication chez *Ecoli*

L'élongation de la réplication est bidirectionnelle et se propage simultanément à droite et à gauche du point d'initiation. Chez les procaryotes, il y a une seule origine de réplication (fig. 6) cependant, chez les eucaryotes il y a plusieurs origines de réplication (fig 7). Chez certains virus et au cours de la conjugaison du plasmide, la réplication se fait en cercle roulant (fig 8 ;9).

Ce mécanisme met en œuvre plusieurs protéines appelées « réplisome ». La réplication débute par l'ouverture de la double hélice en un site spécifique (ori C). A ce niveau se trouve une séquence riche en AT facile à dissocier, il n'existe pas de séquences consensus pour ces origines de réplication.

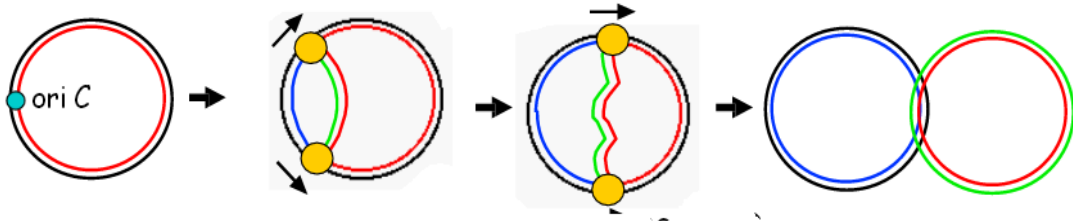
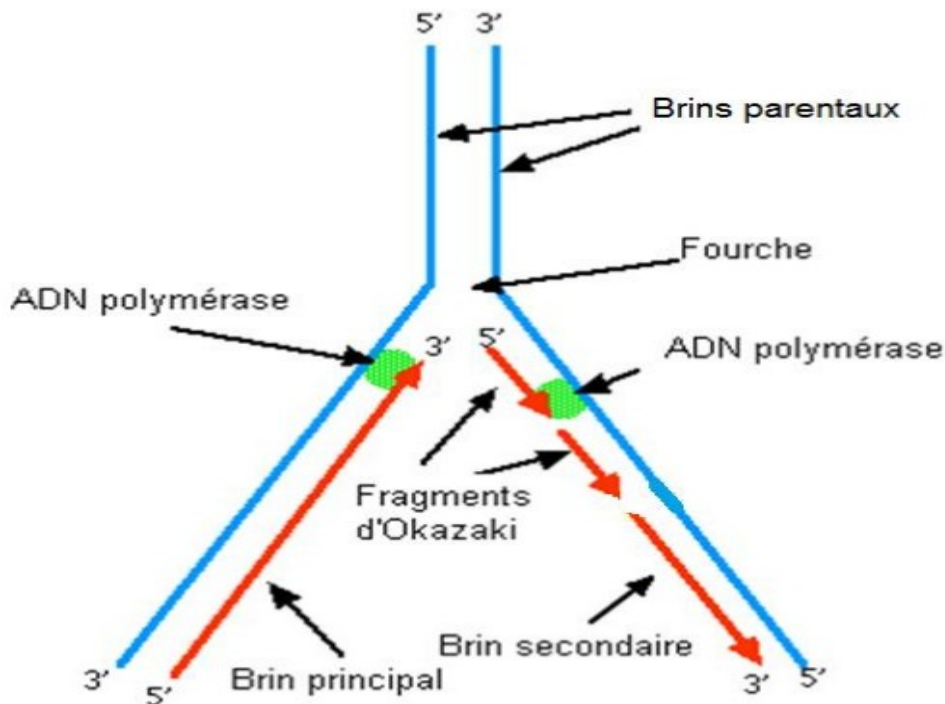


Fig.6 : Origine de réplication

cette ouverture est due à l'action d'une **hélicase** (DNA unwinding enzyme :DUE). Elle est ATP dépendante .Les brins séparés sont stabilisés par la liaison de protéines appelées : **SSBP** (Single Strand Binding Protein ,des supertours positifs sont donc induits en amont du point d'ouverture .outre la séparation des chaines par l'hélicase, la réplication nécessite une modification du super enroulement : une topoisomérase intervient c'est **la gyrase**, ou protéine ω cette enzymz crée une coupure transitoire de la chaine ce qui permet le pivotement de l'hélice. Ces coupures permettent la progression rapide du déroulement. La polymérisation est orientée $5' \rightarrow 3'$ elle se fait de façon discontinue (asymétrique sur les deux chaines : continue sur un brin et discontinue sur l'autre).



La synthèse discontinue nécessite la présence d'amorce d'ARN, elle se fait dans le sens permis $5' \rightarrow 3'$ et par courts fragments appelés : fragments d'Okazaki, les brins sont ensuite liés par une **ligase Ia** : la présence d'une boucle sur la chaîne tardive permet au réplisome de fonctionner dans le même sens sur les deux chaînes à la fois. Une autre polymérase Pol I se fixe au brin néosynthétisé de façon discontinue au niveau de la brèche entre l'extrémité $3'OH$ d'un fragment d'Okazaki et l'ARN amorce précédente, cette enzyme possède deux activités : exonucléase $5' \rightarrow 3'$ et dégrade l'amorce tandis que l'activité polymérase remplace et resynthétise l'ADN. Les fragments sont ensuite joints de façon covalente par la ligase. La réplication se termine au point où les fourches de réplication convergent (fig 6) à l'opposé d'une ori C se sont des sites bien particuliers appelés Ter (terminaison) la liaison d'un facteur protéique de terminaison Tus à quatre séquences sur l'ADN assure l'immobilisation des fourches. Les molécules néo synthétisées sont attachées par une courte région d'ADN parentale. **La gyrase** est indispensable pour détacher le duplexe.

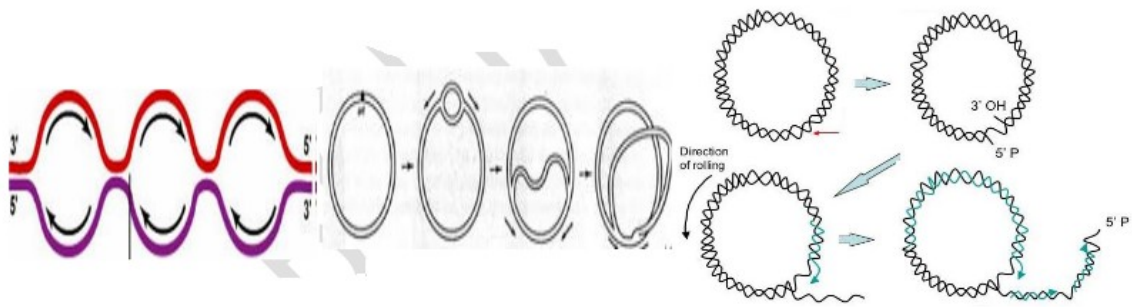


Fig.7 : Réplication chez les eucaryotes

Fig.8 : Réplication chez les Procaryotes

Fig.9 : Réplication en cercle roulant

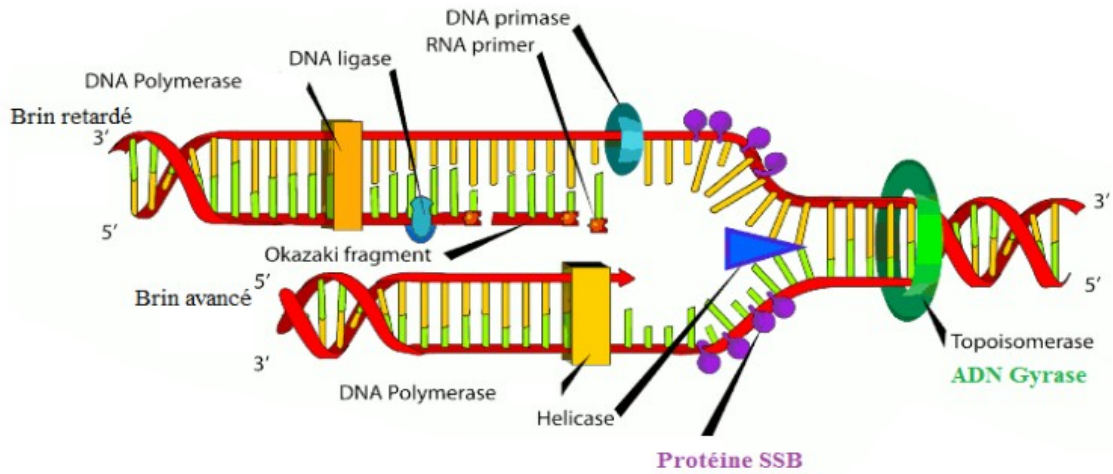


Fig.10 : Mécanismes de réplication chez les procaryotes

Mutations et Systèmes de Réparation

1-Mutation

DRAYED H

I Mutations

La reproduction végétative des cellules microbiennes est une production conforme, c'est-à-dire que toutes les cellules conservent le même génotype car les ces dernières sont bien protégées contre les altérations de son matériel génétique. Cette protection peut se faire par des mécanismes qui empêchent les altérations ou qui les réparent. Malgré ces systèmes de protection il peut quand même survenir des accidents génétiques : ce sont les mutations.

1-Historique

La première relation entre un gène et une enzyme est établit en 1902 par **Garrod**, à partir d'une observation portant sur une maladie génétique humaine. **Beadle et Tatum** approfondissent cette relation sur un système accessible à l'expérimentation, le champignon *Neurospora crassa*. L'ensemble de ces travaux aboutissent finalement à la conclusion que les gènes contrôlent la synthèse des enzymes, et que chaque protéine est codée par un gène différent.

Le premier phénomène qui allait permettre de progresser dans l'identification du support de l'hérédité est celui de la transformation bactérienne, rapporté en 1928 par l'anglais **Griffith**. Grâce à ce phénomène alors un test d'activité biologique ; auquel il est possible de déterminer la nature du matériel génétique. Ce test ne sera pas mis à profit par Griffith lui-même, mais par Avery qui l'utilise pour élucider la nature biochimique du matériel génétique : il s'agit de l'ADN. Il faudra de nombreux autres travaux, ceux de **Chargaff** ou de **Hershey**, puis de **Watson et Crick** pour accepter définitivement ces découvertes.

Par ailleurs, **Pauling ou Delbrück** ont joué un rôle déterminant dans le développement de la génétique. Delbrück sera en particulier le fondateur du groupe du phage, avec **Luria et Hershey**. Les éléments génétiques transposables sont des segments d'ADN qui se déplacent dans le génome. Ils se rencontrent chez la plus part des organismes, des bactéries aux eucaryotes supérieurs. Bien que leurs existence ait été inférée originellement de l'instabilité de certains allèles chez le maïs, c'est chez les bactéries, et plus précisément chez *E coli* que leurs nature moléculaire a été comprise en premier lieu. En 1969, **Ahdy** et **Shapiro**, montrèrent que les mutations polaires dans le groupes de gènes d'utilisation du galactose résultaient de l'insertion de segments d'ADN. L'analyse d'ADN d'hétéro duplex de phages transducteurs contenant ces mutations révéla ensuite que ces insertions étaient des séquences d'ADN discrètes qui furent désignées IS (« insertion Sequence »)

2-Définition de la mutation

Une mutation est une modification héréditaire du matériel génétique d'un individu, en l'absence de confrontation avec un matériel génétique étranger. Cette modification peut se traduire ou non au niveau phénotypique, c'est-à-dire sous la forme de la modification visible d'une propriété ou d'une fonction.

3-Propriétés générales

La mutation est un phénomène :

- ✚ **Rare** : il n'affecte qu'une faible fraction de l'ensemble des cellules bactériennes au sein d'une large population.
- ✚ **Spontané (hasard) ou induit** : acquisition d'une résistance à un antibiotique ou induite par des facteurs chimiques ou physiques tel les rayons UV ou autres cancérogènes.
- ✚ **Brusque** : la mutation ne s'effectue pas à la suite d'une longue période d'adaptation progressive, avec des formes intermédiaires, mais habituellement en une seule étape.
- ✚ **Stable** : même en l'absence de l'agent sélecteur, le caractère acquis par la mutation est transmis à la descendance et se maintient dans les subcultures. La stabilité n'exclut cependant pas la réversibilité de la mutation
- ✚ **Spécifique et indépendante** : la probabilité d'obtenir un double mutant = produit des probabilités de chaque événement pris indépendamment = 10^{-12} ; La mutation n'affecte habituellement qu'un seul caractère en respectant les autres (*M tuberculosis* sensible à tous les antibiotiques et *M tuberculosis* résistant à la streptomycine et sensible à tous les autres antibiotiques).

4-Agents responsables des mutations

4-1 - Agents physiques : la température est un des principaux agents impliqués. L'agitation thermique des molécules entraîne l'apparition de formes tautomères, provoque des ruptures de liaisons, essentiellement des dépurinations (perte de A et G) mais aussi des désaminations (transformation de G en U). Les radiations ionisantes naturelles (rayons UV) induisent des modifications au niveau des bases (dimérisation TT ou TC ou CC)

4-2- Agents chimiques : des agents chimiques mutagènes existent dans le milieu (ozone, peroxydes, métaux lourds.....) de plus, certains peuvent apparaître sous forme de sous

produits du métabolisme microbien ou par transformation de substance du milieu (H₂O₂, nitroites, sulfites, ...) ils provoquent la perte de bases ou l'incorporation de bases altérées.

4-3-Agents enzymatiques : suite à un accident dans les systèmes dans les systèmes enzymatiques impliqués dans le métabolisme, des erreurs et des altérations du système de réplication, des altérations du système de réparation peuvent intervenir

Le tableau N 02 illustre les agents mutagènes physiques et chimiques et leurs modes d'actions

Tableau N 02 : Agents mutagènes physiques et chimiques et leurs modes d'action

<i>Agent</i>	<i>Action</i>	<i>Result</i>
Base analogs		
5-Bromouracil	Incorporated like T; occasional faulty pairing with G	AT → GC and occasionally GC → AT
2-Aminopurine	Incorporated like A; faulty pairing with C	AT → GC and occasionally GC → AT
Chemicals reacting with DNA		
Nitrous acid (HNO ₂)	Deaminates A and C	AT → GC and GC → AT
Hydroxylamine (NH ₂ OH)	Reacts with C	GC → AT
Alkylating agents		
Monofunctional (for example, ethyl methanesulfonate)	Puts methyl on G; faulty pairing with T	GC → AT
Bifunctional (for example, mitomycin, nitrogen mustards, nitrosoguanidine)	Cross-links DNA strands; faulty region excised by DNase	Both point mutations and deletions
Intercalating dyes		
Acridines, ethidium bromide	Inserts between two base pairs	Microinsertions and microdeletions
Radiation		
Ultraviolet	Pyrimidine dimer formation	Repair may lead to error or deletion
Ionizing radiation (for example, X-rays)	Free-radical attack on DNA, breaking chain	Repair may lead to error or deletion

5-Différents types de mutations

5-1 Classement selon la nature et la localisation

On distingue des : **mutations nucléaires** (chromosomiques) et des **mutations cytoplasmiques** (plasmide ou mitochondrie). Selon la taille du matériel génétique impliqué, on cite : **les mutations génomiales** elles affectent le nombre des chromosomes chez les eucaryotes et les mutations chromosomiques, elles sont inter-(organismes eucaryotes) ou intra chromosomique (organismes eucaryotes et procaryotes). **Les mutations inter chromosomiques** consistent en des remaniements entre deux chromosomes mais celles qui sont **intra chromosomique** concernent la structure du chromosome.

5-2 Selon l'agent mutagène

Il y a deux types de mutations

5-2a) Mutations spontanée : Se sont des mutations qui apparaissent sans qu'il ait une exposition à un agent mutagène externe, cette catégorie peut survenir au moment de la réplication d'ADN ou suite à la transposition d'un élément transposable.

5-2b) Mutations induites : Se sont des mutations qui n'apparaissent que lorsqu'il y a une exposition à un agent mutagène externe qui altère la molécule d'ADN.

Les mutagènes sont classés selon leur mécanisme d'action en :

- ❖ Incorporation d'analogues de bases (fig.11)
- ❖ Appariements erronés (fig. 12)
- ❖ Intercalation d'agents chimiques entre deux bases d'ADN.

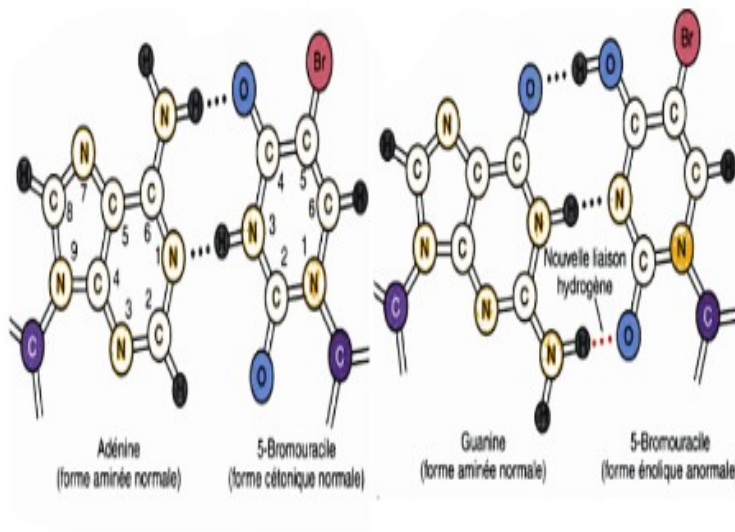


Fig.11 : Mutagène par analogue de base

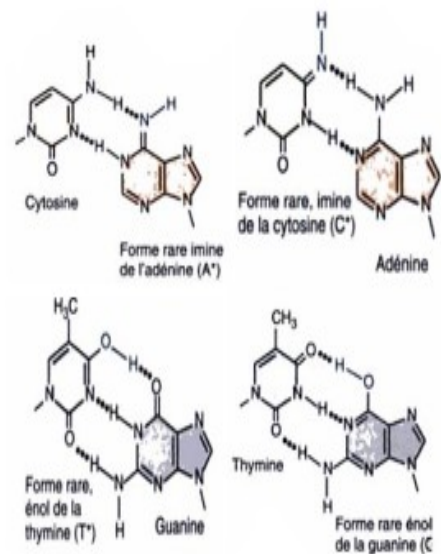


Fig.12 : Appariement erroné

4-3) Selon des conséquences sur la réplication et la transcription

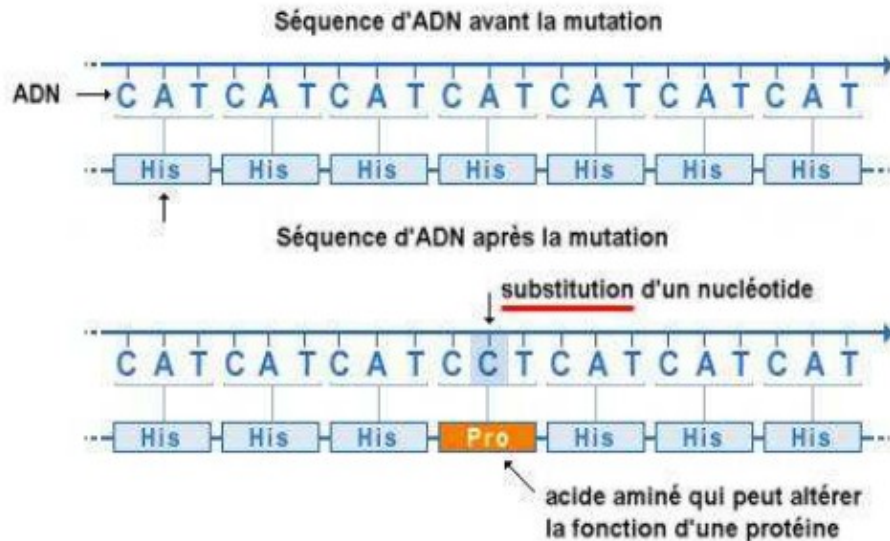
On distingue deux grands types d'altérations : **Altérations mutagéniques**, elles sont inactivatrices et ne perturbent pas le fonctionnement de l'ADN sauf si elles touchent un gène vital. Elles sont généralement produites par une mutation ponctuelle. **Altérations inactives**, elles entraînent généralement des effets létaux.

4-4) Selon la conséquence sur la succession en base

Se sont des modifications qui touchent une seule paire de base ou un petit nombre très faible de paires de base. Ce sont des mutations géniques. Il ya deux types de mutations ponctuelles: les substitutions et les délétions/insertions.

4-4-1 Mutation par substitution : C'est le changement d'une paire de base par une autre on distingue : **la transition** : est le changement d'une base purique par une base purique (A→G) ou d'une pyrimidine par une pyrimidine (T→C). **La transversion** : est le changement d'une base purique par une base pyrimidine ou d'une pyrimidine par une purine. Les substitutions de base peuvent donner naissance à cinq types de mutations et ce selon leur conséquence sur la structure et la fonction de la protéine.

Substitution



- ✚ **Mutations silencieuse** : la mutation aboutie au même acide aminé vu la dégénérescence du code génétique.(GCU→GCC) les deux codent l'alanine
- ✚ **Mutation faux-sens** : la mutation donne naissance à un autre codant donc un autre acide aminé (CAC→GAC) (histidine→aspartate)
- ✚ **Mutation non-sens** : la mutation provoque l'apparition d'un codon stop : UAA,UAG,UGA.

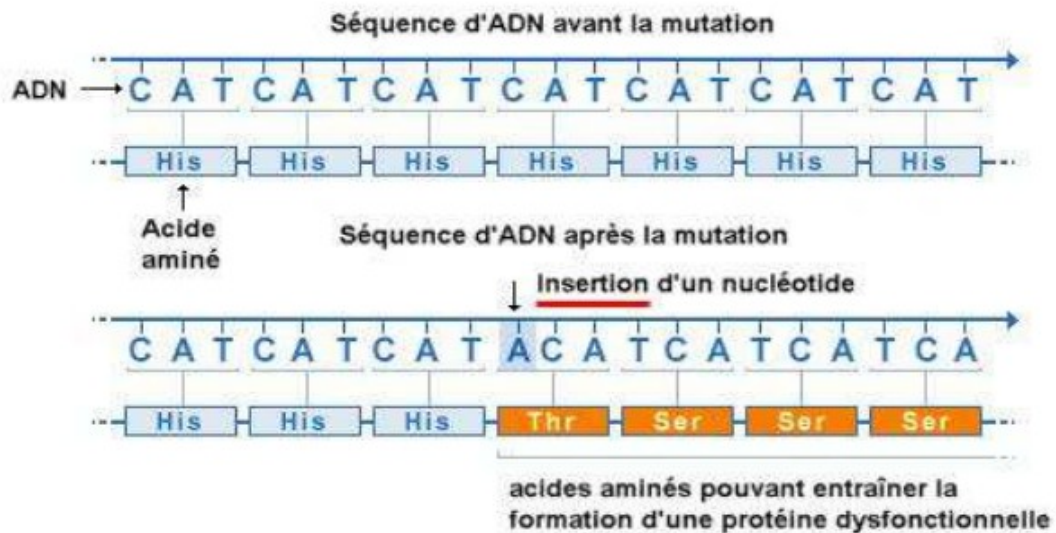
Mutation conservatrice : le codon muté est du même groupe chimique du codon initial exemple GAA qui code pour le glutamate et GAC qui code pour l'aspartate, tous les deux sont des acides aminés acides).

4-4-2) Mutation par délétion ou insertion

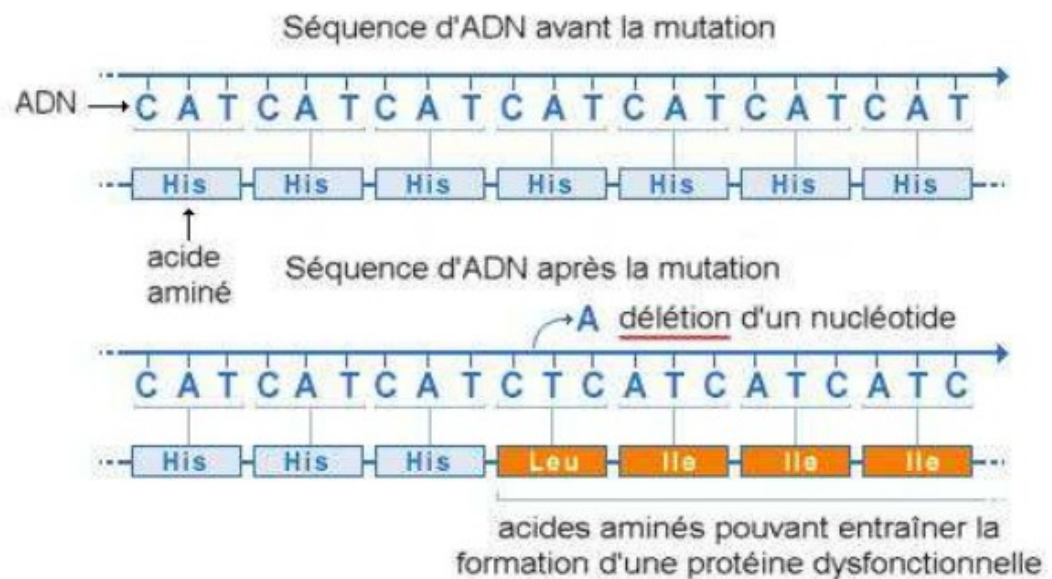
Dans ce type de mutation, il y a une insertion (addition) ou une délétion (diminution) d'un petit nombre de paire de base :

- Si le nombre de nucléotide éliminé ou ajouté à une séquence est un multiple de trois, il y aura dans la protéine un ajout ou une élimination d'un certain nombre d'acides aminés.

- Si le nombre de nucléotides éliminés ou ajoutés n'est pas multiple de trois, il y a changement du cadre de lecture de la séquence d'ADN et de l'ARNm, ce qui se traduit par un changement de la séquence protéique en aval de la mutation, ces dernières sont appelées mutations du changement du cadre de lecture « *frame shift* » .
- **Insertion**



- **Deletion**



THE CAT SAW THE DOG

Changement de Perte gain (insertion)

Lettre substitution The At the CMTSA

The **B**at Awt the dog Wth EDOG

The cat saw the **H**og

The cat **S**at the dog

DRAYED H

2 - Systèmes de réparation de l'ADN

DRAYED H

2- Système de correction et de réparation de l'ADN

Le taux des mutations dans les bactéries est déterminé par l'efficacité de la réplication de l'ADN, de la survenue des lésions de l'ADN et de l'efficacité des mécanismes de réparation de ce dernier. Il existe un mécanisme qui intervient au cours de la réplication pour améliorer la spécificité de la complémentarité des bases. A priori deux modes d'action sont possibles : une vérification de l'adéquation d'un nucléotide avant ou après son incorporation. La première hypothèse suppose que les polymérases pourraient avoir une fonction de vérification avant incorporation. Cependant, un contrôle pré synthétique, n'a pas été démontré.

Les systèmes de réparation de l'ADN sont très nombreux chez les bactéries ; certains sont spécifiques d'un type d'erreur ou de lésion, d'autres ont un spectre d'action plus large. Des systèmes analogues existent chez les eucaryotes.

2-1 Systèmes de correction des défauts d'appariement

Ces derniers corrigent les appariements illégitimes entre bases, y compris les additions ou les délétions d'un nucléotide dans l'un des brins d'un duplexe d'ADN. Les trois mécanismes identifiés chez *E coli* ont tous recours aux produits des gènes *mutL* et *mutS*, qui détecteraient les défauts d'appariements.

2-1-a) Correction dirigée par les séquences GATC méthylées

Nous avons en plus des deux gènes cités au dessus, l'intervention des gènes : *mut H* et *mut M* : cette dernière est une hélicase. *Mut H* effectue une incision au niveau d'une séquence 5' GATC 3' hémiméthylée (le brin parental est méthylé sur l'adénine, le néo-synthétisé ne l'est pas). Proche de la base mal appariée ou de la séquence GATC flanquante, le fragment contenant la base fautive est éliminé grâce au désenlacement opéré par *Mut U*, et le brin incisé est réparé par l'ADN polymérase I et par la ligase. La sous méthylation transitoire du brin néo synthétisé permet au système d'identifier la séquence corrigée.

2-1-b) Correction par excision de très courte séquence

Fonctionne sur l'ADN complètement méthylé et peut effectuer des corrections en absence de la réplication. Il s'opère exclusivement sur des paires GT dans la séquence 5' CCAGG 3' méthylée l'excision resynthèse est limitée à une très courte séquence autour de la paire fautive : ce système réduit la fréquence de mutations dues à la désamination des cinq méthyle cytosine.

2-1-C) Coupure double brin suivie de recombinaison

ADN non méthylé : MutH effectuerait des coupures double brin (au lieu de l'ADN simple dans l'ADN hémiméthylé) à proximité des bases fautives : les brèches et les coupures serait ensuite par le système de réparation par recombinaison, ce dernier corrigé indifféremment le brin parental et celui néo synthétisé

2-2-Système de lésion dans L'ADN

2-2-1) Elimination directe des lésions

Les UV provoquent la formation des dimères cyclobutane pyrimidine ; La lumière visible active l'ADN photolyase codée par le gène phr qui dépolymérise les dimères formés. Le produit du gène ada : une méthyl transférase élimine les méthyles de la O 6méthyl guanine et O6 méthyltymidine des phosphodiesteres . L'enzyme elle-même sert d'accepteur de ces groupements qui l'inactive irréversiblement. Ce système est rapidement saturé par des concentrations élevées d'agents alkylants (Fig 14).

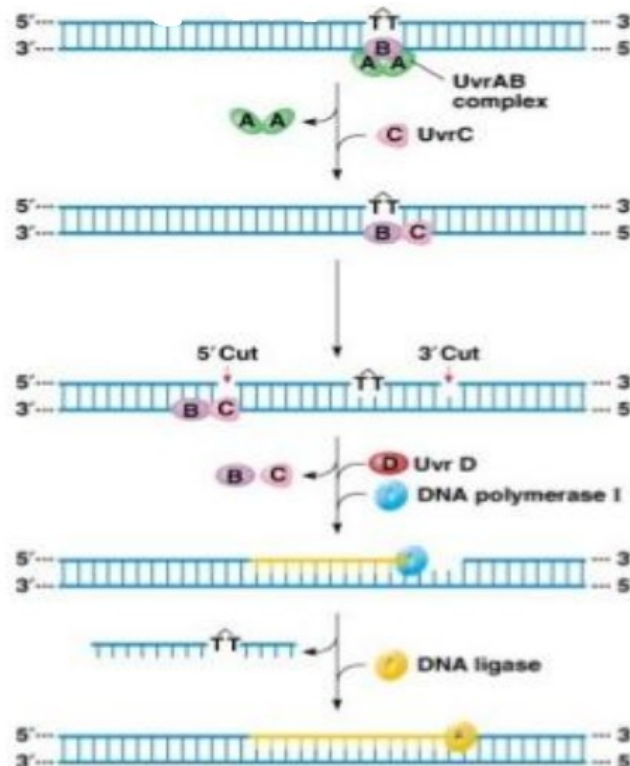
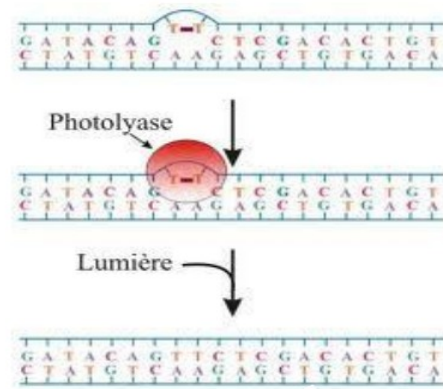


Fig.14: Réparation par élimination directe des lésions

2-2-2) Réparation par excision re synthèse

C'est un système général de réparation qui corrige les dommages causés par des distorsions de la double hélice. Une endonucléase élimine les bases endommagées en plus de quelques bases situées de part et d'autre de la lésion, la brèche monocaténaire est ensuite comblée par l'ADN polymérase I et la césure est réparée par l'ADN ligase.

- ✚ A côté de ce système général de réparation par excision, des endonucléases spéciales (AP endonucléases), reconnaissent et clivent les sites apuriniques ou apyrimidiniques (sites AP).
- ✚ Un autre type de réparation par excision dépend de l'ADN glycosylases qui éliminent les bases endommagées ou modifiées, produisant des sites AP qui sont ensuite réparés.

2-2-3) Réparation post-réplivative

Les erreurs qui peuvent apparaître durant la réplication de l'ADN sont habituellement détectées puis réparées par des enzymes qui parcourent l'ADN nouvellement répliqué et détectent les bases mal appariées. Ces enzymes incisent la molécule d'ADN de chaque côté de la lésion et le segment lésé est éliminé. Les nucléotides excisés sont remplacés sous l'action d'une ADN polymérase, puis la césure est réparée par une ligase (Fig 14).

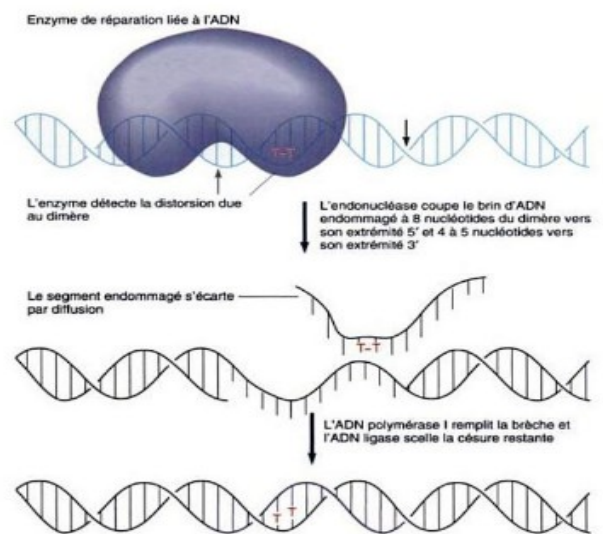


Fig.14 : Réparation poste réplivative

2-2-4) Réparation par recombinaison

Elle intervient au niveau des lésions, pour lesquelles il ne reste pas de matrice. C'est le cas lorsque les 2 bases d'une paire nucléotidique manquent ou sont altérées, ou lorsqu'il y a une brèche en face d'une lésion. Dans ce type de réparation la protéine RecA coupe une séquence d'ADN matrice dans une molécule sœur et l'amène dans la brèche ou l'utilise pour remplacer une des chaîne lésées (fig 15)

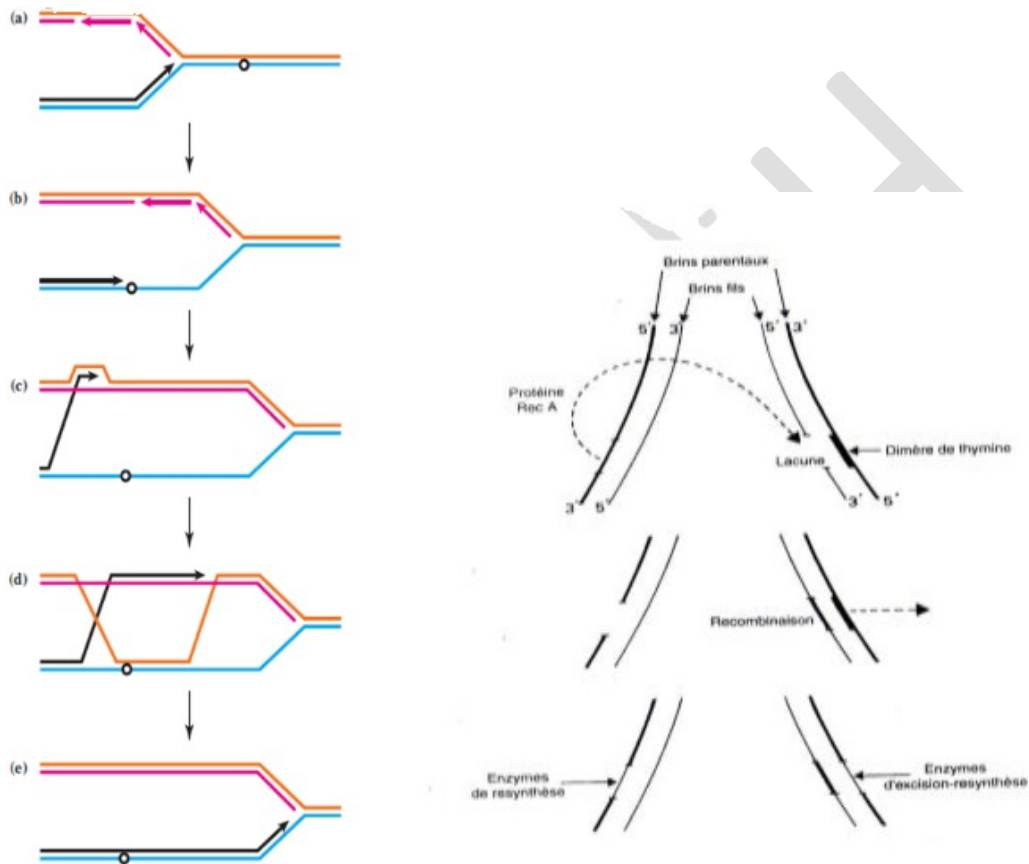


Fig.15 : Réparation par recombinaison

2-2-5) Système SOS

Lorsque les défauts dans l'ADN sont importants et que les autres mécanismes de réparation ne sont pas seuls capables de réparer l'ADN, un mécanisme se déclenche et d'une vingtaine de protéines normalement réprimées vont alors être exprimées. Ces protéines sont protéines de réparation.

La protéine Rec A s'associe aux ADN simple brin. Ceci lui confère une activité qui détruit le répresseur Lex A. Ainsi, s'il y a beaucoup de formes simple brin, le répresseur sera inactivé,

et les protéines de réparation qu'il réprimait seront alors exprimées ; on remarque notamment parmi ces protéines Rec A et Uvr A exprimées en petit nombre.

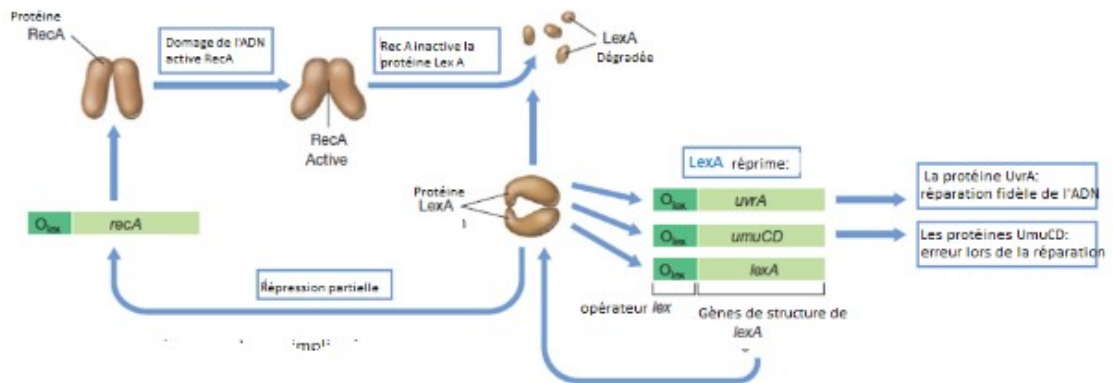


Fig.16 . Système SOS

III Transferts génétiques et éléments transposables

DRAYED

1- Transferts génétiques et éléments transposables

Introduction

Les bactéries ont développées plusieurs manières de recombinaison leur matériel génétique entre cellules individuelles. Cette capacité (conjuguer et de transférer le chromosome d'une cellule à une autre) est régit par la présence d'une information génétique dans l'ADN : facteur de fertilité (élément t F). Ce dernier peut soit exister de manière autonome dans le cytoplasme bactérien en tant que plasmide , ou associé (intégré) au chromosome bactérien dans ce cas , il facilite le transfert du chromosome hôte dans la cellule réceptrice , ce qui conduit à la recombinaison génétique .

Trois mécanismes de transfert de gènes bactérien ont été découverts ; aucun d'eux n'est associé à la reproduction. La bactérie peut être donc l'objet de modification du génome par des mécanismes autre que la mutation

Transformation : la bactérie compétente incorpore l'ADN venant d'une bactérie morte

Conjugaison : la bactérie donatrice et réceptrice établissent un contact physique direct

Transduction : l'ADN est véhiculé par un bactériophage

1-1) Transformation

Découverte par **Frederic Griffith** en 1928. Au cours de ses expériences sur l'infection des souris par les pneumocoques (*Diplococcus pneumoniae*). Il existe deux variétés principales smooth (S) : capsulé d'une membrane polysaccharidique qui empêche leur destruction par les macrophages. Les autres n'ont pas de capsule, et représentent la variété R : non pathogène (R = rough).

Les expériences sont résumées dans le schéma suivant :

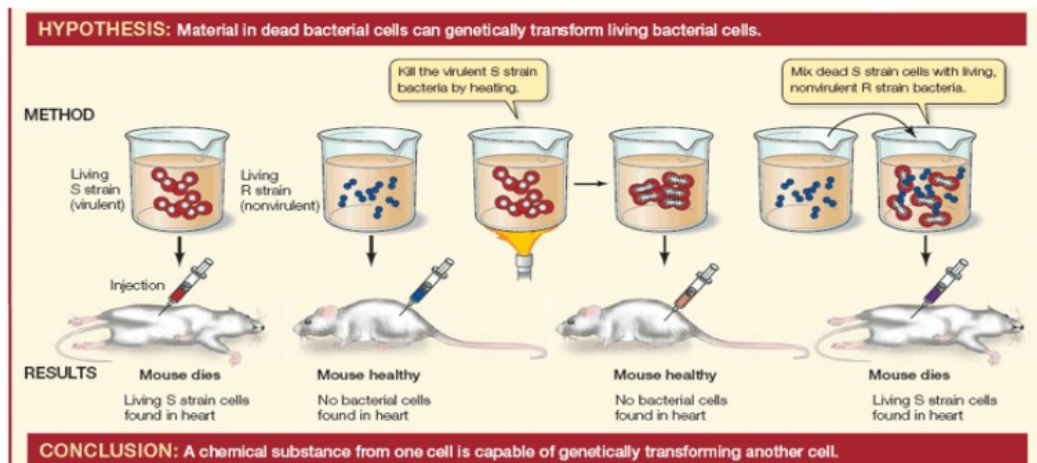
Souris injectées par des pneumocoques de type S meurent après 24 h à 48h (lot N=01)

Souris injectées par de pneumocoques de type R ou que des bactéries S inactivées par la chaleur restent vivantes (lot N2)

Souris injectées par un mélange de pneumocoques R et des bactéries S inactivées par chaleur meurent après 24h à 48h(Lot N 3)

Dawson et Sia ; et Halloway (1933) démontrèrent que le principe transformant est contenu dans les souches inactivées , le principe transformant est donc une substance contenu dans cet

extrait Oswald Avery et al, 1944 illustrèrent que le principe transformant est la molécule d'ADN



1-1-1 Etapes de la transformation : Nécessite des bactéries compétentes

a) **Caractères** : pénétration puis intégration de l'ADN exogène nu

- 1- Peut se faire de façon naturelle mais c très rare mais dans certaines espèces, elle se produit à des fréquences de l'ordre de 25% (plus rarement)
- 2- La taille de l'ADN représente une petite fraction du génome total
- 3- La libération de l'ADN se fait par sécrétion (chez Neisseria) ou par autolyse par rupture de la membrane cellulaire)

b) **Etapes** : elle se produit selon les phases suivant : et possible entre bactéries génétiquement très proches

- ✚ **Apparition** de la compétence les bactéries sont donc aptes à intérioriser l'ADN exogène et le séquestré sous forme résistante à la DNase.
- ✚ Interaction puis fixation de l'ADN exogène à la surface cellulaire ceci se fait grâce à des récepteurs et consomme de l'énergie et des molécules de transport spécifiques).
- ✚ Incorporation du matériel génétique dans celui de la cellule réceptrice : après son entrée l'un des deux brins est digéré par des nucléases donc il reste un seul

brin qui s'hybride avec la séquence complémentaire du chromosome en faisant intervenir plusieurs enzymes, ils remplacent le fragment dégradé donc un hétéroduplexe se forme (fig 17)

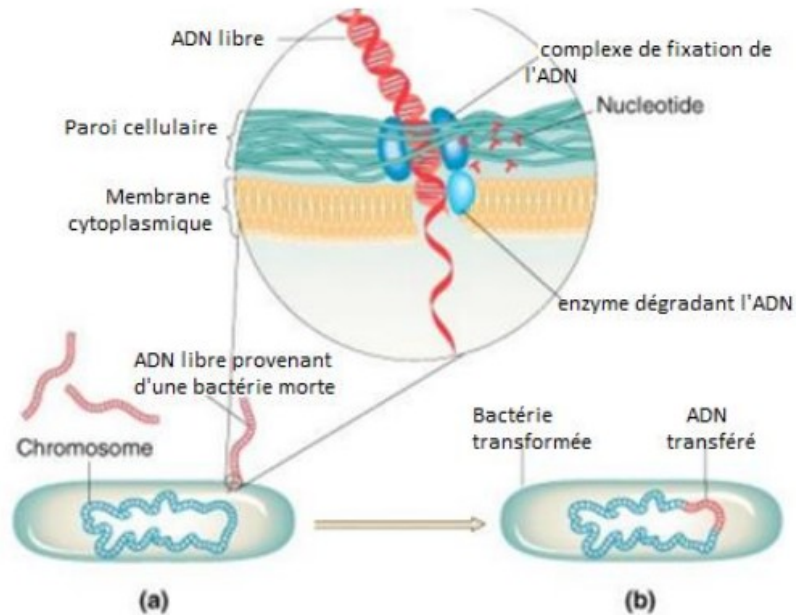


Fig .17 : Etapes de la transformation

Les bactéries transformées prennent naissance après un cycle de réplication

1-2) Conjugaison bactérienne

Découverte par **Ledberg et E tatum** (1946) est à l'origine de la découverte de la conjugaison. Dans un milieu de culture liquide, ces auteurs ont mélangé deux types de mutants auxotrophes *d'E.coli*. Après plusieurs heures de contact entre les mutants, Lederberg et Tatum ont isolé des *E.coli* T+L+M+B+ (environ 100 pour 10⁸ *E.coli*). et en ont conclu que la recombinaison s'était produite avec une faible fréquence (10⁻⁶) et exigeait en plus le contact entre les deux types de mutants auxotrophes

a) Etapes de la conjugaison : deux majeures étapes

1- Reconnaissance du partenaire

2- Transfert conjugatif : 3 types selon la position du plasmide

La recombinaison génétique dans la cellule réceptrice après le croisement HFr *F⁻ constitue une étape supplémentaire (fig 18)

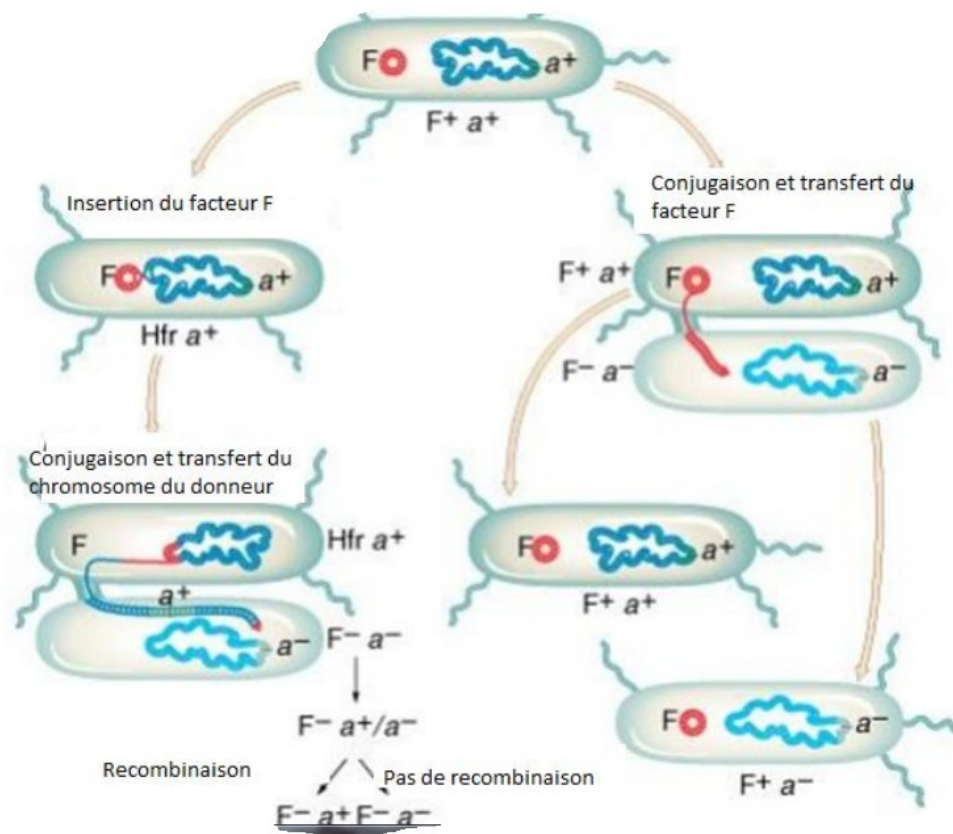


Fig. 18 : Conjugaison F⁺x F⁻ (à droite) et Hfr x F⁻ (à gauche).

La reconnaissance du partenaire exige le pili pour chacune de cellules donatrice et réceptrice qui doivent posséder 1 ou 3 pili (piline), ces dernières reconnaissent les zones de contact à la surface des bactéries F⁻, elles s'y fixent puis se rétractent par dépolymérisation; en rapprochant les deux types de bactéries (fig 17). L'enveloppe cellulaire importante dans la stabilisation de l'appariement (par la protéine OmpA) dans la membrane associée en LPS. Selon que le plasmide sous forme libre ou intégré trois types de transfert conjuguatifs

2-a) Transfert F⁺ F⁻ : transfert initié par coupure simple brin par l'enzyme traI et déroulement dans le sens 5'→3'

Migration de l'extrémité vers la cellule réceptrice à travers un pont cytoplasmique (réplication en cercle roulant)

2-b) Transfert conjuguatif HFr F⁻ : L'élément est intégré au chromosome

La réplication du chromosome commence au niveau d'un site spécifique à côté du facteur F intégré qui déroule dans la molécule d'ADN simple brin; puis la transfère alors de façon

linéaire à travers un pont cytoplasmique (les gènes très proches du site sont transférés en premier)

2-c) Transfert conjugatif $F^+ F^-$: conjugaison non précise ; suite au déplacement du fragment il y aura la création du facteur F et ce dernier prend le nom du gène qui se trouve à côté

Lorsque F s'insère entre les gènes ton et lac dans une séquence répétitive IS1, il donne une souche

Hfr. L'excision anormale de F, par recombinaison avec un autre élément IS2, inclut le locus lac. La résultante est le $F' lac$. Lorsque ce dernier est transmis dans une autre cellule (réceptrice) par conjugaison $F' \times F^-$, il en résulte un diploïde partiel $F' lac^+ / lac^-$.

NB: Le plasmide F ne possède pas un seul site d'insertion, il peut recombiner avec plusieurs IS.

1-2) Transduction :

En 1952, N. Zinder et J. Lederberg tentent d'obtenir des recombinants après croisement de mutants auxotrophes de souches de *Salmonella typhimurium* (LA22, LA2) responsables de toxico-infections d'origine alimentaire. La fréquence des recombinants histidine⁺ tryptophane⁺, de l'ordre de 10^{-6} , n'est pas modifiée lorsque les souches parentales, séparées par un filtre en verre fritté, ne sont plus en contact (fig 19). L'existence d'un agent filtrable, vecteur de l'information génétique est démontrée (bactériophage tempéré produit par la souche parentale lysogène, LA 22). Certains phages sont capables de mobiliser des gènes bactériens et de les transporter d'une cellule à une autre. Ce phénomène est appelé transduction. Il y a deux modalités de la transduction : généralisée et spécialisée. (pour les bactériophages voir chapitre prochain).

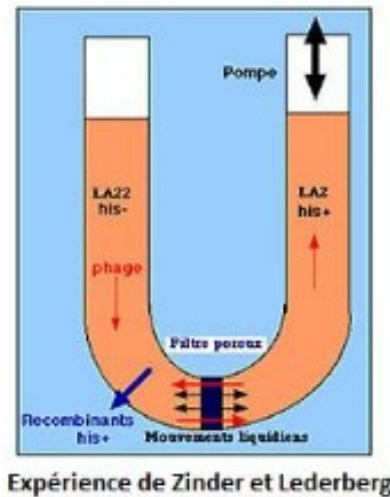


Fig.19 : Expérience de Zinder et Ledbergue

1-3-1 : Généralisée : les phages n'ont pas de site d'attachement sur le chromosome bactérien, ils peuvent s'accrocher n'importe où. Ils ont donc une égale probabilité de transduire n'importe quel gène. (les plus étudiés **P1** spécifique *E coli* **P22** spécifique *Salmonella thyphimurium*). Ces deux derniers s'intègrent n'importe où dans le chromosome de l'hôte sous forme de prophage (1% de son matériel génétique). Pour P1 il reste sous forme d'épisome et transfère environ 2 à 2.5% de son matériel génétique.

Le P22 se lie au LPS des *Salmonella* via sa queue ; cette dernière hydrolyse la barrière du LPS ce qui conduit à une fixation de l'ADN phagique double brin et son injection dans la cellule hôte par un double crossing over (fig 20).

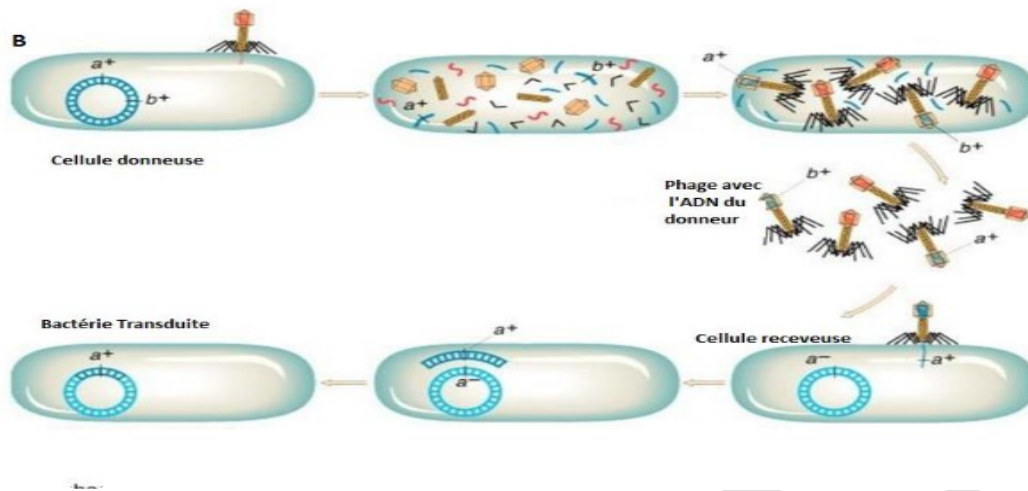


Fig.20 : Transduction généralisée

1-3-2 Transduction spécialisée : propriété des phages tempérés qui sont aptes à se fixer sur le chromosome de la bactérie et ne peuvent transporter que des paires spécifiques du chromosome bactérien ; comme le phage λ qui infecte E coli et permet le transfert des gènes gal et bio (fig 21).

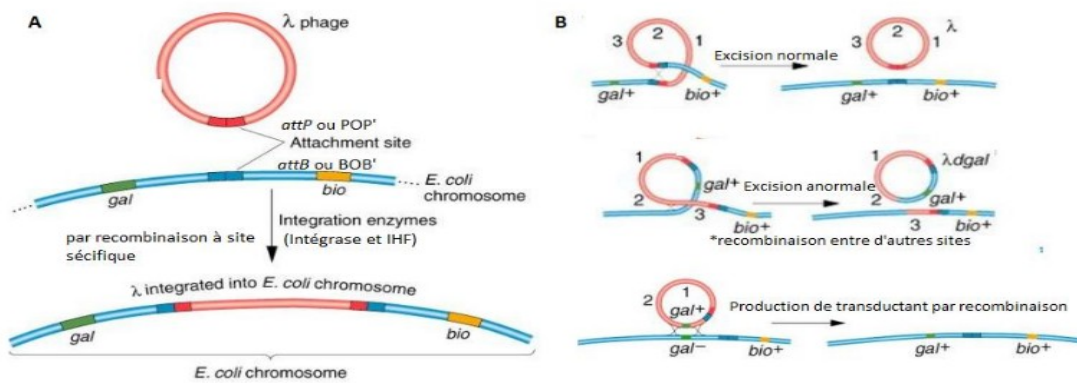


Fig.21 : Transduction spécialisée A : insertion de l'ADN phagique B : excision de l'ADN du phage et transduction spécialisée.

1-3-3 Transduction et virulence

Lorsque les gènes transférés par transduction spécialisée codent des facteurs de virulence, la bactérie réceptrice voit son pouvoir pathogène augmentée.

Conversion lysogénique: On a noté une interdépendance totale entre les caractères lysogène et toxigène chez quelques bactéries suite à une conversion lysogénique, où la perte du prophage s'ensuit par une perte de virulence (la bactérie perd la capacité à produire la toxine). *exemple les gènes stx (Shigella like toxines) d'Escherichi coli entérohémorragique (EHEC). Ces gènes sont localisés dans de séquences des bactériophages lambda, ces souches entérohémorragiques auraient émergées par conversion lysogénique. Toxine de Vibrio cholerae portée par le phage CTX, *Toxine érythroène de Streptococcus pyogenes responsable de la scarlatine.

2 Eléments génétiques transposables chez les procaryotes

Introduction

Les génomes de tous les organismes ont la capacité de subir des réarrangements qui vont permettre de modifier ou diversifier le pool de leurs gènes et/ou le niveau de leur expression. Ces mécanismes de recombinaison génétique, essentiels à l'évolution, peuvent être classés en trois groupes: la recombinaison homologe, la recombinaison spécifique de site et la recombinaison transpositionnelle. Ces trois groupes se distinguent par les mécanismes mis en œuvre, les protéines impliquées et la nature de l'ADN recombiné. La transposition est le mécanisme capable de générer le plus de diversité. Il n'y a en effet aucune similitude de séquence entre les sites échangés.

2-1 Transposons

Les éléments transposables sont classés d'après leur mode de transposition en 3 grands groupes

✚ **2-1-1 Transposons de type I:** ce sont des séquences d'ADN qui contiennent un gène codant pour la reverse transcriptase, catalysant la synthèse d'un brin d'ADNc à partir d'un ARN. Il existe de nombreux types de rétro transposons. Ils se différencient en fonction de:

- ✓ Leur capacité à se transposer.
- ✓ La présence de longues répétitions terminales (LTR).
- ✓ Leur capacité à former des particules virales.

Les rétrovirus ont une structure similaire aux transposons, mais possèdent des gènes spécifiques comprenant entre autre des gènes codant pour les protéines de la capsidie flanquées de deux LTR (fig.22)

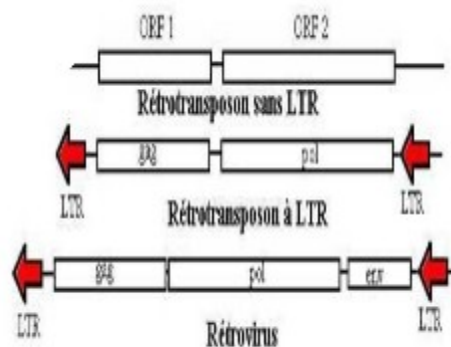


Fig . 22 : Transposon de type I

✚ 2-1-2 Transposons de type II:

Se déplacent sans passer sous forme ARN. Ils restent sous forme d'ADN et codent la transposase nécessaire à leur transposition.

✚ 2-1-3 Transposon de type III:

Ils sont mis en évidence récemment dont le mode de leur transposition est ignoré, ils sont appelés: Miniature Insertional Transpositions Elements (MITEs)

2-2-Différents types de transposons de type II (bactériens)

Ces transposons se trouvent chez toutes les espèces, depuis les bactéries jusqu'aux mammifères, en passant par les levures, les végétaux, les insectes, les nématodes... etc. Ce sont également les seuls éléments transposables connus chez les bactéries.

2.2-1. Séquence d'insertion (IS)

C'est une courte séquence d'ADN fonctionnant comme un élément transposable simple. Ces séquences sont caractérisées par leur petite taille (entre 700 et 2500pb). Elles codent pour des protéines impliquées dans leur transposition, contrairement aux autres éléments transposables (fig 23)



Fig.23 : Séquences d'insertion

2-2-2 Transposons composite

Ce sont des entités avec des structures complexes (jusqu'à plusieurs milliers de Pb), ils contiennent une variété des gènes encadrés par deux IS en direction directe ou inverse (fig.24). La séquence d'ADN bordé par les deux IS peut coder pour n'importe quelle fonction comme la résistance aux antibiotiques (kanamycine chez Tn5, tétracycline chez Tn10).

2.2. 3 Transposon simple ou non composite

Ils se caractérisent par l'absence d'IS à leurs extrémités (fig.25). La plupart d'entre eux sont apparentés par leur transposase, et par leurs séquences terminales de 35 à 48 pb, répétées en orientation inverse. Ces transposons ont des tailles variables (jusqu'à 70 kb dans le cas de Tn4651). Ils contiennent des informations génétiques essentielles à la transposition et des informations dites «

auxiliaires » qui peuvent être des gènes cataboliques (Tn4651) ou des gènes de résistance aux antibiotiques (Tn3, Tn1721).

2.3. Transposons conjugatifs

Les transposons conjugatifs sont des éléments chimériques qui cumulent les propriétés d'intégration des bactériophages et les propriétés de transfert des plasmides conjugatifs. Ils ont initialement été identifiés comme agents responsables de la dispersion des résistances aux antibiotiques chez les bactéries à Gram positif en milieu hospitalier. Cependant, la description récente suggère qu'ils existent aussi chez les bactéries à Gram négatif.

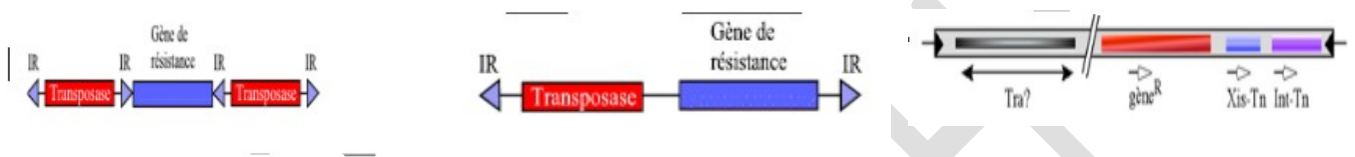


Fig. 24: Transposon composite **Fig.25: Transposon non composite** **Fig. 26: transposon conjugatif**

2-3- Mécanismes de la transposition

L'insertion dans un nouveau site peut provoquer une mutation si un gène ou une région régulatrice sur le site est perturbé. Les sites cibles sont des séquences spécifiques de cinq à neuf paires de bases. Quand un transposon s'insère dans un site cible, la séquence cible est dédoublée de sorte que les courtes répétitions, à séquence directe flanquent les séquences répétées inversées terminales du transposon

Deux mécanismes de transposition ont été décrits: une transposition conservative et une répllicative. Dans les deux mécanismes la transposase insère le transposon dans l'ADN du receveur.

(i) Dans la transposition conservative, l'ADN donneur perd son transposon.

(ii) en revanche, après la transposition répllicative, le donneur et le receveur possèdent une copie du transposon chacun.

2-3-1 Transposition répllicative

- Les deux molécules d'ADN sont d'abord entaillées pour former des extrémités libres. a-h. Les extrémités a et f sont jointes, de même que g et d. Cela laisse b, c, e, et h libres
- Deux de ces extrémités libres restantes du donneur (b et c) servent comme amorces pour la réplication (synthèse) de l'ADN, jusqu'à ce que b atteigne e et c atteigne h. Ces extrémités sont ligaturées pour compléter le co-intégrat (le transposon entier a été dupliqué). Un crossing over se produit entre les deux sites

res (résolution) des deux copies du transposon, laissant deux molécules d'ADN indépendantes, portant chacune une copie du transposon (Fig. 27).

Nb: Les éléments transposables se distinguent des phages car dépourvu de cycle de vie; et des plasmides car incapables de se reproduire de manière autonome et d'exister en dehors du chromosome.

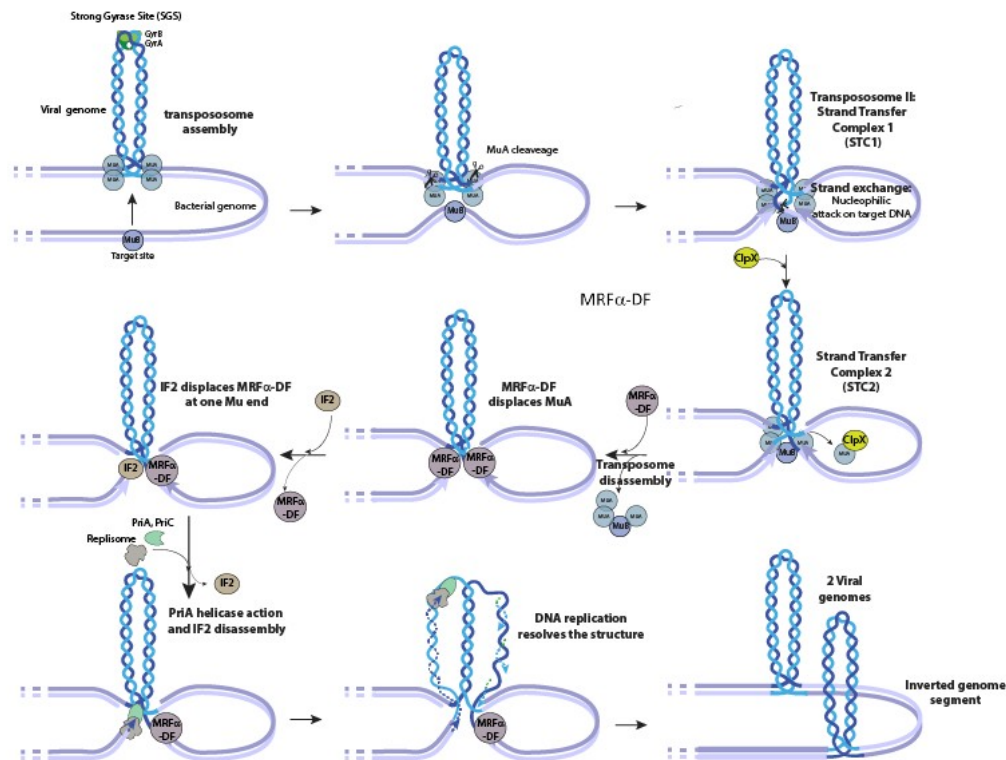


Fig.27 : Transposition réplivative

2-3-2 Transposition non réplivative

Un grand nombre d'éléments transposables ne se répliquent pas au cours de leur transposition. Le brin des extrémités qui n'est pas ligaturé à la cible est alors coupé à une étape précoce de la réaction. Le produit obtenu sera réparé aux bornes du transposon (ce qui va générer les DR), le résultat étant l'insertion « simple » de l'élément à un endroit quelconque du génome

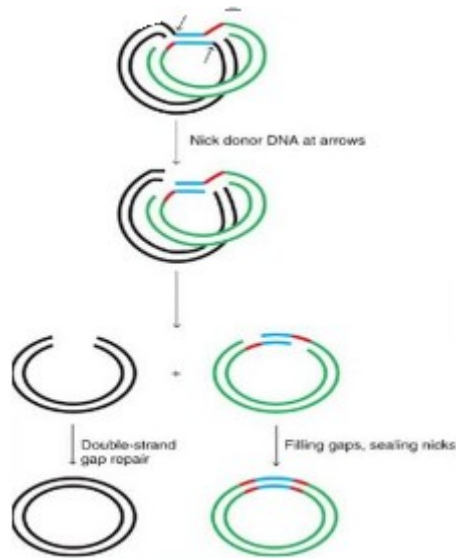


Fig. 28 : Transposition non réplivative

2-4 Transposons conjugatifs

L'originalité de ces transposons est qu'ils sont capables de se propager «verticalement» mais également «horizontalement» par conjugaison. Ils sont donc très souvent associés aux phénomènes de propagation de la résistance aux antibiotiques. La première étape de la transposition (l'excision) conduit à la circularisation précise de l'élément, qui est contrôlée par deux protéines du transposon, l'intégrase (Int-Tn) et l'excisionase (Xis-Tn).

Une conséquence de ce mode d'intégration est que la transposition des transposons conjugatifs ne génère pas de répétitions directes de l'ADN cible (fig 29)

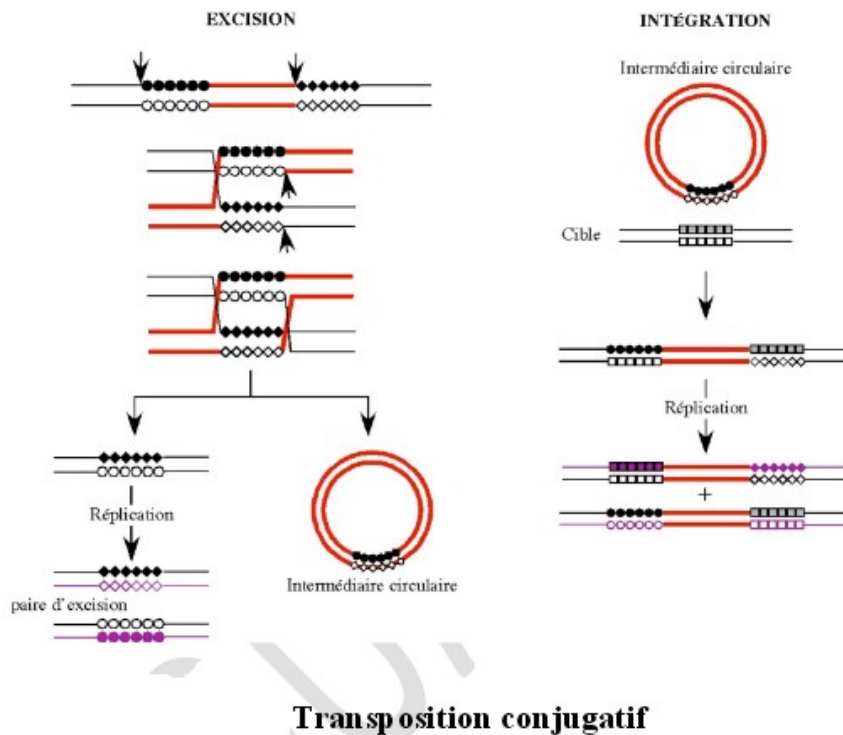


Fig.29 : Trasposition conjugatif

3) intégrons

3.1. Définition

Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Les cassettes sont des éléments mobiles capables d'être intégrés ou excisés par une intégrase selon un mécanisme de recombinaison spécifique de site.

3.2. Structure des intégrons

Incapables de s'autorépliquer, les intégrons sont obligatoirement portés par un réplicon (plasmide ou chromosome). Ils peuvent aussi être véhiculés par un élément transposable. Ils sont constitués d'une région 5'comprenant un gène *intI* qui code pour une intégrase, d'un site d'attachement *attI* et d'un promoteur (fig 30).

Les intégrons diffèrent des transposons par plusieurs caractéristiques :

- Les cassettes ne contiennent aucun gène codant pour une protéine catalysant leur mouvement, la recombinase étant présente sur la partie immobile de l'intégron.
- Les cassettes ne sont pas flanquées à leurs extrémités de séquences inversées répétées.

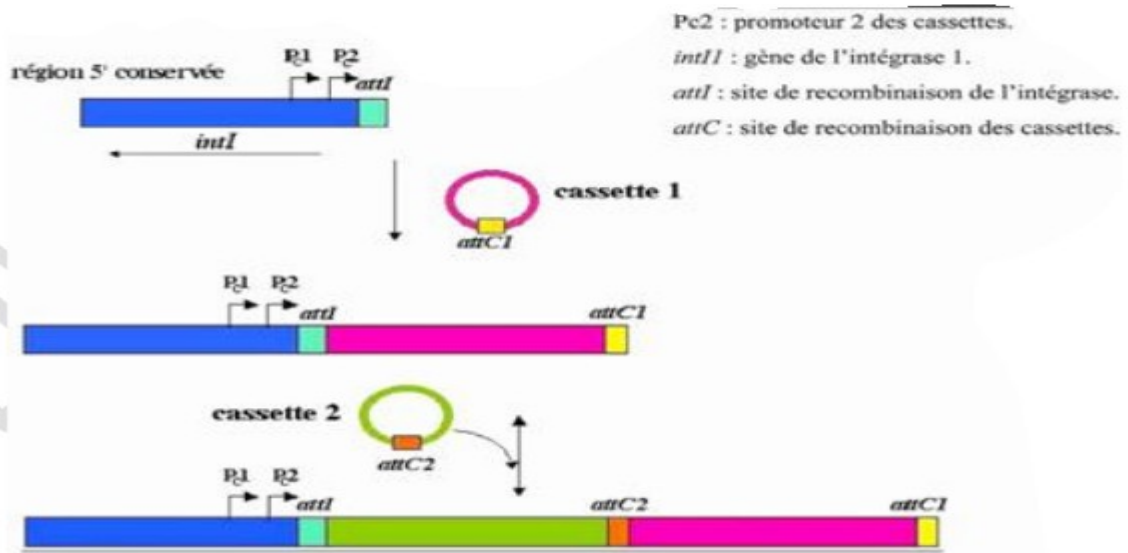


Fig. 30 : Mécanismes d'intégration des cassettes

IV-Système de Restriction Modification : Enzymes de Restriction

DRAYED.H

VI) Système de restriction modification : enzymes de restriction

Introduction

Lorsqu'un bactériophage infecte une bactérie, il lui « injecte » son ADN. Sans système de défense adapté, de nombreux bactériophages seront alors produits dans la bactérie qui sera finalement lysée. De manière à résister à cette infection la bactérie synthétise une classe enzymes dites **enzymes de restriction**, ces dernières vont fragmenter l'ADN viral étranger. Parallèlement, la bactérie possède des méthylases capables de modifier son propre ADN afin qu'il ne soit pas reconnu par ces enzymes.

1-Enzymes de restriction

Se sont des endonucléases d'origine bactérienne ou phagique. Elles coupent de façon définitive et reproductible l'ADN double brin quelque soit son origine en **fragments de restriction**, Ces enzymes reconnaissent de courtes séquences (de 4 à 8 nucléotides), souvent des palindromes. Ces sites sont dits : **sites de reconnaissance**. Cette classe d'enzyme coupe la liaison phosphodiester sur chacun des deux brins. il existe trois classe de ces enzymes

2-Activité enzymatique

L'activité enzymatique est influencée par plusieurs facteurs tel : la température, le pH, la concentration d'ADN , la force ionique et la concentration de l'enzyme .

Une unité d'enzyme de restriction ; celle qui coupe 1 µg de phageλ à 37C⁰ en 1h .

3-Nomenclature

3à 4 lettres qui rappellent les microorganismes a partir desquelles elles ont été extraites : La première lettre en majuscule indique le **genre bactérien**, les deux lettres qui suivent sont en minuscule indiquent **l'espèce bactérienne** suivie d'un chiffre romain indiquant l'ordre de découverte de l'enzyme dans la bactérie. une lettre peut désigner le nom d'une souche .

Exemple : *EcoRI* E : Escherichia

co : coli

R: Ry 13 (souche bactérienne)

I: première enzyme découverte et extraite chez cette bactérie

Organisme d'origine	Enzyme	Site de restriction	Taille du site	Nature des extrémités
<i>Escherichia coli</i>	EcoRV	5' GATATC3' 3' CTATAG5'	6 nucléotides	Bouts francs
<i>Escherichia coli</i>	EcoRI	5' GAATTC3' 3' CTTAAG5'	6 nucléotides	Bouts cohésif
<i>Providencia stuarti</i>	PstI	5' CTGCAG3' 3' GACGTC5'	6 nucléotides	Bouts cohésifs 3' sortant
<i>Haemophilus aegyptius</i>	HaeIII	5' GGCC3' 3' CCGG5'	4 nucléotides	Bouts francs
<i>Thermus aquaticus</i>	TaqI	5' TCGA3' 3' AGCT5'	4 nucléotides	Bouts cohésifs 5' sortant
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	HhaI	5' GCGC3' 3' CGCG5'	4 nucléotides	Bouts cohésifs 3' sortant

4-Classification

Les endonucléases de restriction et leurs méthyles transférases correspondantes sont classés en trois catégories :

4-1 Enzymes de classe I

Reconnaît une séquence d'ADN, puis se déplace, s'arrête 1000 à 5000 paires de bases plus loin et libère quelques dizaines de nucléotides. Cette classe exige l'ATP SAM et le Mg^{+2} . Elle fonctionne comme enzyme de modification et enzyme de restriction (action couplée).

4-2 Enzymes de classe II

Coupe l'ADN au niveau de la séquence reconnue, elle exige le Mg^{+2} comme cofacteur, se sont des protéines relativement simple ; dimères ou tétramères. Activité restriction / Modification séparée.

4-3 Enzymes de classe III

Coupe une vingtaine de nucléotides plus loin que le site de reconnaissance. Activité restriction/modification couplée et nécessite le SAM/ Mg^{+2} comme cofacteur.

Seules les enzymes de classe II sont utilisées en biologie moléculaire car elles clivent dans le site de reconnaissance et non pas plus loin.

5-Fréquence des coupures

La taille moyenne des fragments de restriction est déterminée par la **fréquence** à laquelle une enzyme de restriction coupe l'ADN. Pour un site de 4 nucléotides la fréquence est de 4^n avec n est le nombre de nucléotides composant le site.

Le nombre de fragments obtenus après coupure dépend de la forme d'ADN soumis à la digestion.

- ✓ Pour un ADN de forme linéaire, le nombre de fragments est égal au nombre de sites +1

$$\text{Nombre de fragments} = \text{Nombre de sites} + 1.$$

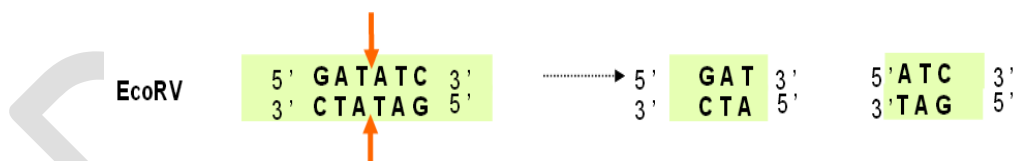
- ✓ Pour un ADN de forme circulaire, le nombre de fragments est égal au nombre de sites

$$\text{Nombre de fragments} = \text{nombre de sites}.$$

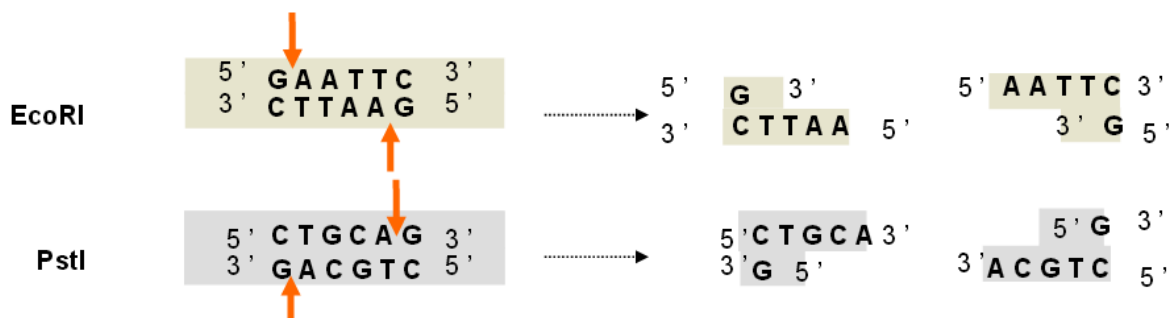
6-Caractéristiques de coupure

Il existe deux types de coupure :

Coupure sur les deux brins **au même endroit**: **coupure symétrique**, on obtient des **bouts francs (Extrémité franches)**.



Coupure décalée (du côté 5' ou 3'), on obtient **Extrémité cohésives** 5' sortante ou 3' sortante



Les sites de reconnaissance ou de fixation des enzymes de restriction sont dits : **Palindrome**

Remarque sur les sites de coupures des enzymes de restriction de type II

- Toutes les coupures forment des extrémités 3' OH et 5' phosphate
- Toutes les coupures sont décalées d'un nombre pair de paires de bases, sauf *EcoRII*
décalage 0pb : *HaeI, Aval, SmaI, HpaI, HindIII,*

décalage 2pb : *HpaII,*

décalage 4pb : *HindIII, EcoRI, BamI, XmaI,*

décalage 5pb, *EcoRII*

- D'une façon générale, les extrémités collantes ont des séquences non seulement complémentaires, mais identiques, sauf dans le cas de *EcoRI*.
- On rencontre des séquences connues à plusieurs enzymes mais coupées de façon différentes par chacune d'eux. Remarquer en particulier les séquences identiques (*SmaI et XmaI*), Les séquences soient incluses dans une autre séquence (*HpaII* dans *XmaI*) soit dans une famille (*HindII* dans *HpaI*)
- La très haute spécificité de coupure ne se traduit pas par un rapport entre la taille de l'ADN coupé et le nombre de coupure, pour un ADN de faible PM.
Pour un ADN de très haut poids moléculaire, le nombre de coupure par une enzyme donnée devient proportionnel au PM.

V- Régulation de l'expression des gènes chez les procaryotes

Régulation de l'expression des gènes chez les procaryotes

Introduction

La régulation de l'expression des gènes c'est l'ensemble des mécanismes de régulation mis en œuvre pour passer l'information génétique incluse dans l'ADN à un produit de gène fonctionnel (ARNm ou protéine). Elle a pour effet de moduler l'expression (quantité d'ARNm) en fonction des conditions de l'environnement pour que la cellule puisse s'adapter à son environnement.

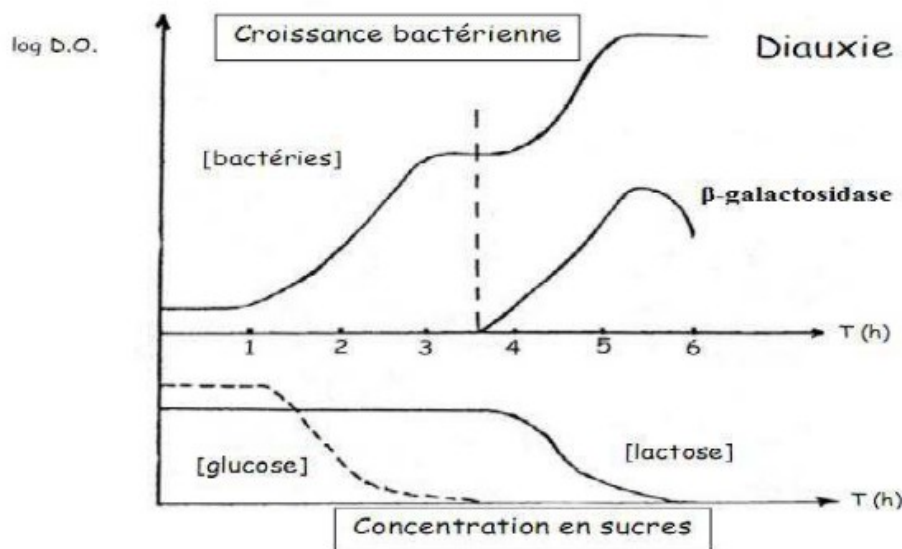
La régulation peut se faire à différents niveaux de l'expression des gènes c'est-à-dire allant de la séquence d'ADN au produit final (transcription, maturation de l'ARNm, traduction de l'ARNm ou la stabilité des ARNm ou de protéines)

1-Régulation transcriptionnelle

✚ Expérience de Jacob et Monod

Culture de bactéries en milieu contenant le glucose + lactose à 37 °C pendant quelques heures.

✚ Résultats



Les bactéries n'ont commencé de consommer le lactose (disaccharide) qu'après disparition totale du glucose (sacre simple) dans le milieu ; la β -galactosidase (enzyme responsable à l'hydrolyse du lactose en glucose + galactose) produite juste avec la consommation du lactose.

✚ Interprétation

La β -galactosidase n'est synthétisée qu'après disparition totale du glucose et la présence du lactose comme seule source du carbone. Le lactose active donc la synthèse de cette enzyme. Il a été montré par ailleurs qu'il s'agit bien d'une synthèse accrue d'enzyme. On dit que l'enzyme est **inductible** et le lactose est **l'inducteur**.

✚ Conclusion

La synthèse du β -galactosidase est contrôlée, ou d'autre façon l'expression du gène responsable à la synthèse du β -galactosidase est régulée, c'est la régulation de l'expression des gènes.

1-a) Notion d'opéron

L'opéron est considéré comme étant l'**unité d'expression** génique, consistant en deux classes de gènes : **les gènes de structure** pour les enzymes et **les gènes de régulation** qui contrôlent l'expression des gènes structuraux. Les deux types de gènes ont pu être distingués par mutation. Des mutations dans un gène de structure aboliraient une activité enzymatique particulière, mais des mutations dans un gène régulateur auraient une incidence sur l'ensemble des différentes enzymes sous son contrôle. Des mutations de ces deux types sont connues chez *E. coli* pour le métabolisme du lactose. Chez les bactéries, les gènes codant pour les enzymes d'une voie métabolique particulière sont souvent groupés adjacents les uns aux autres dans une structure sur le chromosome. Ce modèle d'organisation permet à tous les gènes du groupe d'être exprimé de manière coordonnée et transcrits en **un seul ARNm polycistronique** codant pour toutes les enzymes de la voie métabolique.

I-a-1 Opérons inductibles

✚ Structure générale d'un opéron

L'opéron comprend une **région régulatrice**, l'**opérateur** (la séquence d'ADN où se fixe une protéine régulatrice : activatrice ou un inhibitrice), **un promoteur** commun (où se fixe l'ARN polymérase), et un ou plusieurs **gènes structuraux** qui sont contrôlés de manière coordonnée grâce à l'opérateur. Ces gènes sont co-transcrits sous forme d'un ARN messager polycistronique. En effet, Deux modes de régulation de l'expression des gènes ont été déterminés:

✚ A) Régulation positive : ou contrôle positif

C'est le contrôle dans le quel il y a expression des gènes de structure et ce par l'intervention d'une protéine **régulatrice activatrice**, cette dernière lorsqu'elle est active, se lie à l'ARN polymérase et augmente son efficacité au promoteur, permettant ainsi une plus grande transcription en ARNm donc une expression génique plus importante. La protéine activatrice est généralement inactive à l'état naturel et s'active seulement avec la présence d'une autre molécule avec laquelle elle se lie.

Exemple : la régulation de l'opéron lactose.

✚ Structure génique de l'opéron lactose

L'opéron Lac se compose d'une région régulatrice et de trois gènes de structure lac Z, lac Y et lac A (fig31)

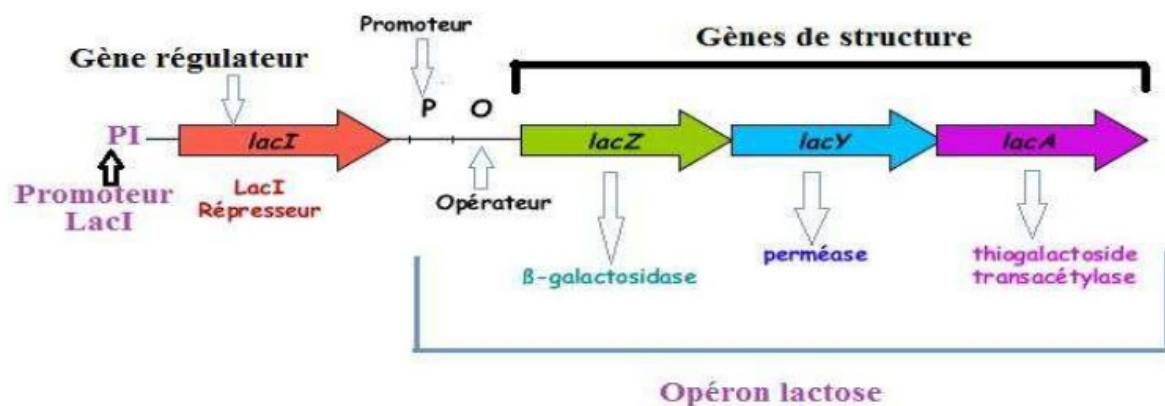


Fig. 31 : Opéron lactose

Ces trois gènes de structure sont précédés par une région responsable de la régulation de leur expression. Cette région régulatrice comprend le promoteur (P) et l'opérateur (O). On trouve également en amont de l'opéron lactose, le gène régulateur (**lac I**) qui code une protéine régulatrice. Celle-ci agit en inhibant l'expression des gènes de l'opéron lactose par transactivation en se liant spécifiquement sur l'ADN au niveau de l'opérateur.

✚ A-1 Mécanisme de la régulation positive : en présence du lactose dans le milieu de culture

C'est l'allolactose, un isomère du lactose, qui va jouer le rôle d'inducteur en se liant au répresseur pour l'inactiver. Cette liaison entraîne un changement conformationnel du répresseur qui perd alors son affinité pour l'opérateur. Le site opérateur étant libéré, l'ARN polymérase peut atteindre le site d'initiation de la transcription et synthétiser l'ARN

polycistronique. La production des enzymes nécessaires au métabolisme du lactose est donc dépendante de la présence du substrat. L'opéron lactose est donc un opéron inducible (fig1)

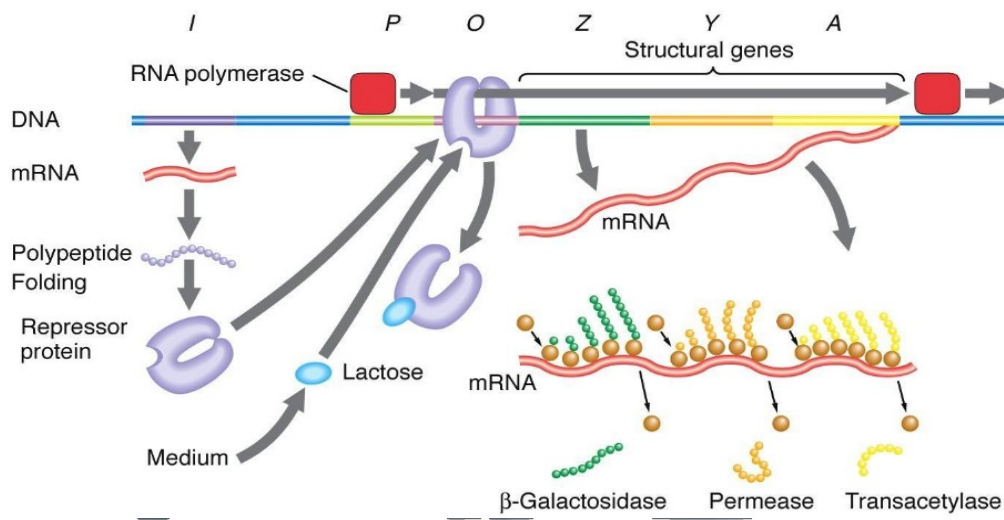


Fig. 32 : Régulation en présence du lactose.

Une protéine accessoire qui agit comme un régulateur positif peut intervenir. Une telle protéine est dite **CAP**, ou protéine activatrice du catabolisme. Le **CAP** forme un complexe avec deux unités d'AMP cyclique, ce complexe fait que l'ADN se courbe à plus de 90°. Cette courbure de l'ADN près du promoteur aide à la liaison de l'holoenzyme de l'ARN polymérase au complexe fermé du promoteur. Les contacts établis entre le complexe CAP- (cAMP) 2 et le sous-groupe de l'holoenzyme de l'ARN polymérase active ainsi la transcription.

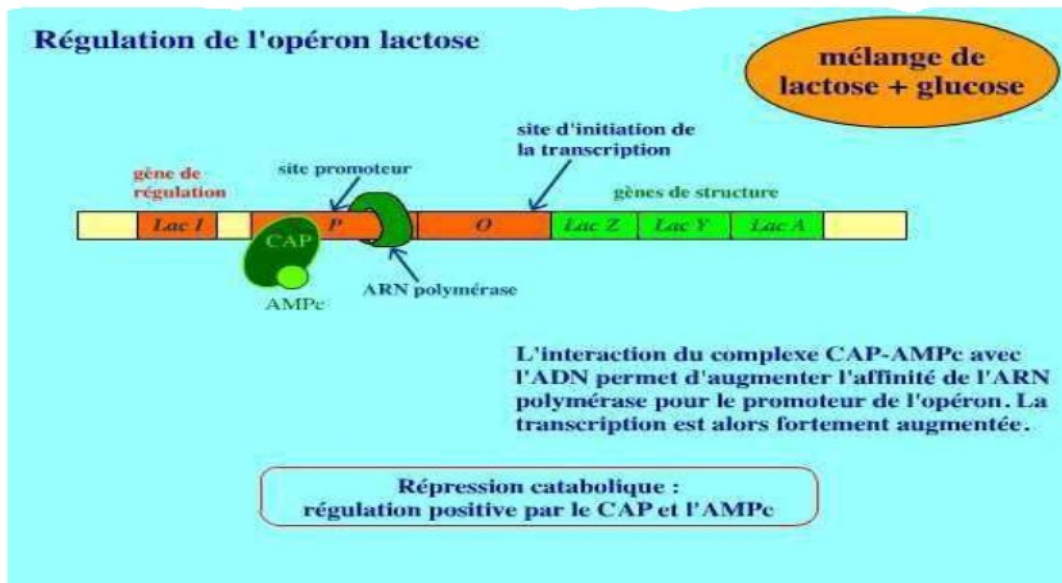


Fig 33. : Régulation positive mécanisme d'action de la protéine CAP

B) Régulation négative

Un contrôle négatif c'est un contrôle dans le quel une protéine régulatrice inhibitrice réprime l'expression des gènes de structure

B-1) Mécanismes du contrôle négatif : en absence du lactose

En absence de lactose, le **répresseur** est sous sa forme active. Il va se lier spécifiquement au niveau de l'opérateur de l'opéron lactose bloquant l'accès de l'ARN polymérase au site d'initiation de la transcription. Ainsi, il y a régulation négative de la transcription des gènes de l'opéron lactose. Les enzymes nécessaires au métabolisme du lactose ne sont pas synthétisées car inutiles en absence de lactose (fig 34).

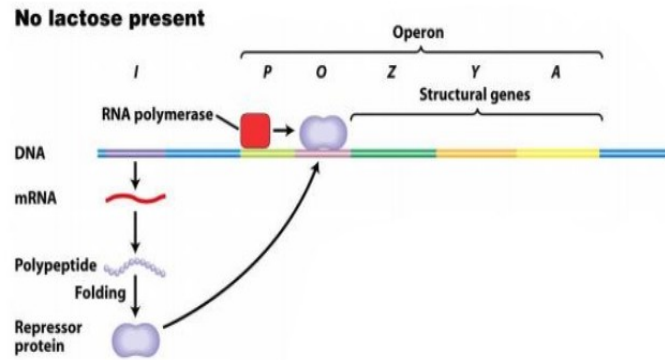


Fig.34 : Mécanisme de régulation en absence du lactose

1-a-2 : Opérons répressibles

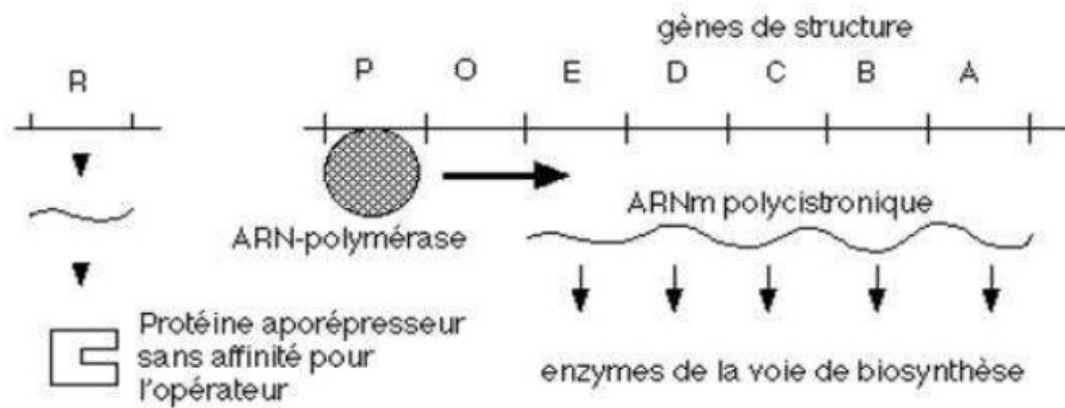
Se sont des opérons dont le répresseur est active en présence d'une autre molécule, dite corépresseur ; en l'absence de ce dernier ; le répresseur adopte une structure spatiale qui ne lui permet pas de se lier au site opérateur (il perd son affinité au site opérateur) donc l'ARN polymérase peut initier la transcription et les gènes de structure sont exprimés. L'exemple couramment utilisé est celui de l'opéron tryptophane

✚ Structure de l'opéron tryptophane

L'opéron tryptophane est constitué de cinq gènes de structure (Trp E, TrpD, TrpC, trpB et Trp A) ces gènes codent pour des enzymes de la voie de biosynthèse du tryptophane à partir de l'acide chorismique

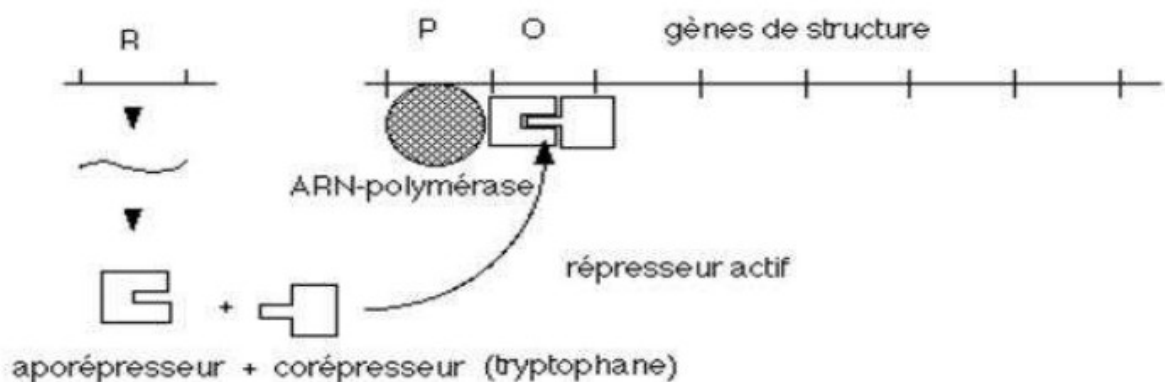
✚ A) En absence du tryptophane

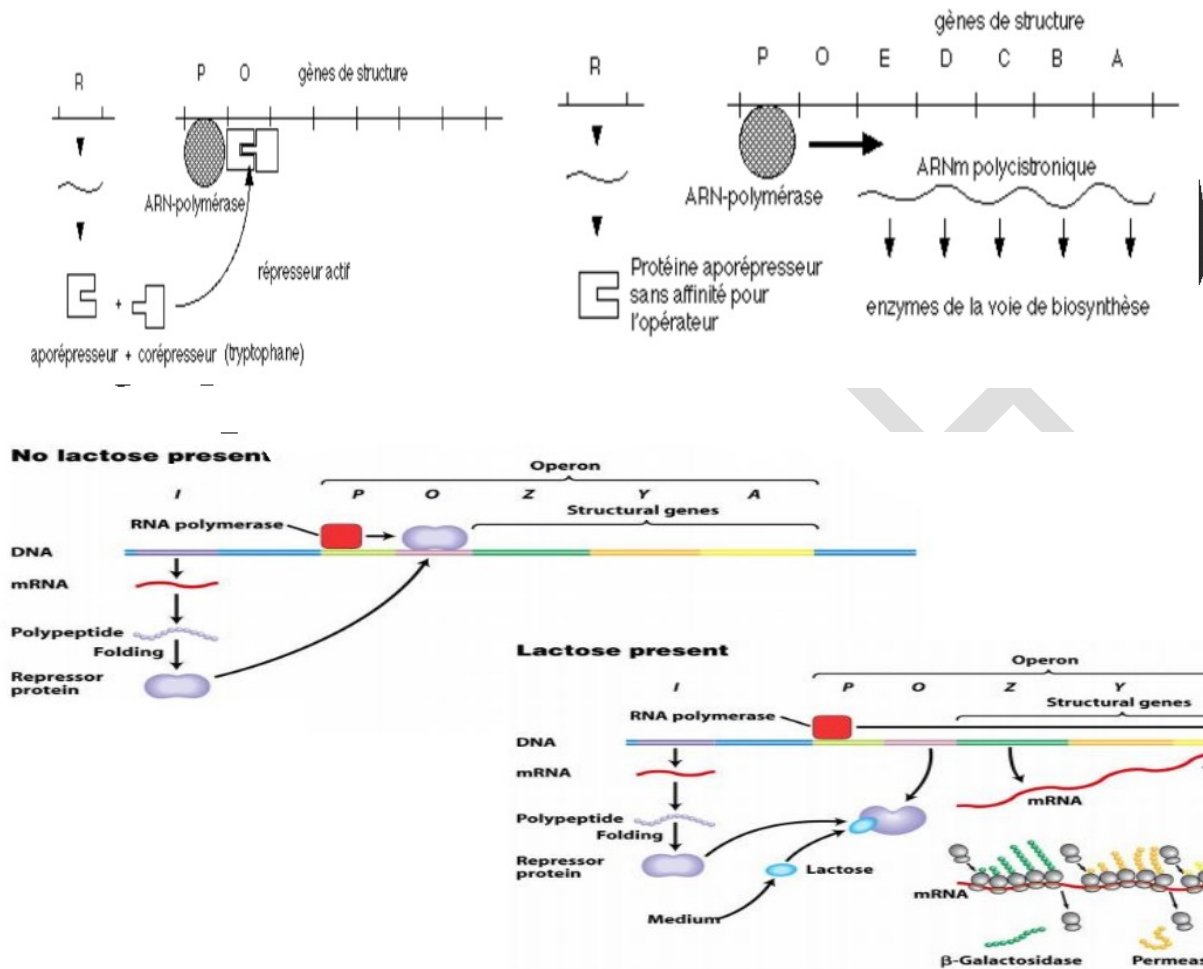
Le gène régulateur synthétise un répresseur. Ce répresseur se présente sous forme d'un tétramère dont les 4 sous-unités sont identiques. Il possède une particularité essentielle. En effet, il ne se fixe pas sur l'opérateur. On l'appelle apo-répresseur. Ce n'est qu'en présence d'un corépresseur que le répresseur se fixera sur l'opérateur. En absence de répresseur au complet (aporépresseur et corépresseur) fixé sur l'opérateur, l'ARN polymérase peut se fixer sur le promoteur et commencer la transcription. Dans ces conditions, les gènes de structure seront transcrits et les enzymes de synthèse du tryptophane se ront synthétisées. Le tryptophane sera produit.



✚ B) En présence du tryptophane

La présence de tryptophane en excès dans le milieu de culture entraîne un arrêt de la synthèse de cet acide aminé. Cette synthèse est donc réprimée ; Le tryptophane agissant comme un co-répresseur se lie au répresseur inactif. Le complexe ainsi formé (répresseur – tryptophane) peut se fixer sur l'opérateur. Dans ces conditions, l'ARN polymérase ne peut pas commencer la transcription et se trouve est donc bloquée et la transcription des gènes de structure est réprimée.





C) Contrôle de la transcription de l'opéron tryptophane par atténuation : contrôle de la transcritiunon par la vitesse de traduction

La cellule bactérienne peut avoir recours à un autre mécanisme de régulation pour stopper la synthèse du tryptophane quand sa concentration dans le milieu est suffisante ; il s'agit du phénomène d'atténuation où la cellule atténue la synthèse de l'ARNm.

- ✚ **C-1 Atténuation** : c'est l'arrêt prématuré de la transcription c'est un mode de régulation par lequel la bactérie elle régule la transcription par la vitesse de la traduction. Chez la bactérie : transcription et traduction se font en même temps, dès que l'ARNm apparait les ribosomes s'y associent et initient la traduction. La première séquence traduite est une séquence non codante située en aval du promoteur appelée séquence guide, celle-ci est la clé de cette atténuation. La séquence d'ARN m transcrite comprend quatre régions

complémentaires notées : 1, 2, 3 et 4. Le peptide leader (peptide de 14 acide aminé dont deux sont le tryptophane : les acides numéros 9 et 11) est codé par les régions 1 et 2 de l'ARNm. Des régions de la chaîne d'ARNm en croissance sont capables de s'apparier et de former des chaînes à double brin (épingles à cheveux): l'hybridation 2:3 est qualifiée d'hybridation anti-terminaison et l'hybridation 3:4 est dite hybridation de terminaison de la transcription. Lorsqu'il ya excès de tryptophane, le ribosome traduit le peptide leader au complet (La vitesse de traduction est rapide), et donc la région 2 ne peut pas s'apparier avec la région 3. Ce sont les régions 3 et 4 qui s'apparient pour former une épingle qui termine la transcription (car le ribosome rencontre une séquence poly UU : séquence déstabilisatrice de l'ARN polymérase). Le manque de tryptophane bloque la traduction, le ribosome s'arrête momentanément en 1(car la vitesse de traduction est faible), une boucle se forme par appariement de la région 2 avec la région 3, l'ARN polymérase continue sa transcription et passe au-delà de la séquence leader.

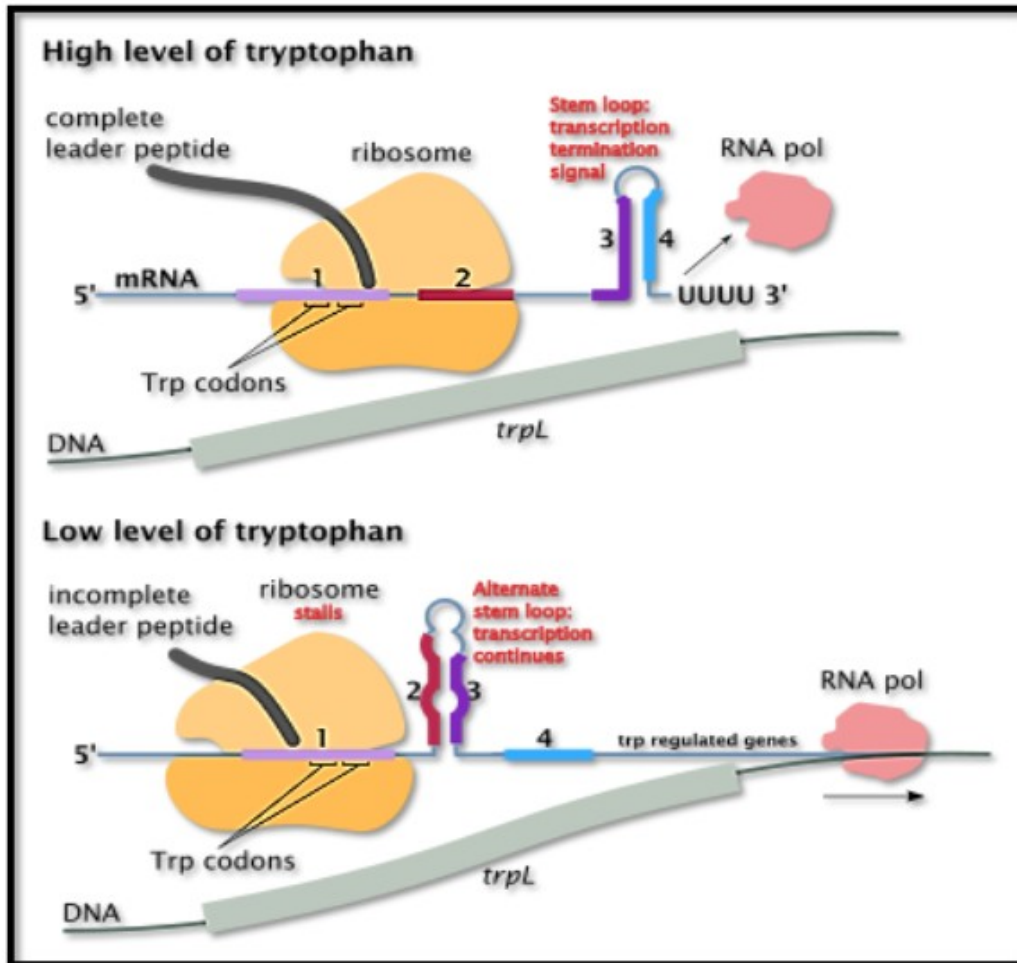


Fig.37 : Régulation de l'opéron tryptophane par atténuation

VI -Bactériophages

DRAYED.H

Bactériophages

1-Historique

Si un certain nombre de maladies à virus des plantes étaient connues depuis fort longtemps, et certains de leurs caractères spécifiques précocement décrits, ce n'est qu'après les découvertes de Pasteur qu'Iwanowski fut capable, en 1892, d'apporter la preuve certaine qu'une maladie du tabac était due à un agent infectieux ultra filtrable. En réalité, ce n'était que la suite logique des observations antérieures de Mayer et lui donna en 1886 le nom de «**mosaïque du tabac**». En 1998, **Beyerinck** conclut que la mosaïque du tabac était pas due à une toxine ou un micro-organisme classique, mais a une substance particulière soluble, capable de se multiplier dans des cellules vivantes. Une nouvelle étape fut franchie grâce à Edward **Twort** en 1915 et **Flix d'Herelle** en à 1917, qui rapportèrent indépendamment l'isolation d'entité filtrable capable de détruire les cultures bactériennes et de produire des petites zones claires sur le tapis bactérien. Twort contamina une colonie normale pour voir ce dernier devenir à son tour translucide et liquide et cela en touchant les colonies transparentes avec une spatule stérile puis une colonie normale. D'Herelle observa un phénomène analogue sur des cultures de Shigella provenant d'un malade de dysenterie. Il interpréta la disparition des bactéries comme le résultat de la multiplication de virus auquel il donna le nom de bactériophages.

2-Définition

Les bactériophages sont des virus qui infectent spécifiquement les bactéries ; se. Ils ont été décrits pour la première fois en 1915 par **Federik Twort**. sont des parasites obligatoires intracellulaires ; en effet, ils ne possèdent pas la machinerie nécessaire à leur réplication et ont donc besoin d'emprunter celle de leur hôte de manière à pouvoir proliférer librement. Les bactériophages sont présents dans l'ensemble de la biosphère ; ils sont en quantité importante dans les excréments, le sol et les eaux d'égout.

3-Classification et structure

Les bactériophages ont été analysés et ces dernies sont classés selon l'ICTV (International Committee on taxonomy of Viruses). Le matériel génétique est habituellement utilisé pour faire la classification générale des bactériophages. Les phages sont constitués :

- ✓ Enveloppe protéique externe appelé capsid qui protège l'acide nucléique.
- ✓ Le génome qui peut être l'ADN ou l'ARN ; il peut être simple brin ou double brin ; circulaire ou linéaire.

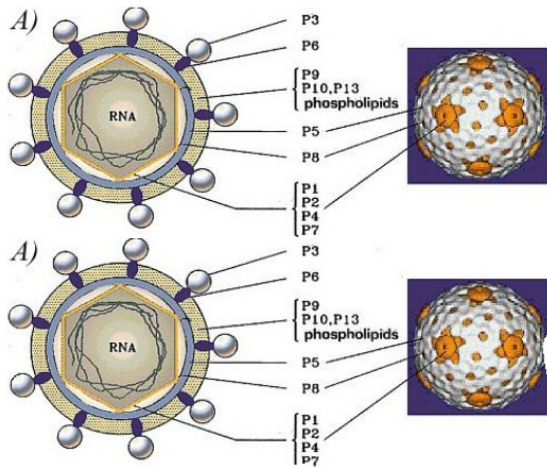


Fig. 38: structure du bactériophage Ø6 (circulaire)
Structure cubique

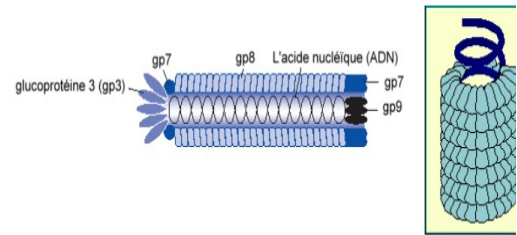


Fig.39 : Structure du bactériophage M13
Structure filamenteuse

Ordre caudovirales : regroupe 13 familles et 31 genres chez les bactériophages, environ 40 critères pour la classification, mais aucun critère est universel n'existe pour le genre et l'espèce.

La morphologie de la queue permet de subdiviser cette famille en

- 60% des phages sont des **Siphoviridae** et possèdent une longue queue flexible.
- 25% sont **Myoviridae** avec une queue contractile.
- 15% sont des **Podoviridae** et possèdent une courte queue.

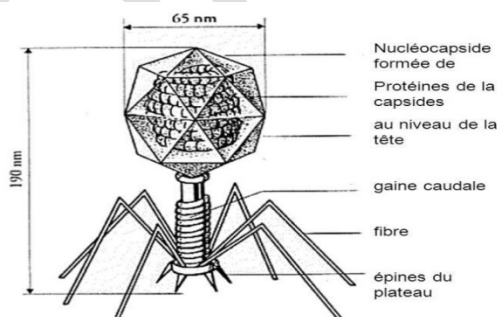


Fig. 40: Structure du bactériophage lamda λ : structure mixte

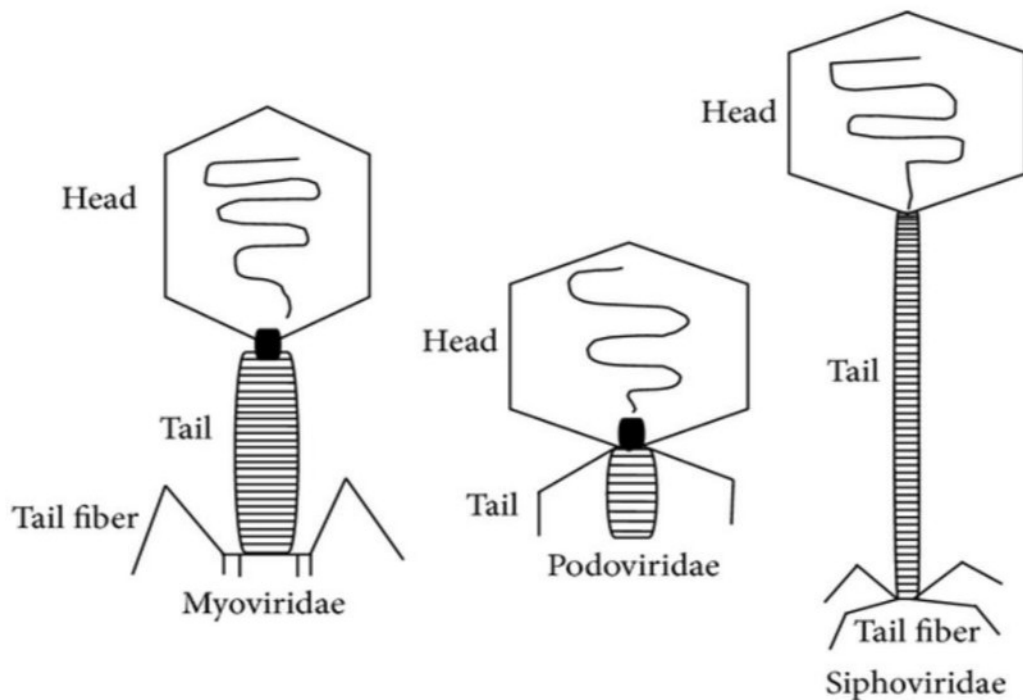


Fig.41 : Structure de la famille Caudovirales

4-Biologie des bactériophages

Il existe deux aspects : soit le bactériophage se reproduit au dépend de son hôte et la détruit (cycle lytique), c'est le cas des bactériophages virulents. Soit il attache son génome dans le chromosome de la bactérie ; il se comporte comme un gène bactérien et réplique en parfaite harmonie avec le génome, on lui donne le nom de prophage afin de bien marquer ces caractères. Les bactéries sont dites Lysogènes mais elles peuvent dans certains cas se lyser en libérant des virions. Ce genre de bactériophages est dit tempéré.

4-1 Cycle lytique : cas du bactériophage T4 qui infecte *E coli*

La première étape consiste en une adsorption du bactériophage sur un récepteur membranaire spécifique de la cellule hôte. Généralement un type de phage ne peut infecter qu'une seule espèce de bactérie, et dans certains cas uniquement une ou plusieurs souches de cette espèce (fig45). Après adsorption, le T4 injecte son ADN dans la cellule hôte à travers sa queue (fig 45). La capsid ainsi vide reste à l'extérieur de la bactérie. Une fois l'ADN nu est dans le cytoplasme. Généralement, l'ADN phagique est transcrit par une ARN polymérase de la cellule hôte en ARNm précoce. Plus tard, les ARNm seraient synthétisés par l'ARN

polymérase phagique traduite à partir des ARNm précoce. L'ARN polymérase bactérienne serait modifié afin de transcrire exclusivement les gènes du phage. Ces ARNm sont traduits en protéines enzymatiques et régulatrices et structurales.

- ❖ Les protéines régulatrices contrôlent la cinétique d'expression des gènes du phage
- ❖ Les protéines structurales forment la tête et la queue et d'autres constituants protéiques requis pour l'obtention de la particule virale complète
- ❖ Les enzymes du phage assurent la production d'un grand nombre de génome du phage par réplication ou même par fois par destruction de l'ADN de l'hôte

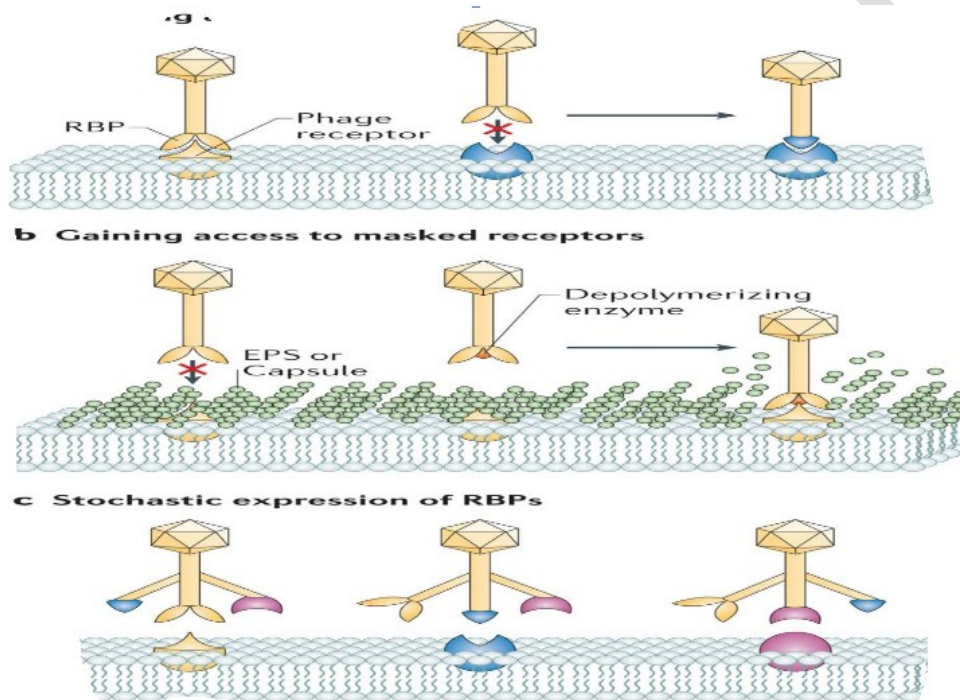


Fig.42 : Adsorption du phage sur la paroi bactérienne (Nature reviews)

Microbiology

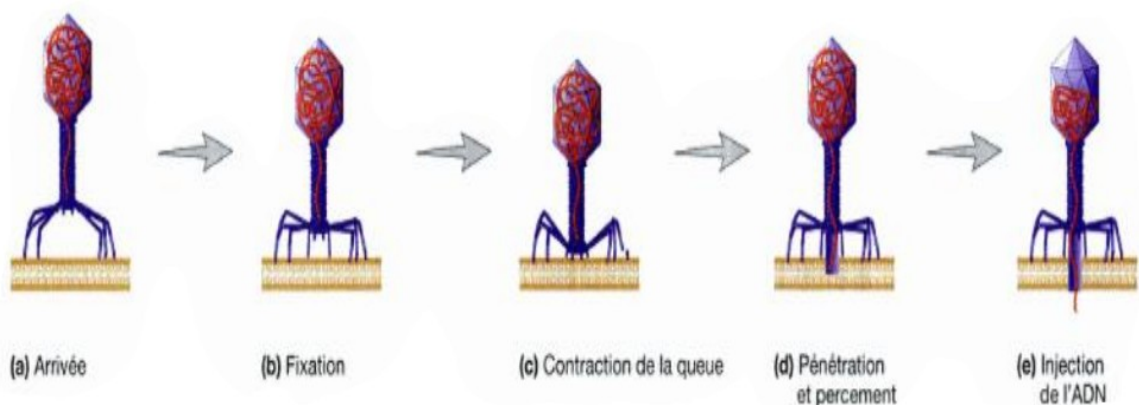
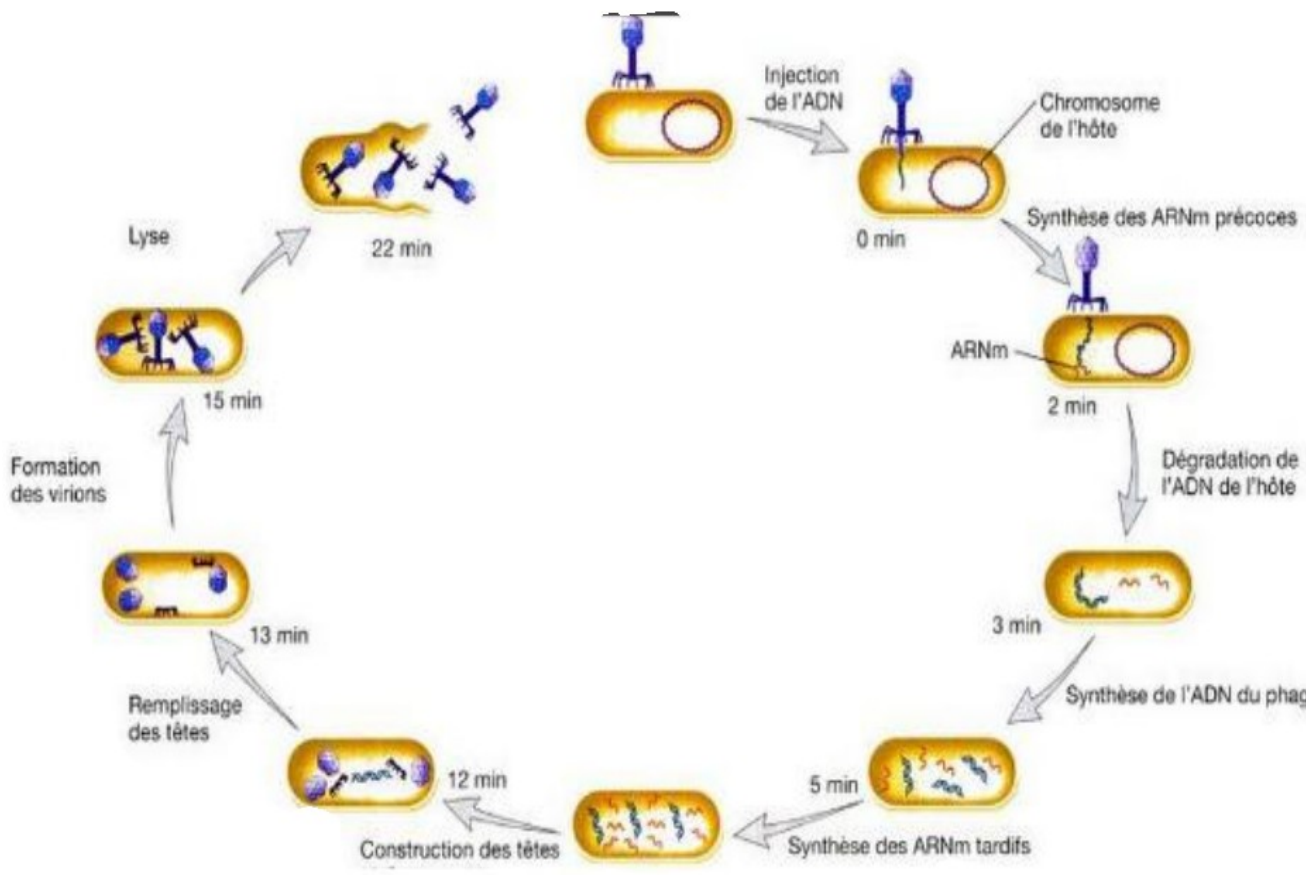


Fig. 43: adsorption et injection de l'ADN du bactériophage T4

Fig. 45: cycle lytique du bactériophage T4 chez *E. coli*

4-2) Cycle lysogénique

Il existe deux types de cycle lysogénique. Dans le cas le plus fréquent, dont l'exemple type est les bactériophage lambda qui infecte *E. coli* ; l'ADN phagique est intégré dans le chromosome de l'hôte, dans l'autre cas, représenté par le phage P1 d'*E. coli*, l'ADN phagique ne s'intègre pas dans l'ADN de l'hôte mais se réplique de manière synchrone avec lui ; tel un plasmide. Lorsqu'il est intégré il porte le nom de prophage ; la production de ce dernier passe par quatre grandes étapes :

- ✓ Injection de l'ADN phagique linéaire dans la bactérie hôte puis circularisations grâce aux extrémités cos.
- ✓ Transcription des gènes codant le répresseur et l'intégrase le répresseur inhibe la transcription des gènes codants le cycle lytique.

- ✓ L'ADN phagique s'intègre dans le chromosome de l'hôte dans un site spécifique grâce à l'intégrase donnant ainsi le prophage
- ✓ Survie et multiplication de la bactérie pendant toute cette période le prophage est répliqué avec le chromosome de l'hôte.

Le mécanisme par lequel une cellule infectée s'oriente vers un cycle lytique ou lysogénique n'est pas bien compris. Le déroulement des deux cycles : lytique et lysogénique dépend de la régulation exercée par les deux protéines régulatrices (répresseur C) et Cro : le répresseur inhibe la transcription de la protéine Cro et des protéines du déroulement du cycle lytique. La protéine Cro inhibe la transcription du gène codant le répresseur C. Quand C est fortement concentré, le cycle lysogénique est maintenu ; si la concentration de C diminue et que celle de Cro augmente, la bactérie entre en cycle lytique. Cependant deux conditions semblent favoriser le cycle lysogénique d'un phage tempéré

- ✚ L'élimination des substances nutritives
- ✚ Forte multiplicité d'infection c'est-à-dire de nombreux phages adsorbés par bactérie.

Les phages ne peuvent réaliser un cycle lytique que dans des bactéries métaboliquement actives, lorsque les substances nutritives sont éliminées, les bactéries dégradent leur propres ARNm et protéines avant d'entrer en phase de dormance (bactérie lysogénique). Lorsque les substances sont à nouveau disponibles, une bactérie dormante non infectée peut reprendre son activité et sa croissance.

Si une bactérie lysogénique subit des altérations, le prophage s'excise de l'ADN et déclenche le cycle lytique ce phénomène est connu sous le nom d'induction du prophage.

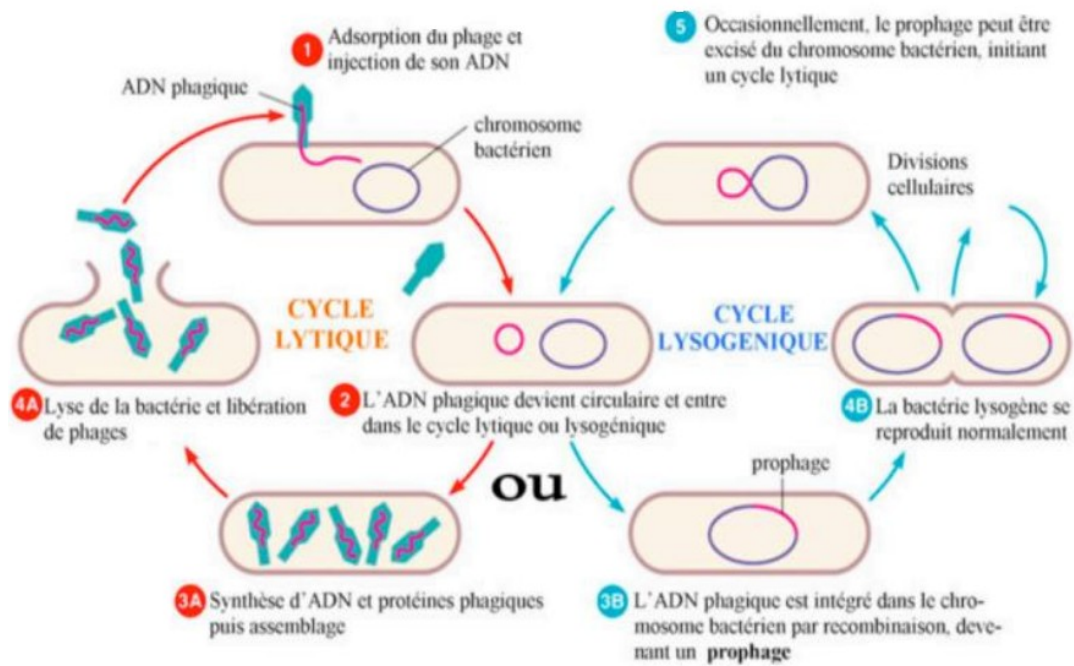


Fig.46 : Cycle lytique ou cycle lysogénique.

5-Composition des membranes cellulaires des bactéries à gram positive et négative et type de bactériophage infectieux

Un type de molécule intégré au peptidoglycane est l'acide teichoïque; ce dernier traverse la membrane plasmique. Les phages spécifiques aux bactéries gram positives utilisent généralement un des composants du peptidoglycane, comme l'acide teichoïque, comme récepteur.

Références bibliographiques

Albert B. et al. 2002. *Molecular Biology of the Cell; 4ed*, Garland, New York.

Barthez P.2003. Effet des radiations ionisantes.Bases Physiques et Techniques en Imagerie Médicale Unité pédagogique de Radiologie – Imagerie médicale.

DuPrawE;J., 1970. *DNA and chromosomes,Holts;Rinehart &Winston*,New York

J.D.Watson et F.H.C. Crick, “*Molecular structure of nucleic acids : a Structure of desoxyribose nucleic acide*” Réimprimé avec la permission de Nature , vol 171;4356: 737-38

Jacob.F; Ulmann,A. et Monod, J. 1964. Le promoteur, élément génétique nécessaires à l’expression d’un opéron , comptes rendu de l’Académie des Sciences de Paris

Jacob;F. and Monod,J. 1961. On the regulation of gene activity , Cold Spring .Harbor Symp. Quant. Bio., 26;193-211.

Leclerc R.1975. Microbiologie générale. *Doïn* 289p

Lodish H et al., 2002 *Molecular Cell Biology*. 4th ed : W H Freeman& Co New York

Mergeay, M. 1991. Towards an understanding of the genetics of bacterial metal resistance, *Trends in Biotechnology*,9, 17-24.

Vienne D.2003. Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales. Eyrolles librairies. INRA (livre en ligne : [http:// www. Eyrolles. com](http://www.Eyrolles.com)