

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



Université 8 Mai 45 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie et des Sciences de la Terre et
de l'Univers
Département de Biologie

Polycopié support pédagogique soutient au cours
Eléments de Génétique Moléculaire des Microorganismes

Licence : Biologie Moléculaire (BM)

Dr. KHALLEF Messaouda

2016

Liste des figures

Figures	page
Figure 1 : structure du chromosome bactérien	1
Figure 2 : Le mécanisme de réplication du chromosome bactérien	7
Figure 3 : La réplication bidirectionnelle en forme thêta	7
Figure 4 : Les différents mécanismes de transferts horizontaux de gènes	8
Figure 5 : l'expérience de transformation de Griffith	9
Figure 6 : Le étapes de la transformation	10
Figure 7 : la conjugaison bactérienne	11
Figure 8 : les étapes de la conjugaison	12
Figure 9: L'expérience de mise en évidence de la transduction	13
Figure 10 : Les étapes de la transduction	14
Figure 11 : La carte génétique d'E. coli	16
Figure 12: l'expérience de conjugaison interrompue	17
Figure 13 : le couplage de transcription-traduction	19
Figure 14 : l'organisation d'un gène et de l'ARNm bactériens	19
Figure 15 : la structure de l'ARNt	21
Figure 16 : la structure de l'aminoacyl-ARNt	21
Figure 17 : La structure du ribosome procaryote	22
Figure 18 : l'initiation de la traduction	24
Figure 19 : l'élongation de la traduction	25
Figure 20 : la réaction de transpeptidation	26
Figure 21 : la terminaison de la traduction.	26
Figure 22 : un opéron bactérien transcrit en ARNm polycistronique	27
Figure 23 : la structure de l'opéron	28
Figure 24 : l'opéron inductible	29
Figure 25 : l'opéron répressible	30
Figure 26 : le système d'atténuation	31
Figure 27 : Contrôle par inversion des séquences d'ADN	32
Figure 28 : morphologie des levures	33
Figure 29 : la structure générale de la levure	34

Figure 30 : structure des membranes	34
Figure 31 : le génome de levure	36
Figure 32 : la division des levures	39
Figure 33: le cycle haplodiplobiontique des levures	40
Figure 34 : morphologie des principaux virus	42
Figure 35 : La forme icosaédrique de la capsid virale	43
Figure 36 : la structure hélicoïdale	44
Figure 37 : l'enveloppe de la capsid	45
Figure 38 : le cycle lytique et lysogène du bactériophage	48
Figure 39: exemple de redondance terminale chez le bactériophage	49
Figure 40 : la multiplication des bactériophages à ARN simple brin	50

Liste des tableaux

Tableaux	page
Tableau 1 : Les différents types de plasmides	5
Tableau 2: classification des virus	41
Tableau 3: les types d'acides nucléiques viraux	46

Sommaire

Partie 1 : Bactéries

Chapitre 1: Le génome bactérien

1.	Structure du génome bactérien.....	1
1.1.	Le chromosome bactérien.....	1
1.2.	Les éléments génétiques mobiles	2
1.2.1.	Les plasmides.....	2
1.2.1.1.	Organisation générale des plasmides	2
1.2.1.2.	Classification des plasmides.....	3
a)	Plasmides de fertilité (ou facteur F).....	3
b)	Plasmides R.....	3
c)	Plasmides Col.....	4
d)	Plasmides de dégradation.....	4
e)	Plasmides de virulence.....	4
1.2.1.3.	Propriétés des plasmides.....	5
2.	Réplication du génome bactérien.....	6
2.1.	Réplication du chromosome.....	6
2.2.	Réplication du plasmide.....	7

Chapitre 2 : Transferts génétiques horizontaux

1.	Définition du transfert horizontal des gènes.....	8
2.	Transformation.....	9
2.1.	La mise en évidence	9
2.2.	Les exigences de la transformation.....	9
2.3	Les étapes de la transformation.....	10
3.	Conjugaison.....	11
3.1.	La mise en évidence	11
3.2.	Les exigences de la Conjugaison	11
3.3.	Les étapes de la Conjugaison	12
4.	Transduction.....	13
4.1.	La mise en évidence	13
4.2.	Les exigences de la transduction	13
4.3.	Les étapes de la transduction	14
5.	Carte génétique.....	15

Chapitre 3: Biosynthèse des protéines

1.	Mécanisme de la transcription.....	18
1.1.	Initiation.....	18
1.2.	Elongation.....	18
1.3.	Terminaison	19
2.	Mécanisme de la traduction	20
2.1.	Synthèse d'un aminoacyl-ARNt.....	20
2.2.	Structure et fonction du ribosome.....	22
2.3.	Initiation de la traduction.....	22
2.4.	Elongation.....	23

2.5.	Terminaison.....	23
	Chapitre 4: Régulation de l'expression génique	
1.	Définition et concept de l'opéron.....	27
2.	Les opérons inductibles: Opéron lactose.....	28
3.	Les opérons répressibles: Opéron tryptophane.....	29
4.	Système modulateur d'expression: l'atténuation.....	30
5.	Régulation par inversion de séquences d'ADN.....	32
	Partie 2: Les levures	
1.	Rappels sur la biologie des levures.....	33
1.1.	Généralités.....	33
1.2.	Culture et nutrition.....	35
2.	Le génome des levures.....	35
3.	Le transcriptome des levures.....	36
4.	Le protéome des levures.....	37
5.	Génétique des mitochondries.....	37
6.	Eléments transposables.....	38
7.	Division et cycle cellulaire.....	38
8.	Reproduction sexuée chez les levures (cycle haplodiplobiontique).....	40
	Partie 3: Les virus	
1.	Structure des virus et classification	41
2.	Architecture et assemblage	42
3.	Les acides nucléiques des virus.....	45
2.1.	Génomés à ADN.....	45
2.2.	Génomés à ARN.....	45
2.3.	Cas des bactériophages.....	46
4.	Cycle viral.....	46
3.1.	Cycle lytique.....	47
3.2.	Cycle lysogénique.....	47
5.	Réplication du matériel génétique viral.....	48
4.1.	Réplication des virus à ADN (Modèle d'étude le bactériophage T4).....	48
4.2.	Réplication des virus à ARN.....	49

Références bibliographiques

Partie I :

LES

BACTERIES

Chapitre 1 :

Le génome bactérien

1. Structure du génome bactérien

1.1. Le chromosome bactérien

L'essentiel de l'ADN bactérien est organisé en une unique molécule d'ADN qu'on appelle le **chromosome** ou **génophore**. Ce chromosome est constitué d'un filament unique, continu et circulaire ; il a environ 1mm de longueur et une masse molaire d'environ 3.10^9 daltons et environ 5×10^6 paires de bases ; il est composé de 2 chaînes polynucléotidiques de polarité inversée dont les éléments sont liés par covalence de même que les extrémités. Il est couplé à des protéines basiques des polyamines telles que les la spermine et la spermidine et avec des cations Mg^{+2} ou Ca^{+2} . L'ADN isolé sous forme native présente une structure torsadé appelée super hélice.

Cette structure est située dans une zone de la cellule appelée région nucléaire ou nucléoïde. Outre l'ADN, elle contient de l'ARN (jusqu'à 30%) et des protéines (10%) dont la plus grande partie correspond à l'ARN polymérase. Le chromosome est circulaire, c'est-à-dire qu'il est fermé. La double hélice est enroulée en super hélice (400pb par tour) qui est-elle même repliée en formant des boucles qui sont maintenues par un support majoritairement constitué d'ARN.

Les études morphologiques et biochimiques montrent que l'ADN est lié à la membrane cytoplasmique ou à des invaginations de celle-ci appelées mésosomes. Chez les procaryotes, le chromosome est constitué par une chaîne continue de gènes et ne contient pas de régions répétitives de grande taille (sauf pour les gènes d'ARN) (fig. 1).

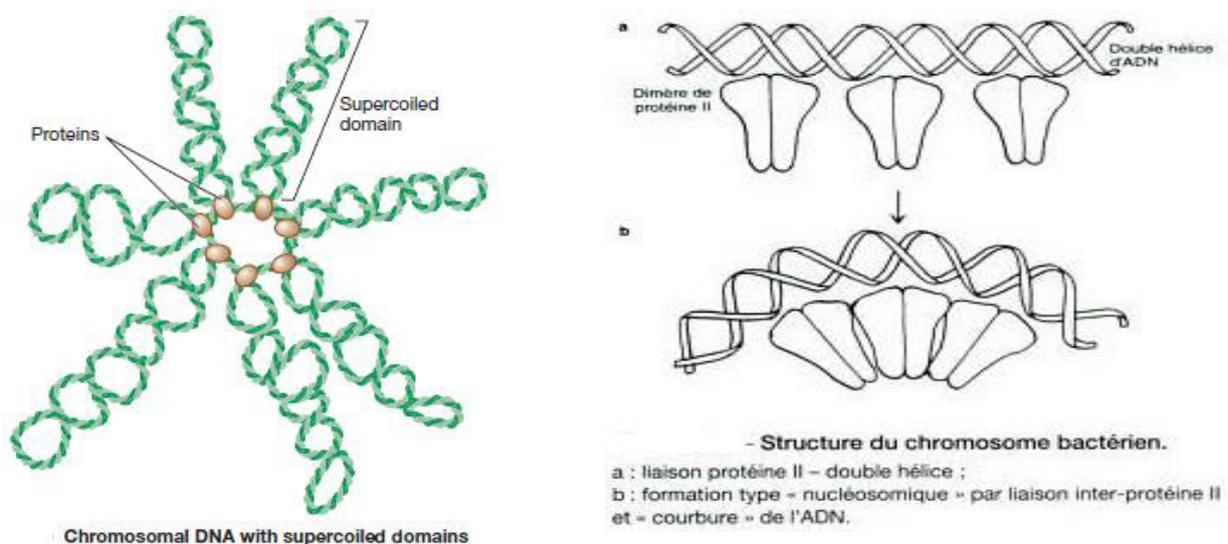


Figure 1 : structure du chromosome bactérien.

1.2. Les éléments génétiques mobiles

Les plasmides et les éléments transposables sont des éléments génétiques mobiles qui peuvent mouvoir du matériel génétique entre chromosomes bactériens ou au sein des chromosomes, entraînant des changements rapides du génome et modifiant radicalement les phénotypes.

1.2.1. Les plasmides

La plupart des bactéries portent des éléments d'ADN extra-chromosomiques, que Lederberg en 1952 propose d'appeler **plasmides**, pour marquer leur caractère indépendant par rapport aux gènes portés par le chromosome.

1.2.1.1. Organisation générale des plasmides

- Les plasmides sont de petites molécules circulaires d'ADN qui peuvent exister indépendamment des chromosomes de l'hôte et sont présents de nombreuses bactéries (ils existent aussi chez certaines levures et autres mycètes).
- Comme toute structure porteuse d'informations génétiques, le plasmide est une molécule d'ADN de petite taille, le 1/100 environ de celle du chromosome (4,2 Md pour pColE1 présent chez *E. coli*, 25Md pour R6K présent chez les bactéries à Gram négatif).
- Leur enroulement serré (torsadé) leur assure un encombrement minimal et leur confère une grande résistance (en particulier aux forces mises en jeu au cours de l'extraction).
- Leur masse molaire varie d'environ 0,5Md à plus de 400Md, c'est-à-dire qu'elle est comparable à celle de l'ADN viral.
- Les plasmides ont leur propre origine de répllication, se répliquent de façon autonome et sont transmis aux cellules filles de manière stable.
- Les plasmides portent un nombre de gènes réduit, généralement moins d'une trentaine. Leur information génétique n'est pas essentielle pour l'hôte et les bactéries qui en sont dépourvues, vivent normalement.
- Les plasmides peuvent être éliminés des cellules hôtes. Ce curage ou perte de plasmide se fait spontanément ou est induit par des traitements qui inhibent la répllication des plasmides sans affecter la reproduction des cellules hôtes.
- Un épisome est un plasmide qui peut exister sous forme libre ou intégré dans le chromosome de l'hôte.

1.2.1.2. Classification des plasmides

Des classifications de plasmides par classes d'incompatibilité (**Inc**) ont été établies. Deux plasmides s'excluant mutuellement, c'est-à-dire ne pouvant coexister dans la même bactérie, appartiennent au même groupe d'incompatibilité.

On peut également les classer selon leur type de transfert ou le phénotype exprimé (Tab. 1).

➤ Transfert

- a. Une remarquable caractéristique de plusieurs plasmides est leur habilité d'assurer leur propre transfert ou celui d'autres éléments ADN d'une cellule à une autre dans le processus de conjugaison donc on les appelle conjugatifs ou autotransmissibles. Ces derniers existent probablement dans tous les types bactériens, ils possèdent des gènes qui codent pour toutes les fonctions nécessaires au transfert. Les plasmides, dits conjugatifs, ont une masse molaire supérieure à 30Md. Le nombre de copies par cellule est faible (1 à 3) et, de plus, le plasmide induit la synthèse de *pili* « sexuels » permettant l'accouplement.
- b. Les plasmides non conjugatifs, de plus petite taille (0,5 à 50Md) ne sont pas autotransmissibles par conjugaison. Ils sont souvent cryptiques et ne codent pour aucune fonction décelable hormis l'autoréplication. Leur nombre de copies par cellule est cependant plus élevé (de 10 à 15 pour pCol_{E1} d'*E. coli*). Leur transfert ne peut se réaliser que par mobilisation par un autre plasmide présent dans la même cellule ou par transformation.

➤ Le phénotype

a. Plasmides de fertilité (ou facteur F)

Un plasmide appelé facteur de fertilité ou facteur F joue un rôle important dans la conjugaison chez *E. coli* et fut le premier à être. Le facteur F est un acide nucléique de 100 Kilobases, il porte les gènes nécessaires à l'attachement cellulaire et à son transfert entre souches spécifiques au cours de la conjugaison. L'information requise pour le transfert du plasmide est contenue dans l'opéron *tra* qui contient au moins 28 gènes. Beaucoup de ces gènes déterminent la formation de pili sexuels, les autres produits de gènes participent au transfert d'ADN.

Le facteur F contient également plusieurs séquences appelées séquences d'insertion qui permettent l'intégration du plasmide dans le chromosome.

b. Plasmides R

Les plasmides confèrent souvent la résistance aux antibiotiques chez les bactéries qui les contiennent. Les **facteurs** ou **plasmides R** ont des gènes codant pour des enzymes capables d'inactiver ou de modifier les antibiotiques. Généralement, ils ne sont pas intégrés dans le chromosome bactérien. Certains plasmides R possèdent un seul gène de résistance alors que d'autres en ont jusqu'à huit. Souvent les gènes de résistance sont contenus dans un transposon et il est donc possible pour des souches bactériennes d'acquérir des plasmides à résistance multiple.

c. Plasmides Col

Les bactéries hébergent aussi des plasmides dont les gènes donnent un avantage compétitif dans le monde microbien. Les **bactériocines** sont des protéines bactériennes qui détruisent d'autres bactéries. Normalement elles agissent uniquement contre des souches apparentées. Les bactériocines tuent souvent les bactéries en formant des canaux dans la membrane plasmique, augmentant sa perméabilité. Elles peuvent également dégrader l'ADN et l'ARN ou hydrolyser le peptidoglycane et fragiliser la paroi cellulaire. Les plasmides Col contiennent des gènes qui codent pour la synthèse de bactériocines connues sous le nom de colicines qui sont dirigés contre *E.coli*. Des plasmides similaires portent des gènes de bactériocines dirigés contre d'autres espèces. Par exemple, les plasmides Col produisent des cloacines qui tuent des espèces d'*Enterobacter*. Certains plasmides Col sont conjugatifs et peuvent en plus porter des gènes de résistance.

d. Plasmides de virulence

Rendent les bactéries plus pathogènes parce qu'elles permettent de résister aux défenses de l'hôte ou de produire des toxines. Par exemple des souches entérotoxigènes d'*E.coli* causent des diarrhées à cause d'un plasmide qui code pour une entérotoxine.

e. Plasmides métaboliques

Portent des gènes d'enzymes qui métabolisent des substances telles que des composés aromatiques (toluène), des pesticides (2-4-dichloro-phenoxy-acétique) et des sucres (lactose). Des plasmides métaboliques portent même des gènes nécessaires à certaines souches de *Rhizobium* pour induire la nodulation chez les légumineuses et effectuer la fixation d'azote.

Tableau 1 : Les différents types de plasmides

Types	Exemples	Taille approximative (kb)	Hôtes	Phénotypes
Facteur de fertilité	Facteur F	95-100	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Citrobacter</i>	Pilus sexuel, conjugatif
Plasmides R	- RP ₄	54	- <i>Pseudomonas</i> et autres Gram-	- Pilus sexuel, conjugatif, résistance Ap, Km, Nm, Tc
	- R1	80	- Gram -	- Résistance à Ap, Km, Su, Cm, Sm
	- pSH ₆	21	- <i>S. aureus</i>	- Résistance à Gm, Tm, Km
	- pSJ _{23a}	36	- <i>S. aureus</i>	- Résistance à Pn, Asa, Hg, Gm, Km, Nm, Em...
Plasmides Col	- col E ₁	9	- <i>E. coli</i>	- Colicine E ₁
	- col E ₂		- <i>Shigella</i>	- Colicine E ₂
Plasmides de virulence	- Ent (P307)	83	- <i>E. coli</i>	- Production d'entérotoxine
	- ColV-K ₃₀	2	- <i>E. coli</i>	- Sidérophore pour capture du Fer, résistance aux mécanismes immunitaires
	- pZa 10	56	- <i>S. aureus</i>	- Entérotoxine B
Plasmides métaboliques	- CAM	230	- <i>Pseudomonas</i>	- Dégradation du camphre
	- SAL	56	- <i>Pseudomonas</i>	- Dégradation du salicylate
	- TOL	75	- <i>P. putida</i>	- Dégradation du toluène

1.2.1.3. Propriétés des plasmides

- **Résistance aux antibiotiques ou à agents divers:** on estime que la résistance plasmidique intervient dans plus de 90% des cas observés en clinique, les 10% restants étant dus à la résistance chromosomique. Résistance à la pénicilline, au chloramphénicol, aux sulfamides, aux métaux lourds, aux cations toxiques, aux radiations, aux phages... de tels phénomènes sont bien connus chez *Staphylococcus*.
- **Production de substances à rôle pathogène :** le pouvoir pathogène de certains germes est sous la dépendance de déterminants plasmidiques responsables de la synthèse de toxines (hémolysines, entérotoxine) de facteurs de virulence, de facteur d'induction de tumeurs chez les plantes... Parmi les gènes de virulence ou de toxinogénèse portés par les plasmides, on peut citer les gènes portés par le plasmide de virulence pYV, présents chez les souches *Yersinia enterocolitica*, ceux présents chez les souches entéro-invasives d'*E. coli* (pMAR2, pCVD419) ou chez *Shigella* (pWR100). La partie T du pTi et pRi portent une vingtaine de gènes de virulence chez *Agrobacterium* induit la maladie si transmise à la plante.
- **Production de bactériocines ou antibiotiques :** des substances protéiques rencontrées tout d'abord chez les entérobactéries puis chez la plupart des bactéries Gram + ou -, a action antagoniste spécifique, sont appelées des bactériocines dont le nom est toujours

dérivé de l'espèce ou du genre sur lequel elles agissent : colicine (pColE1 d'*E. coli*)
pyocine (*Pseudomonas*), Vibriocine (*Vibrio cholerae*).

- **Caractères métaboliques :** un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d'origine plasmidique, production d'H₂S, utilisation de citrate (*E. coli*), dégradation de composés aromatiques (*Pseudomonas*), catabolisme du lactose, activité protéolytique....etc.

2. Réplication du génome bactérien

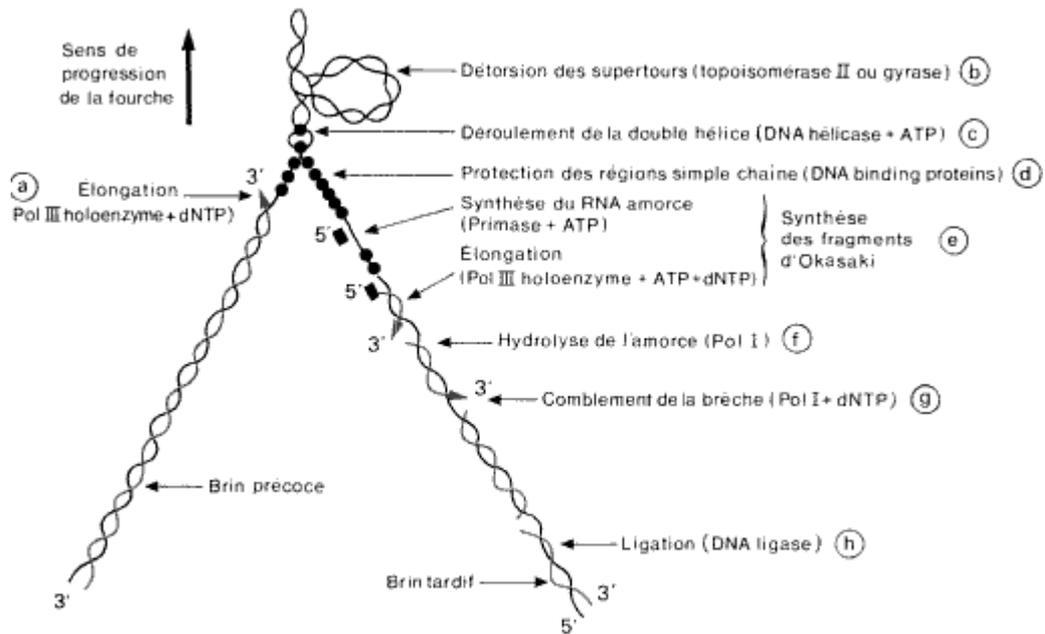
a. Réplication du chromosome

La réplication débute par l'ouverture de la double hélice en un site spécifique : le point d'initiation (*Ori C*). À ce niveau se trouve une séquence riche en nucléotides AT, ce qui entraîne une moins bonne cohésion entre les chaînes. Cette ouverture est due à l'action d'une hélicase (DUE) qui est ATP dépendante : les plus importantes sont la protéine rep et l'hélicase II ou III ; dans certains cas il y a intervention de la sous unité β de la gyrase ou du produit Dna A. ce processus est facilité en amont par la liaison à l'ADN quatre tétramères de DnaA, ce qui induit la formation d'une structure pelotonnée avec pour conséquence la séparation des brins et l'accessibilité des autres facteurs. Les brins séparés sont stabilisés par des protéines appelées « single strand binding protein » (SSB) : il s'agit également de tétramères. Outre la séparation des chaînes par l'hélicase, la réplication nécessite un déroulement des structures en hélice et une modification du super enroulement. Du fait de la spécificité 5'→3' de la polymérisation, la synthèse de l'ADN par l'intermédiaire de la polymérase est orientée : elle ne peut se faire qu'à une extrémité 3'OH. Pour permettre la croissance simultanée des deux chaînes la synthèse est forcément discontinue sur l'une d'entre elles alors qu'elle est discontinue sur l'autre. La réplication se fait donc de manière asymétrique sur les deux chaînes. Dans la croissance discontinue, la synthèse s'effectue dans le sens permis (5'→3') par courts brins appelés fragments d'Okazaki, brins qui sont ensuite liés par une ADN ligase. La chaîne synthétisée de façon continue est appelée chaîne précoce et l'autre chaîne tardive. La présence d'une boucle sur la chaîne tardive permet au réplisome de fonctionner dans le même sens pour les deux chaînes à la fois (fig. 2). Le chromosome d'*Escherichia coli* se réplique en forme θ d'une manière bidirectionnel.

b. Réplication du plasmide

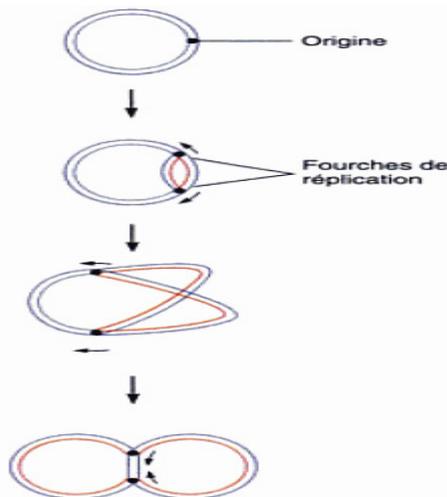
La réplication des plasmides s'effectue généralement avec formation d'une double fourche dans une structure en bulles ou en œil (forme pour les molécules circulaires) (fig.3).

Dans le cas du plasmide pColE1 : la réplication est initiée par une amorce d'ARN synthétisé par l'ARN polymérase, les ADN polymérases I et II font ensuite l'élongation. Au cours de la réplication des plasmides, il y a fréquemment association avec la membrane cytoplasmique et se fait rapidement.



Fourche de réplication de l'ADN chez *E. coli*.

Figure 2 : Le mécanisme de réplication du chromosome bactérien.



La réplication bidirectionnelle. La réplication du génome circulaire de la bactérie. Deux fourches de réplication se déplacent autour de l'ADN formant des intermédiaires en forme de thêta. Le brin d'ADN nouvellement synthétisé est en rouge.

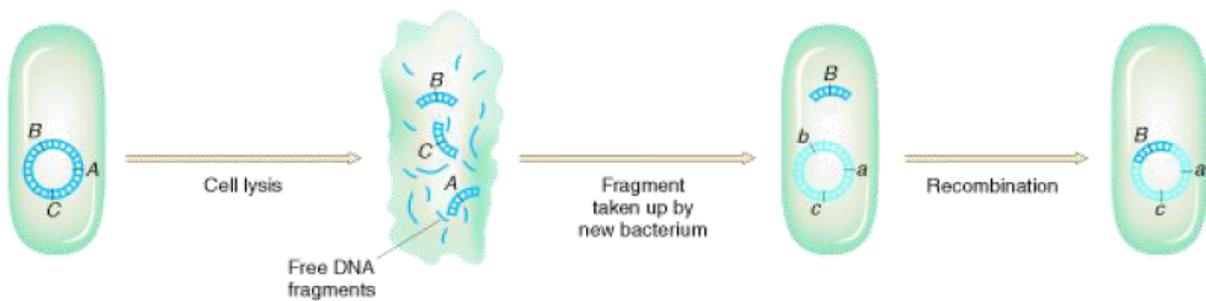
Figure 3 : La réplication bidirectionnelle en forme thêta.

Chapitre 2 :
Transferts génétiques
horizontaux

1. Définition du transfert horizontal des gènes

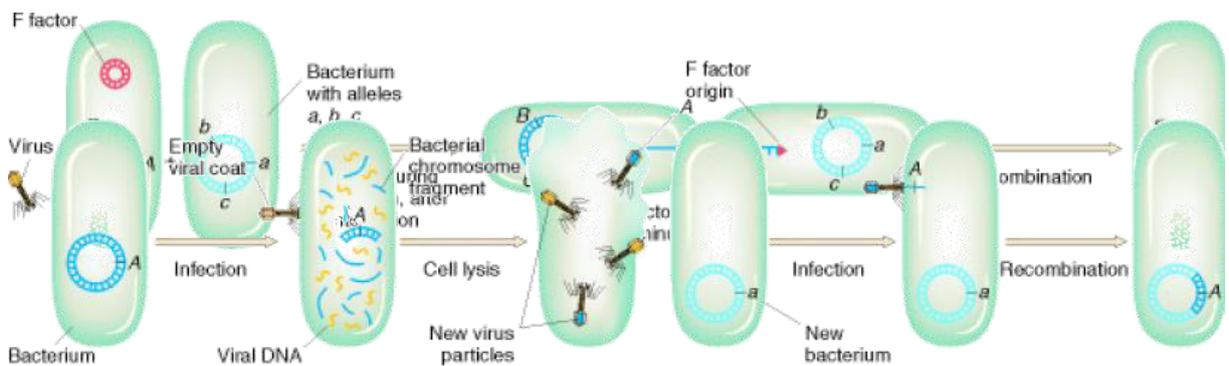
Le transfert horizontal des gènes (THG) est un processus dans lequel un organisme intègre du matériel génétique provenant d'un autre organisme sans en être le descendant, par opposition, au transfert vertical qui se produit lorsque l'organisme reçoit du matériel génétique à partir de son ancêtre. Le THG est un processus générant une variabilité génétique indispensable à l'adaptation des bactéries aux variations d'environnement.

Cette mobilité intercellulaire de l'ADN se fait par trois formes chez les procaryotes : la transformation, la conjugaison et la transduction (fig. 4).



- (1) transformation
- (2) conjugaison
- (3) transduction

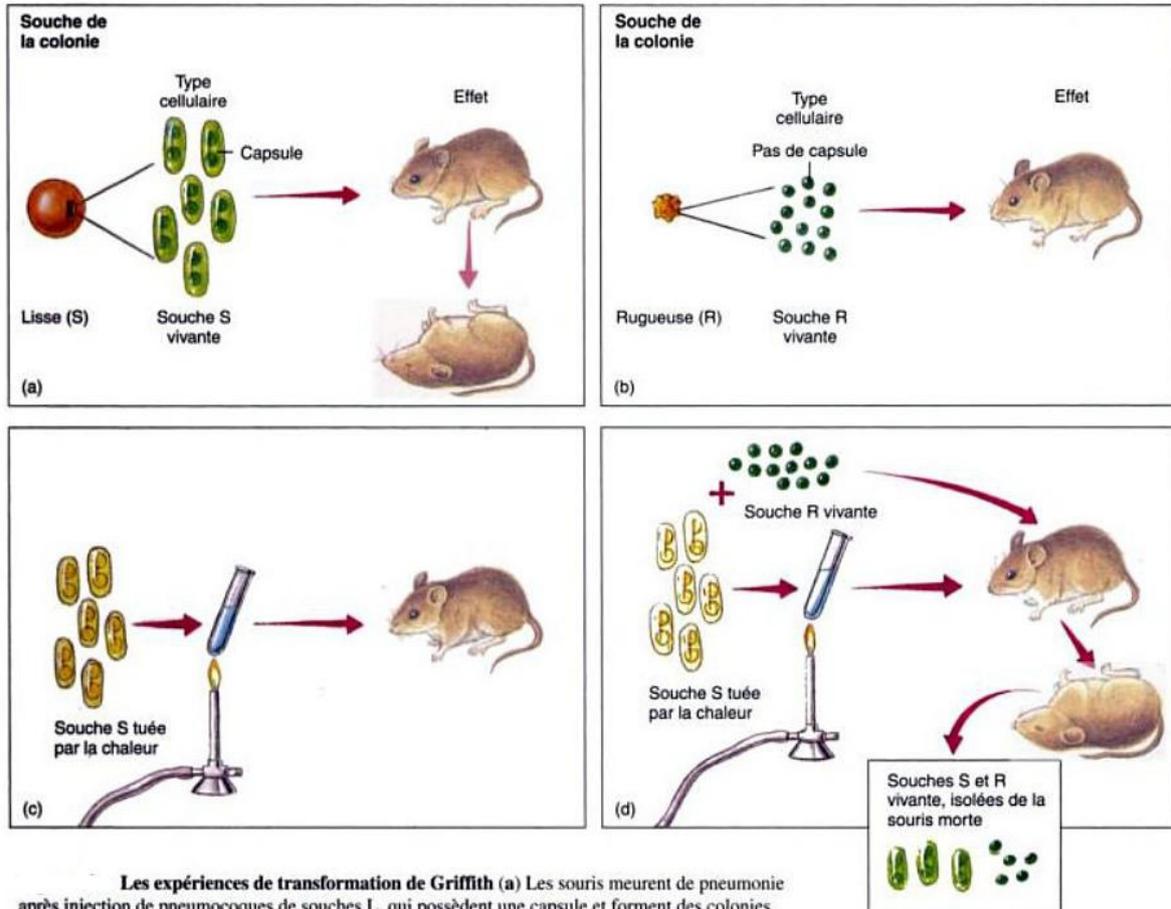
Figure 4 : Les différents mécanismes de transferts horizontaux de gènes.



2. Transformation

2.1. Mise en évidence

Il fallut attendre 1943 pour qu'Avery et McLeod, puis d'autres bactériologistes, montrent que la transformation bactérienne observée par Griffiths en 1928 chez *Streptococcus pneumoniae* (fig. 5) résultait simplement de la capacité d'une souche bactérienne à laisser entrer de l'ADN exogène.



Les expériences de transformation de Griffith (a) Les souris meurent de pneumonie après injection de pneumocoques de souches L, qui possèdent une capsule et forment des colonies lisses. (b) Les souris survivent après injection de pneumocoques non pathogènes R, qui ne possèdent pas de capsule et forment des colonies rugueuses. (c) L'injection de pneumocoques L, tués à la chaleur, reste sans effet. (d) Les souris développent une pneumonie après injection de bactéries R vivantes et bactéries L tuées ; on retrouve dans les souris mortes des bactéries vivantes de type L.

Figure 5 : l'expérience de transformation de Griffith.

2.2. Les exigences de la transformation

- L'ADN **exogène nu** (on dit exogénote) susceptible de venir transformer le génome endogène (on dit endogénote) par recombinaison doit être **bicaténaire**, ou de le compléter par addition, dans le cas d'un plasmide. L'aptitude à la transformation est étroitement conditionnée par la taille des fragments de l'ADN chromosomique de la bactérie donatrice qui varie entre 8,5 à 12 Kb.

- La transformation suppose, dans les conditions naturelles, que les **bactéries réceptrices** soient « **compétentes** », un état physiologique permettant une entrée de l'ADN exogène (le mécanisme de compétence est différent selon que les bactéries sont gram+ ou gram-).

2.3. Les étapes de la transformation

Lorsque les conditions les plus favorables sont remplies (ADN transformant et bactéries compétentes) le transfert peut avoir lieu. Le mécanisme de transformation présente de légères différences entre espèces bactériennes et en particulier entre Gram+ et Gram-. Il comprend les étapes suivantes (fig. 6).

2.3.1. La fixation

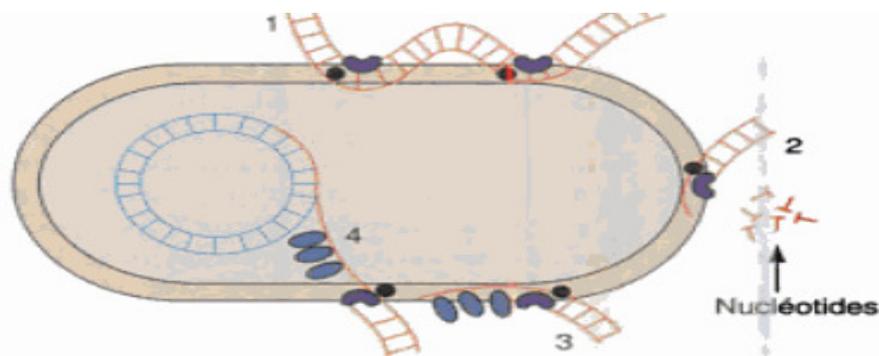
La rencontre des fragments d'ADN avec les cellules réceptrices se fait au hasard. L'ADN à l'état bicaténaire, se fixe à la surface des bactéries compétentes au niveau de sites récepteur (30 à 80 sites par cellule).

2.3.2. La pénétration

La pénétration dans la cellule fait intervenir une endonucléase membranaire qui sert d'ADN translocase en dégradant un des brins et en favorisant la pénétration de l'autre.

2.3.3. L'intégration

L'intégration se fait par recombinaison avec déplacement de la chaîne homologue du récepteur pour former un hétéroduplex.



Le mécanisme de la transformation. (1) Une longue molécule double-brin d'ADN se fixe à la surface grâce à une protéine liant l'ADN (●) et subit une coupure simple-brin par une nucléase (●). (2) Un des deux brins est dégradé par la nucléase. (3) Le brin intact s'associe à une protéine spécifique de la compétence (●). (4) L'ADN simple-brin pénètre dans la cellule et est intégré dans le chromosome de l'hôte en lieu et place de la région homologue de l'ADN de l'hôte.

Figure 6 :

Le étapes de la transformation.

3. Conjugaison

3.1. Mise en évidence

La conjugaison bactérienne a été découverte en 1946 par Josuah Lederberg et Edouard Tatum chez *Escherichia coli K12*. Ils démontrèrent sans ambiguïté que deux souches bactériennes porteuses de nombreuses mutations d'auxotrophie différentes pouvaient, lors d'une coculture (croisement bactérien) (fig. 7), donner des recombinants prototrophes capables de pousser sur une boîte de milieu minimum, contrairement aux deux souches parentales. Ils établirent la nécessité d'un contact entre bactéries et visualisèrent par microscopie l'établissement d'un pont cytoplasmique à travers lequel on pouvait supposer un échange d'ADN, une bactérie réceptrice recevant les séquences sauvages d'une bactérie donatrice puis remplaçant par celles-ci les séquences mutées endogènes, acquérant ainsi un génotype sauvage. Le nombre de mutations en jeu dans les souches parentales et la fréquence des recombinants sauvages excluait tout autre phénomène comme des mutations reverses ou suppressives.

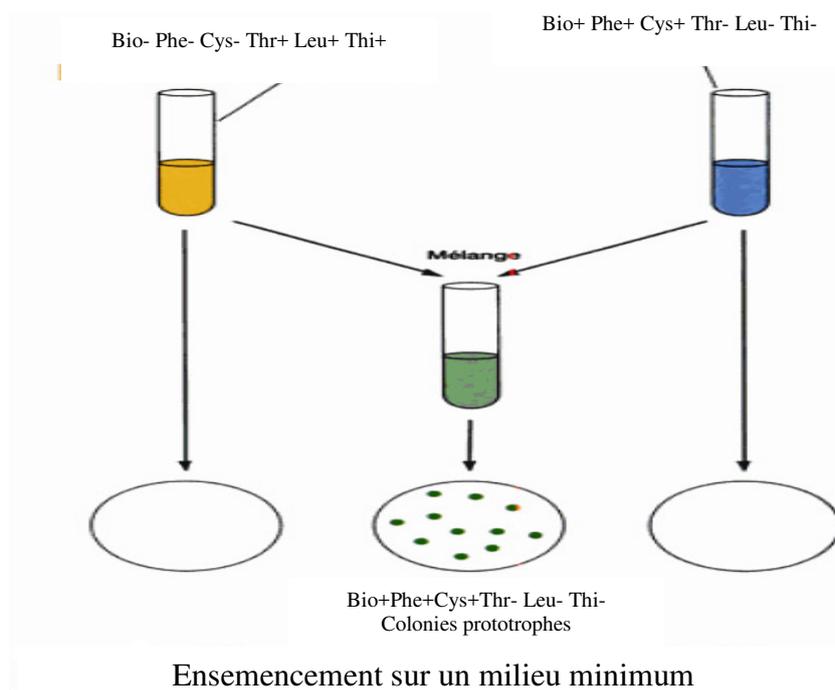


Figure 7 : la conjugaison bactérienne.

3.2. Les exigences de la conjugaison

La condition majeure pour qu'un transfert conjugatif aura lieu entre deux espèces bactériennes est la présence d'un **plasmide F** ou d'un **facteur de fertilité**. Ce facteur donne la

polarité à la cellule donneuse (l'exogénote) par l'expression du pili sexuel et porte un ensemble de gènes nécessaires au transfert.

3.3. Les étapes de la conjugaison (fig. 8)

3.3.1. Le contact et l'appariement

Le n'est possible qu'après appariement par couple des bactéries donatrices et réceptrices. Il fait d'abord intervenir les pili sexuels (2 à 3 par bactérie F+) qui reconnaissent par leurs extrémités les zones de contact à la surface des bactéries F- et s'y fixent puis se rétractent en rapprochant les 2 bactéries.

3.3.2. Etablissement du pont cytoplasmique

Un pont cytoplasmique de 100 à 300µm par lequel va s'opérer le transfert se forme entre les deux cellules bactériennes.

3.3.3. Le transfert génétique

Il ne porte que sur un brin d'ADN, ce qui permet de restaurer l'intégrité du génome de la bactérie donatrice par un processus de réplication asymétrique par un mécanisme de type cercle roulant a lieu tout près du pont cytoplasmique et met en jeu un site réplicateur spécifique (Ori T).

3.3.4. Le détachement des cellules

À la fin de la conjugaison, l'extrémité 5' du brin qui rentre dans la cellule réceptrice se fixe près du pore d'entrée et reste fixée jusqu'à la fin du processus de réplication. Une protéine codée par un des gènes du facteur F exerce un contrôle négatif du transfert en se liant à la membrane interne et en bloquant les sites impliqués dans la conjugaison.

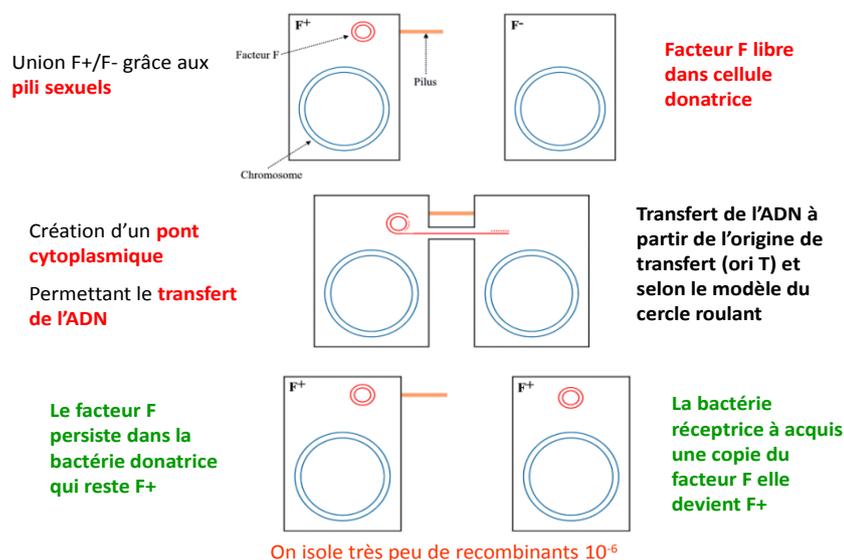


Figure 8 : les étapes de la conjugaison.

4. Transduction

4.1. Mise en évidence

Le phénomène a été mis en évidence en 1951 par Zinder et Lederberg chez *Salmonella typhimurium*. Ces auteurs cherchaient à recombinaison des mutants auxotrophes provenant de diverses souches de *Salmonella* afin d'obtenir des prototrophes. C'est un autre phénomène qu'ils découvrirent, différent de la conjugaison.

Deux souches auxotrophes de *Salmonella* : l'une 2A exige de l'histidine et l'autre 22A exige du tryptophane. Dans un tube en U séparé à la base par une membrane en verre fritté interdisant le passage de bactéries mais permet le passage de bactériophage c'est ainsi qu'ils ont pu isoler des recombinants (fig.9). C'est un mécanisme de transfert de gènes d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice, via une capsid virale.

Certains bactériophages (nom donné au virus bactérien) comme P22 chez *Salmonella* induisent, durant leur cycle lytique, une fragmentation du génome bactérien qui conduit certains de ces fragments à une encapsidation à la place d'un génome viral. Ces phages dits *transducteurs* sont alors capables, en infectant des bactéries réceptrices, de leur transférer ce fragment de génome bactérien qui peut alors remplacer, par recombinaison homologue.

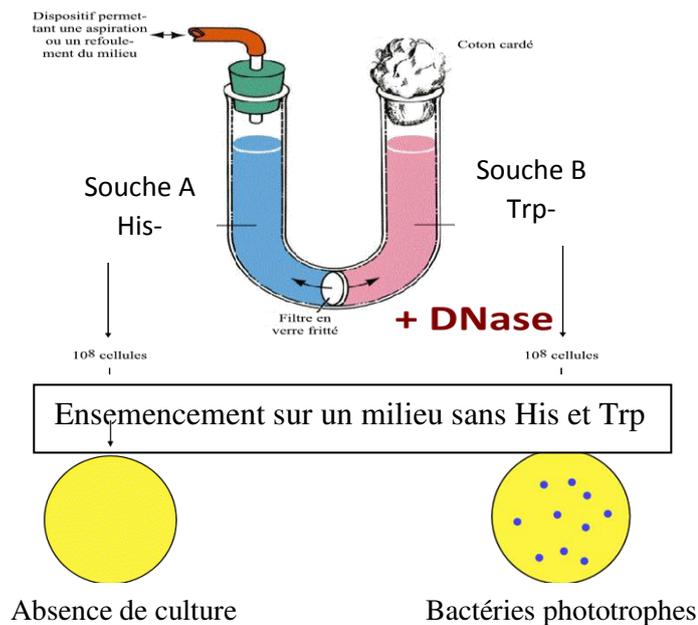


Figure 9: L'expérience de mise en évidence de la transduction.

4.2. Les exigences de la transduction

Un **phage** transducteur.

4.3. Les étapes de la transduction

Il a deux types de transduction généralisée ou restreinte. La transduction se fait en 3 principales étapes (figure 10).

4.3.1. L'infection de Bactérie A

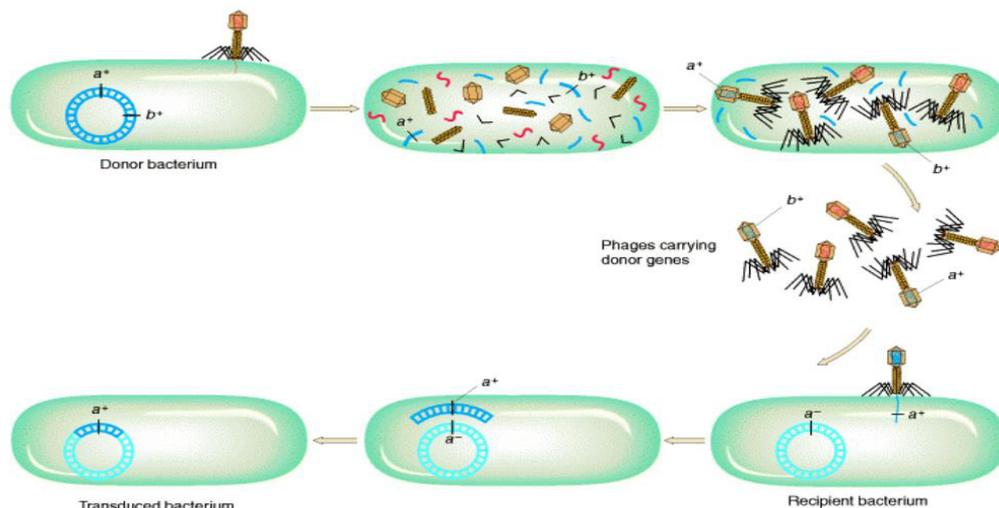
Les phages qui infectent les bactéries possèdent une nucléase qui fragmente le chromosome bactérien de leurs cellules hôtes. L'un des morceaux d'ADN peut être incorporé au hasard dans le phage transducteur.

4.3.2. La lyse cellulaire

La lyse cellulaire conduit à la libération de nouvelles particules virales qui peuvent contenir des gènes bactériens de la cellule détruite. Etant donné que l'ADN d'une particule bactériophagique est environ la 100^e partie de celui d'une bactérie, le nombre de marqueurs transductibles ne peut être que faible.

4.3.3. L'infection de la bactérie B (la transduction)

Les nouvelles particules virales peuvent à leur tour réinfecter ensuite d'autres cellules hôtes en leur transmettant le matériel génétique existant dans leurs capsides qui donne dans la nouvelle bactérie après recombinaison génétique à une partie homologe de son chromosome, une bactérie transduite (c'est la transduction). Les propriétés qui peuvent être transduites sont nombreuses : pouvoir de fermenter les sucres, résistance aux antibiotiques, synthèse d'un antigène, etc.



e 10 : Les étapes de la transduction.

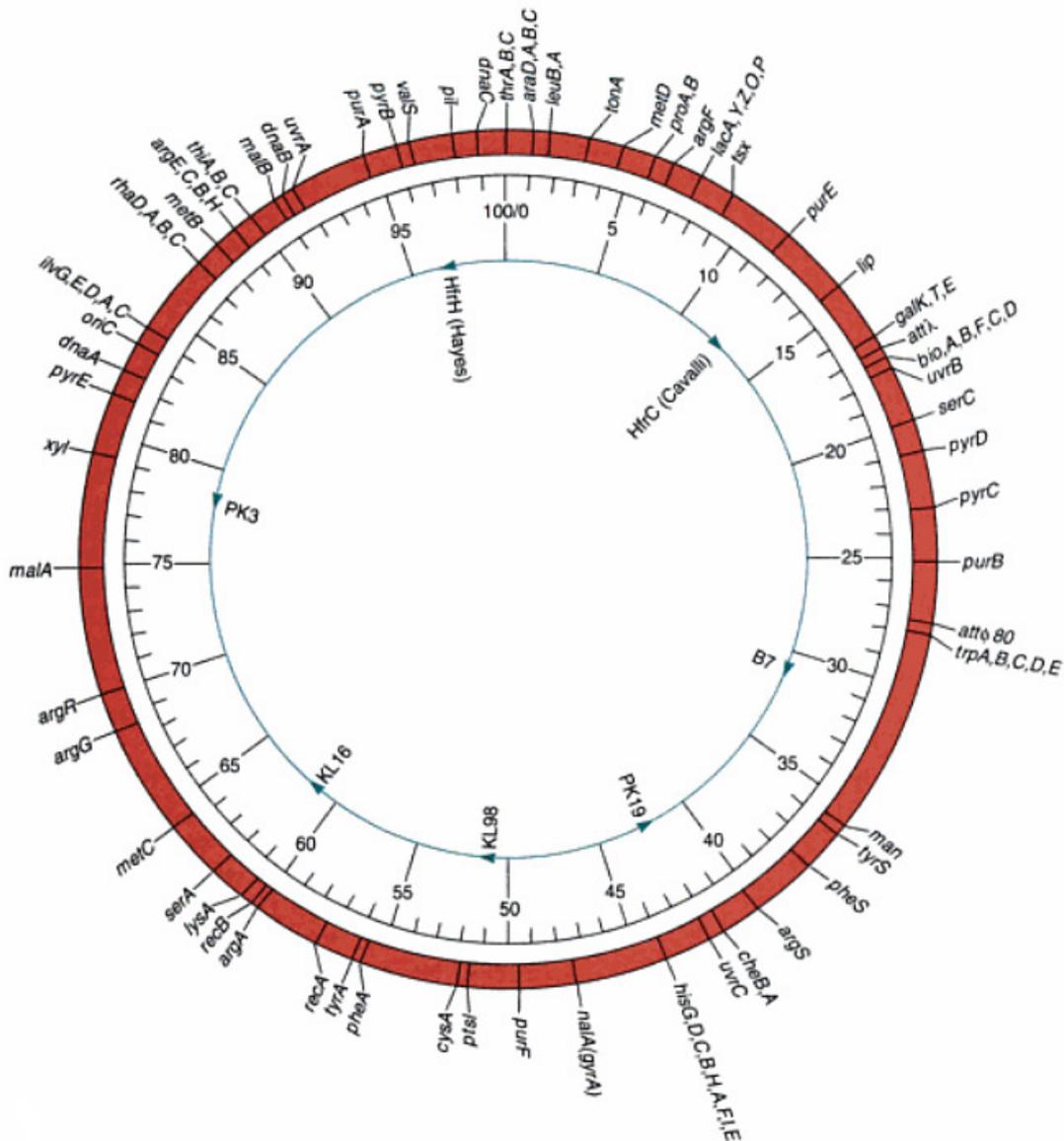
5. Carte génétique

C'est la description de la forme et de la position des gènes et des chromosomes dans l'espace. Avant de savoir quelle est la fonction d'un gène et comment les produits de plusieurs gènes pouvaient interagir dans la réalisation d'un phénomène, le généticien s'est préoccupé de localiser ces gènes afin d'obtenir une vision cartographique du génome de l'espèce étudiée (fig.11). La localisation des gènes dans les génomes de n'importe quel organisme est une tâche très complexe.

Les trois modes de transfert et de recombinaison ont servi pour cette cartographie.

- La conjugaison Hfr est fréquemment utilisée pour déterminer la localisation relative de gènes bactériens. Cette technique découle du fait que durant la conjugaison le chromosome linéaire passe d'un donneur à un receveur avec une vitesse constante. Dans une expérience de **croisement interrompu** (fig.12), le canal de conjugaison est brisé et le croisement Hfr×F⁻ est arrêté à intervalles réguliers après le début de conjugaison en soumettant la culture à une agitation rigoureuse dans un mixeur. L'ordre et la chronologie du transfert de gènes peut être déterminée parce qu'ils reflètent l'ordre des gènes dans le chromosome bactérien.
- La proximité des gènes peut également être déterminée par transformation en mesurant la fréquence avec laquelle deux ou plusieurs gènes transforment simultanément une cellule receveuse. Si deux gènes sont rapprochés sur un chromosome, ils doivent être capables de cotransformer. Plus les gènes sont rapprochés, plus fréquemment ils seront portés sur un même fragment et la fréquence de cotransformation sera accrue. Si les gènes sont très distants l'un de l'autre, ils seront portés par des fragments d'ADN distincts et la fréquence d'une double transformation sera égale au produit des fréquences de transformation individuelle.
- La transduction généralisée permet d'obtenir des informations sur l'ordre des gènes de la même manière que la transformation. Les liaisons génétiques sont exprimées en fréquences de cotransduction. En effet lorsque 2 gènes sont rapprochés, les chances augmentent de les retrouver sur le même fragment d'ADN incorporé dans une même capsid de phage.

- La transduction spécialisée est employée pour trouver quel site d'attachement du phage est proche d'un gène spécifique, ce qui permet de localiser avec précision les gènes sur chromosome.



La carte génétique circulaire d'*E. coli* K 12 avec la localisation de gènes choisis. Le cercle interne montre l'origine et la direction de transfert de plusieurs souches Hfr. La carte est divisée en 100 minutes, temps requis pour le transfert du chromosome d'une cellule Hfr à une cellule F⁻, à 37°C.

Figure 11 : La carte génétique d'*E. coli*.

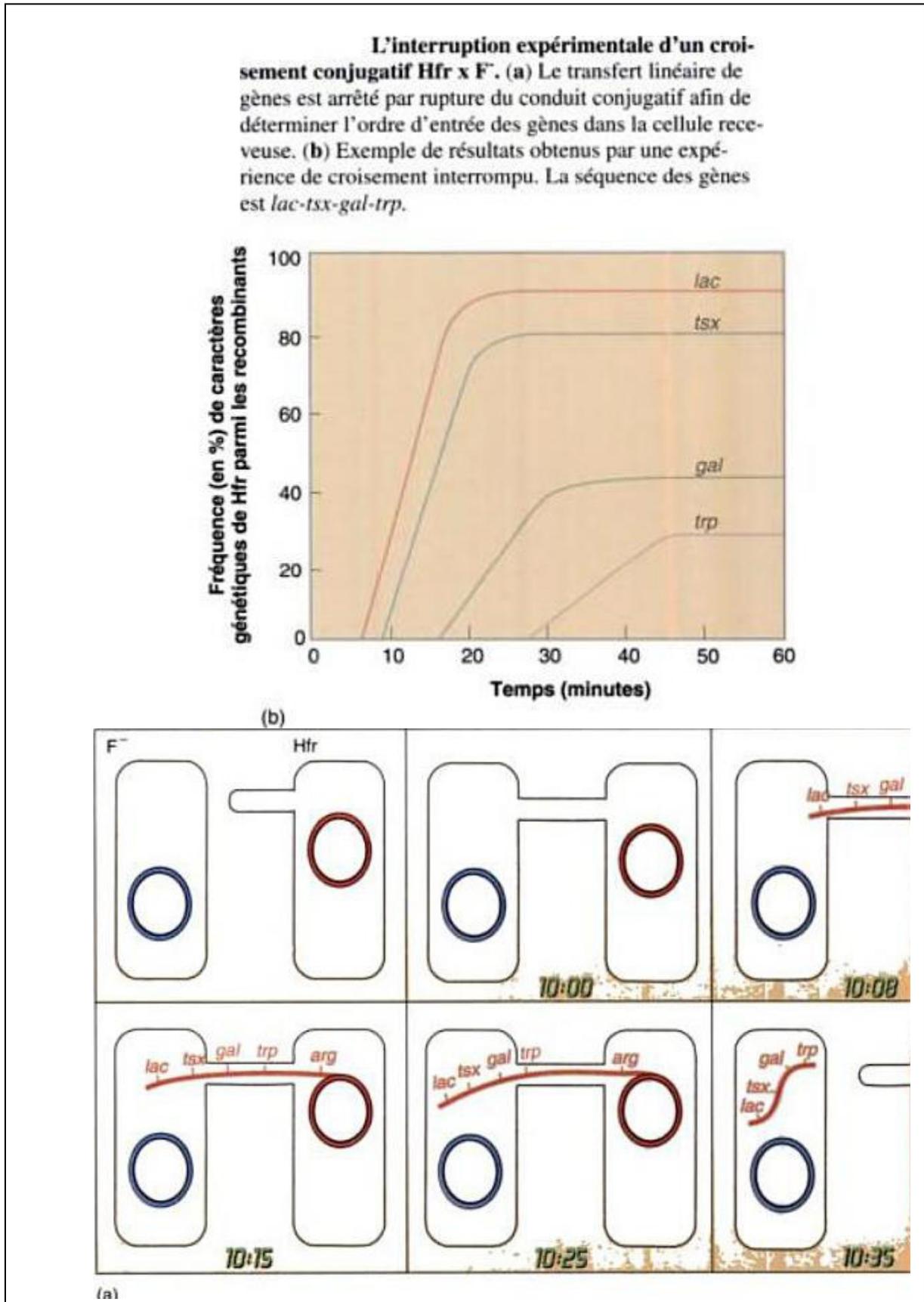


Figure 12: l'expérience de conjugaison interrompue.

Chapitre 3 :
Biosynthèse des protéines

La grande majorité des gènes portent l'information permettant la synthèse des molécules de protéines et ce sont les copies d'ARN de ces gènes codant des protéines qui constituent les molécules d'**ARNm**. Au cours de la synthèse d'ARN, le langage à quatre bases de l'ADN contenant A, G, C, et T est simplement copié ou **transcrit** dans le langage à quatre bases de l'ARN qui est identique à l'exception de T qui est remplacé par U.

Au cours de la synthèse protéique, le langage à quatre bases de l'ARN est **traduit** dans le langage des protéines, qui comporte 20 acides aminés.

Chez les procaryotes il n'y a qu'une seule ARN polymérase qui transcrit tous les gènes et il y a un couplage transcription-traduction (fig. 13).

1. Mécanisme de la transcription

Chez les procaryotes, il n'existe qu'une seule ARN polymérase formée de 5 sous unités ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$). Chaque sous unité a un travail spécifique à effectuer au cours de la transcription. Le rôle du facteur σ est de reconnaître une séquence spécifique de l'ADN appelée **promoteur** qui se situe en amont du gène à transcrire. Les promoteurs d'*E. coli* contiennent 2 régions importantes. L'une d'elles, centrée au voisinage du nucléotide -10, a habituellement la séquence TATATT. Cette séquence est appelée boîte -10 (ou boîte Pribnow). La seconde, c'est la boîte -35 centrée au voisinage du nucléotide -35, présente la séquence TTGACA (fig. 14).

1.1. Initiation

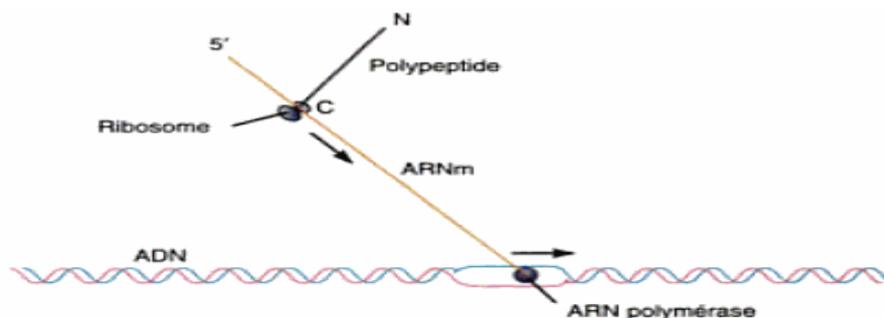
Grâce à sa fixation sur la séquence du promoteur, le facteur σ amène les autres sous unités de l'ARN polymérase au contact de l'ADN à transcrire. Pour que la transcription commence, les deux brins doivent être séparés, ce qui permettra à l'un d'eux (le brin codant 3'→5') de se comporter en matrice pour la synthèse d'une molécule d'ARN. La séparation des deux brins est facilitée par la séquence riche en AT de la boîte -10. La chaîne d'ARN progresse dans le sens 5' → 3'. Le premier nucléotide transcrit est généralement un nucléotide purique (A ou G).

1.2. Elongation

Lorsque la chaîne atteint une longueur de 10 nucléotides environ, le facteur σ se détache de l'ARN polymérase et ne joue aucun rôle dans la transcription ; la sous unité β de l'ARN pol se fixe aux nucléotides qu'elle unit en catalysant la formation de liaison phosphodiester au fur et à mesure qu'elle avance sur la matrice d'ADN. La sous unité β' contribue à maintenir l'ARN pol fixée à l'ADN. L'élongation de la chaîne de l'ARNm est de 30 à 60 nucléotides/seconde.

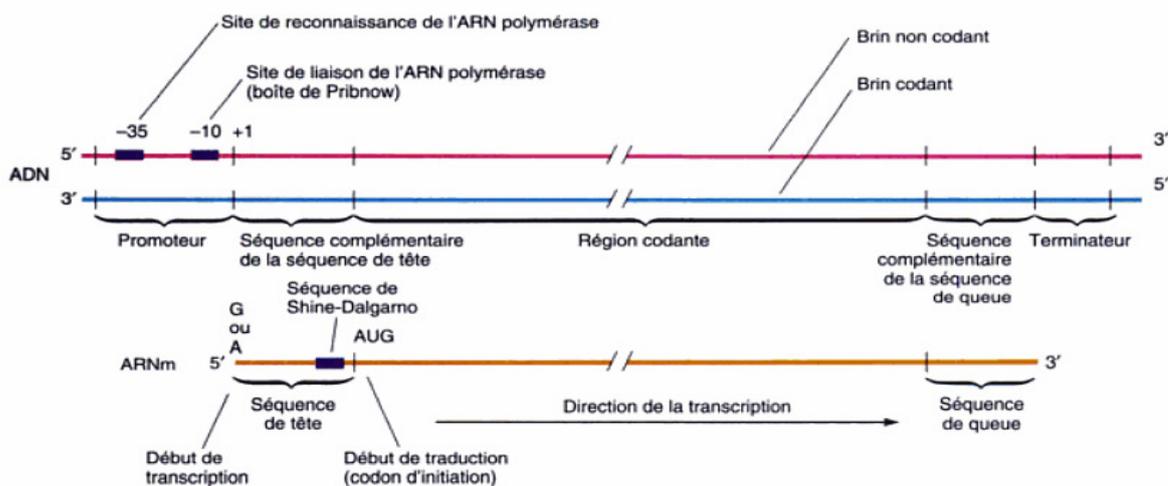
1.3. Terminaison

Il existe des séquences spécifiques, appelés séquences de terminaison, à l'extrémité des gènes qui font que l'ARN pol cesse de transcrire l'ADN. La séquence de terminaison est constituée de deux régions riches en G et C séparés de 10 pb environ. Cette séquence est suivie d'un segment constitué de bases A. lorsque les régions riches en GC sont transcrites, une boucle en épingle à cheveux se forme entre la première et la seconde région riches en GC alignées et appariées. La formation de cette structure au sein de l'ARN fait que l'ADN matrice ne peut pas se lier à la molécule d'ARN donc il se reconnecte à son brin d'ADN frère. La molécule d'ARN est ensuite libérée, la transcription se termine et la double hélice se reforme.



La transcription et la traduction couplées chez les bactéries. L'ARNm est synthétisé de 5' à 3' par l'ARN polymérase tandis que les ribosomes sont attachés à l'extrémité 5' nouvellement formée de l'ARNm et traduisent le message avant même qu'il ne soit terminé. Les polypeptides sont synthétisés dans la direction de l'extrémité N terminale vers l'extrémité C terminale.

Figure 13 : le couplage de transcription-traduction.



L'organisation d'un gène de structure bactérien. Les séquences de tête et de pause sont incluses même si certains gènes sont dépourvus de l'une d'entre elles ou des deux. La transcription démarre à la position +1 de l'ADN et le premier nucléotide incorporé dans l'ARNm est habituellement GTP ou ATP. La traduction de l'ARNm débute par un codon d'initiation AUG. Les sites de régulation ne sont pas indiqués.

Figure 14 : l'organisation d'un gène et de l'ARNm bactériens.

2. Mécanisme de la traduction

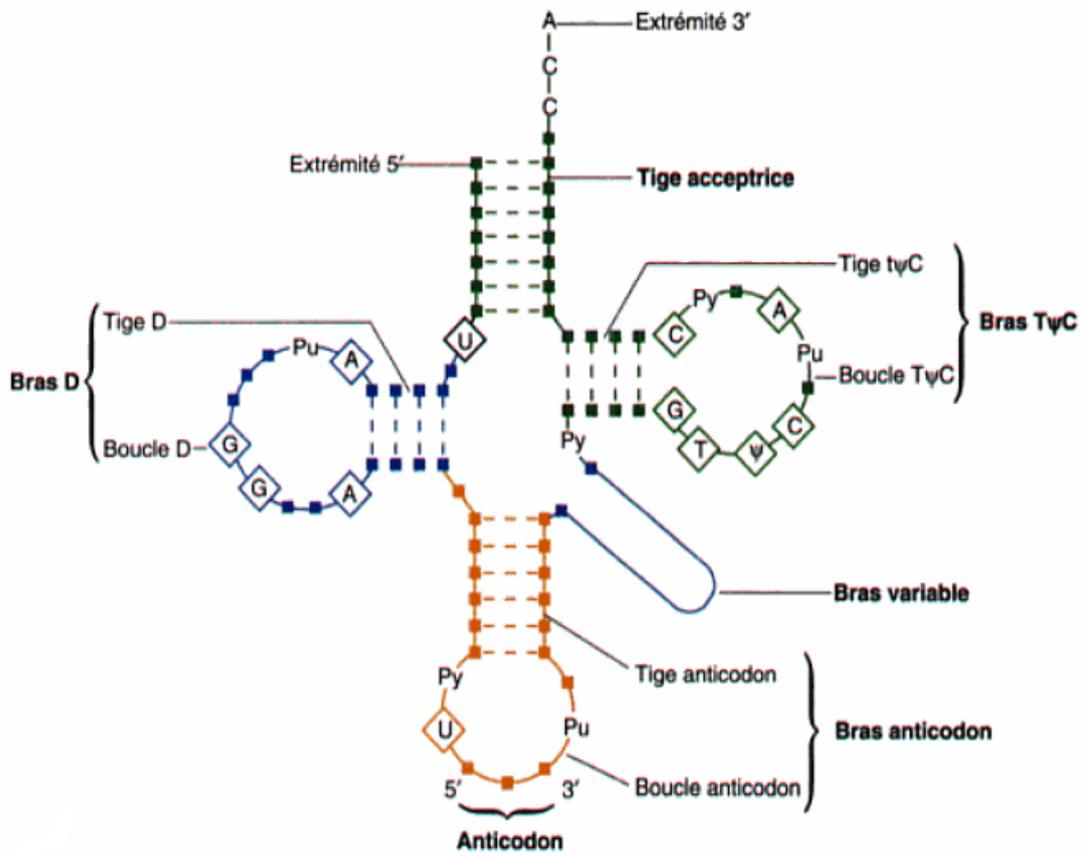
L'étape finale dans l'expression des gènes est la synthèse des protéines. La synthèse protéique est très complexe nécessitant trois types d'ARN. L'ARN messager (**ARNm**) contient le code et joue le rôle de matrice pour la synthèse des protéines. Les ARN de transfert (**ARNt**) sont des molécules d'adaptation qui transportent les aminoacides vers l'ARNm. Les ARN ribosomiques (**ARNr**) forment la partie du **ribosome** qui réunit tous les constituants nécessaires à la synthèse des protéines.

2.1. Synthèse d'un aminoacyl-ARNt

Les aminoacides ne sont incorporés directement dans la protéine sur une matrice d'ARNm. Un aminoacide est apporté à la chaîne d'ARNm par une molécule d'ARNt, relativement plus petits, constitués d'environ 73 à 95 nucléotides de long, sont repliés en des structures tridimensionnelles précises en raison des liaisons hydrogène qui s'établissent entre les bases d'une région particulière de la molécule. La structure de l'ARNt devient évidente lorsque la chaîne se replie de manière à obtenir le plus grand nombre d'appariement de bases, il en résulte une conformation en feuille de trèfle avec cinq bras ou boucles (fig. 15).

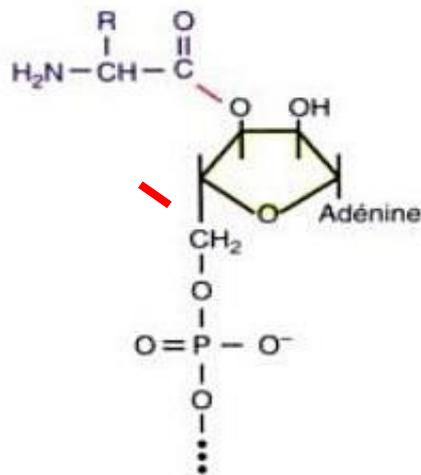
La tige acceptrice fixe l'acide aminé activé par son extrémité 3'. L'extrémité 3' de tous les ARNt a la même séquence CCA. L'acide aminé se lie à l'acide adénylique terminal. A l'autre extrémité du trèfle se trouve le bras anticodon qui contient le **triplet anticodon** complémentaire du **triplet codon** de l'ARNm. Il y a deux autres grands bras : le bras D ou DHU possède la dihydrouridine, un nucléoside pyrimidique inhabituel et le bras T ou TΨC qui contient la ribothymidine (T) et la pseudothymidine (Ψ), toutes deux uniques aux ARNt. Finalement le trèfle a un bras variable dont la longueur dépend de la longueur totale de l'ARNt ; les autres bras ont une taille relativement constante.

Les acides aminés sont activés pour la synthèse des protéines par une réaction catalysée par des **aminoacyl-ARNt synthétases**. L'acide aminé est lié à l'extrémité 3'hydroxyle de l'acide adénylique sur l'ARNt par une liaison riche en énergie (fig. 16) puis est rapidement transféré à l'extrémité d'une chaîne peptidique en croissance. Il existe au moins 20 aminoacyl-ARNt synthétases, chacune est rigoureusement spécifique d'un acide aminé et des ARNt (ARNt correspondants) auxquels il doit être correctement lié.



La structure de l'ARNt. La structure en trèfle de l'ARNt chez les procaryotes et les eucaryotes. Les bases présentes dans tous les ARNt sont encadrées ; les positions des purines et des pyrimidines présentes dans tous les ARNt sont indiquées respectivement par *Pu* et *Py*.

figure 15 : la structure de l'ARNt.



L' aminoacyl-ARNt. L'acide aminé activé est lié à l'extrémité 3' hydroxyle de l'acide adénylique par une liaison riche en énergie (en rouge).

Figure 16 : la structure de l' aminoacyl-ARNt.

2.2. Structure et fonction du ribosome

La synthèse des protéines proprement dite a lieu sur le ribosome. Les ribosomes procaryotes ont une vitesse de sédimentation de 70S et une masse de 2,8 millions de dalton.

Le ribosome procaryote est un organite extrêmement complexe constitué de deux sous-unités 30S et 50S (fig. 17). Chaque sous-unité est construite à partir d'une ou deux molécules d'ARNr et d'un grand nombre de polypeptides.

L'ARN ribosomal a deux rôles. Il contribue évidemment à la structure du ribosome. Les ARNr 16S des sous-unités 30S peuvent aussi aider à l'initiation de la synthèse des protéines chez les procaryotes. Il semble que l'extrémité 3' de l'ARNr 16S s'attache à l'ARN messager à un site signal et aide l'ARNm à se positionner sur le ribosome.

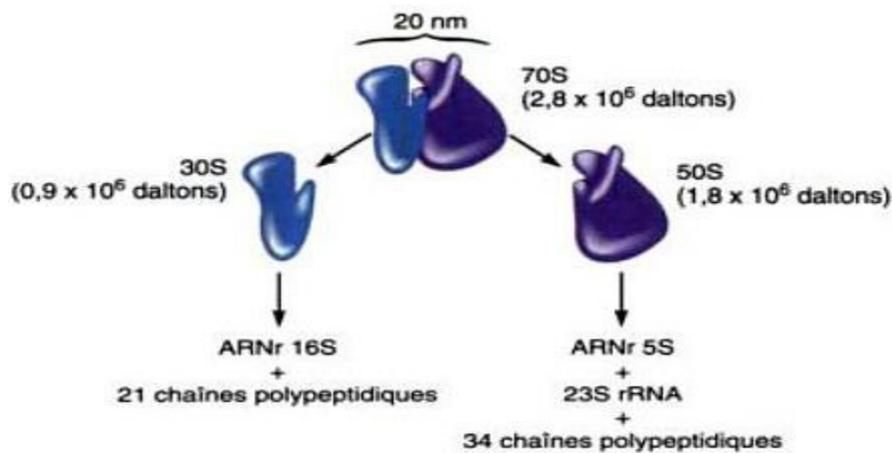


Figure 17 : Le ribosome 70S. La structure du ribosome procaryote.

2.3. Initiation de la traduction

Lors du stade d'initiation, la plupart des bactéries commencent la synthèse des protéines avec un aminoacyl-ARNt particulier, le N-formylméthionyl-ARNt^{fMet} qui se lie d'abord à la sous-unité libre 30S. Ensuite, l'ARNm se lie à la sous-unité 30S et se positionne correctement par des interactions à la fois avec l'extrémité 3' de l'ARNr 16S et avec et avec l'anticodon du fMet-ARNt. L'ARNm a un code initiateur particulier AUG ou GUG qui se lie spécifiquement à l'anticodon du fMet-ARNt. Finalement, la sous-unité 50S s'attache au complexe ribosome actif-ARNm.

Chez les procaryotes, trois **facteurs d'initiation** de la synthèse des protéines sont nécessaires. Le facteur d'initiation 3 (IF3) empêche la liaison de la sous-unité 30S à la sous-unité 50S et

favorise la liaison correcte de l'ARN à la sous unité 30S. IF2, le second facteur d'initiation, lie le GTP au fMet et dirige la liaison du fMet-ARNt à la sous unité 30S. le troisième facteur d'initiation IF1, semble nécessaire à la libération du IF2 et du GDP du ribosome et facilite la liaison de la sous unité 50S à la sous unité 30S (fig. 18).

2.4. Elongation

L'addition de chaque acide aminé à une chaîne polypeptidique en croissance est le résultat d'un cycle d'élongation constitué de 3 étapes : la liaison de l'aminacyl-ARNt, la réaction de transpeptidation et la translocation. Ce processus est assisté par des protéines particulières, les facteurs d'élongation (EF) (fig. 19).

La première phase du cycle d'élongation est la phase de liaison de l'aminacyl-ARNt correspondant au codon sur le **site A (site aminacyl ou site accepteur)**. Le GTP et le facteur d'élongation EF-Tu qui apporte l'aminacyl-ARNt au ribosome sont indispensables à cette insertion.

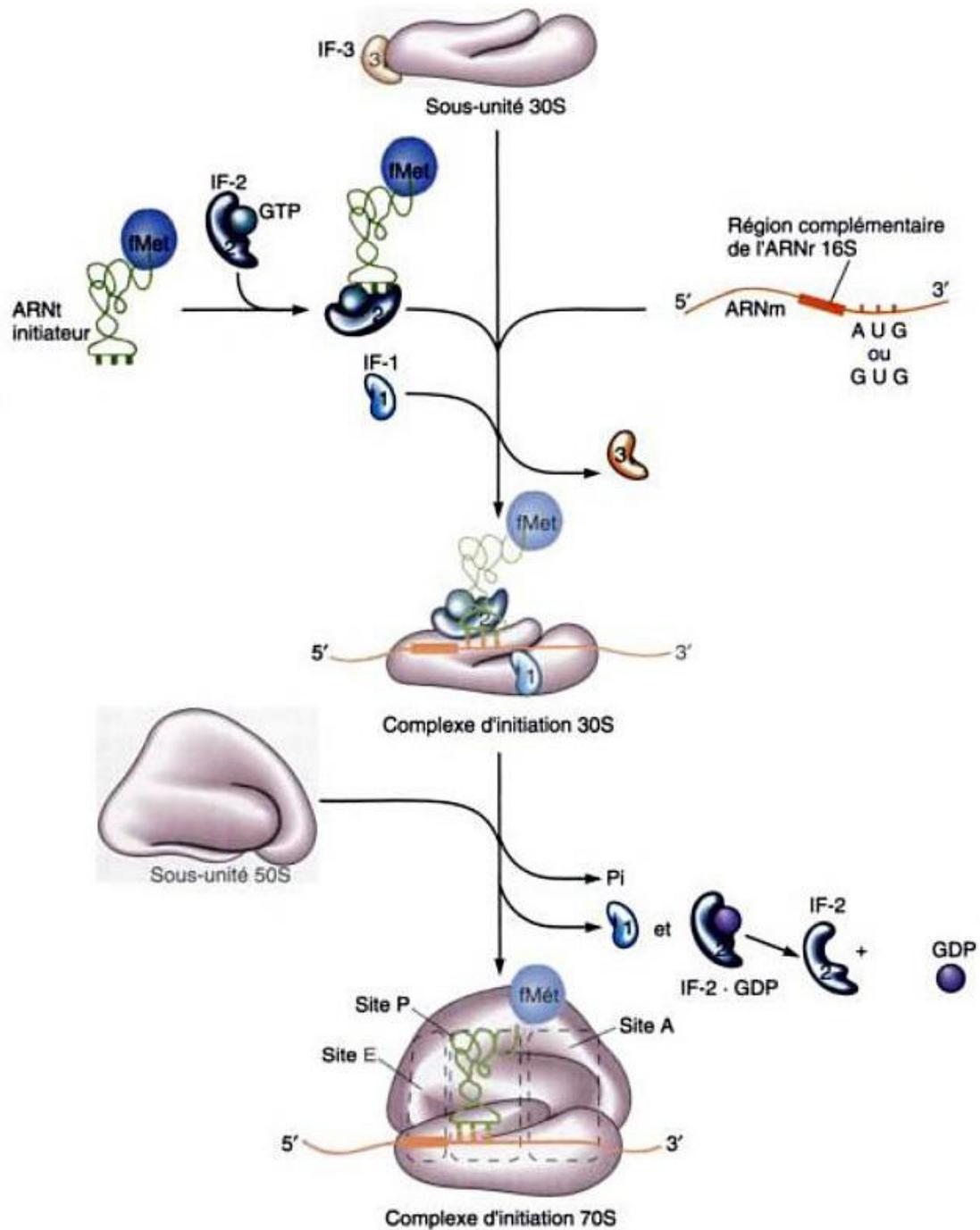
La liaison de l'aminacyl-ARNt au site A initie la seconde phase du cycle d'élongation, la **réaction de transpeptidation** (fig. 20). Cette réaction est réalisée par la **peptidyl transférase**, située sur la sous unité 50S. Au cours de cette réaction, le groupement α carboxyle de l'acide aminé au site A réalise une attaque nucléophile du groupe α carboxyle de l'acide aminé en position C terminale et lié à l'ARNt du site P. la chaîne peptidique augmenté d'un acide aminé est transférée sur l'ARNt du site A.

La phase finale du cycle d'élongation est la **translocation**. Trois actions ont lieu en même temps : (1) le peptidyl -ARNt se déplace du site A vers le site P ; (2) le ribosome se déplace d'un codon le long de l'ARNm de sorte qu'un nouveau codon se situe sur le site A ; et l'ARNt déchargé de son aminacyl quitte le site P. ce processus compliqué nécessite la participation d'une protéine EF-G ou translocase, et l'hydrolyse de GTP.

2.5. Terminaison

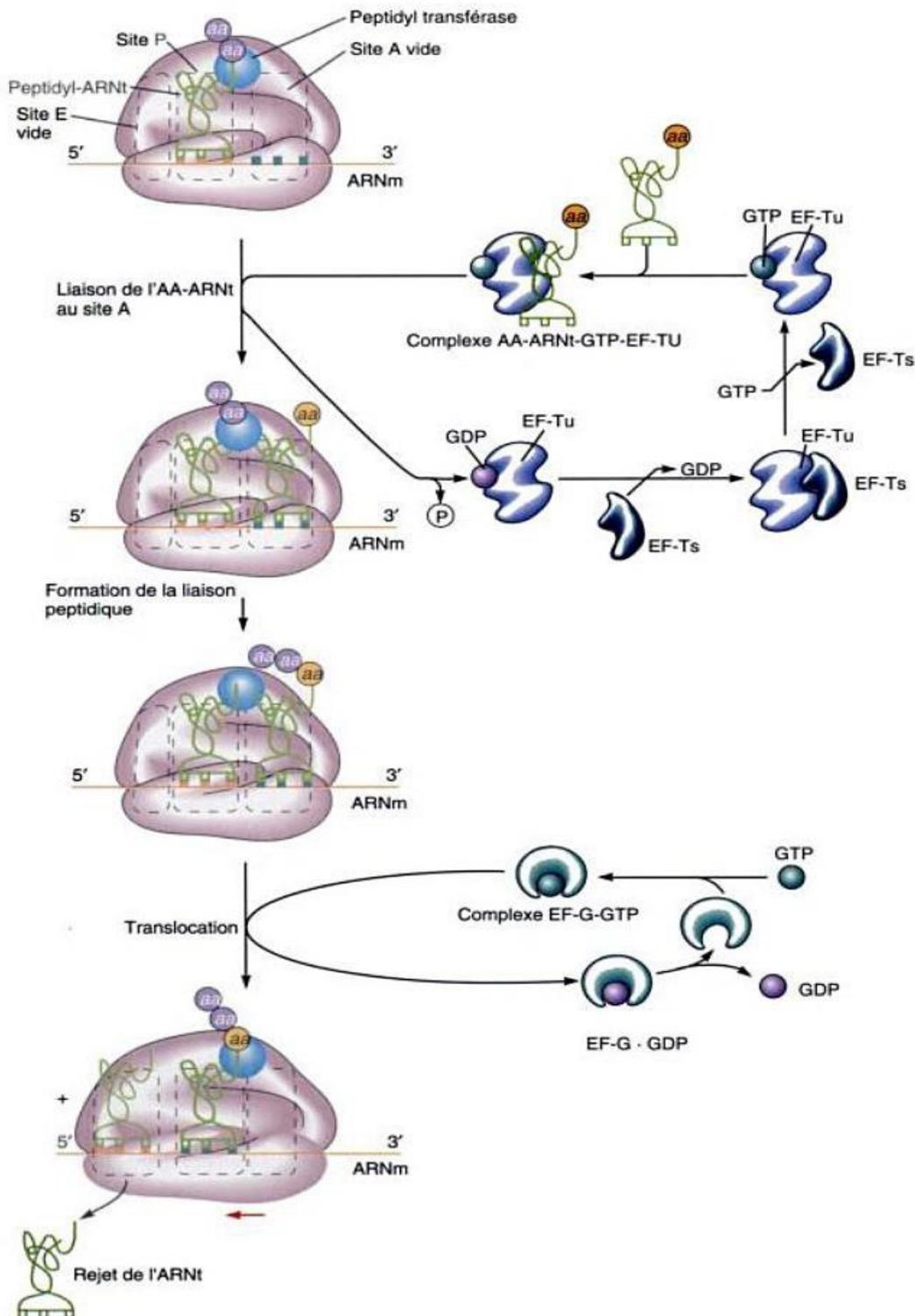
La synthèse protéique s'arrête lorsque le ribosome atteint l'un des trois **codons de terminaison** : UAA, UAG et UGA (fig. 21). Trois **facteurs de relargage (RF-1, RF-2 et RF-3)** aident le ribosome à reconnaître ces codons. Après l'arrêt du ribosome, la peptidyl transférase sépare le peptide de son ARNt et l'ARNt est libéré.

Lorsqu'un polypeptide est en voie de quitter le ribosome, il se replie spontanément dans sa conformation finale.



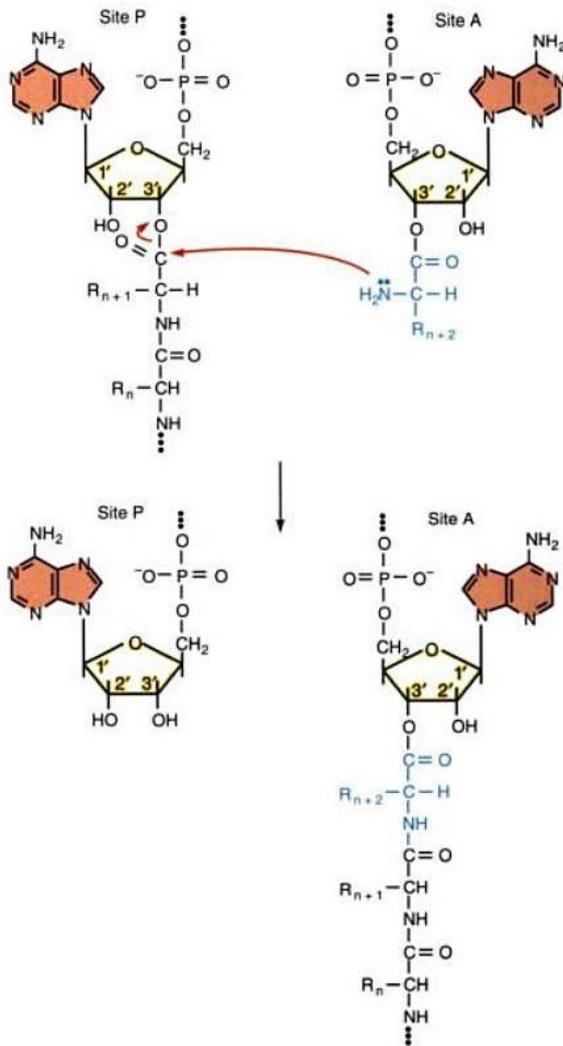
L'initiation de la synthèse des protéines chez les procaryotes. Les abréviations suivantes sont utilisées : *IF-1*, *IF-2* et *IF-3* signifient facteurs d'initiation 1, 2 et 3 ; l'ARNt initiateur est le *N*-formylméthionyl-ARNt^{fMet}. La localisation des facteurs d'initiation sur le ribosome est montrée dans un but illustratif et ne représente pas le site réel de fixation du facteur d'initiation.

Figure 18 : l'initiation de la traduction.



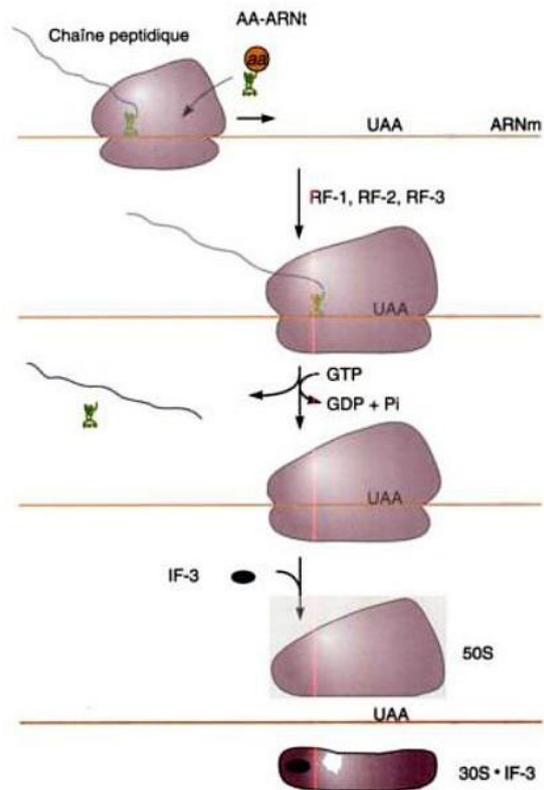
Le cycle d'élongation de la synthèse des protéines. Le ribosome possède trois sites, un site peptidyle ou site donneur (site P), un site aminoacyle ou site accepteur (site A) et un site de sortie (site E). La flèche sous le ribosome à l'étape de translocation montre la direction du mouvement de l'ARNm.

Figure 19 : l'élongation de la traduction.



La transpeptidation. La réaction de la peptidyl transférase. Le peptide s'allonge d'un acide aminé et est transféré au site A.

Figure 20 : la réaction de transpeptidation traduction.



La terminaison de la synthèse des protéines chez les procaryotes. Bien que trois codons de terminaison différents puissent arrêter l'élongation de la chaîne, l'UAA est le plus souvent utilisé à cet effet. Trois facteurs de relargage (RF) aident le ribosome à reconnaître les codons de terminaison et à mettre fin à la traduction. L'hydrolyse du GTP est probablement impliquée dans la terminaison.

Figure 21 : la terminaison de la

Chapitre 4 :
Régulation de l'expression
génique

Chez les bactéries et la plupart des organismes unicellulaires, l'expression des gènes est fortement régulée afin que la cellule puisse ajuster sa machinerie enzymatique et ses composants structuraux aux changements nutritionnels et physiques de son environnement. Par conséquent en temps normal, une cellule bactérienne synthétise à tout moment uniquement les protéines nécessaires à sa survie dans des conditions particulières, parmi celles de l'ensemble de son protéome. Chez les microorganismes, la régulation de la synthèse protéique est très efficace. Le contrôle de l'expression des gènes peut se réaliser à tous les niveaux entre le gène et la protéine : activation ou modification de la structure du gène, transcription, maturation de l'ARNm primaire, traduction et stabilisation de certains types d'ARNm.

1. Définition et concept de l'opéron

Chez les organismes procaryotes, il existe des unités de contrôle de la transcription correspondant aux opérons.

Un **opéron** contient une série de gènes de structure, apparentés (1 à 10) qui codent chacun pour un peptide et elle est transcrite sous forme d'une même molécule d'ARNm appelé **ARNm polycistronique** (fig. 22). La traduction de l'ARN messager produit les protéines requises parce qu'il y a plusieurs codons d'initiation et de terminaison de la synthèse des protéines tout au long de l'ARNm. Chaque promoteur bactérien contrôle habituellement la transcription d'un groupe de gènes codant pour des protéines qui participent ensemble à une tâche particulière.

La régulation d'un opéron met généralement en œuvre un gène opérateur et un gène régulateur (fig. 23).

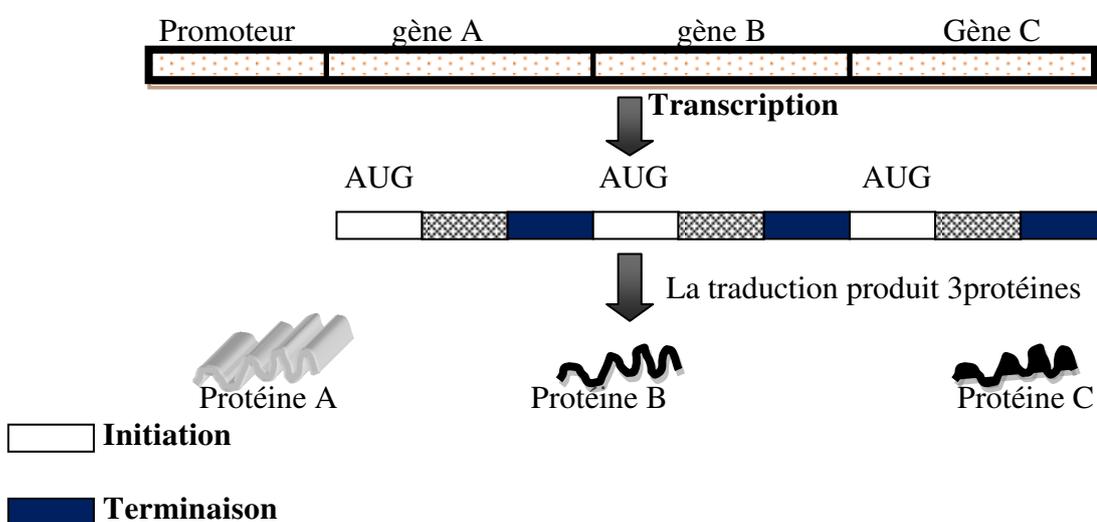


Figure 22 : un opéron bactérien transcrit en ARNm polycistronique.

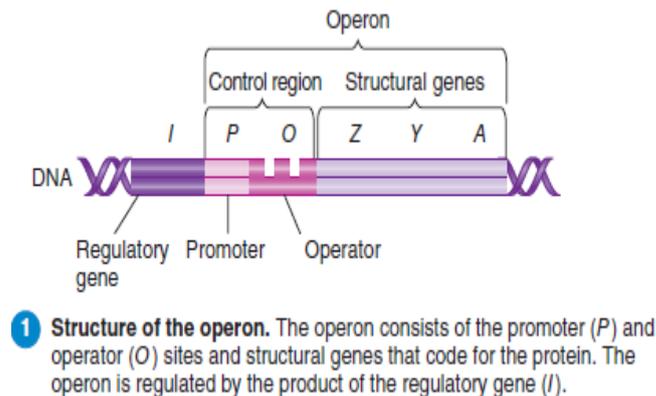


Figure 23 : la structure de l'opéron.

2. Les opérons inductibles: Opéron lactose

L'opéron lactose (fig. 24), contient trois gènes appelés *lac z*, *lac y* et *lac a*. la β -galactosidase est codée par le gène *lac z*, *lac y* la β -galactosidase perméase, transporteur qui contribue à la pénétration du lactose dans la cellule et le gène *lac a* qui code pour la transacétylase.

En l'absence de β -galactosides tels que le lactose, il n'est pas nécessaire que *E. coli* produise de la β -galactosidase ou de perméase. L'opéron lactose est dit **inductible** parce que la transcription est induite par la présence d'un substrat β -galactoside est présent.

Le répresseur, le produit du gène *lac i*, se lie à une séquence de l'opéron lactose appelé opérateur. L'opérateur se situe près du promoteur de telle façon que lorsque le répresseur se fixe, l'ARN polymérase est incapable de se lier au promoteur.

Lorsque le lactose apparait dans le milieu, il est convertit en glucose et en galactose par β -galactosidase. Le répresseur possède un site de fixation pour le lactose, cela se traduit par le fait que le répresseur n'est plus capable de se lier à l'opérateur. La voie est alors libre pour que l'ARN polymérase au promoteur et transcrive l'opéron ainsi les bactéries produisent les protéines nécessaires.

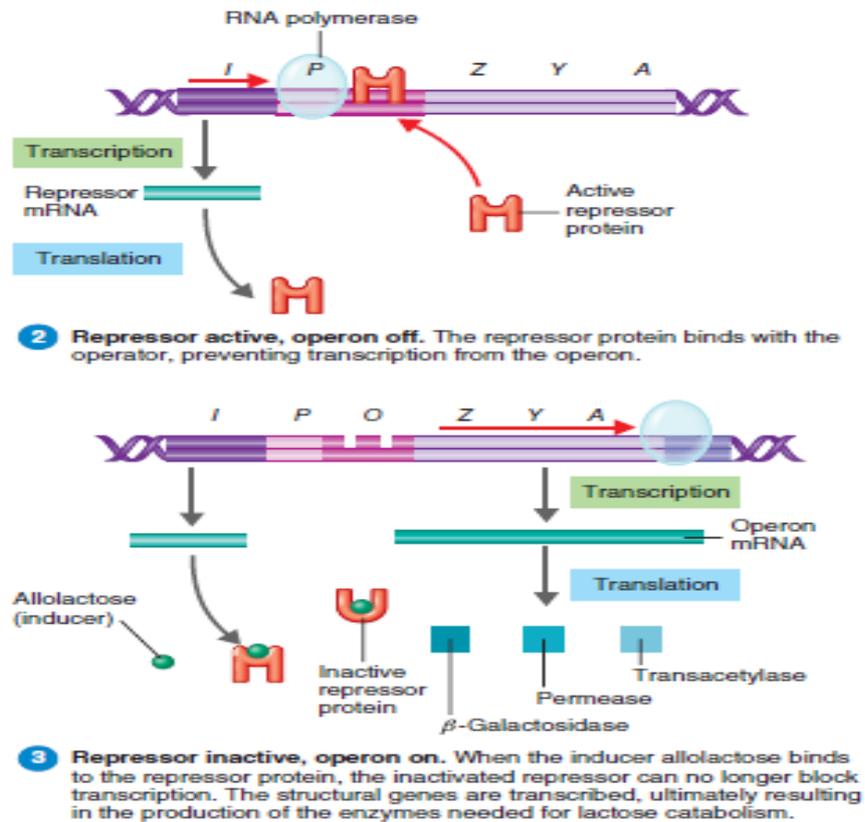


Figure 24 : l'opéron inductible.

3. Les opérons répressibles: Opéron tryptophane

Les opérons qui codent pour les protéines susceptibles de synthétiser les aminoacides sont régulés différemment de l'opéron lactose. Ils ne sont transcrits que lorsque l'acide aminé est absent et la transcription est arrêtée lorsqu'il y a suffisamment d'acide aminé dans la cellule. Ainsi la cellule contrôle étroitement la concentration des aminoacides libres.

L'opéron tryptophane (**trp**) est constitué de 5 gènes de structure qui codent pour des enzymes de synthèse l'acide aminé tryptophane (fig. 25). C'est un **opéron répressible**. La cellule régule la quantité de tryptophane produite en empêchant la transcription de l'ARNm de l'opéron **trp** lorsqu'il y a suffisamment de tryptophane dans le milieu. Comme pour l'opéron lactose, la transcription de l'opéron tryptophane est contrôlée par une protéine régulatrice. Le gène *trpR* code pour une **protéine répresseur inactive** appelé **aporépresseur**. Le **tryptophane** si présent se lie à elle pour produire un complexe répresseur actif et il est alors appelé **corépresseur**. Le complexe répresseur actif se lie à la séquence de l'opérateur de l'opéron tryptophane et empêche la fixation de l'ARN polymérase à la séquence du promoteur de l'opéron tryptophane. Par conséquent, lorsque la concentration du tryptophane dans la

cellule est élevée, le complexe répresseur actif se forme et la transcription de l'opéron tryptophane est empêchée. Cependant lorsque la quantité du tryptophane diminue, le complexe répresseur actif ne peut pas se former. L'ARN polymérase se lie au promoteur, la transcription de l'opéron tryptophane s'effectue et les enzymes nécessaires à la synthèse du tryptophane sont produites.

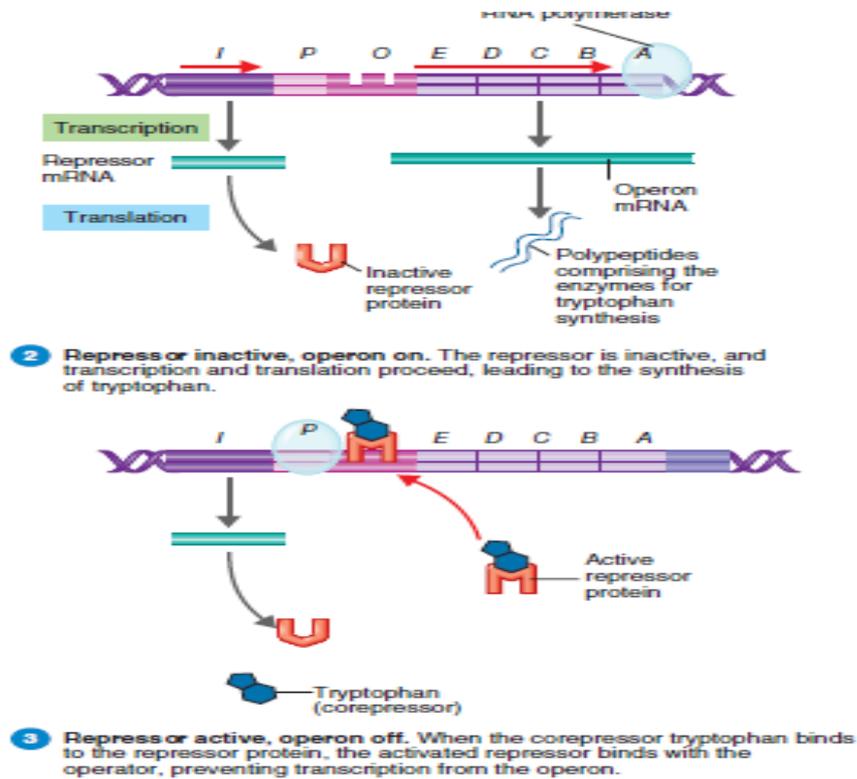
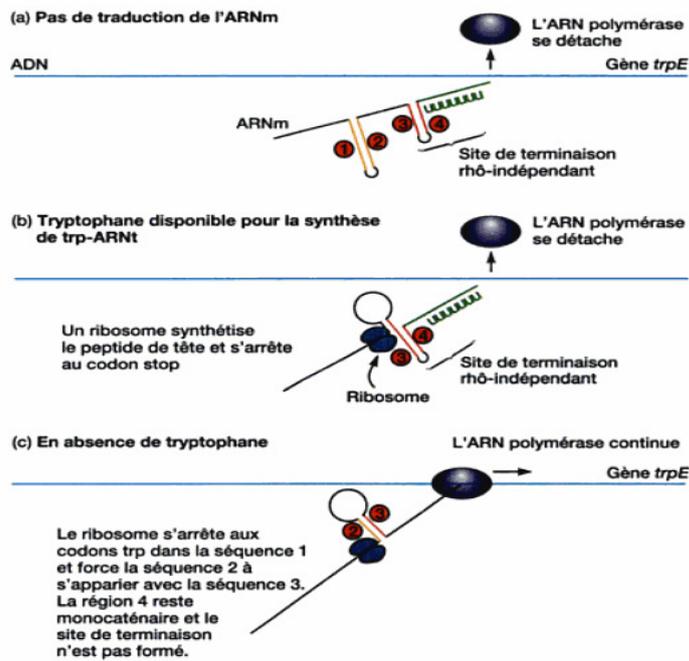
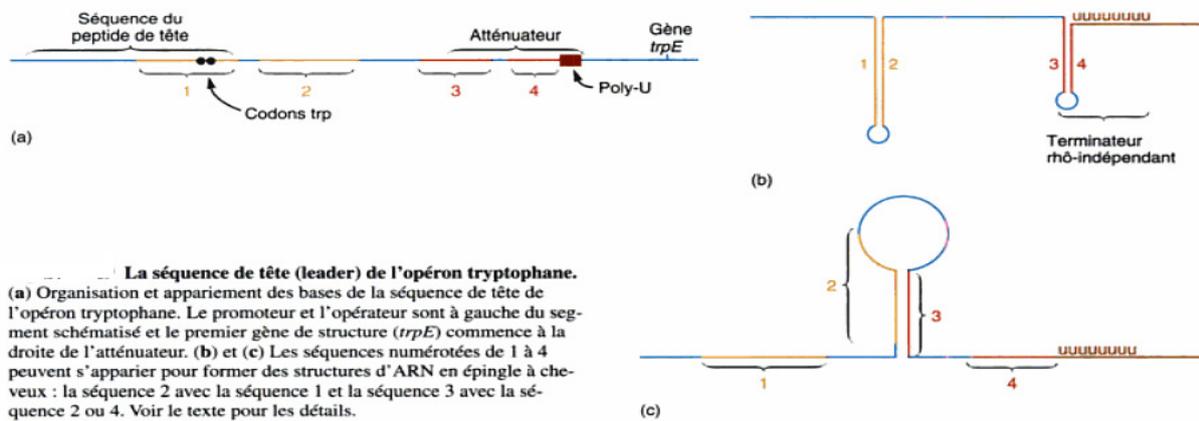


Figure 25 : l'opéron répressible.

4. Système modulateur d'expression: l'atténuation

Entre l'opérateur et le premier gène de structure de l'opéron, on observe une séquence de tête qui contrôle la continuation de la transcription après fixation de l'ARN polymérase sur le promoteur (fig. 26). La séquence de tête contient un **atténuateur**. Cette zone code pour un peptide dit « peptide leader » qui est riche en tryptophane. L'atténuateur est un site de terminaison contenant un petit segment riche en GC suivi d'une séquence de huit uridines. Les quatre régions (1, 2, 3 et 4) dans la figure 5 ont des séquences complémentaires et peuvent s'apparier entre elles pour former des épingles à cheveux. En présence de tryptophane, le ribosome effectuant la traduction empêche la formation de la structure non-terminateur et permet à celle de la structure terminateur : la transcription s'arrête ; En absence de tryptophane le ribosome se bloque au niveau des codons tryptophane d'ARNt-trp et permet

la formation de la structure non-terminateur : la transcription a lieu. Un tel système permet l'affinage de la régulation et vient intensifier le système de répression classique. Il existe aussi pour au moins 5 autres opérons : his (histidine), pheA (phénylalanine), leu (leucine), thr



Le contrôle par atténuation de l'opéron tryptophane.

(thréonine, isoleucine) et ilv (leucine, valine, isoleucine).

Figure 26 : le système d'atténuation.

5. Régulation par inversion de séquences d'ADN

Une régulation de ce type existe dans l'opéron arabinose d'*E.coli* qui contrôle 3 enzymes. L'opéron *ara* est constitué des gènes de structure *ara A*, *B* et *D* et d'un gène régulateur *ara C*. le gène *ara C* et le groupe de gène de structure sont transcrits de manière opposée à partir d'une région située entre les deux. Le produit Ara C peut prendre deux conformations : en présence d'arabinose, il est activateur du promoteur P_{ABD} alors qu'à son absence il est répresseur des deux promoteurs P_C et P_{ABD} (figure 6).

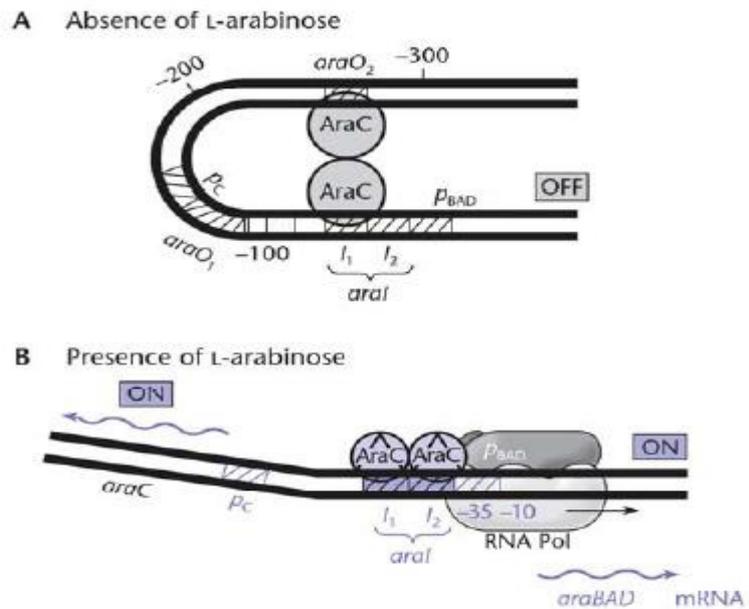


Figure 26 : Contrôle par atténuation de l'opéron

Figure 27 : Contrôle par inversion des séquences d'ADN.

Partie II :

LES

LEVURES

1. Rappels sur la biologie des levures

1.1. Généralités

- Les levures occupent une place prépondérante dans l'industrie alimentaire, elles participent à l'élaboration de nombreux produits (cidre, fromage, vin, bière), elles contribuent à la revalorisation des déchets agricoles et industriels et à la production de protéines. Cependant, elles jouent un rôle négatif en contaminant et en dégradant les aliments ; certaines sont pathogènes pour l'homme et l'animal.
- La levure est un mycète unicellulaire (fig. 28). La cellule ou **thalle**, a une taille très variable selon les espèces : de 1 à 10 μ m de large pour 2-3 ou 20-50 μ m de longueur.
- La cellule de la levure est limitée par une **paroi** rigide qui représente 20% de son poids sec. Son épaisseur varie de 150 à 230 nm. Par sa rigidité elle donne à la cellule sa forme caractéristique. Elle est constituée à 80% de polysaccharides antigéniques (mannanes, glucanes et chitine sont les représentants les plus importants) et de protéines (10 à 20%), dont près de la moitié sont des mannoprotéines (fig. 29).
- La membrane cytoplasmique est riche en stérols (en ergostérol et zymostérol). Elle est également constituée de protéines et de phospholipides (fig. 30).
- Le cytoplasme des levures est un hydrogel au pH voisin de 5, le cytoplasme contient de nombreux enzymes, notamment celles de la glycolyse et de la fermentation alcoolique, du glycogène et des organites équivalents à ceux des cellules eucaryotes : les ribosomes 80S ; le réticulum endoplasmique ; les mitochondries.
- Les levures possèdent un seul noyau très petit.

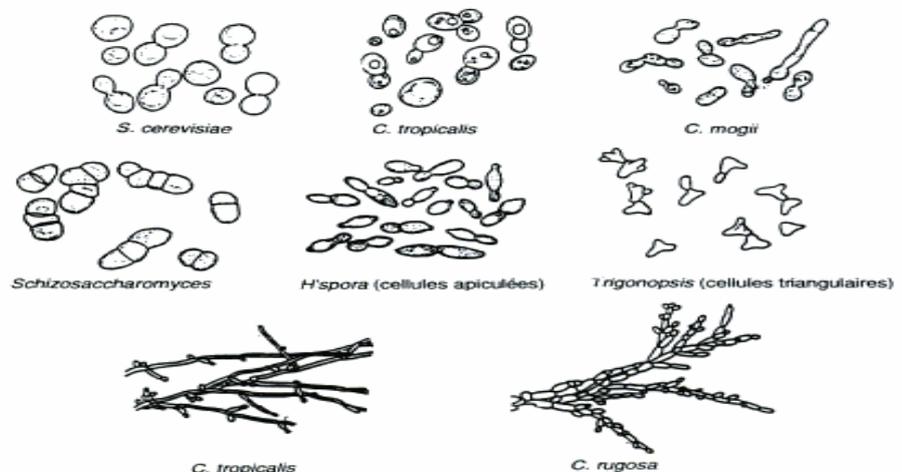


Figure28: Morphologie des levures. Thalles unicellulaires et mycélium.

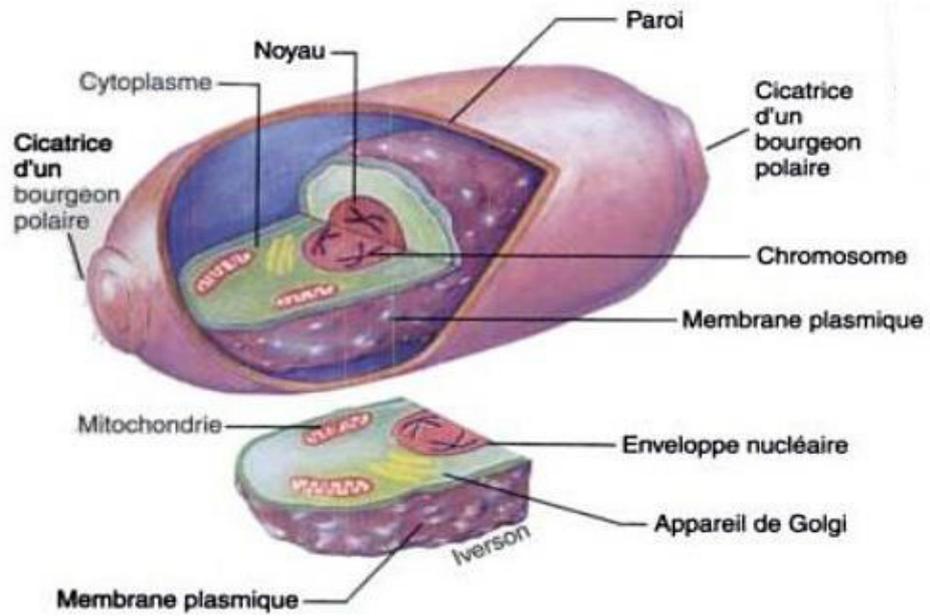
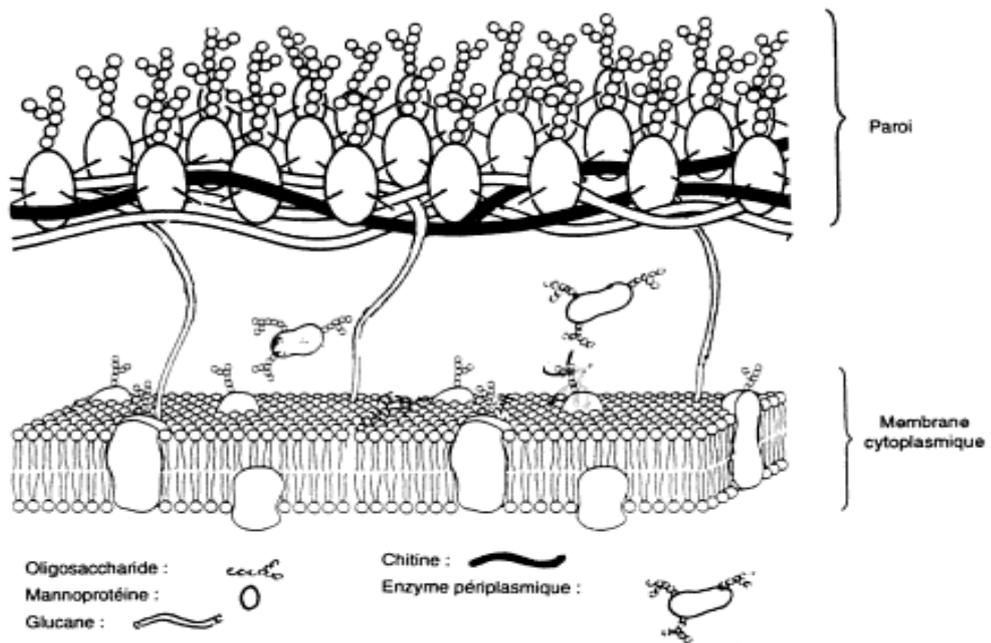


Figure 29 : la structure générale de la levure.



Structure membranaire des levures.

Figure 30 : structure des membranes.

1.2. Culture et nutrition

Les conditions de croissance de la levure et sa génétique sont simples, le temps de génération est court (90' en milieu riche). Les levures survivent à un large spectre de type environnementaux:

- Gamme de tolérance de température: de 0° à 55°C
- Température de prolifération: de 12° à 40°C
- Tolérance au pH: croissance possible à pH 2.8-8.
- Tolérance presque complète vis à vis de la dessiccation (levures sèches)
- Tolérance vis à vis de la pression osmotique: les levures peuvent pousser et fermenter des concentrations en sucre jusqu'à l'ordre de 3M.
- Tolérance alcoolique: jusqu'à 20% d'alcool.

Certains milieux peuvent aider à la mise en évidence de caractères culturels. Les milieux les plus utilisés sont :

- **YPD** (Yeast extract, Peptone, Dextrose): Un milieu riche où pratiquement toutes les cellules poussent. En général la source de carbone est le glucose, mais suivant les besoins il peut être remplacé par une autre source comme le galactose ou même le glycérol.
- **SD** (Synthetic, Dextrose): C'est un milieu minimum. Il y a des sels, des vitamines et une source de carbone, en général le glucose.

2. Le génome des levures

Chez *Saccharomyces cerevisiae*, le génome comprend 16 chromosomes de 230 kb à 1522 kb. La structure des chromosomes est semblable à celle des autres eucaryotes formés de nucléosomes constitués d'histones de type H₂A, H₂B, H₃ et H₄ (fig. 31). Les particules unitaires sont séparées par une zone d'ADN espaceur. Cette zone est constituée de 20 pb chez *Saccharomyces cerevisiae* et plus grande chez les eucaryotes supérieurs (40 à 60pb). Les Histones de condensation H1 sont absentes. Un plasmide 2μ est présent en 60 copies par/noyau.

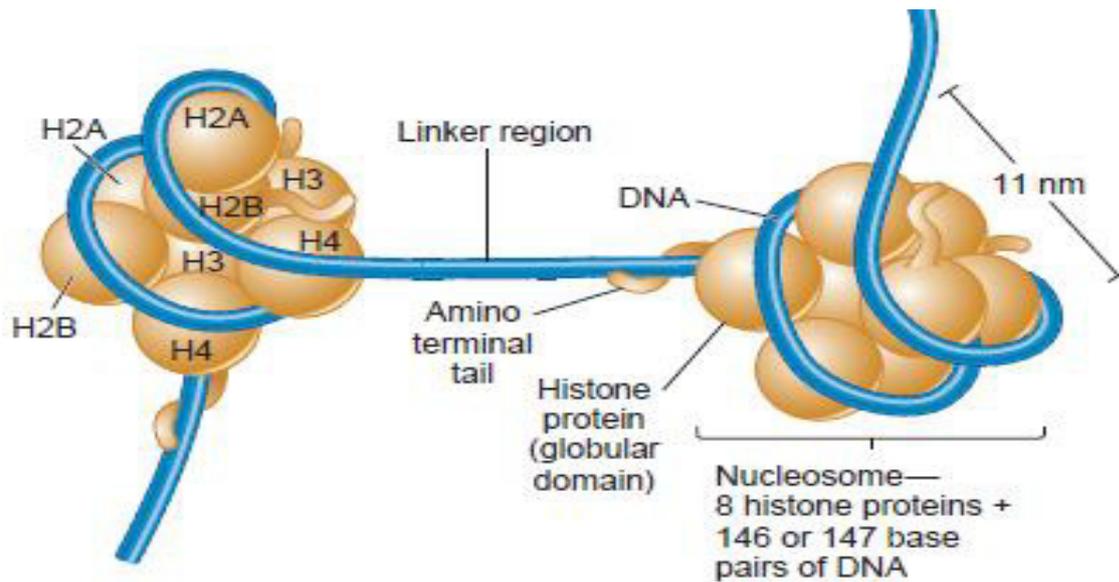


Figure 31 : le génome de levure.

3. Le transcriptome des levures

Il existe 3 polymérase composées de 9 à 11 sous unités dans le noyau de la levure qui sont des métalloenzymes contenant l'ion Zn^{+} et leur fonctionnement requiert la présence d'autres ions (Mn^{++} ou Mg^{++}).

La polymérase I ou A est présente dans le nucléole et synthétise les pré ARNr sauf les ARNr 5S, elle possède une activité dépolymérase (ARNase H).

La polymérase II ou B est présente dans le nucléoplasme et synthétise les pré ARNm, ainsi que les petits ARN nucléaires (ARNsn).

La polymérase III ou C, également présente dans le nucléoplasme, synthétise les ARNt ainsi que l'ARNr 5S et d'autres petits ARN.

De plus, il existe une ARN polymérase mitochondriale.

En général, la vitesse d'élongation de la transcription est plus lente que chez les procaryotes, à raison de 10 à 30 nucléotides/s pour la levure. Chez la levure les zones actives de la chromatine sont particulièrement sensibles à l'action des nucléases. La polymérase I et II reconnaissent des promoteurs situés en amont du site d'initiation, il y a intervention du facteur d'initiation TFIID. La polymérase III reconnaît une séquence spécifique située en aval du site d'initiation, par l'intermédiaire d'une protéine régulatrice.

Les promoteurs sont de grande taille (parfois plus de 300 pb) et riches en AT. Les promoteurs de la levure *Schizosaccharomyces pombe* ressemblent le plus aux promoteurs d'organismes eucaryotes supérieurs : leur séquence TATA est située en moyenne à -30. Chez *Saccharomyces cerevisiae*, la localisation de la séquence est variée de -40 à -120. Le mécanisme de la transcription par l'ARN pol III est plus complexe et nécessite la présence de facteurs protéiques divers.

La terminaison de la transcription des ARNm (coté 3') est dirigée par une séquence spécifique de nature légèrement différente chez la levure de celle des eucaryotes supérieurs (TAAATAA A/G, CAAT/GCTTTG, TTTTATA...) ou plus éloignée (de 50 à 90 pb en amont). De plus la queue poly A est généralement plus courte (une cinquantaine).

4. Le protéome des levures

L'initiation de la traduction chez les eucaryotes, elle s'effectue presque uniquement au niveau d'un codon AUG. Chez les organismes eucaryotes, le système est plus complexe et les facteurs d'initiation sont plus nombreux que chez les procaryotes (eIF1,2,3,4,5.....). Chez la levure, les plus importants sont eIF2, formé de 3 sous unités (combinés au GTP), eIF2A (combiné à l'ARNt-méthionine), eIF3 (combiné à la sous unités 40S) et eIF4 (combiné à l'ARNm).

Au moment de l'élongation chez les organismes eucaryotes, il y a intervention des facteurs EF1 et EF2. Chez la levure, un autre facteur d'élongation a été mis en évidence.

La terminaison se produit lorsque se présente un codon non-sens (stop). Chez la levure 56% des gènes connus ont un terminateur UAA, 20% un codon UAG et 24% un codon UGA pour leur ARNm. Les ARNm des mitochondries utilisent tous le codon UAA.

5. Génétique des mitochondries

L'ADN mitochondrial est bicaténaire et généralement circulaire. L'ADN mitochondrial est pelotonné sur lui-même et lié à la membrane interne de la mitochondrie. Sa taille est de l'ordre de 20µm chez les levures. Il existe plusieurs copies de ce génome, il y en a jusqu'à 4 chez *Saccharomyces cerevisiae* où chaque cellule peut contenir une vingtaine de mitochondries, ce qui donne en moyenne 30 à 50 copies par cellule, soit environ 15% de l'ADN cellulaire total. Chez la levure, l'ADN mitochondrial code pour des sous unités de l'ATPase (S/U 6, 8, 9 et facteur membranaire F₀), du cytochrome C oxydase (S/U C-ox1, 2, 3) et du complexe b/c1 (apoprotéine cytb b)

6. Les éléments transposables

Les plus connus sont ceux qu'on trouve chez la levure. Les éléments transposables de la levure forment une famille hétérogène: les plus importants sont les éléments Ty qui sont plus longs que les transposons bactériens.

Chez *Saccharomyces cerevisiae* les éléments Ty peuvent être classés en deux classes principales en fonction de l'analogie de séquence: TyI et TyII. Ces deux catégories diffèrent essentiellement par leur région centrale (ϵ) qui représente deux grandes zones de substitution d'environ 1 et 2kb.

Au sein d'une classe, les différents transposons diffèrent par le nombre de bases (mais de même ordre de grandeur) et la présence de sites de restriction différents.

Les transposons les plus abondants sont ceux de type I: il en existe de 30 à 35 copies en moyenne/génome. Ils sont composés d'une partie centrale de 5200 à 5600 pb (élément ϵ) qui est flanquée aux 2 extrémités de deux éléments non inversés à séquence identique (DR) de 300 à 340 pb : Les séquences δ (ou séquences à longues répétitions terminales LTR).

Les éléments δ contiennent sept zones à séquences hautement conservées: une séquence TATA, un signal d'initiation de la traduction et un signal stop TAGT.

Les transposons Ty II sont moins abondants que ceux du type I (6 copies/génome). Il existe d'autres éléments transposables à IR inversées (σ).

Chez la levure la transposition des Ty intervient avec une fréquence plus faible que celle chez les bactéries: elle s'effectue par un mécanisme voisin de la transposition répllicative bactérienne mais faisant intervenir un intermédiaire d'ARN. Ces événements peuvent entraîner des mutations (activation, inactivation).

7. Division et cycle cellulaire

La reproduction végétative des levures se déroule généralement par bourgeonnement. A l'exception de quelques genres, les bourgeons (blastospores) apparaissent dans des zones à proximité des grands axes des cellules. Il ne se produit pas deux bourgeons au même site (fig.32).

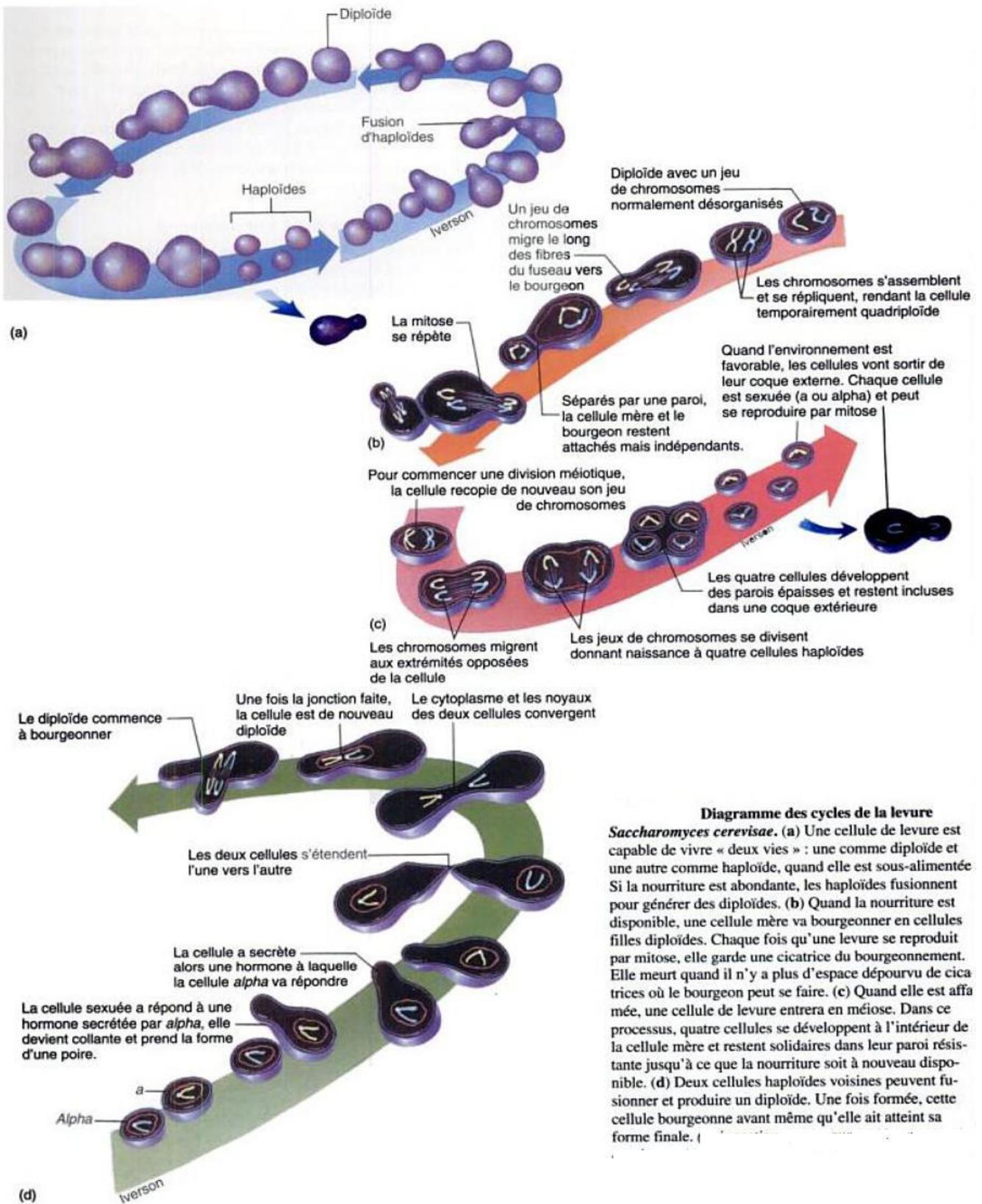


Diagramme des cycles de la levure
Saccharomyces cerevisiae. (a) Une cellule de levure est capable de vivre « deux vies » : une comme diploïde et une autre comme haploïde, quand elle est sous-alimentée. Si la nourriture est abondante, les haploïdes fusionnent pour générer des diploïdes. (b) Quand la nourriture est disponible, une cellule mère va bourgeonner en cellules filles diploïdes. Chaque fois qu'une levure se reproduit par mitose, elle garde une cicatrice du bourgeonnement. Elle meurt quand il n'y a plus d'espace dépourvu de cicatrices où le bourgeon peut se faire. (c) Quand elle est affamée, une cellule de levure entrera en méiose. Dans ce processus, quatre cellules se développent à l'intérieur de la cellule mère et restent solidaires dans leur paroi résistante jusqu'à ce que la nourriture soit à nouveau disponible. (d) Deux cellules haploïdes voisines peuvent fusionner et produire un diploïde. Une fois formée, cette cellule bourgeonne avant même qu'elle ait atteint sa forme finale.

Figure 32 : la division des levures.

8. Reproduction sexuée chez les levures (cycle haplodiplobiontique)

Lorsque le milieu devient défavorable, les levures cessent de se multiplier par bourgeonnement et sporulent, les levures sont des diploïdes eucaryotes et donc présentent les caractéristiques de la division mitotique. Seule la membrane nucléaire persiste, ce qui aboutit à la formation d'une structure quadrilobée, l'**asque**, contenant 4 ascospores. Les ascospores sont de deux types a et α , chacun d'entre eux, après libération de l'asque, pouvant se développer en cellule haploïde par bourgeonnement.

L'accouplement d'une cellule a avec une cellule α conduit à la formation par fusion d'un zygote, cellule diploïde a/α , qui peut à son tour se multiplier par bourgeonnement ou sporuler (fig. 33).

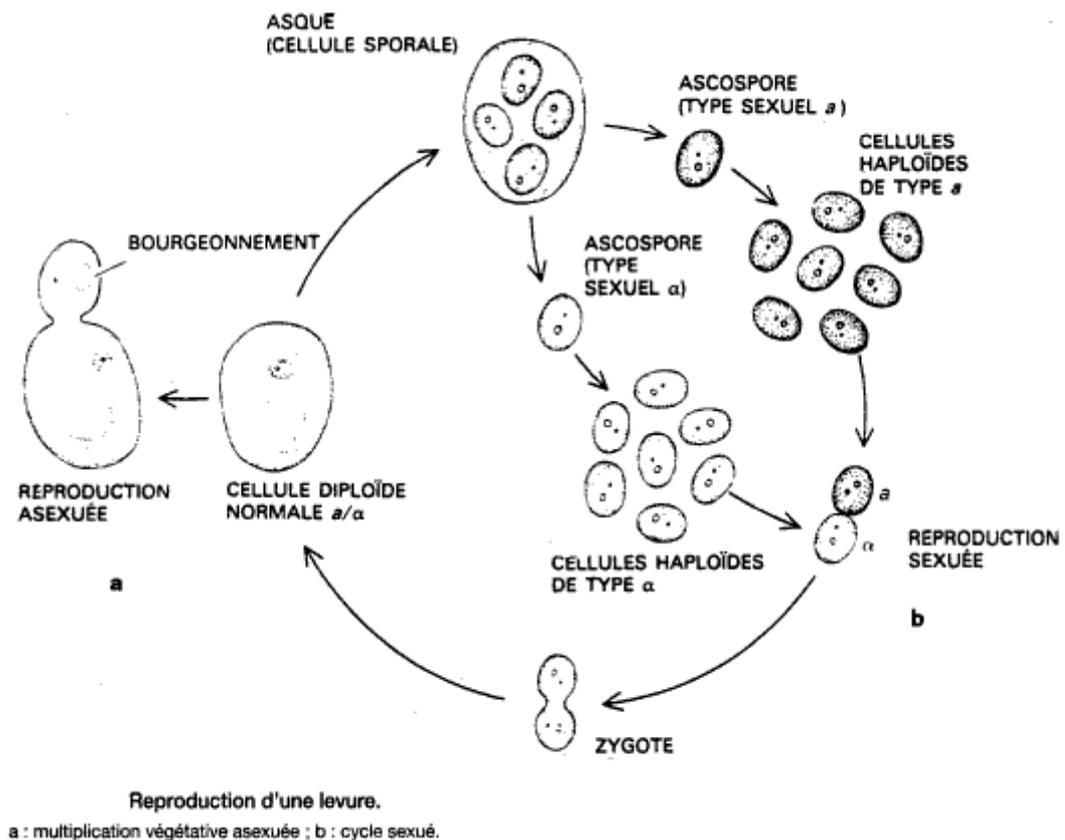


Figure 33: le cycle haplodiplobiontique des levures.

Partie III :

LES

VIRUS

Les virus sont des entités simples, acellulaires qui constituent en une ou plusieurs molécules d'ADN ou ARN enfermés dans une coque protéique (avec parfois, en plus des lipides et des glucides). Ils ne peuvent se produire qu'à l'intérieur des cellules vivantes et sont donc des parasites intracellulaires obligés.

1. Structure des virus et classification

Les éléments de structure autorisent une classification appelée **système LHT** (du nom de ses promoteurs, Lwoff, Horne et Tournier) (Tab. 2). Elle retient principalement :

- au niveau de l'acide nucléique : sa nature, ribonucléique (R) ou désoxyribonucléique (D) ; le nombre de brins, simple brin (SB) ou double brin (DB) ; pour les simple brin l'orientation, positif (+) du même sens qu'un ARNm ou (-) complémentaire à un ARNm ; la structure et l'organisation du génome, circulaire (cir), non segmenté (n-seg), segmenté (seg)
- au niveau de la morphologie : le type de symétrie, cubique (C) ou hélicoïdale (H) avec selon le cas le nombre de capsomères dans le premier cas et le diamètre de l'hélice dans le second, la présence d'une enveloppe (E) ou l'absence (N).

Tableau 2 – Classification des virus.

Type	Acide nucléique			Enveloppe	Symétrie de la capsid	Familles virales (-viridae)	Exemples de virus
	Brins	Orientation	Structure				
ADN	SB	+ ou -	n-seg	N	C	<i>Parvo-</i>	
ADN	SB/ DB		cir	E	?	<i>Hépadna-</i>	hépatite B
ADN	DB		cir	N	C	<i>Papova-, Adéno-</i>	
ADN	DB		n-seg	E	C	<i>Herpes-</i>	herpès, varicelle
ADN	DB		n-seg	E	complexe	<i>Pox-</i>	variole, vaccine
ADN	DB		n-seg	N	C	<i>Irido-</i>	
ARN	SB	+	n-seg	N	C	<i>Picornia-, Cailci-</i>	Poliovirus, hépatite A
ARN	SB	+	n-seg	E	C	<i>Toga-</i>	rubéole
ARN	SB	+	n-seg	E	H	<i>Corona-</i>	
ARN	SB	-	n-seg	E	H	<i>Rhadbo-Filo- Paramyxo-</i>	rage, oreillons, rougeole
ARN	SB	-	seg	E	H	<i>Orthomyxo-</i>	grippe
ARN	SB	+/-	seg	E	H	<i>Bunya-, Aréna-</i>	
ARN	DB		seg	N	C	<i>Reo-, Birna-</i>	réovirus
ARN → ADN	SB	+	n-seg	E	H	<i>Rétro-</i>	VIH

SB : simple brin ; DB : double brin ; n-seg : non-segmenté ; seg : segmenté ; cir : circulaire ; N : non-enveloppé ; E : enveloppé ; C : cubique ; H : hélicoïdale ; ARN → ADN : virus à ARN impliquant une phase ADN dans leur cycle de répllication.

2. Architecture et assemblage

La taille des virus se situe entre 10 et 300 ou 400nm (fig. 34). L'assemblage de la nucléocapside ne se fait pas sans ordre ni sans harmonie. Il obéit à des lois précises et détermine deux types de symétrie architecturales chez le virion : les symétries cubique et

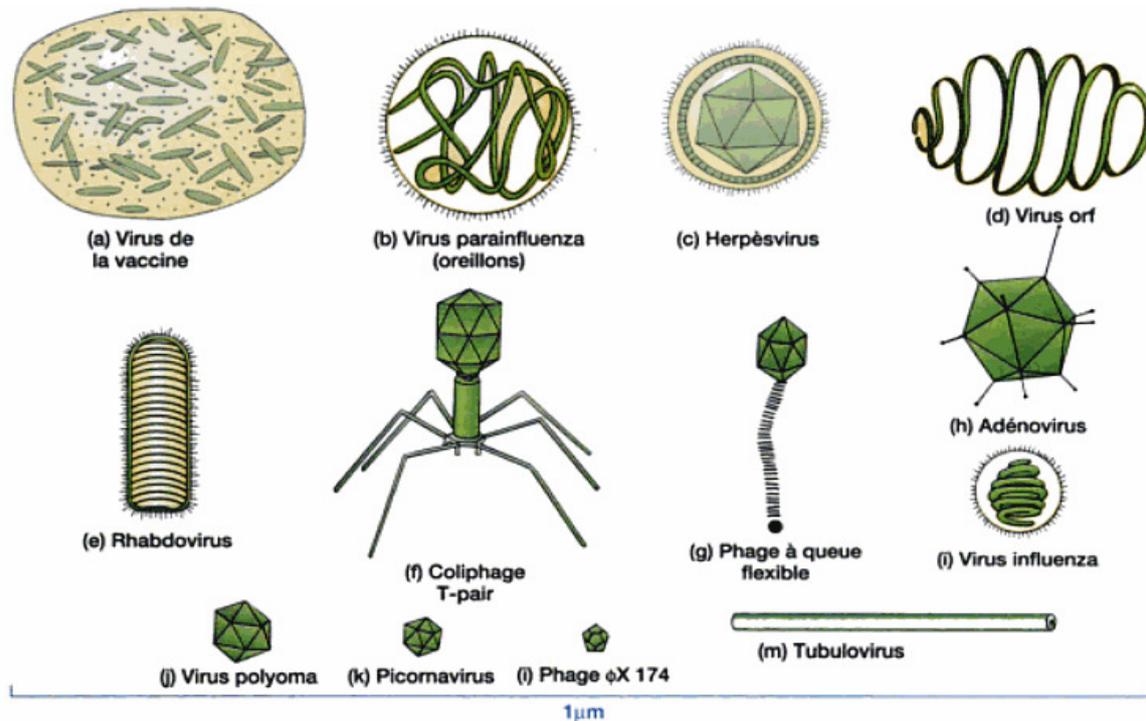


Figure 1 Dimension et morphologie des principaux virus. Les virus sont dessinés à l'échelle (voir la ligne représentant 1μm au bas de la figure).

hélicoïdale.

Figure 34 : morphologie des principaux virus.

a. Virus à symétrie cubique

La structure de ces virus dérive de l'**icosaèdre** (fig. 35). La capside comporte 20 faces (chaque face étant représentée par un triangle équilatéral. 12 sommets et 30 arêtes. Elle possède trois types de symétries.

La capside contient l'acide nucléique pelotonné ou enroulé sur lui-même, mais il ne semble pas y avoir d'association étroite entre acide nucléique et protéines. Elle est formée d'un certain nombre d'unités morphologiques, les capsomères, disposés régulièrement et comprenant eux-mêmes des sous constituants, les unités de structure. Certains capsomères, les plus nombreux, comprennent 6 unités de structure : ce sont des prismes hexagonaux creux ou hexamères. D'autres contiennent des 5 unités de structure et forment des prismes pentagonaux

creux ou pentamères. Les virus qui ont ce type de structure sont le phage ($\Phi\times 174$), Réovirus, Virus herpétique et l'adénovirus.

Dans le cas des adénovirus, on décèle 252 capsomères, dont 240 hexamères et 12 pentamères, situés au sommet de l'icosaèdre. Il existe, en outre, sur ces pentamères de sommet 12 molécules protéiques ayant l'aspect de battants de cloche. Ce sont des fibrilles de 20nm de longueur terminées par une sphère de 4 nm de diamètre et possédant une activité hémagglutinante.

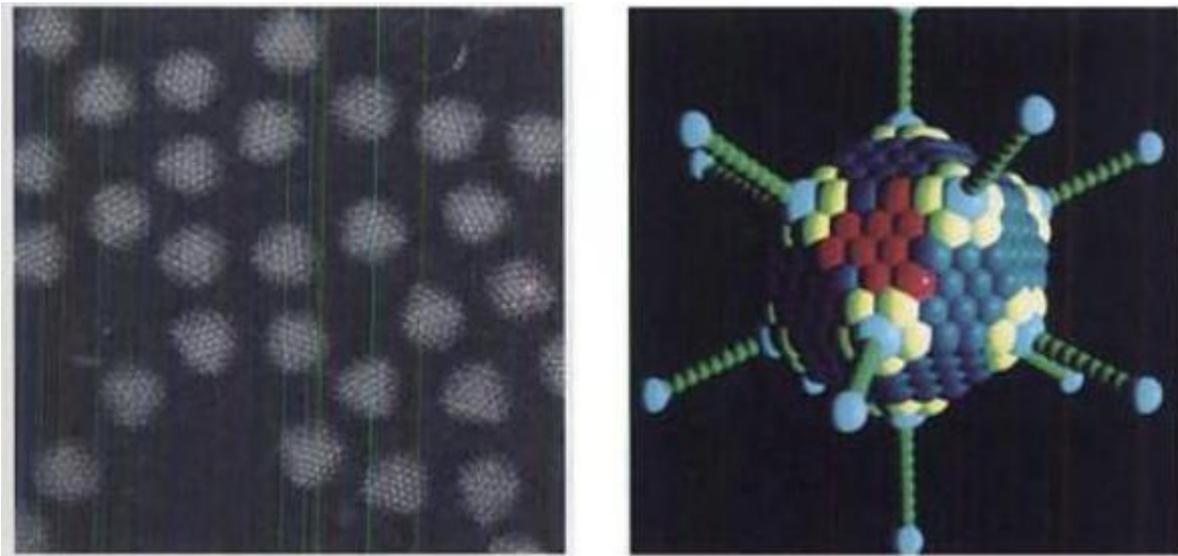


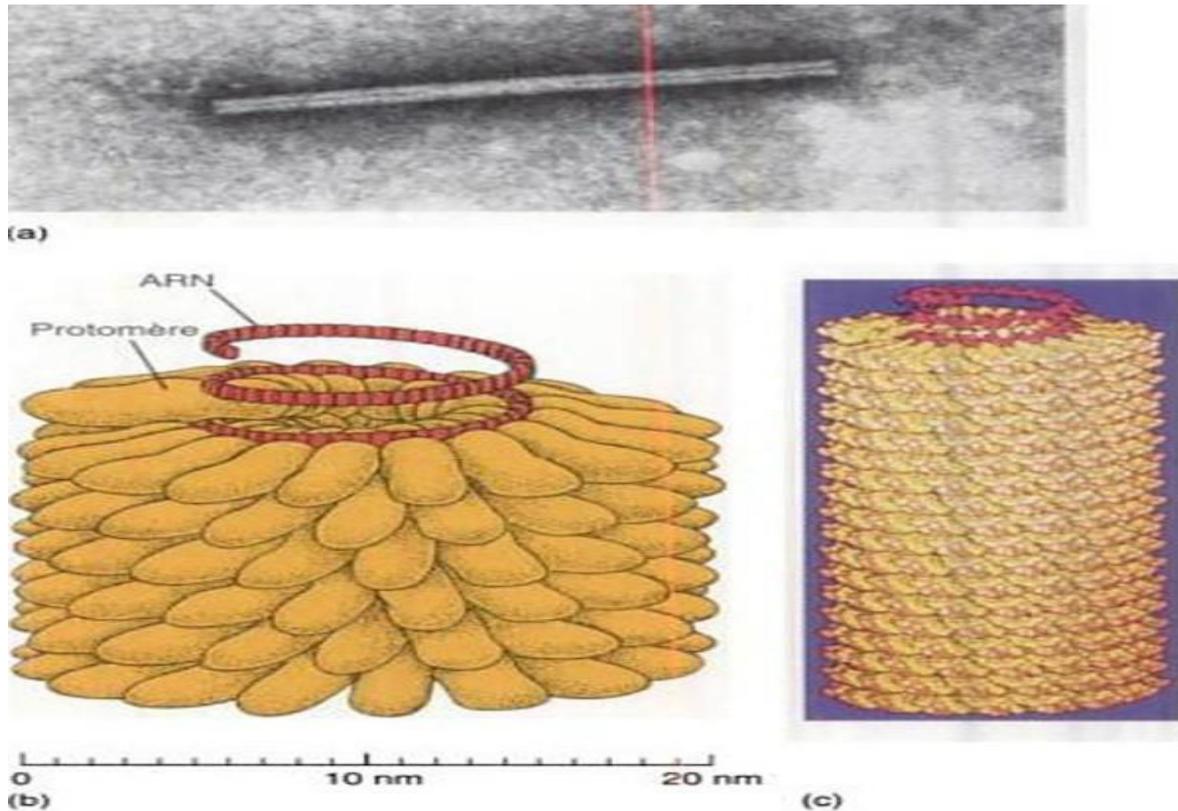
Figure 35 : La forme icosaédrique de la capside virale.

b. Virus à symétrie hélicoïdale

▪ À nucléocapside nue

Les unités de structure de forme ovoïde ou grossièrement parallélépipédique (fig. 36) ont une longueur de 7 nm et de et une épaisseur de 2nm. Leur extrémité distale, plus volumineuse que leur extrémité centrale ce qui donne à l'ensemble une courbure hélicoïdale. Chacune d'entre elles est encochée sur les faces supérieure et inférieure dans la région avoisinant le canal central (1/3 de la longueur), emprisonnant dans ce logement le filament d'ARN.

Chaque monomère a un poids moléculaire de 18000 daltons et comprend 158 acides aminés. Le virus de la mosaïque du tabac ou VMT, est l'exemple le mieux connu. Il était le premier agent filtrant mis en évidence, obtenu sous forme cristallisée par Stanley en 1935. Morphologiquement c'est un bâtonnet cylindrique creux de 300 nm de long et de 17 nm de diamètre.



La structure du virus de la mosaïque du tabac.
(a) Image au microscope électronique de la capsidie hélicoïdale après contraste négatif (x 400 000). (b) Structure de TMV. Notez que la nucléocapsidie est un arrangement en hélice des protomères avec l'ARN enroulé à l'intérieur. (c) Un modèle de TMV.

Figure 36 : la structure hélicoïdale.

▪ Nucléocapside enveloppée

La nucléocapside a la même structure que le MVT mais elle a des dimensions différentes : 9 nm de diamètre et 800 nm de longueur. Elle n'est pas rigide mais souple et bobinée en anneaux centraux. L'ARN a une masse moléculaire de $2 \cdot 10^6$ daltons. Il serait constitué de 9 fragments subgénomiques, conférant au virion son pouvoir infectieux.

La particularité de ces virus est la présence d'une enveloppe qui enferme la nucléocapside. L'exemple de ce type de virus est le virus grippal, son enveloppe possède un diamètre de 110 nm, donnant au virion un aspect sphérique. Cette enveloppe phospholipidique intègre un certain nombre d'éléments d'origine cellulaire (fig. 37). Des spicules de 8 à 10 nm de deux types lui donnent un aspect hérissé :

- Les **hémagglutinines**, de nature glycoprotéinique, qui sont des bâtonnets de 14 nm de longueur insérés dans l'enveloppe par leur pôle lipophile. Elles possèdent des sites de reconnaissance assurant la fixation des hématies au niveau de leurs récepteurs de

nature mucoprotéique. Ces spicules responsables du phénomène d'hémagglutination sont en nombre élevé (environ 2000)

- Les neuraminidases, qui se présentent également sous forme d'unités, ou monomères, fixées sur l'enveloppe. Au nombre de 500 à 1000, leur action enzymatique permet l'hydrolyse de l'acide neuraminique, récepteur cellulaire. Elles interviennent donc en permettant l'élution ou la libération des virus.

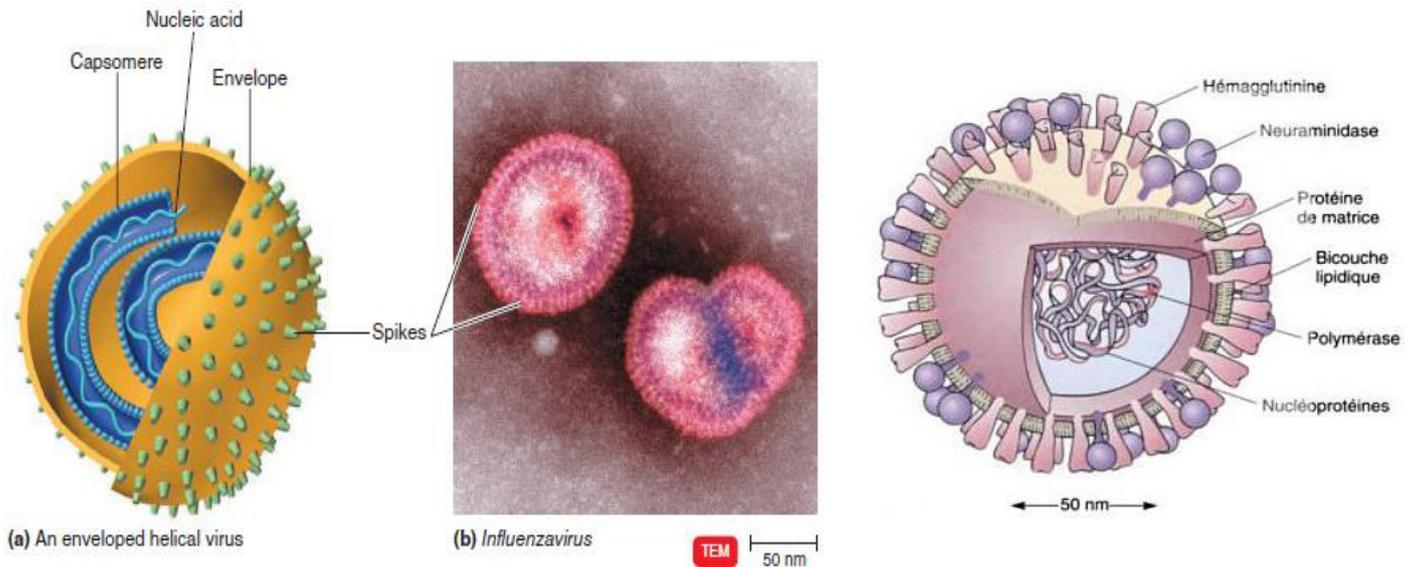


Figure 37 : l'enveloppe de la capsid.

3. Les acides nucléiques des virus (Tab. 3)

3.1. Génomes à ADN

Le matériel génétique de la plupart des virus à ADN est double brin. Les tout petits virus à ADN ont un génome à ADN simple brin. On trouve chez beaucoup de virus un ADN double brin linéaire avec diverses modifications ; d'autres possèdent un ADN double brin circulaire

3.2. Génomes à ARN

Le matériel génétique de la majorité des virus à ARN est de l'ARN simple brin. La séquence des bases de l'ARN peut être identique à celle de l'ARNm viral, dans ce cas, la chaîne est dite (+). Beaucoup de ces génomes à ARN sont des génomes segmentés ; c'est-à-dire qu'ils sont divisés en fragments séparés. On pense que chaque fragment code pour une protéine. Tous les segments sont enfermés dans la même capsid dans la majorité des cas. Les ARN positifs

viraux de la plupart des virus végétaux et animaux ressemblent aux ARNm des eucaryotes par la présence d'une coiffe contenant la 7 méthylguanosine à l'extrémité 5' et par la présence de la queue poly A à l'extrémité 3'.

Tableau 3 : types d'Acides nucléiques viraux.

Type d'acide nucléique	Structure de l'acide nucléique	Exemples de virus
ADN		
Simple brin	Linéaire simple brin	Parvovirus
	Circulaire simple brin	Phages ϕ X174, M13, fd
Double brin	Linéaire double brin	Herpèsvirus (virus de l'herpès simplex, cytomégalovirus, virus d'Epstein-Barr), adénovirus, coliphages T, phage lambda et autres bactériophages
	Linéaire double brin avec cassures simple brin	Coliphage T5
	Double brin avec terminaisons pontées	Vaccine, variole
	Double brin circulaire fermé	Papovavirus (virus polyoma, papilloma humain, SV40), phage PM2, virus de la mosaïque du chou-fleur
ARN		
Simple brin	Linéaire, simple brin, chaîne positive	Picornavirus (polio, rhinovirus), togavirus, bactériophages à ARN, TMV et la plupart des virus de végétaux
	Linéaire, simple brin, chaîne négative	Rhabdovirus (rage), paramyxovirus (oreillons, rougeole)
	Linéaire, simple brin, segmenté, chaîne positive	Virus de la mosaïque du brome (différents segments dans des virions séparés)
	Linéaire, simple brin, segmenté, diploïde (deux chaînes simple brin identiques), chaîne positive	Rétrovirus (virus du sarcome de Rous, virus de l'immunodéficience humaine)
	Linéaire, simple brin, segmenté, chaîne négative	Paramyxovirus, orthomyxovirus (influenza)
Double brin	Linéaire, double brin, segmenté	Réovirus, virus des tumeurs de blessures des plantes, virus de la polyédrose cytoplasmique des insectes, phage ϕ 6, nombreux mycovirus

3.3. Cas des bactériophages

Le matériel génétique est l'ADN ou l'ARN mais la majorité des bactériophages possèdent de l'ADN souvent double brin. Pour la plupart, ils se placent dans l'un des groupes morphologiques suivants : les phages icosaédriques sans queue, les virus à queue contractile, les virus à queue non contractile et les phages filamenteux. Il existe des phages avec enveloppe.

4. Cycle viral

L'infection de la bactérie hôte par un bactériophage présente deux aspects : le bactériophage se produit aux dépens de la bactérie et la détruit, c'est l'**infection lytique**. Les bactériophages qui lysent les bactéries qu'ils infectent sont appelés des **bactériophages virulents**. Pour certains phages au lieu de se répliquer d'une façon autonome, l'acide nucléique s'intègre au chromosome bactérien et se comporte comme un gène bactérien et se réplique en parfaite

harmonie avec le chromosome. On lui donne le nom de prophage. Ce type de relation est connu sous le nom de **lysogénie**, le phage est appelé **bactériophage tempéré** et la **bactérie** est dite **lysogène** (fig. 38).

4.1. Cycle lytique

Le cycle lytique commence par :

- L'adsorption et la pénétration : un bactériophage se fixe au niveau d'un récepteur bactérien au niveau de la paroi.
- La fixation s'effectue par l'intermédiaire des fibres caudales et de la plaque terminale.
- Un lysozyme situé dans la queue du phage dépolymérise le mucocomplexe de la paroi
- La contraction de la gaine externe se déclenche livrant ainsi le filament de l'ADN qui pénètre dans le cytoplasme, tandis que les enveloppes phagiques vides restent à l'extérieur
- Dès l'infection, la croissance bactérienne est stoppé ainsi que la synthèse de l'ADN bactérien. Le chromosome bactérien se détruit par une désoxyribonucléase qui apparait 2 à 3 minutes après l'infection
- La synthèse de constituants précoces : le premier élément synthétisé est un ARNm de type phagique. En même temps les enzymes nécessaires à la réplication de l'ADN viral et la synthèse des protéines de structure (tête et queue)
- Les virions formés (100 à 200) sont libérés grâce à l'endolysine qui agit sur la paroi bactérienne ainsi la bactérie s'éclate et libère son contenu vers la 25^e minute.

4.2. Cycle lysogénique

Dans ce type de relation phage-cellule, le processus d'intégration s'effectue au niveau des régions d'attachement (att) des génomes phagiques et bactériens. Le matériel génétique du phage se multiplie en harmonie avec le génome bactérien et se transmet aux générations.

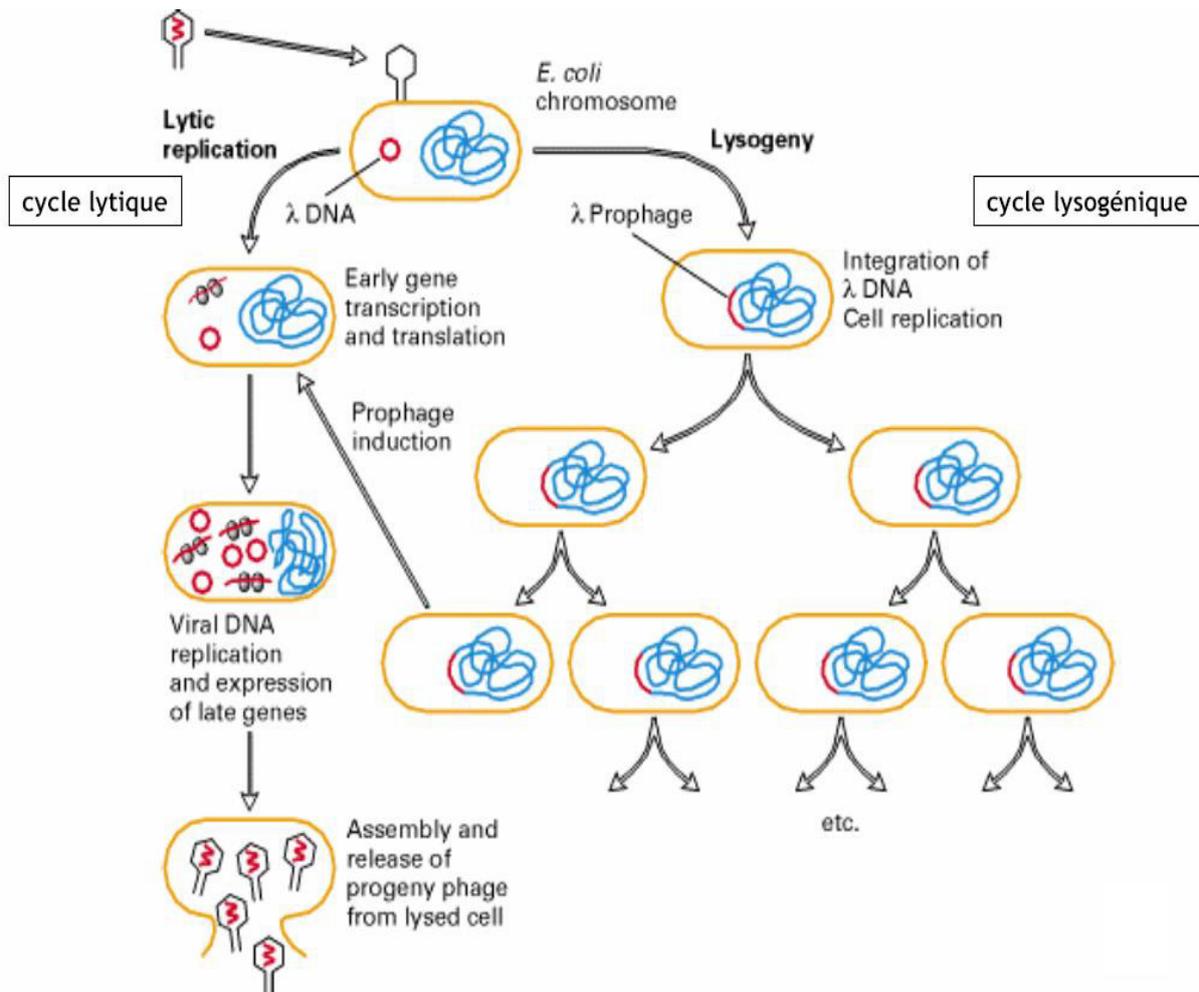


Figure 38 : le cycle lytique et lysogène du bactériophage.

5. Réplication du matériel génétique viral

Le mécanisme de réplication du matériel génétique viral diffère selon la nature de l'ADN ou l'ARN.

3.1. Réplication des virus à ADN (Model d'étude le bactériophage T4)

La réplication des ADN bicaténaires, comme le bactériophage T4 d'*Escherichia coli*, passe par la formation de concaténaires à partir de molécules répliquées (fig. 39). La présence des séquences terminales répétitives et/ ou permutées favorise l'assemblage de ces molécules, par simple complémentarité des brins monocaténaires ou par recombinaison. Il y a formation de

dimères, puis après nouvelle réplication de tétramères. Le concaténaire est ensuite scindé de manière aléatoire, chez le bactériophage T4 en donnant des génophores de taille variée, avec différentes possibilités de permutation circulaire des marqueurs.

Le découpage est dû à une endonucléase virale produit du gène 49.

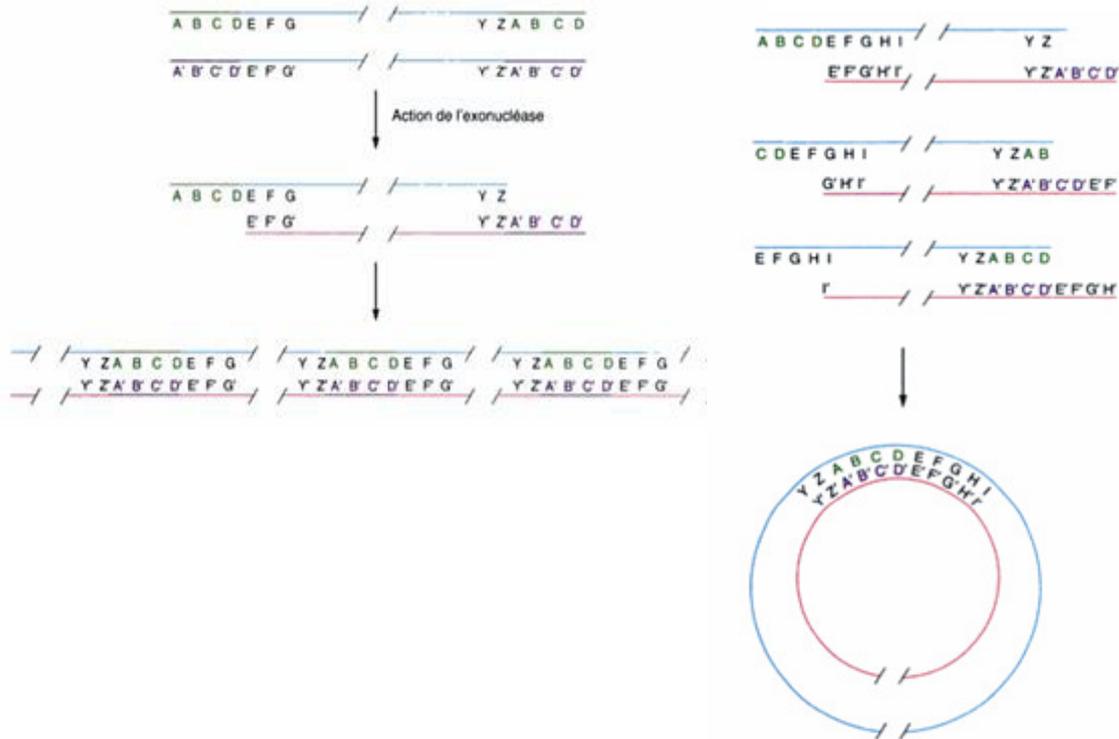


Figure 39: exemple de redondance terminale chez le bactériophage.

3.2. Réplication des virus à ARN

Les bactériophages à ARN (Φ R17, MS2, f2, Q β) sont monocaténaire et de type +, c'est-à-dire directement utilisables pour la traduction (valeur d'ARNm) (fig. 40). Il s'agit de petits virus ne comportant que 4 gènes codant pour une protéine de capsid, une protéine de maturation (protéine A), une sous-unité rep de la réplicase virale et une protéine de lyse (L1) ; la réplication fait donc appel à de nombreux facteurs de l'hôte.

Certains virus à ARN monocaténaire fabriquent une forme répliquative d'ARN \times 2 soit à partir d'un brin + comme les bactériophages (Φ R17, Q β ...). La réplicase du phage Q β est constitué en partie de facteurs de l'hôte : le produit du gène phagique *rep* est inactif et nécessite la présence de facteurs d'élongation .

La réplication des divers types d'ARN viraux fait appel à des mécanismes variés. Les virus à ARN bicaténaires (réovirus) possèdent des ARN réplicase qui fonctionnent avec des modalités voisines de celles des ADN du même type.

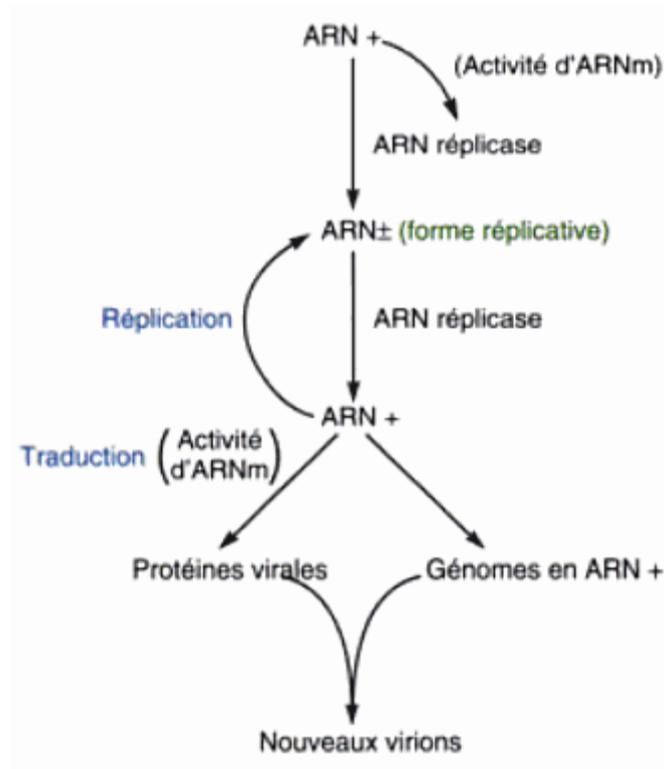


Figure 40 : la multiplication des bactériophages à ARN simple brin.

Références bibliographiques

Biologie moléculaire de la cellule. Lodish H., Berk A., Mastudaira P., Kaiser C.A., Krieger M., Scott M. P., Zipursky B., Darnell J. 3^{ème} édition: De Boeck & Larcier, Bruxelles, 2005.

Biologie moléculaire et cellulaire. Bolsover S. R., Hyams J. S., Stephared E. A., White H. A., Wiedemann C. G. 2^{ème} édition: Dunod, Paris, 2006.

Brock biology of microorganisms. Madigan M.T., Martinko J. M., Stahl D. A., Clark D. P. 13th edition : Pearson Education, Inc, Unites States, 2012.

Cours de Microbiologie générale. Meyer A., Deiana J., Bernard A. 2^{ème} édition : Doin, Berlin, 2004.

Genetics: analyses and principles. Brooker R.J. 4th edition: McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 2012.

Génétique Microbienne. Guiraud J. P. Edition Technique et Documentation- Lavoisier, Paris, 1993.

Génétique. Serre J.L. 3^{ème} édition : Dunod, Paris, 2006.

Génétique. William S. Klug, Michael R. Cummings, Charlotte A. Edition Pearson Education, France, 2006.

Introduction à la microbiologie. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. case. Editions du renouveau pédagogique Inc, 2003.

Introduction à l'analyse génétique. Griffiths A. J. F., Miller J. H., Suzuki D. T., Lewontin R. C., Gelbart W. M.. Edition De Boeck université, 2002.

Microbiologie. Prescott L., Hareley J.P., Klein D.A. 2^{ème} édition : De Boeck & Larcier, Bruxelles, 1995.

Microbiology: an Introduction. Tortora G. J., Funke B. R., Case C. L. 11th edition : Pearson Education, Inc, Unites States, 2013.

Molecular Genetics of Bacteria. Dale J. W., Park S.F. 4th édition : John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England, 2004.

Molecular Genetics of Bacteria. Snyder L., Champness W. 3rd edition: ASM Press, Washington, DC, USA, 2007.

The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes. White D., Drummond J., Fuqua C. 4th edition: Oxford University Press, Inc. New York , 2012.

biologie.univ-mrs.fr/upload/p235/UElevurepart1.pdf_.PDF. Consulté le 19/11/2015.

mas.stephanie.free.fr/cours.../section_4_transferts_materiel_genetique.ppt. Consulté le 09/10/2015.