

GENETIQUE BACTERIENNE

I. Définitions

I.1. Gène

Un gène est un segment d'ADN dans lequel la séquence de bases nucléotidiques détermine:

- par transcription, la séquence de bases dans une molécule d'ARNm,
- et par traduction, la séquence d'AA dans un polypeptide

I.2. Mutation

Une mutation peut être définie comme étant une altération dans la séquence de bases nucléotidiques du gène. C'est une variation :

- **rare** : La mutation est un phénomène rare qui n'affecte qu'une faible fraction de l'ensemble des cellules bactériennes au sein d'une large population.
- **discontinue** : 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.
- d'emblée **héréditaire**.

II. Mutations

II.1. Différents types

II.1.1. Mutations ponctuelles

II.1.1.1 Microdélétion

Il s'agit de la perte d'une paire de bases.

II.1.1.2. Microinsertion (Microaddition)

Il s'agit du gain d'une paire de bases.

II.1.1.3. Substitution

Il s'agit de la substitution d'une paire de bases par une autre à la suite d'une erreur durant la réplication. On distingue deux types de substitutions:

- **Transition** : substitution d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une pyrimidine.
- **Transversion** : Substitution d'une purine par une pyrimidine ou inversement.

II.1.2. Macrolésions

Il s'agit de mutations qui affectent une séquence de bases. On distingue plusieurs catégories:

- **Réarrangement** : la totalité de l'ADN est présente après ce type de mutation:
- + **Inversion** : inversion d'une séquence,
- + **Translocation** : excision d'un fragment puis sa réintégration dans un autre endroit.
- **Duplication** : un segment d'ADN est présent en double.
- **Délétion** : perte d'un fragment d'ADN.
- **Insertion** : gain d'un fragment d'ADN.

II.2. Effets des mutations ponctuelles

Ces mutations peuvent affecter aussi bien les gènes de structure que ceux de régulation.

II.2.1. Mutations "même sens" (same sense)

Elles sont en général détectées uniquement et seulement après séquençage du gène muté. Ceci est dû au fait que la séquence initiale en AA ne change pas (mutation silencieuse).

Exemple: substitution de U par C (au niveau de l'ADN, transition AT → GC) dans le codon GAU ce qui donne GAC. Les deux codons codent pour l'acide aspartique.

II.2.2. Mutations "non sens" (stop)

Il s'agit de mutations qui aboutissent à des codons de terminaison (stop) UAA, UAG ou UGA. Ces codons ne sont pas traduits parce que les bactéries ne possèdent pas d'ARNt qui reconnaît ces triplets. Le résultat de ces mutations est l'arrêt de la traduction avant la synthèse complète du polypeptide, ce qui donne naissance à un produit inactif.

II.2.3. Mutations "faux sens" (missense)

Ce type de mutation est obtenu par substitution d'une paire de bases par une autre, donc un AA par un autre AA au niveau du polypeptide. S'il s'agit d'une enzyme:

- la protéine peut avoir un site catalytique altéré donc perte totale ou partielle de l'activité enzymatique.
- la protéine peut devenir anormalement sensible à un facteur physique ou chimique; ex: mutants thermosensibles.
- les unités polypeptidiques peuvent subir une association anormale, ce qui a pour conséquence la perte de l'activité catalytique.
- Parfois aucun changement n'a lieu; c'est le cas d'une substitution d'un AA par un autre qui a les mêmes propriétés, ex: Glu par Asp.
- Parfois l'AA n'intervient pas dans les sites actifs et n'est pas déterminant dans la conformation.

II.2.4. Microdélétions ou microinsertions

La conséquence de telles mutations est le décalage de lecture au niveau de l'ARNm. Dans ce cas, le polypeptide produit contient la séquence correcte d'AA jusqu'au point où il y a eu mutation à partir duquel la séquence en AA change. Parfois, ce décalage génère un codon non-sens, d'où l'arrêt de la traduction.

II.2.5. Mutations "suppresseurs" (Réversion)

Un organisme muté peut subir une deuxième mutation qui ramène au caractère sauvage (initial). Cette seconde mutation est dite "suppresseur" car elle supprime l'effet de la première.

II.3. Exemples de mutations

II.3.1. Auxotrophie (déficiency)

Certains mutants dits déficients (auxotrophes), exigent la présence d'un ou plusieurs facteurs de croissance dans le milieu car ils sont incapables de le (les) synthétiser.

L'exigence d'un mutant est déterminée en le cultivant sur milieu minimum additionné d'un seul facteur de croissance à la fois (voir TD).

II.3.2. Résistance aux antibiotiques

II.3.2.1. Sites d'action

Les antibiotiques sont des substances antimicrobiennes qui agissent à faible dose et de façon spécifique sur une cible précise.

Ils peuvent agir à plusieurs niveaux de la cellule (figure 1):

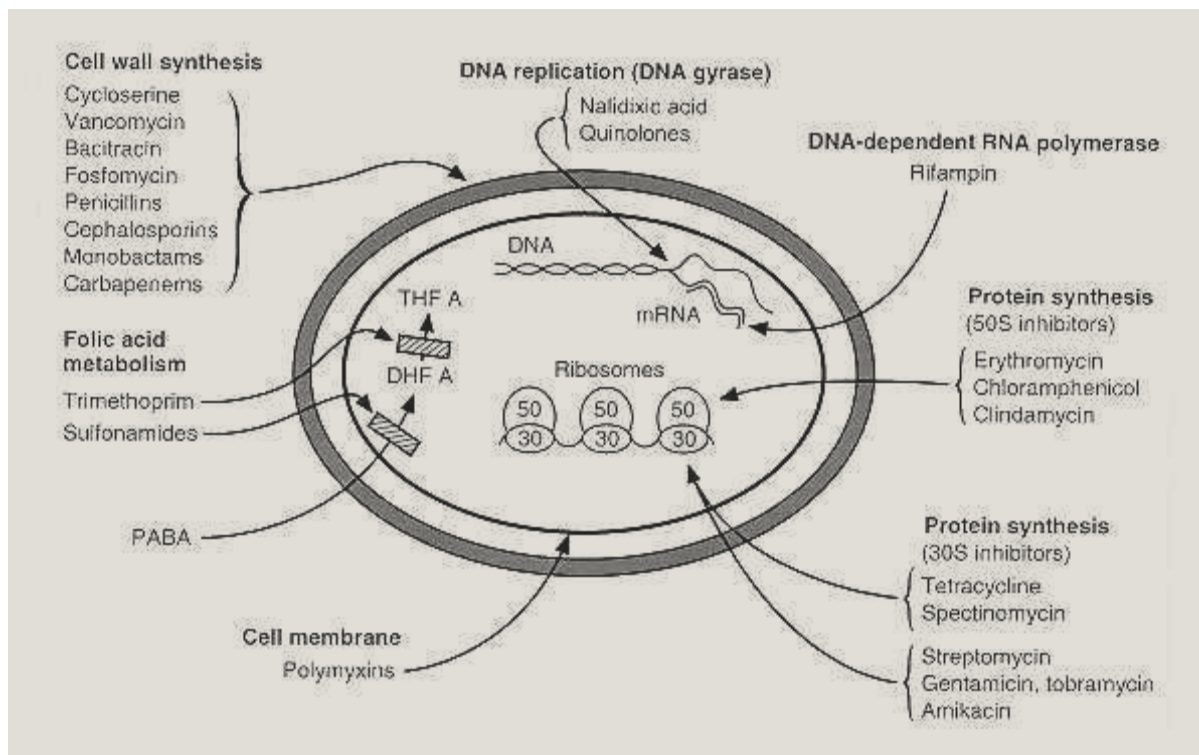


Figure 1 : Différentes cibles des antibiotiques

- au niveau de la membrane, par changement de la perméabilité membranaire, d'où échappement des constituants cellulaires vers l'extérieur; c'est le cas des polypeptides (ex : polymyxine).

- au niveau de la paroi; c'est le cas des β -lactamines qui agissent au niveau de la synthèse de la muréine.

- au niveau de la réplication de l'ADN; c'est le cas de l'acide nalidixique qui agit sur l'ADN gyrase.

- au niveau de la transcription; c'est le cas de la rifamycine.

- au niveau des ribosomes (traduction):

+ par erreur de la lecture (aminosides),

- + par empêchement de la transpeptidation (chloramphénicol),
- + par inhibition de la translocation (macrolides),
- + par inhibition de l'attachement du complexe ARNt-AA sur le ribosome (tétracyclines).

II.3.2.2. Mécanismes de résistance

Certaines bactéries peuvent résister à ces antibiotiques par mutation chromosomique:

- en devenant imperméables à l'antibiotique,
- en modifiant le site d'attachement de l'antibiotique (ex: au niveau du ribosomes).

Des bactéries peuvent résister aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux.

D'autres bactéries peuvent devenir résistantes après acquisition de nouveaux gènes (plasmidiques par ex.) lors de transferts génétiques. Ces gènes permettent à la bactérie de synthétiser des enzymes dégradant l'antibiotique (ex.: β -lactamases) ou le modifiant, le rendant ainsi inactif (ex.: acétylases ou glycosylases).

Certaines enzymes permettent à la bactérie de modifier le site d'attachement de l'antibiotique (ex : la méthylation au niveau de l'ARNr empêche l'attachement des macrolides).

II.3.2.3. Isolement des mutants résistants

On procède, en général, en étalant un inoculum issu d'une population sensible sur un milieu contenant un antibiotique à une concentration supérieure à la CMI (concentration minimale inhibitrice). Après incubation, seules les bactéries résistantes à cet antibiotique peuvent se multiplier pour donner une colonie visible à l'oeil nu. Il s'agit de mutants spontanés qui existaient dans la population initiale. L'antibiotique n'a fait que les révéler. Les mutations induites (provoquées) sont générées par des agents mutagènes qui peuvent être physiques (ex.: UV) ou chimiques (ex.: acide nitreux). Ces agents augmentent la fréquence de mutation (voir TD).

III. Transferts génétiques

La bactérie peut être l'objet de variations génétiques autres que la mutation. Celles-ci peuvent résulter du transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre par des processus aussi différents que la transformation, la conjugaison et la transduction.

III.1. Transformation

Historiquement, la démonstration de la transformation d'une bactéries par l'ADN a été faite par Avery, MacLeod et McCarty, en 1944.

Griffith, auparavant (1928), avait observé que l'injection à des souris d'un mélange de pneumocoques avirulents (R : "rough") vivants et de pneumocoques virulents (S :

"smooth") tués pouvait provoquer une septicémie mortelle. Des souris mortes, il avait isolé des pneumocoques virulents. Il a parlé d'un principe transformant.

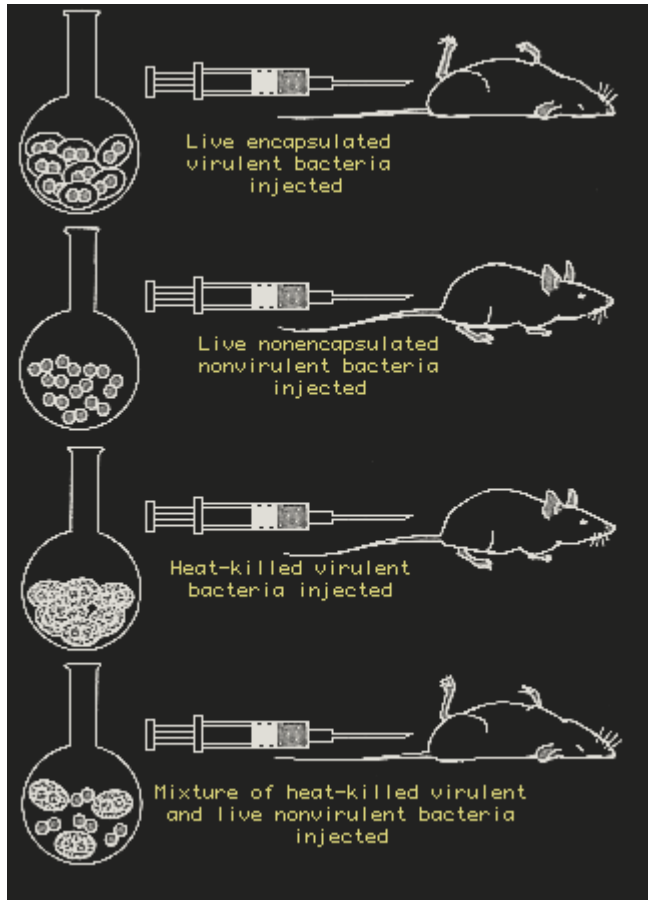


Figure 2 : Expérience de Griffith (1928)

Avery et ses collaborateurs ont étudié le phénomène, in vitro, et ont démontré que le principe transformant évoqué par Griffith est l'ADN et ont donc fourni, par la même occasion, la toute première indication que le support moléculaire de l'hérédité est l'ADN.

La transformation est le transfert d'un gène (ou plusieurs) porté(s) par de l'ADN libre, d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice qui va l' (les) exprimer (figure 3).

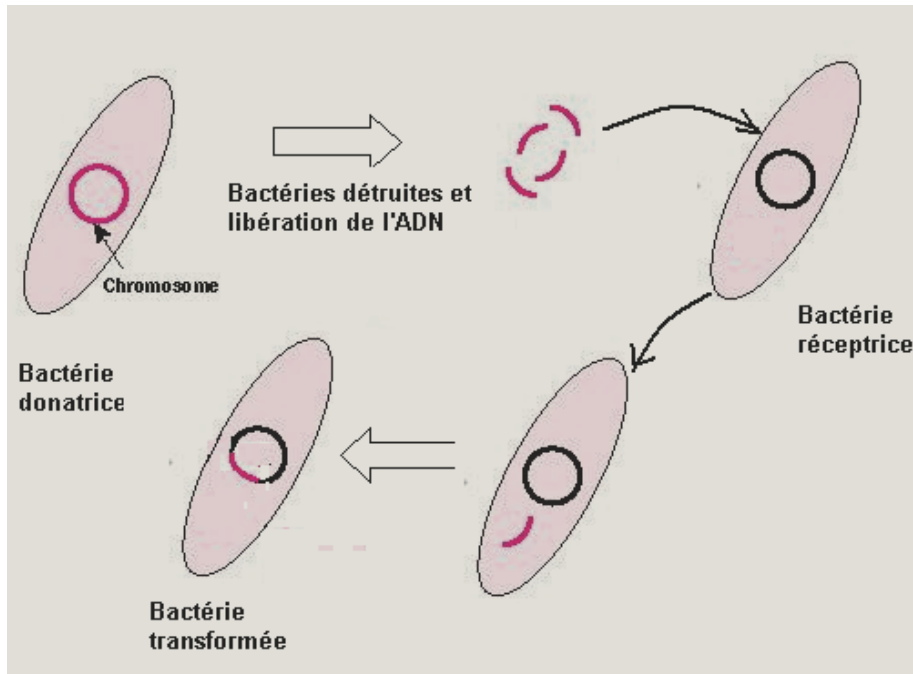


Figure 3 : Représentation schématique de la transformation

III.2. Conjugaison

Ce phénomène a été découvert par Lederberg et Tatum en 1946 (figure 4). Il s'agit d'un transfert de gènes d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice après un contact physique intime entre les deux bactéries partenaires (figure 5).

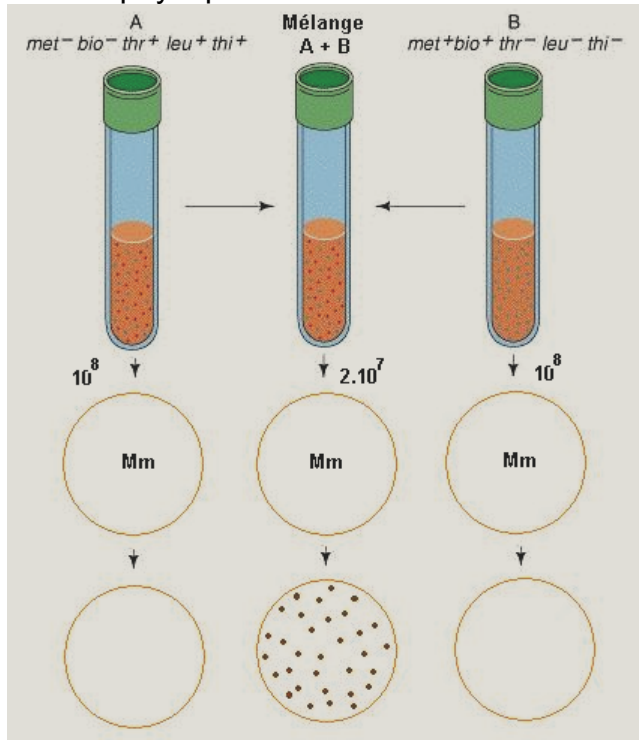


Figure 4 : Représentation de l'expérience de Lederberg et Tatum ayant permis la découverte de la conjugaison en 1946

Aucune des deux souches auxotrophes n'est capable de se développer sur milieu minimum. Par contre, lorsqu'on mélange des bactéries des deux souches en milieu liquide et que l'on étale ensuite une partie du mélange sur milieu minimum, on obtient des colonies.

Cette expérience suggère qu'il y a eu échange (de A vers B et/ou de B vers A) de matériel génétique entre les deux souches, aboutissant à la formation de cellules "met⁺ bio⁺ thr⁺ phe⁺ thi⁺", capables de se développer sur milieu minimum.

En effet, il est impossible d'obtenir un tel résultat par le seul jeu des mutations; la fréquence des mutations est très faible, de l'ordre de 10^{-7} (1 mutation pour 10 millions de cellules) pour chaque caractère. Pour observer deux mutations simultanément dans une cellule de souche A par exemple, il faudrait étaler au moins 10^{14} cellules.

D'autres expériences ont permis, par la suite, de démontrer que le transfert génétique est unidirectionnel (polarisé); il se fait toujours de A vers B. En effet, la souche A possède un facteur F (Fertilité) qui la rend capable de donner des gènes. Il s'agit d'un plasmide dit conjugatif, qui porte les gènes responsables de la synthèse des pili sexuels et du transfert des gènes vers la réceptrice. Seules les bactéries possédant un plasmide conjugatif (ex: facteur F) sont capables de donner des gènes.

Quand on mélange des bactéries donatrices et des bactéries réceptrices, le pilus sexuel reconnaît des sites récepteurs pariétaux de la réceptrice et s'y attache. Ensuite, il se rétracte pour mettre les bactéries en contact. Il se forme alors un pont cytoplasmique par lequel se fait le transfert des gènes (figure 5).



Figure 5 : Conjugaison entre une bactérie donatrice (mâle) et une bactérie réceptrice (femelle)

Le facteur F peut rester libre dans le cytoplasme ou s'intégrer dans le chromosome bactérien et se comporter par la suite comme une partie du chromosome (figure 6).

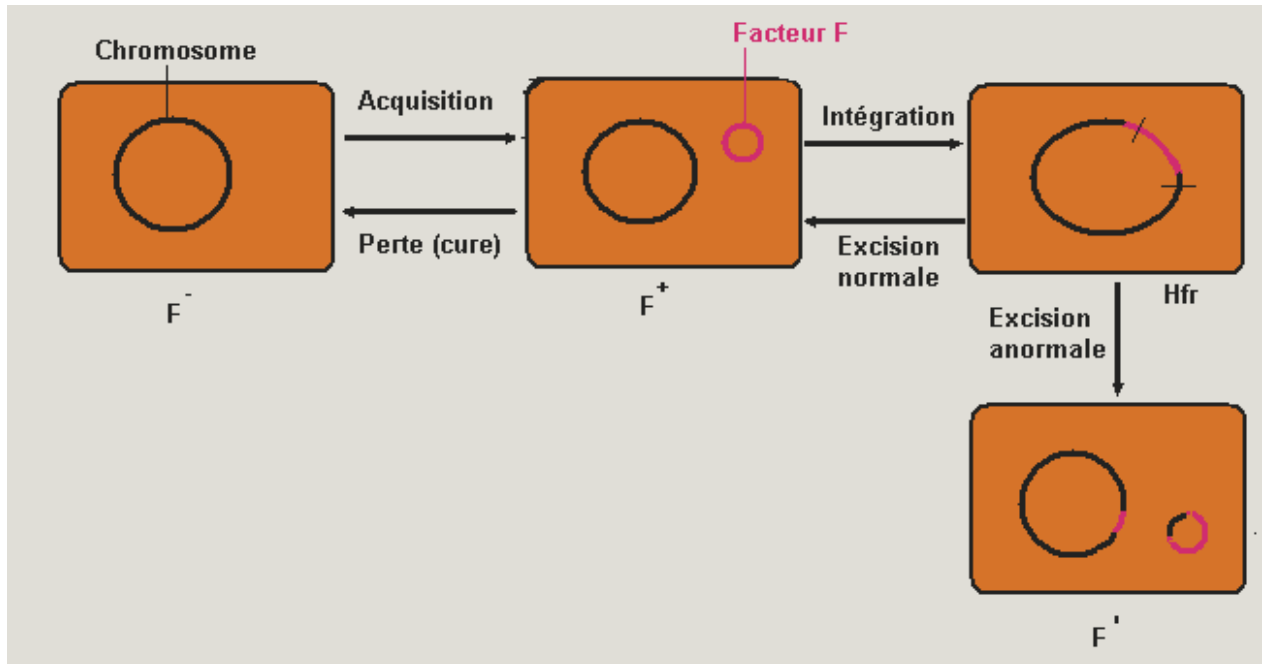


Figure 6 : Représentation schématique des différents états du facteur F

III. Transduction

Il s'agit du transfert de gènes d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice par l'intermédiaire d'un bactériophage (figure 7).

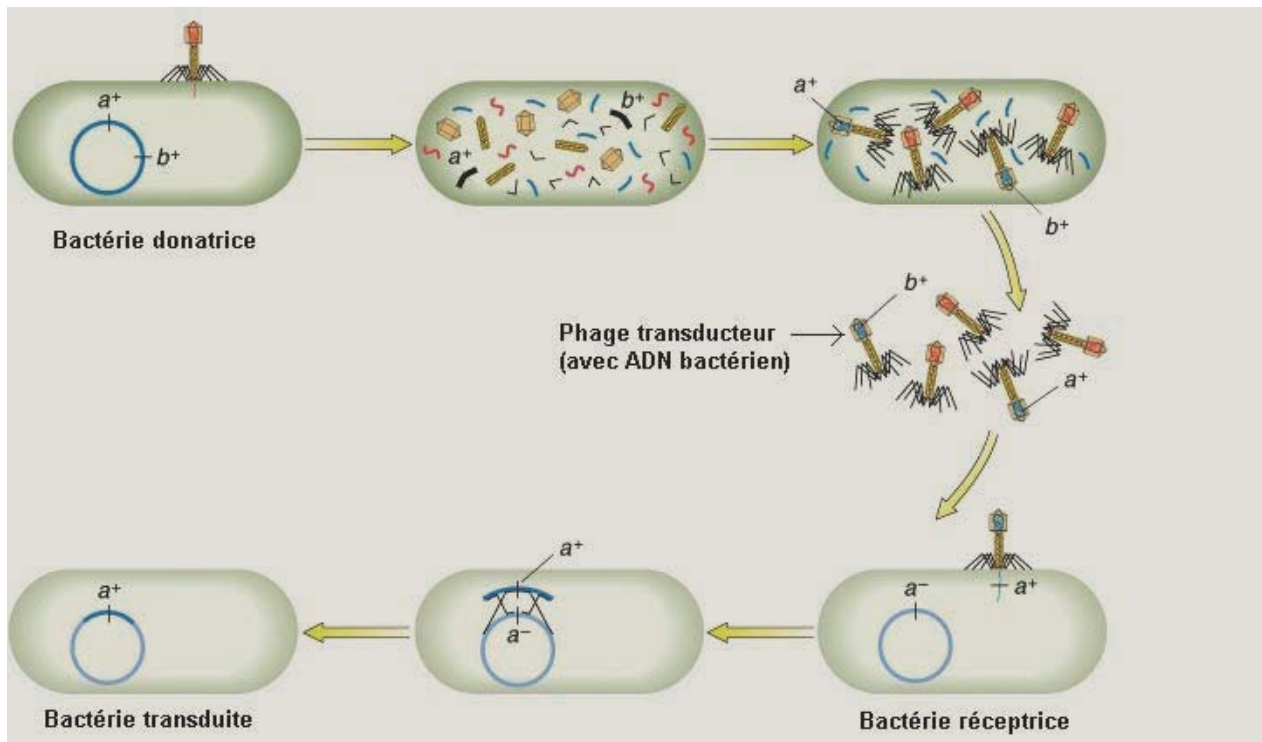


Figure 7 : Transduction généralisée (transfert du gène " a^+ " de la bactérie donatrice vers la réceptrice par l'intermédiaire d'un phage virulent)