

UE 3A Sciences biologiques 1
Bactériologie générale

Cours 3 – Génétique bactérienne

Pourquoi s'intéresser à la génétique bactérienne?



- Les bactéries évoluent
 - modification de leur virulence
 - acquisition de résistance aux antibiotiques

« La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement » (OMS)

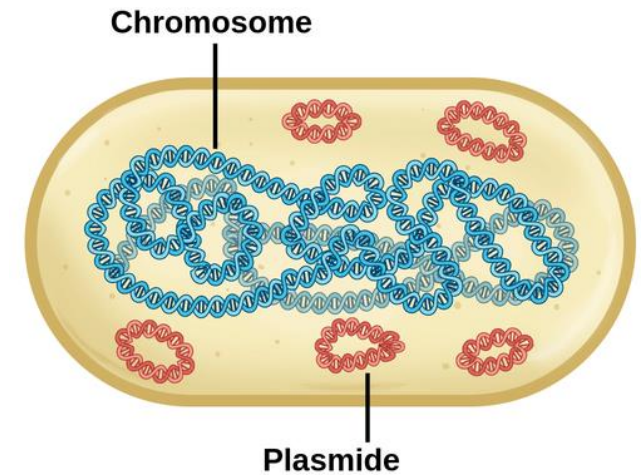
Sommaire

- **Introduction**
- **Les variations intra-génomiques**
 - **Les mutations**
 - **La transposition**
 - Séquences d'insertion
 - Les transposons - intégrons
- **Les variations inter-génomiques**
 - **La transformation**
 - **La conjugaison**
 - **La transduction**
- **Conclusion**

Introduction : le génome bactérien

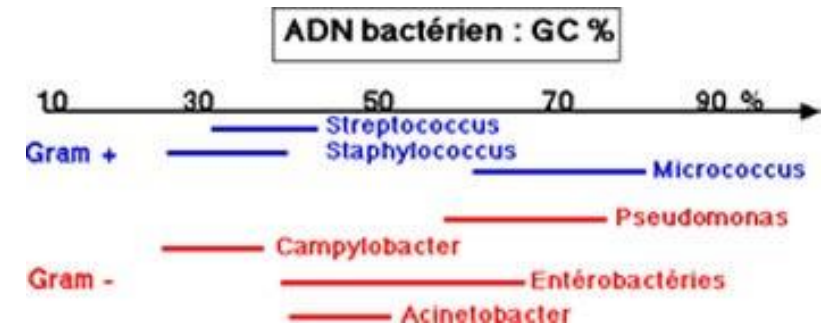
- **Le chromosome:**

- La bactérie est généralement haploïde (1 seule copie du chromosome)
- Pas de membrane nucléaire
- La quasi-totalité du génome bactérien est codant
- La détermination du GC% est un critère taxonomique



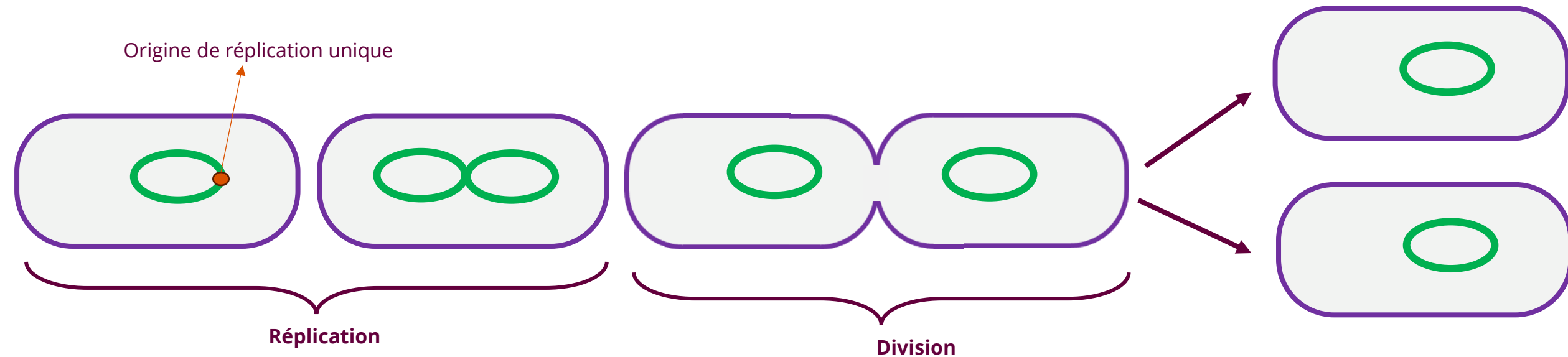
- **Les plasmides:**

- ADN double brin
- Circulaire
- capables de réplication autonome
- présence inconstante au cours de la vie d'une bactérie
- codent pour des caractères généralement non essentiels, mais souvent avantageux pour la bactérie



Introduction: la réplication des bactéries

Lors de la croissance bactérienne: division par **scissiparité**

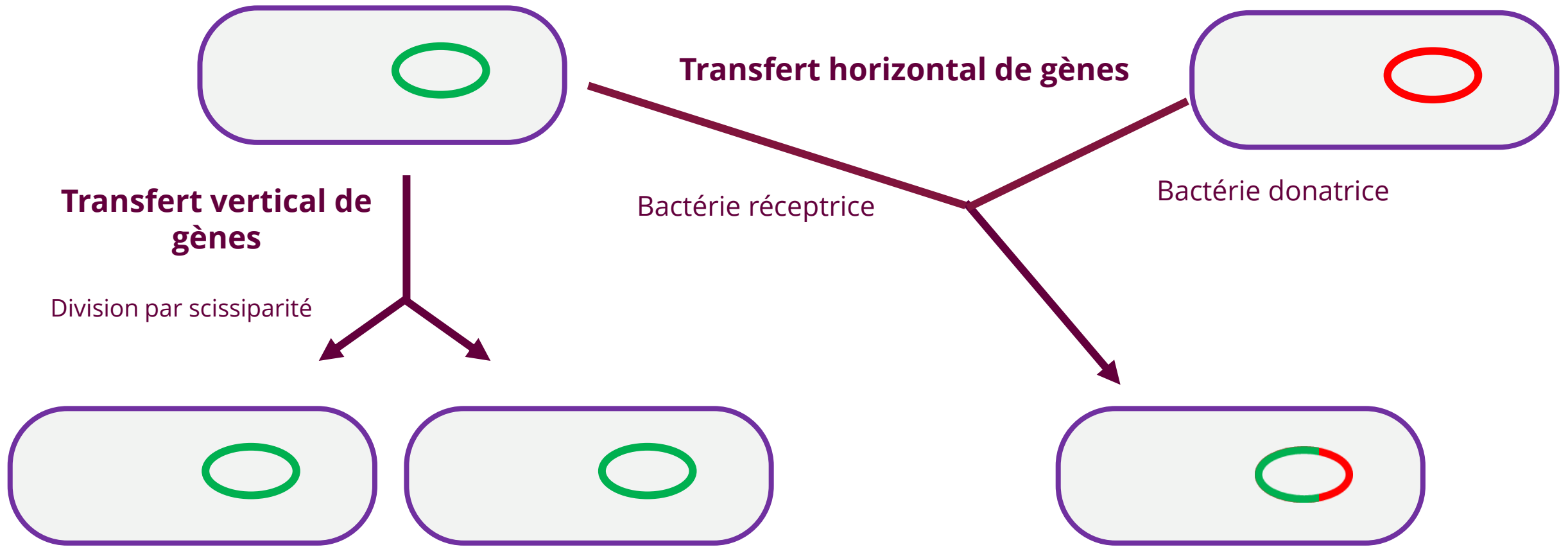


- Origine de réplication unique (point de départ de l'ADN polymérase pour sa réplication mais dans les 2 sens)
- ADN polymérase progresse, création de 2 fourches de réplication (2 sens différents) qui progressent jusqu'à obtenir 2 brins
- Phénomène de **Scissiparité** (2 bactéries filles, **modèle semi-conservatif**: 1 brin originel et 1 brin répliqué)

Les variations génétiques

- Pourquoi 2 bactéries de la même famille/genre/espèce peuvent avoir un matériel génétique différent?
- Preuves des variations géniques (polymorphisme):
 - Aspect des colonies
 - Perte de virulence
 - Caractère de fermentation
 - Acquisition de la résistance à un antibiotique....
- Deux types de variation:
 - **Génotypique** (Génotype: ensemble des informations héréditaires d'un organisme, même si elles ne sont pas exprimées.)
 - **Phénotypique** (Phénotype: ensemble des caractéristiques observables résultant de l'expression des gènes et de l'influence de l'environnement)

Les origines des variations génétiques



Variations génétiques possibles

Les variations génétiques

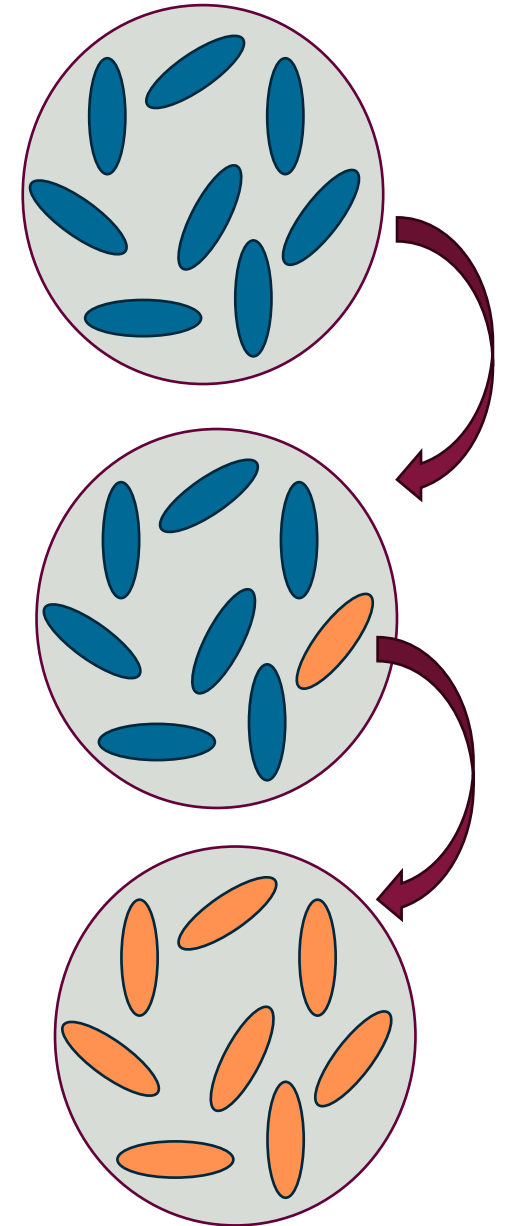
- Les variations peuvent être dues à des:
 - Mutations
 - Transferts génétiques par des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons, séquence d'insertion, cassettes d'intégrons)
- Deux types de variations:
 - Intra-génomique (mutation, transposition)
 - Inter-génomique (transformation, conjugaison, transduction)

Les variations intra-génomiques

Les mutations

ADN: succession de bases, AG purine (adénine guanine) et CT pyrimidine (cytosine, thymine)

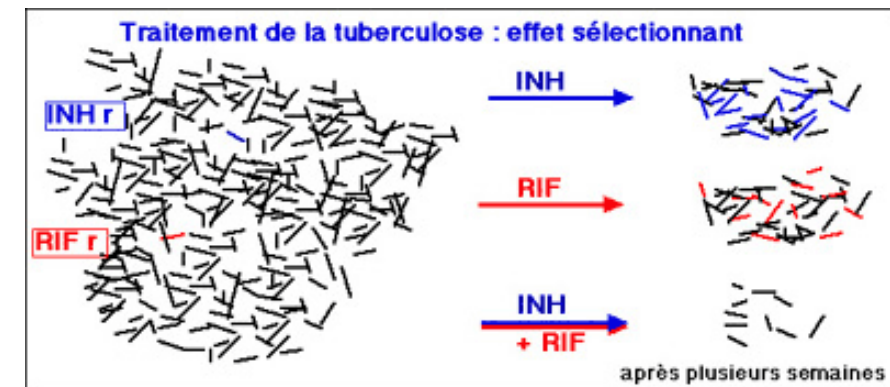
- **Mutation:** modification de l'information génétique d'une cellule
- **Mutation ponctuelle:** modification locale de la séquence nucléotidique qui affecte une paire de base ou quelques paires de bases
 - **Substitution:** remplacement d'un nucléotide par un autre :
 - transition (purine par purine ou pyrimidine par pyrimidine)
 - transversion (purine par pyrimidine ou l'inverse)
 - **Addition ou délétion** de nucléotide



Les mutations ponctuelles

Caractéristiques :

- **Spontanée**: elle survient de façon aléatoire/sporadique dans une génération de bactéries
- **Induite**: par exemple: rayonnement de type UV
- **Rare**: mesurable par le taux de mutation (probabilité pour une bactérie de muter pendant une unité de temps définie)
- **Stable**: transmise de génération en génération
- **Discontinue**: la mutation est un phénomène ponctuel et non continu (tout ou rien)
- **Spécifique**: chaque mutation est indépendante de l'autre



Les mutations ponctuelles

Les effets des mutations sur l'information génétique:

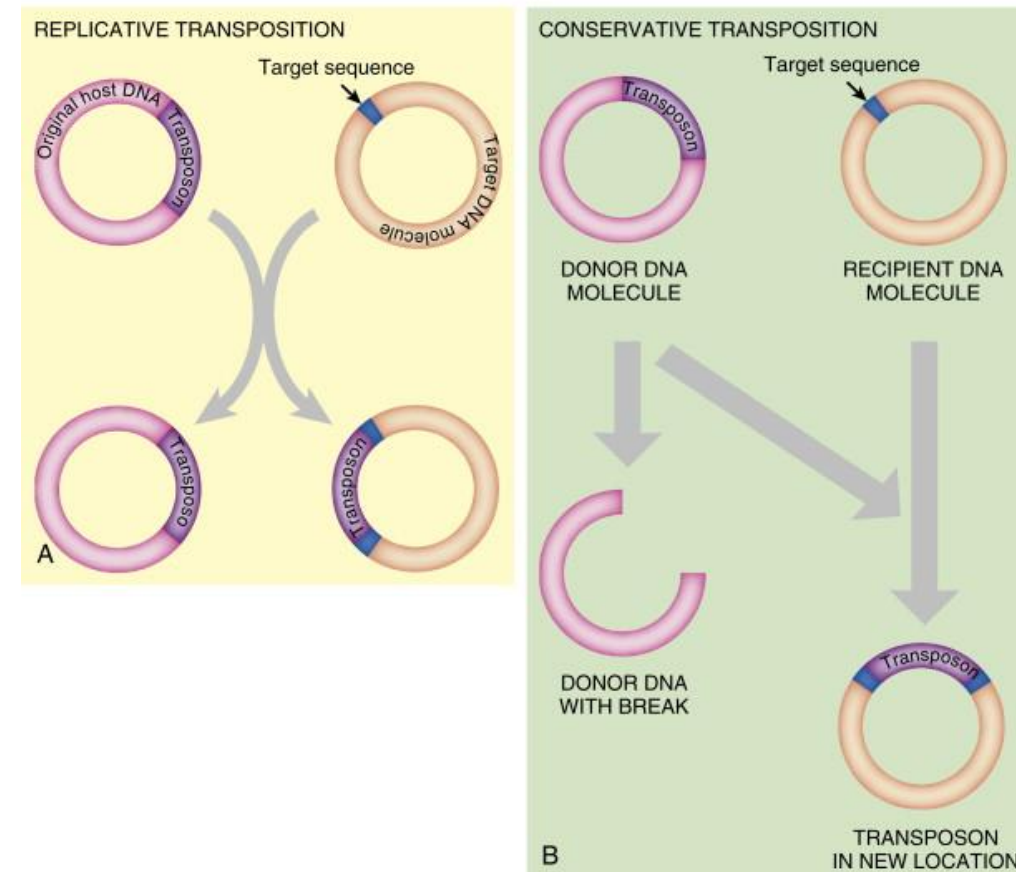
- **Mutations efficaces:** modification de la fonctionnalité d'une protéine ou de ses séquences régulatrices
 - Faux-sens: changement d'un codon en un autre qui code pour un AA différent
 - Non-sens: apparition d'un codon stop qui aboutit à un peptide tronqué
- **Mutations neutres:** sans effet
 - Silencieuses: codon remplacé par un équivalent (pas de modification du peptide)
 - Neutres avec modification d'AA mais pas de modification de la fonctionnalité de la protéine

La transposition

- **Déplacement** d'éléments d'ADN spécifiques, appelés **éléments transposables** à l'intérieur du génome d'une bactérie (chromosome bactérien ou plasmide) **en l'absence d'homologie de séquence nucléotidique** (recombinaison illégitime)
- Ce déplacement est appelé **transposition**
- Ces transpositions de gènes amènent des régions génomiques entières à s'éloigner ou à se rapprocher l'une de l'autre
- Ce processus est possible grâce à des **éléments transposables** capables de se mouvoir le long des chromosomes.
- Différents types d'éléments transposables:
 - Les séquences d'insertion (IS)
 - Les transposons

La transposition: mécanisme

- La transposition consiste en la découpe de l'élément transposable du génome bactérien d'origine par les enzymes **transposases**, suivie de son insertion dans une nouvelle région du génome bactérien.
- Les réplicons cibles peuvent correspondre à des plasmides ou des chromosomes
- Plusieurs modes de transposition :
 - transposition répllicative (copier/coller)
 - transposition conservative (couper/coller)



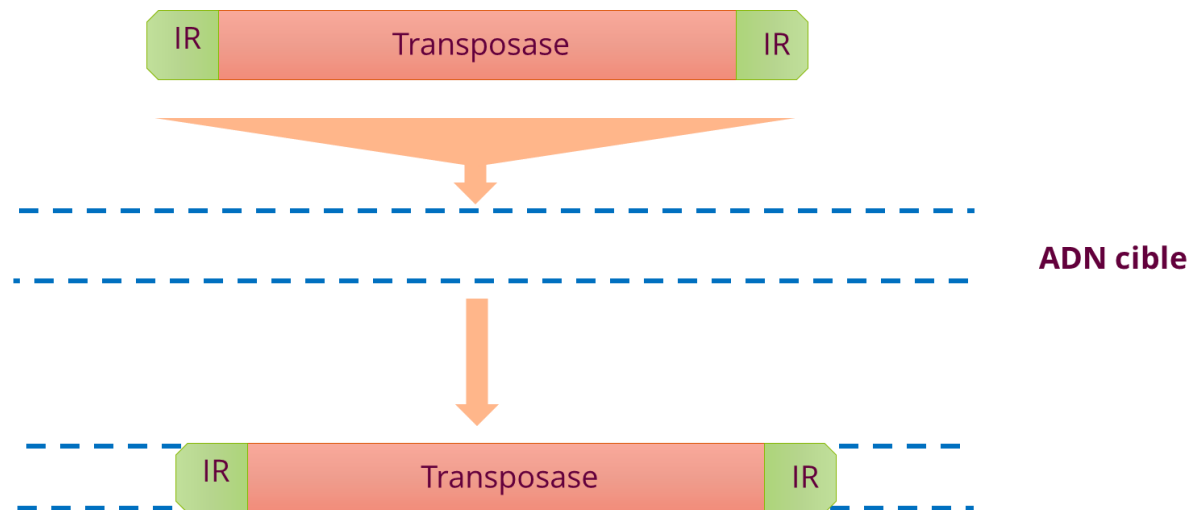
Éléments transposables: les séquences d'insertion (IS)

La présence des IS dans un génome (comme celle des transposons) constitue un facteur d'évolution considérable.

- a) Si le gène dans lequel un élément transposable s'est inséré perd sa fonction: **caractère mutagène**
- b) Si certains des éléments transposables portent un site promoteur: **rôle dans l'expression de l'information d'un gène adjacent**
- c) Si on observe un arrangement de certains gènes : **rôle dans l'organisation**

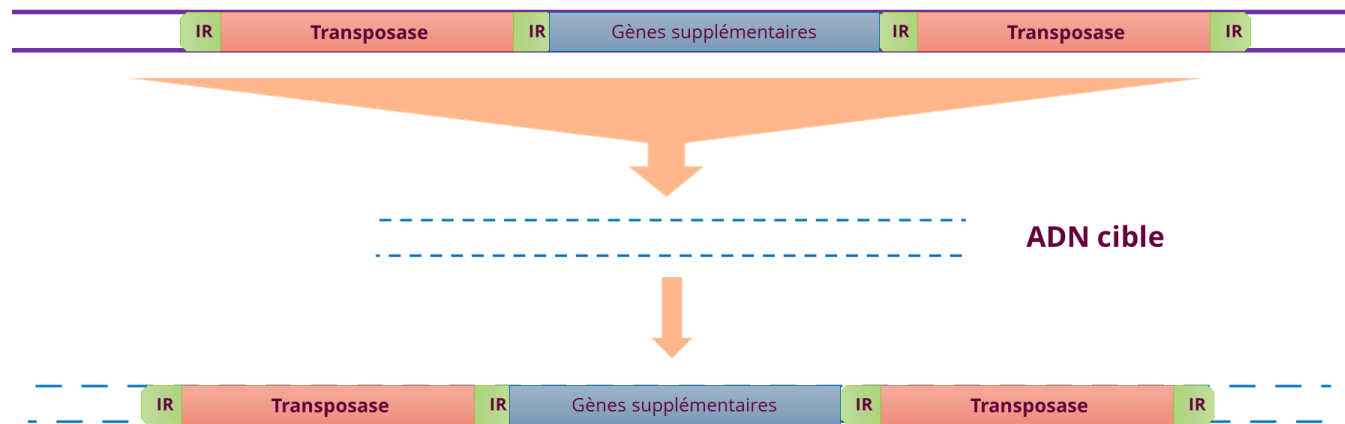
Éléments transposables: les séquences d'insertion (IS)

- Petits éléments génétiques qui ne codent que pour l'information nécessaire à leur transposition
- Les séquences IR (inversées répétées) varient selon les IS: chaque type d'IS a des IR qui lui sont propres
- **Transposase**: enzyme nécessaire à la transposition, elle clive la liaison avec le reste du génome, et réalise la suture de cet élément transposable à un autre endroit du génome.



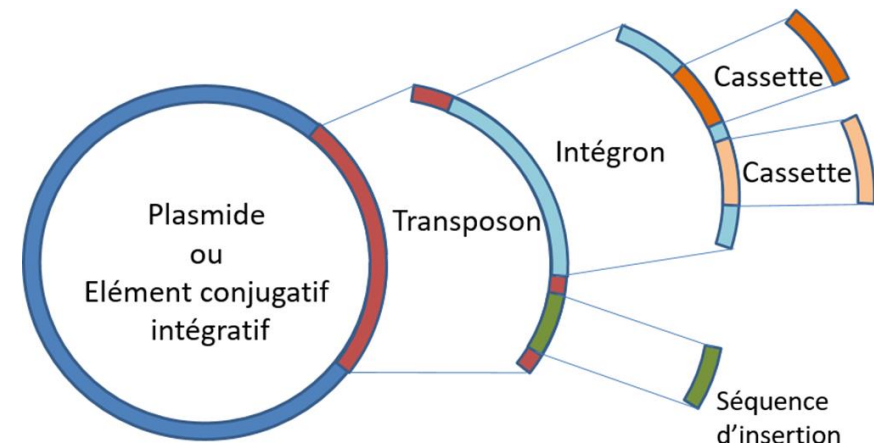
Éléments transposables: les transposons

- **Les transposons** sont des séquences d'ADN mobiles présentes dans le génome bactérien
- Ils contiennent généralement des gènes qui codent pour les enzymes nécessaires à leur propre déplacement
- Ils ne sont pas capables de répllication autonome
- Ces éléments portent des déterminants autres que ceux nécessaires à leur transposition
- Région centrale avec des gènes supplémentaires
- Le nom des transposons composites commence par **Tn**



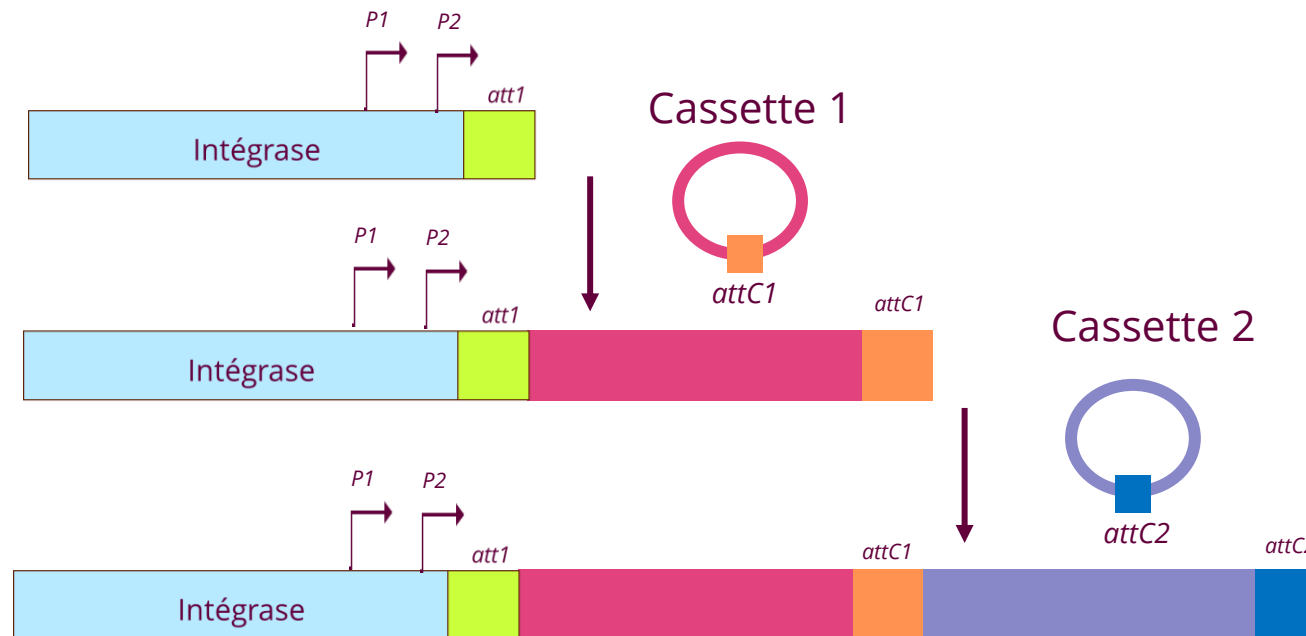
Les intégrons

- Ce sont des éléments propres aux bactéries
- Les intégrons ne sont pas des éléments transposables
- Ils sont situés sur les chromosomes, les plasmides ou les transposons, et piègent des séquences d'ADN appelées «cassettes »



Les intégrons

- Les intégrons sont composés de plusieurs composants principaux
 - **une intégrase** (enzyme qui catalyse l'insertion ou la suppression des cassettes)
 - **un site de recombinaison** (site d'intégration),
 - **Une ou des cassettes** (peuvent être insérées ou retirées de l'intégron)
- les cassettes ne contiennent aucun gène codant pour une protéine permettant leur mouvement
- Les cassettes peuvent contenir des gènes de résistance aux antibiotiques

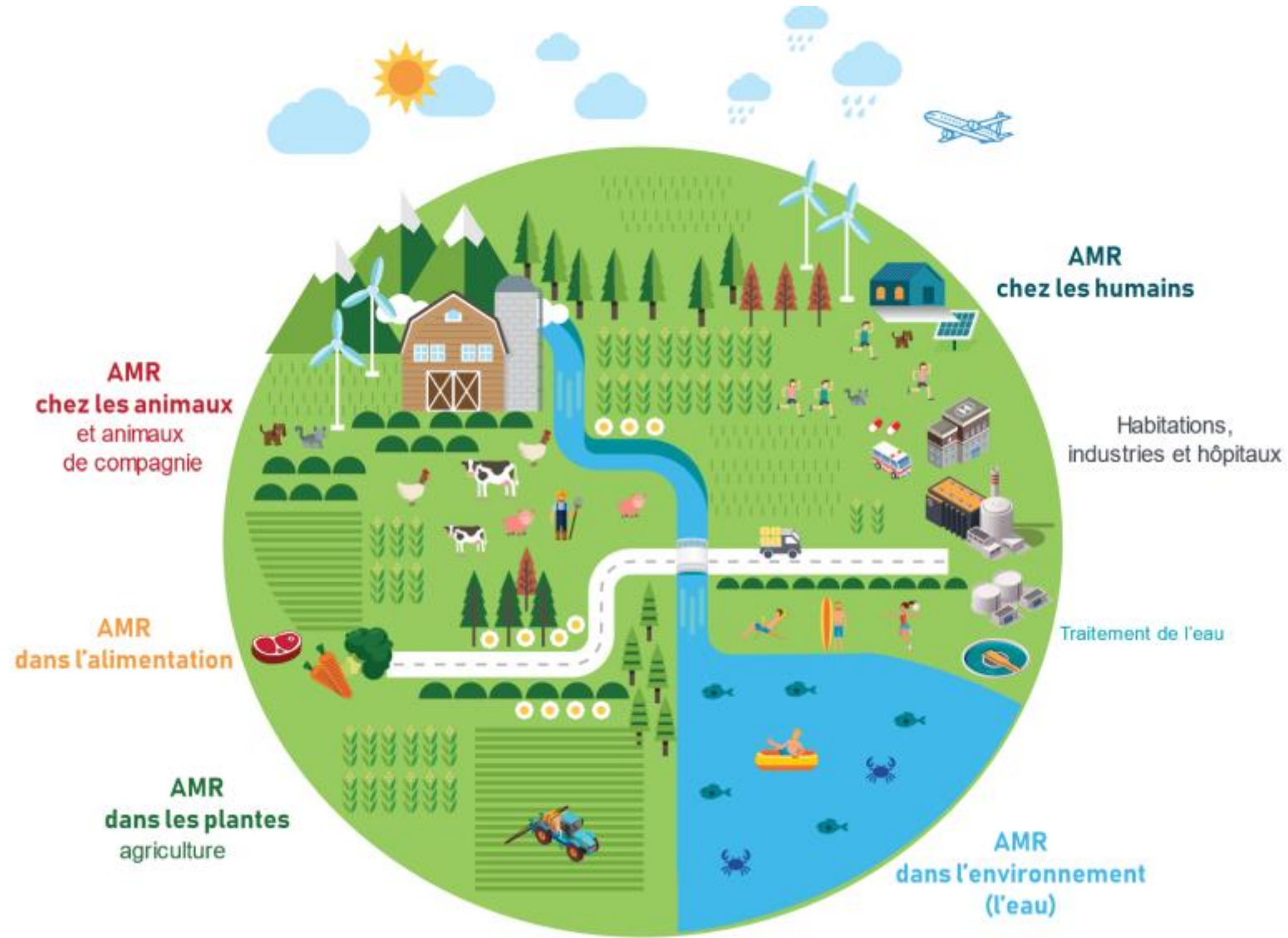


P1: promoteur 1 des cassettes
P2: promoteur 2 des cassettes
att1: site de recombinaison de l'intégrase
attC: site de recombinaison des cassettes

Les variations inter-génomiques

Les transferts génétiques d'une bactérie à une autre

AMR: Resistance aux antimicrobiens (AMR) dans une perspective « One Health »

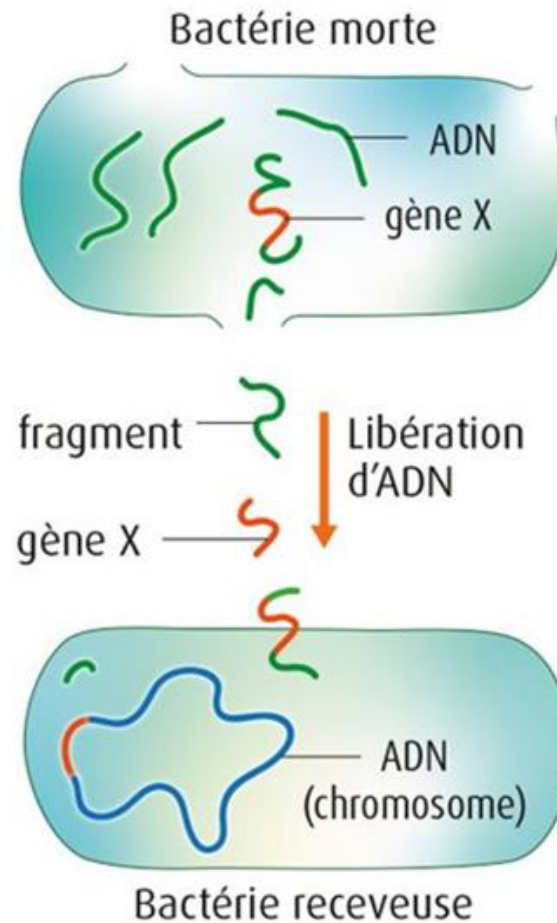


Les transferts génétiques

- **Mécanisme conduisant au transfert d'information génétique dans une bactérie sous la forme d'un fragment d'ADN**
 - **Transformation**
 - **Conjugaison**
 - **Transduction**

1^{er} mécanisme: La transformation naturelle

Transformation



1^{er} mécanisme: la transformation











Expérience qui a prouvé la transformation (Griffith) 1928

Pneumocoque S: colonies lisses (Smooth) de bactéries capsulées, virulentes

Pneumocoque R: colonies rugueuses (Rough) de bactéries non capsulées, non virulentes



Frederick Griffith

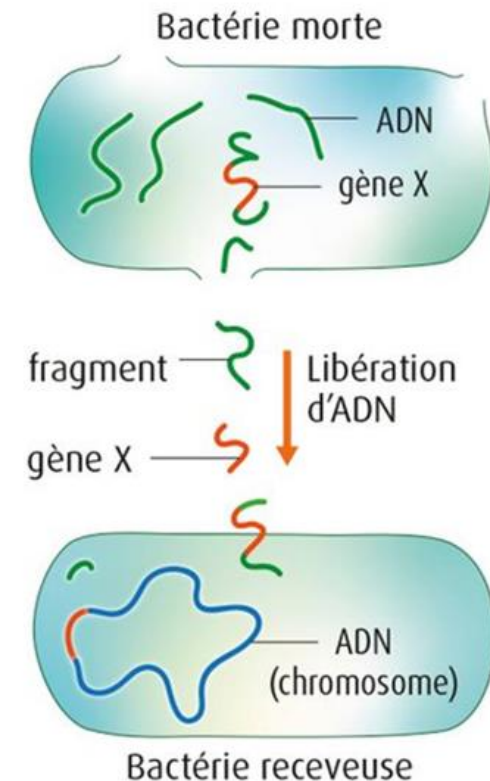
Expériences	État de la souris	Analyse du sang de la souris
 Pneumocoques S vivants	 Mort	 Présence de très nombreux pneumocoques S vivants
 Pneumocoques R vivants	 Survie	Absence de tout pneumocoque
 Pneumocoques S tués	 Survie	Absence de tout pneumocoque
 Pneumocoques S tués Pneumocoques R vivants	 Mort	 Présence de très nombreux pneumocoques S vivants

© Belin Éducation/Humensis, 2020 Manuel SVT Terminale spécialité
© Amélie Veaux

➔ Du matériel génétique venant de bactéries tuées peut encore transmettre de l'information génétique permettant la synthèse d'une capsule par la bactérie vivante

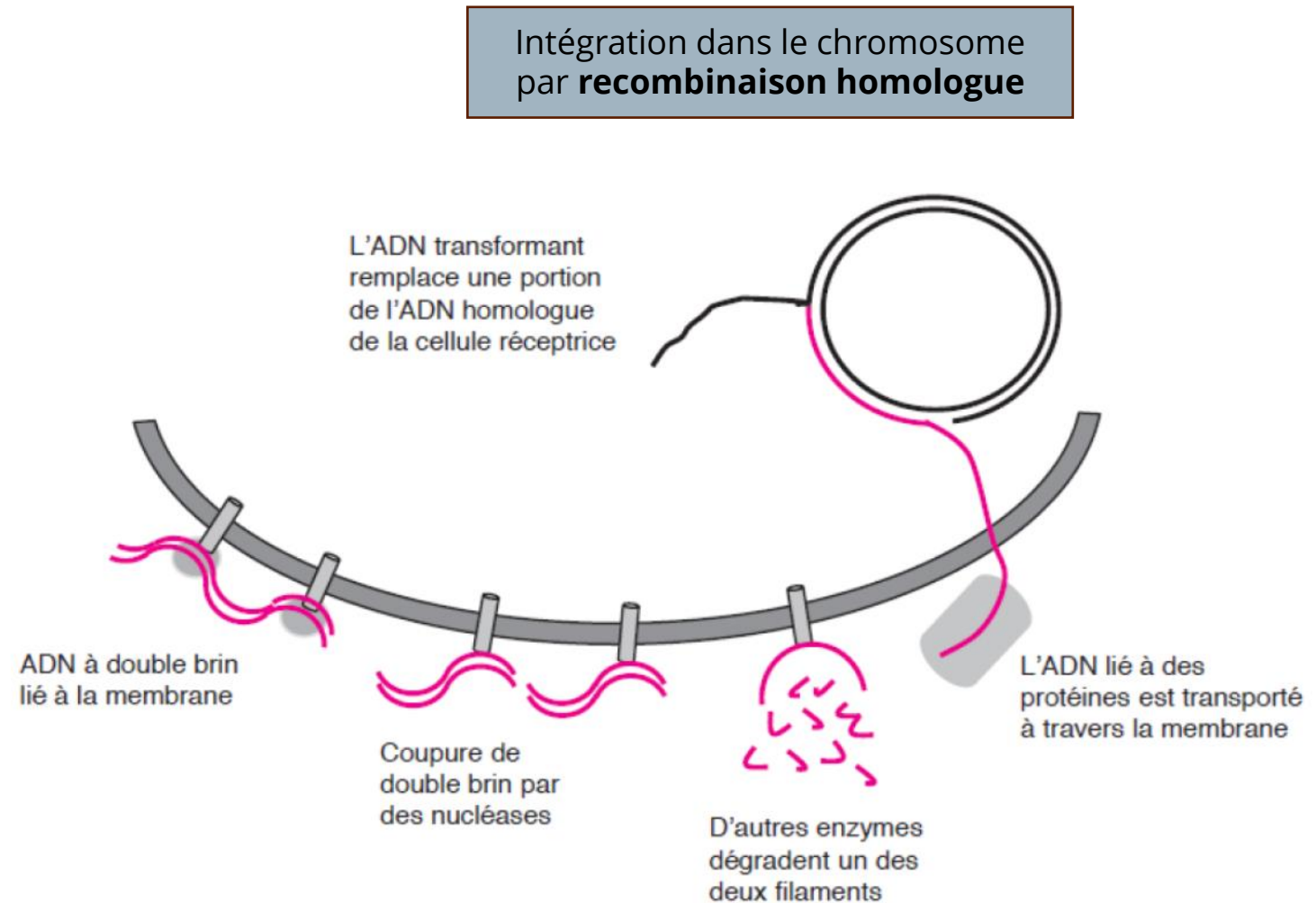
1^{er} mécanisme: la transformation

- **Transfert passif** (pas de dépense d'énergie particulière)
- **D'une bactérie lysée à une bactérie vivante**
- ADN double brin (taille minimale)
- Presque tous les caractères d'un chromosome peuvent être transférés
- La bactérie receveuse doit être dans un état particulier: **COMPETENCE** (naturelle ou artificielle)
- Naturelle: **limitée à quelques espèces** (*Streptocoques*, *Neisseria*, *H. influenzae*....)
- **Transfert partiel** (juste une partie, intéressante pour la bactérie réceptrice)
- **Stables et transmissibles** par la bactérie réceptrice
- Transfert possible entre espèces différentes mais proches génétiquement
- **Recombinaison homologue**



1^{er} mécanisme: la transformation

- Il est nécessaire que la bactérie receveuse soit **compétente** (naturellement ou artificiellement)
- La transformation bactérienne est divisée en trois étapes
 - la capture
 - l'internalisation
 - l'intégration d'ADN exogène



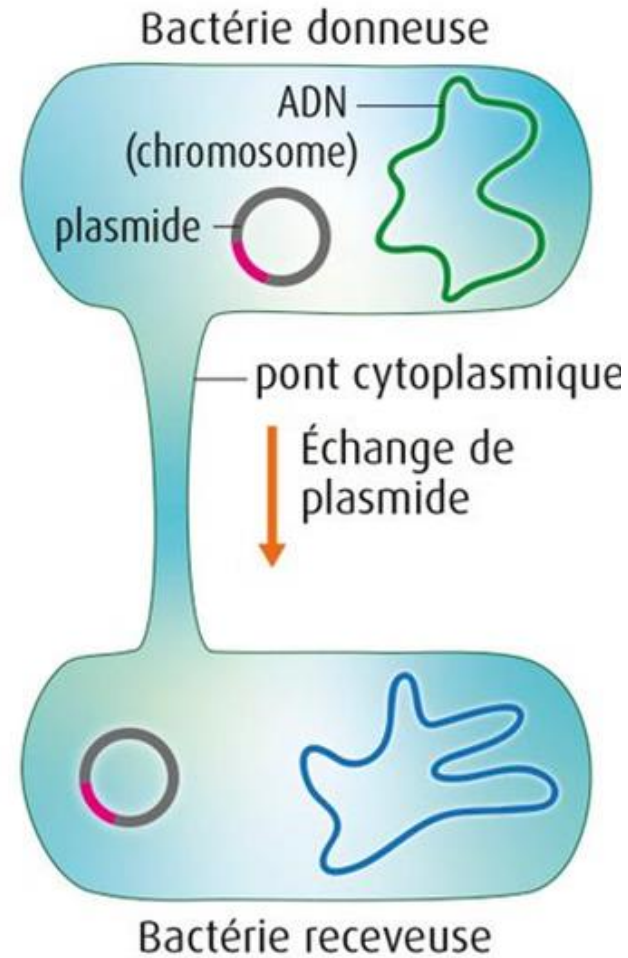
Exemple de transfert génétique de résistance par transformation

Acinetobacter baumannii

- Bactérie ubiquitaire, responsable d'infections opportunistes, pas très fréquentes mais très difficilement traitables (résistance aux carbapénèmes, AB dernier recours à large spectre)
- Résistance à plusieurs antibiotiques: souches d' *A. baumannii* classées comme prioritaires pour la recherche de nouveaux antibiotiques.
- Des analyses de souches multirésistantes indiquent que les gènes de résistance, pouvaient être acquis à partir d'autres bactéries de la même espèce voire d'espèces différentes.
- **Ce transfert est la transformation naturelle.** Une équipe de recherche a montré que cette bactérie est capable d'acquérir plus de 80 gènes lors d'un seul événement de transfert.
- En quelques heures, *A. baumannii* peut modifier plus de 3 % de son génome, lui conférant la capacité de résister à nombreuses classes d'antibiotiques.

2^{ème} mécanisme: la conjugaison

Conjugaison



La conjugaison

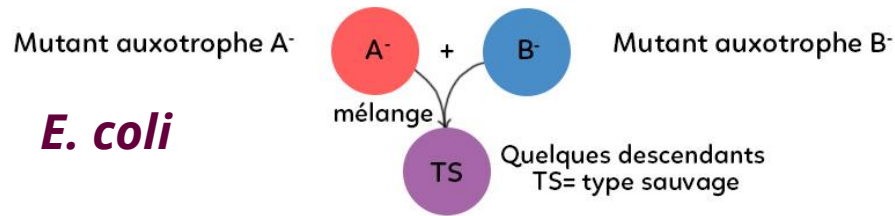
Expérience qui a prouvé la conjugaison (Lederberg et Tatum) 1946



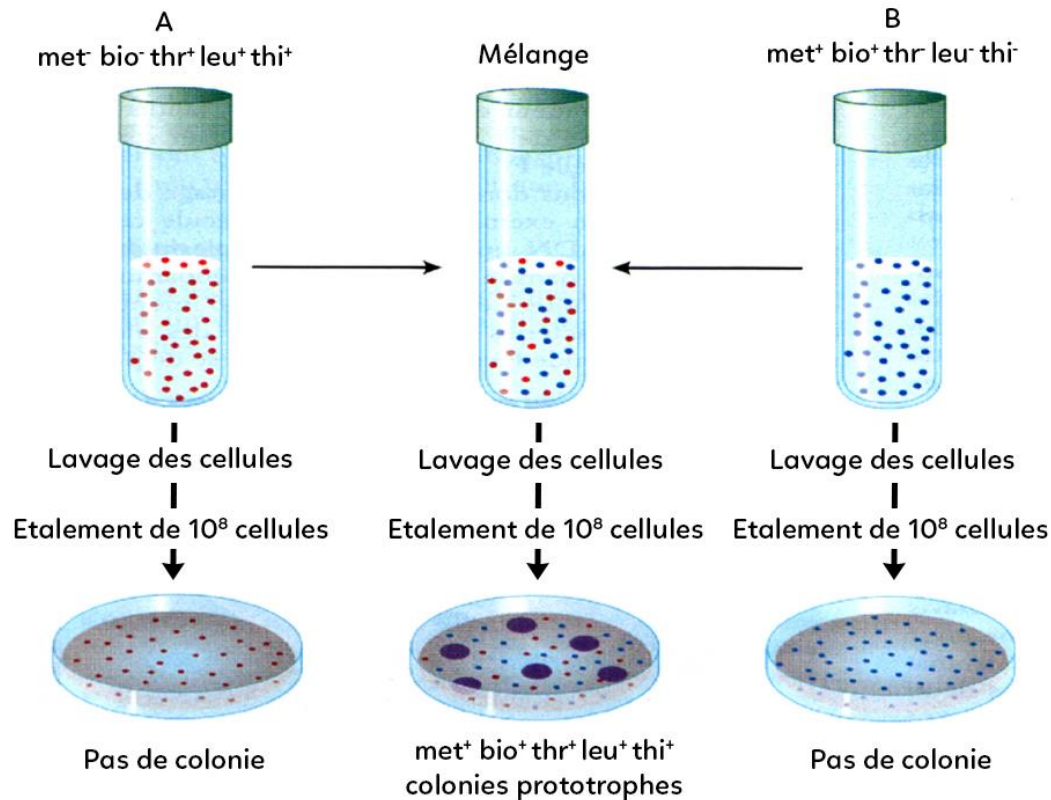
Joshua Lederberg



Edward Lawrie Tatum



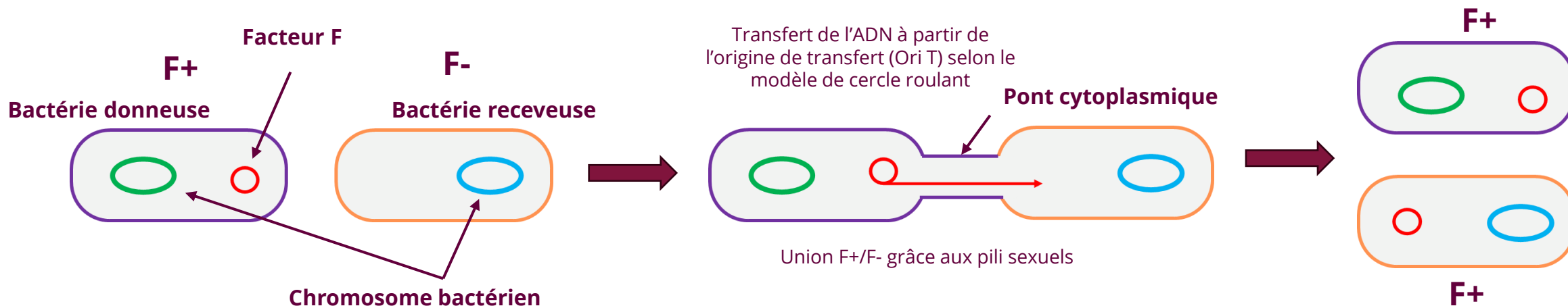
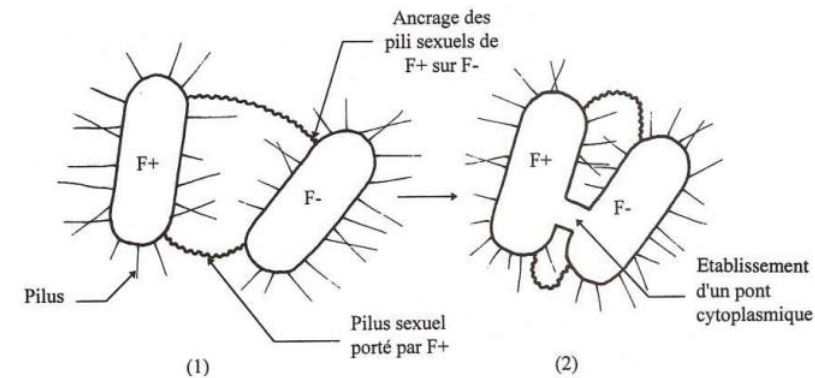
méthionine
biotine
thréonine
leucine
thiamine



- Les 2 souches A et B ont acquis mutuellement la capacité de croître dans un milieu minimum sans les facteurs de croissance dont elles dépendaient
- Transfert génétique unidirectionnel d'un fragment d'ADN par contact direct entre 2 bactéries vivantes

2^{ème} mécanisme: la conjugaison

- Des bactéries donneuses et des bactéries receveuses
- La bactérie donneuse possède **le facteur F** (facteur de fertilité, plasmide F)
- F+: les souches qui portent le facteur F / F-: les souches qui ne le portent pas
- Les souches F+ ont de long « pilus sexuels » qui permettent d'établir des **ponts** cytoplasmiques avec des souches F-.
- Après établissement du contact entre une bactérie F+ et une bactérie F-, le facteur F est transféré **unidirectionnellement** de la souche F+ vers la souche F- (qui devient souche F+)
- **Transfert actif entre 2 bactéries vivantes, intra-espèce ou inter-espèce**



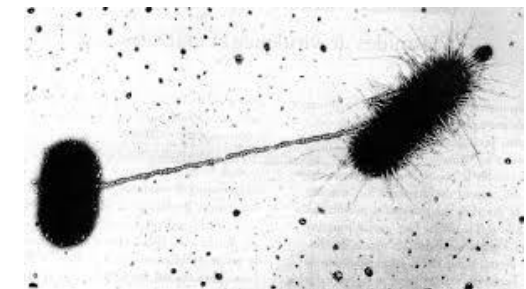
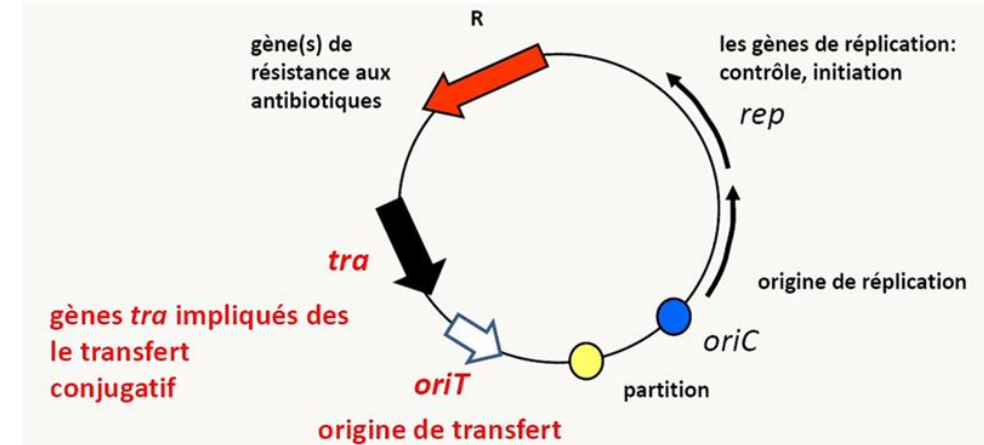
2^{ème} mécanisme: la conjugaison

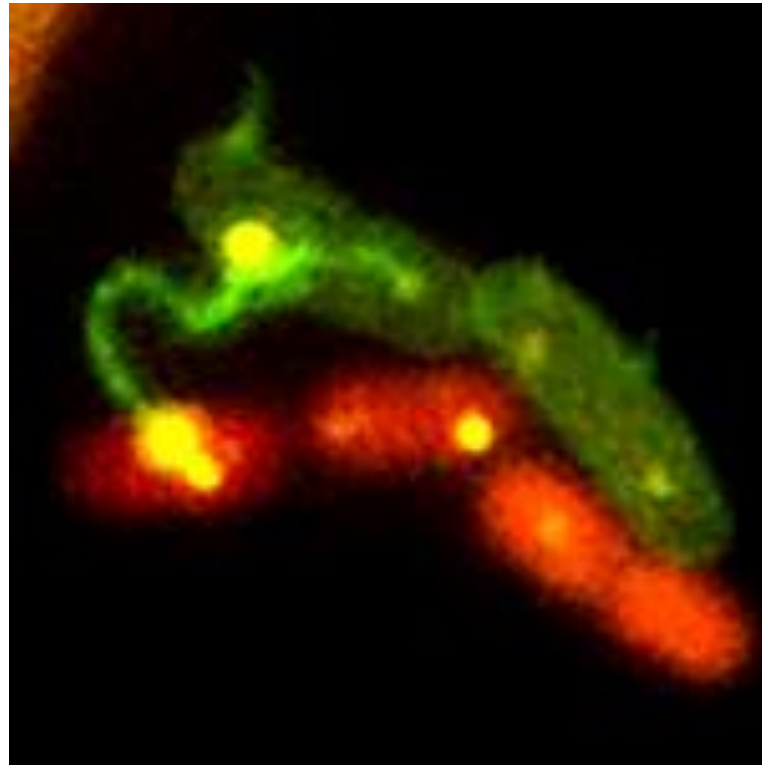
- Facteur F: gros plasmide conjugatif qui contrôle:
 - Sa propre réplication
 - son nombre de copie
 - Son transfert
- Les segments fonctionnels les plus courants constituant les facteurs F sont:

- **La région *tra*:**

- gènes codant la synthèse de pili sexuels
 - gènes codant des protéines d'exclusion de surface qui empêchent l'attachement des pilis sexuels et donc l'appariement de 2 bactéries F+
 - gènes impliqués dans la synthèse et le transfert de l'ADN
 - gènes régulateurs
-
- Une origine de transfert (***oriT***: point de départ du transfert conjugatif)
 - Une origine de réplication (***oriC***)
 - La fonction *part*: contrôle la répartition des plasmides présents dans la bactérie lors de la division

- Le gène du pilus sexuel peut aussi **s'intégrer au chromosome** (bactéries Hfr)





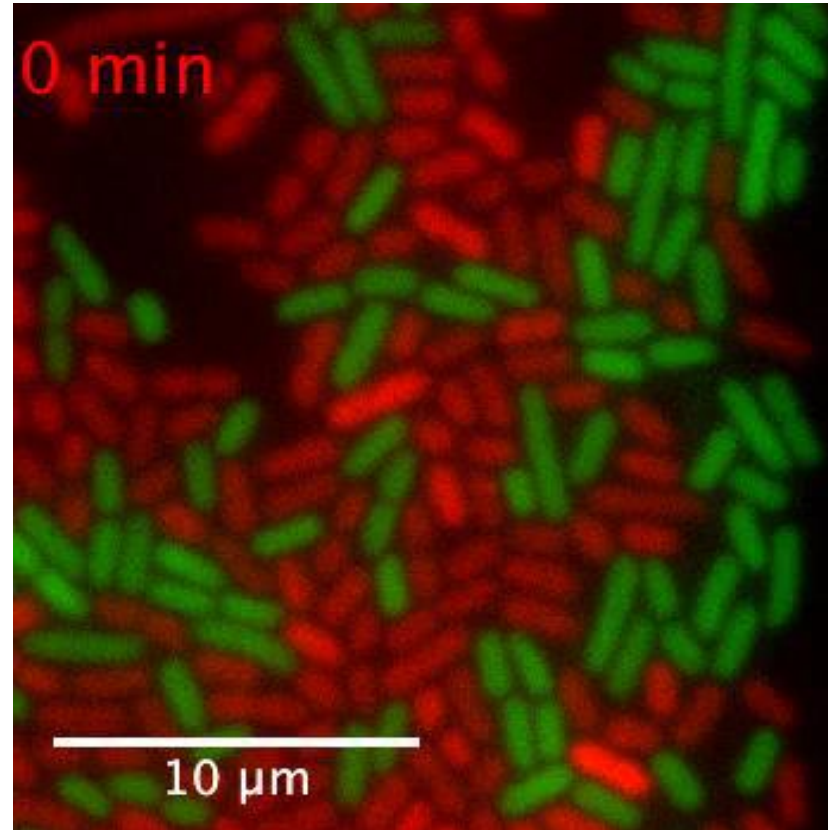
© Kelly Goldlust – Lesterlin LAB (MMSB, Lyon)

Image de microscope à fluorescence montrant le transfert de l'ADN (en jaune) à travers le pilus de conjugaison de la bactérie donneuse (vert) à une bactérie receveuse (rouge).

Exemple de transfert génétique de résistance par conjugaison

l'acquisition de la résistance de la bactérie *Escherichia coli* à la tétracycline

Dans cette expérience, la transmission de l'ADN codant une "pompe à efflux" spécifique – la pompe TetA – a été observée entre une **bactérie résistante (en vert)** et une **bactérie sensible (en rouge)** par marquage fluorescent.



Le transfert d'ADN des bactéries donneuses (vertes) aux bactéries receveuses (rouges) est révélé par l'apparition de foyers de localisation rouges. L'expression rapide des gènes nouvellement acquis est quant à elle révélée par la production de fluorescence verte dans les bactéries receveuses.

Crédit vidéo : Christian Lesterlin/Inserm

Les transposons conjugatifs

- Les transposons conjugatifs (CTNs) ou éléments intégratifs et conjugatifs (ICEs),
- Éléments autotransmissibles
- Possèdent tous les gènes nécessaires pour se transférer d'une bactérie à une autre **par contact cellule à cellule.**
- Le spectre d'hôte des transposons conjugatifs est large
- Composé de trois modules fonctionnels distincts assurant la maintenance, la dissémination et la régulation
- Très souvent impliqués dans
 - les phénomènes de propagation des résistances aux antibiotiques
 - adaptation des bactéries à de nouvelles conditions environnementales

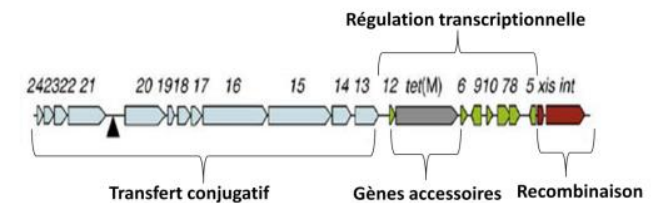
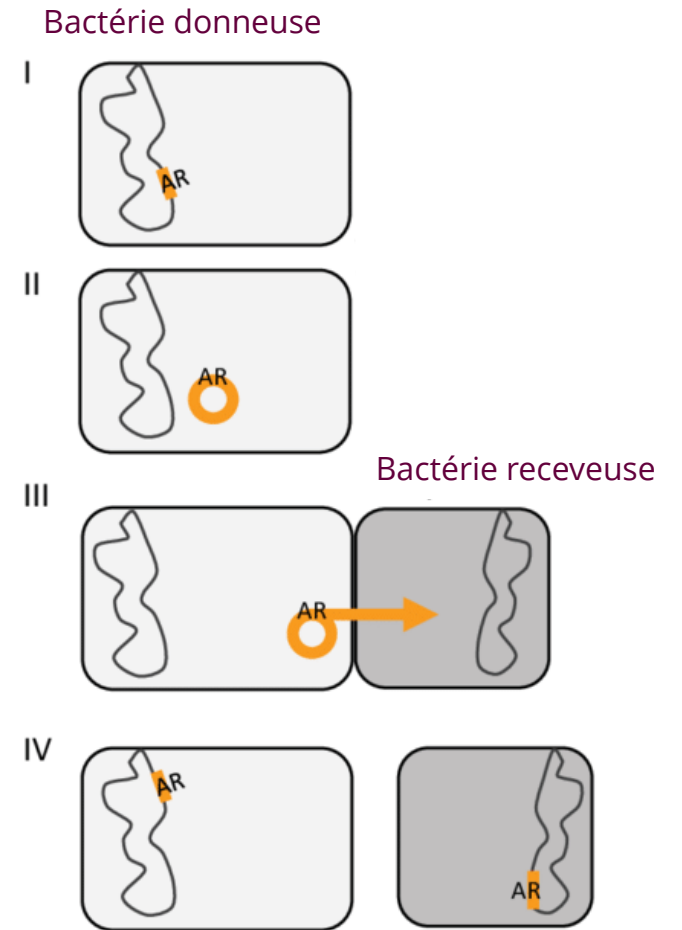


Figure 11 : Représentation schématique du transposon conjugatif Tn916 (Adam P. Roberts, 2009). Le triangle noir indique la position de l'*oriT*; *tet(M)* = gène de résistance à la tétracycline; *xis* = excisionase; *int* = tyrosine recombinase.

Le transfert conjugatif des CTns

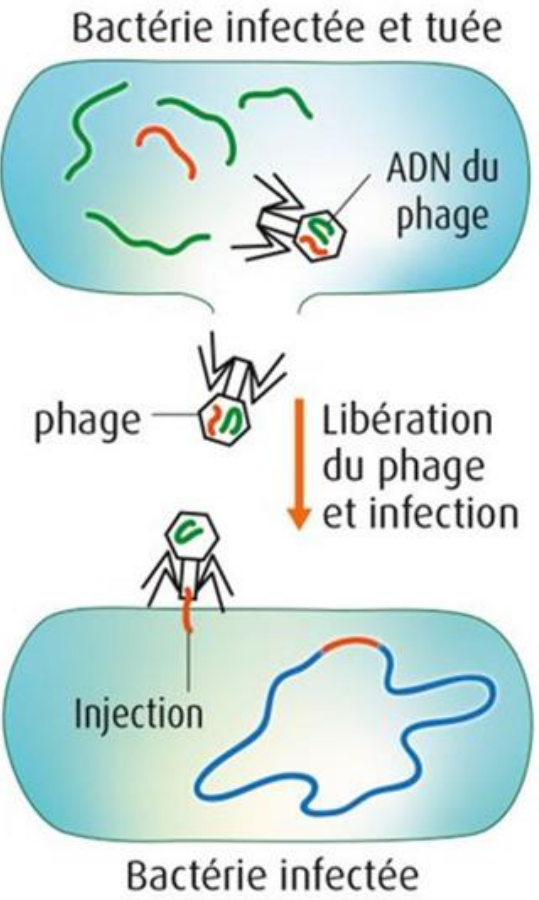
- I. Le transposon conjugatif (jaune) est situé sur le chromosome de la bactérie donneuse.
- II. Le transposon est excisé du chromosome et un transposon intermédiaire circulaire est formé (IC). Simultanément, l'ADN donneur est refermé.
- III. L'intermédiaire circulaire est transféré par conjugaison du donneur à une bactérie réceptrice en contact étroit.
- IV. L'IC est intégré dans un nouveau site cible, sur le chromosome de la bactérie réceptrice.



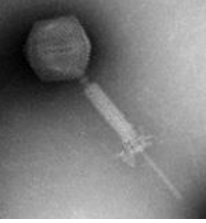
AR : résistance aux antibiotiques

La transduction

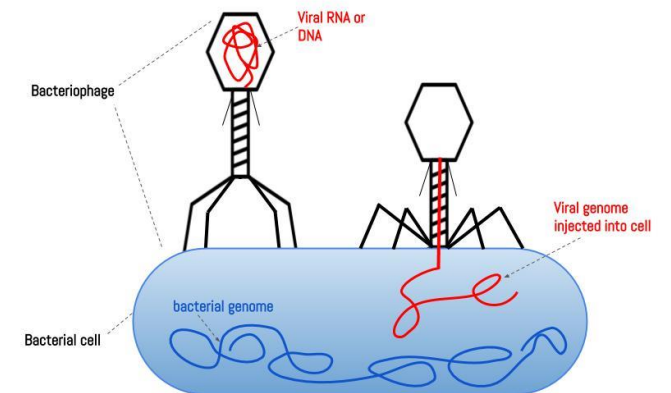
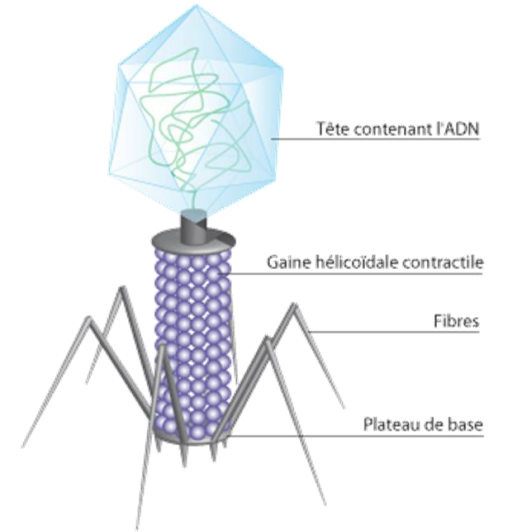
Transduction



La transduction

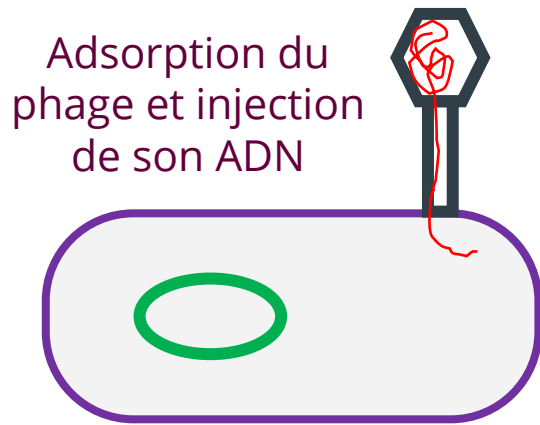


- Transfert d'une partie du génome d'une bactérie à une autre grâce à un **phage**
- Phage = bactériophage = virus infectant une bactérie
- Ils pénètrent dans les bactéries grâce à des **récepteurs spécifiques** situés dans la paroi bactérienne.
- Il existe 2 types de phages
 - Phages **virulents** qui induisent un **cycle lytique**
 - Phages **tempérés** qui induisent un cycle **lysogénique**



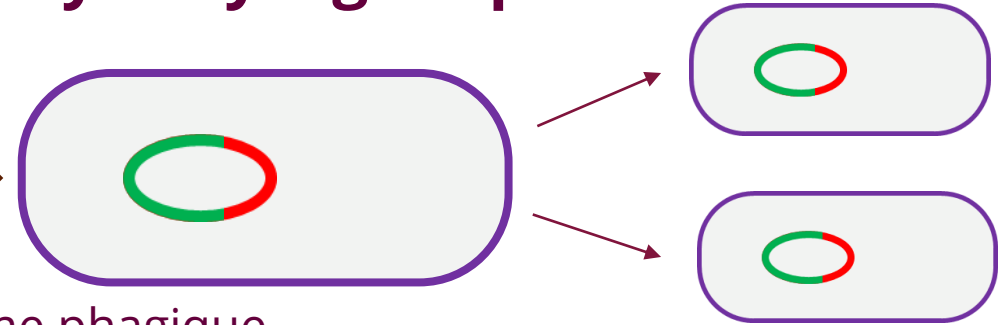
La transduction

Infection



2 possibilités

Cycle lysogénique



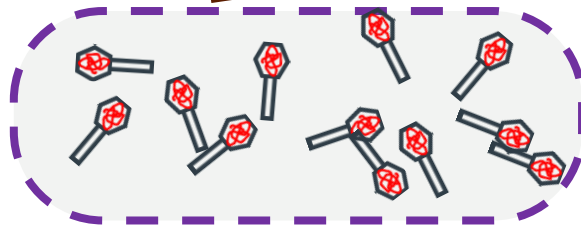
Génome phagique intégré = forme **prophage**

Occasionnellement le prophage peut être excisé et initier un cycle productif lytique

Phages virulents

Lyse de la bactérie et libération des phages

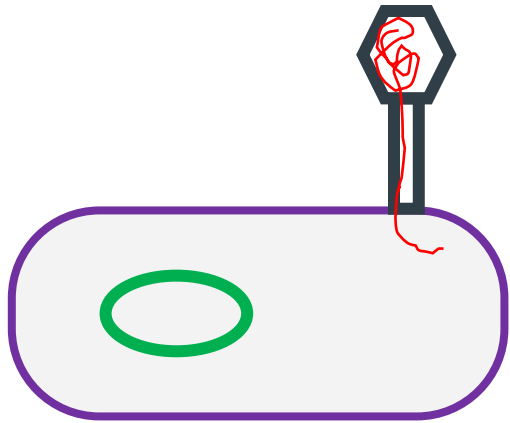
Cycle Lytique



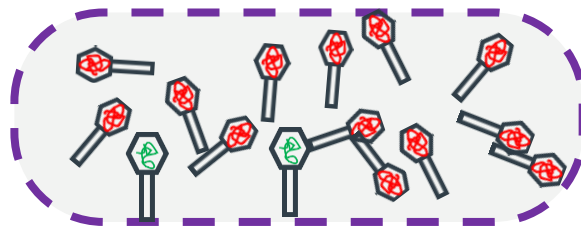
La transduction généralisée

Adsorption du **phage virulent** et injection de son ADN. Le génome du phage dirige la machinerie métabolique de la bactérie pour fabriquer des composants et des enzymes de bactériophages

Adsorption du phage portant l'ADN de la bactérie donneuse sur la bactérie receveuse.

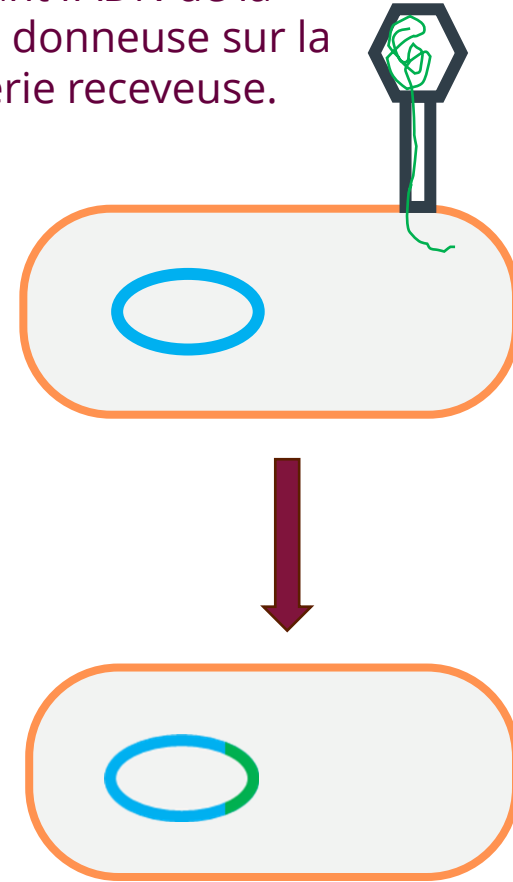


Occasionnellement, une capsid de bactériophage assemble un fragment d'ADN de la bactérie donneuse au lieu d'un génome de phage par erreur



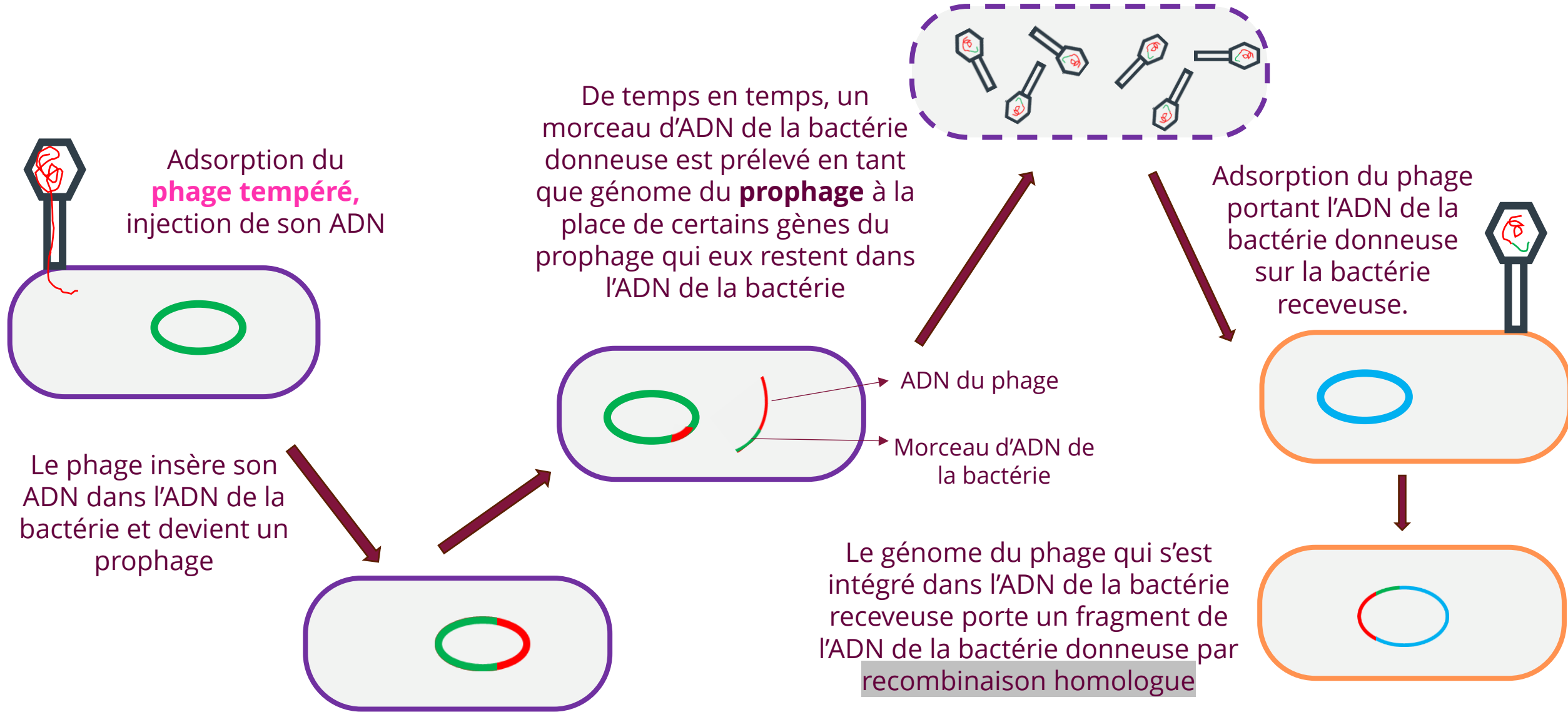
Lyse de la bactérie et libération des phages

L'ADN s'insère dans l'ADN de la bactérie receveuse par **recombinaison homologue**.



Dans la transduction généralisée, toutes les parties du génome de la bactérie donneuse peuvent être transportées par le phage

La transduction spécialisée

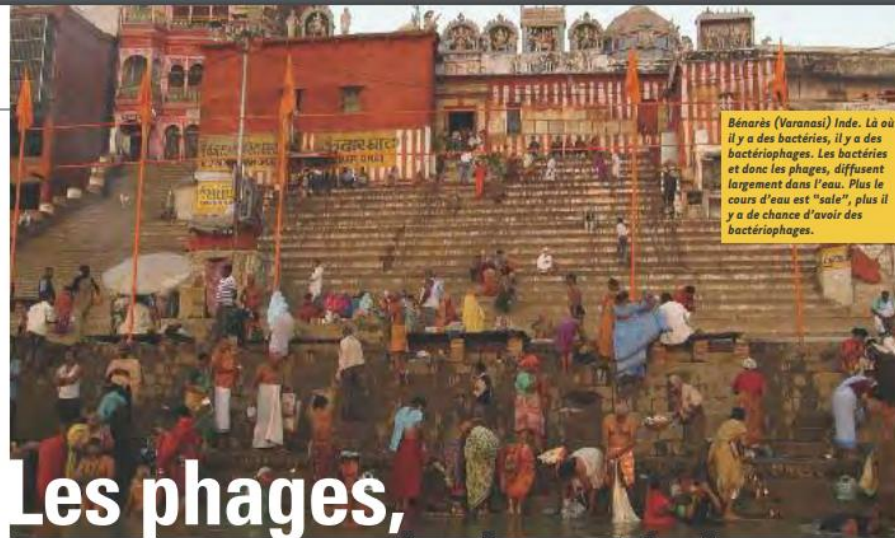


Dans la transduction spécialisée, l'ADN d'une région spécifique du chromosome de la bactérie donneuse est intégré directement dans le génome du phage.

La conversion lysogénique

- C'est l'apparition de caractères nouveaux chez des bactéries infectées par un bactériophage tempéré
- **Processus différent de la transduction car le caractère transmis vient du bactériophage lui-même et non de la bactérie**
- C'est une addition de matériel génétique et non une substitution
- Exemple de conversions lysogéniques responsable de la pathogénicité de souches bactériennes:
 - toxine par *Corynebacterium diphtheriae* est médiée par un gène porté par un phage.
 - toxines Stx des *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC).
 - toxine cholérique de *Vibrio cholerae* qui est portée par le phage CTX.

<i>S. aureus</i> Pneumonies nécrosantes	<ul style="list-style-type: none">• Leucocidine de Panton-Valentine• Gènes phiSLT et phiPVL portés par un prophage...
<i>V. cholerae</i> Choléra	<ul style="list-style-type: none">• Toxine cholérique• Gènes CtxA et CtxB portés par le prophage CTX-Phi...
<i>E. coli</i> (O104:H4, O157:H7, ...) SHU, colites hémorragiques	<ul style="list-style-type: none">• Shigatoxine• Gène Stx1 et Stx2 portés par un prophage...



Bénarès (Varanasi) Inde. Là où il y a des bactéries, il y a des bactériophages. Les bactéries et donc les phages, diffusent largement dans l'eau. Plus le cours d'eau est "sale", plus il y a de chance d'avoir des bactériophages.

Les phages, ces tueurs de bactéries

1896. Le Gange à la confluence des croyances et de la science. Tant de baigneurs au même endroit, voilà qui doit créer un impressionnant bouillon de culture!

Le phénomène surprend Ernest Hankin, un bactériologiste britannique missionné en Inde, qui étudie le Gange et un de ses affluents le Yamuna. Il remarque qu'il y a peu de bactéries par rapport aux risques de contamination. "Comment se fait-il que lorsque le choléra éclate sur un lieu de pèlerinage, placé sur les rives d'un des fleuves, il ne descende pas dans les villages placés en aval?" Le choléra étant une maladie hydrique, c'est-à-dire

riennes (plage de lyses) ⁽¹⁾. En 1922, Félix d'Hérelle nomme cette entité biologique "bactériophage", les mangeurs de bactéries. Le chercheur envisage immédiatement leur utilisation pour éliminer des bactéries pathogènes et traiter des infections. Il est ainsi considéré comme le précurseur de la phagothérapie (la thérapie par les phages). "Puisque ces virus sont capables de tuer une espèce de bactérie, pourquoi ne pas les utiliser pour éliminer une bactérie pathogène?" C'est la base de la phagothérapie (lire page 12).

Présents dans l'ensemble de la biosphère

moléculaire. Actuellement, avec l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, les phages sont considérés comme une alternative plus que prometteuse aux antibiothérapies classiques."

(1) En biologie, la lyse est la destruction de la membrane plasmique de cellules eucaryotes ou bactéries par action d'un agent physique, chimique ou biologique et menant à la mort de la cellule. Les produits résultants sont des lysats.

> BIO EXPRESS

ERNEST HANKIN, bactériologiste anglais, en mission en Inde, a étudié la malaria, le choléra et

résistantes aux antibiotiques

Phagothérapie, pour ou contre...

POUR

- **Spécificité** : un phage/une espèce bactérienne
- **Ennemis naturels des bactéries** : les bactériophages thérapeutiques lytiques sont incapables de s'associer au génome bactérien
- **Traitement rapide**
- **Auto réplcatif**
- **Production rapide et peu chère** : un avantage pour les pays en voie de développement qui manquent de moyens pour traiter les infections.
- **Pas d'effets secondaires observés**
- **Effet synergique avec les antibiotiques**

CONTRE

- **Spécificité** : un phage/une espèce bactérienne; il faut trouver le bon!
- **Attention aux phages tempérés (cycle lysogénique)**. Certains phages sont capables d'apporter des propriétés nouvelles aux bactéries (résistances aux antibiotiques, virulence, toxines, etc.) et de s'intégrer à leur génome
- **Phages à apporter sur le lieu de l'infection** : or ces virus, bien que très petits, ont une taille supérieure aux molécules médicamenteuses et ne diffusent pas aussi facilement
- **Développement de résistance** : contrairement aux antibiotiques, molécules inertes purifiées ou produites par le génie humain, les phages évoluent sans cesse avec les bactéries. Lorsque la seconde (la bactérie) évolue, le premier (le phage) s'adapte
- **L'opinion publique** : se faire soigner avec un virus ?!

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM)

Pourcentage résistance



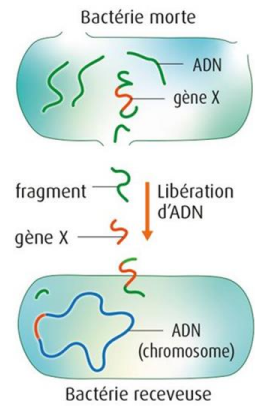
L'augmentation inquiétante des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Pourcentage de staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM) en 2010 en Europe.



Les transferts génétiques: conclusions

Transformation

ADN libre, en solution



Naturelle (état de compétence)

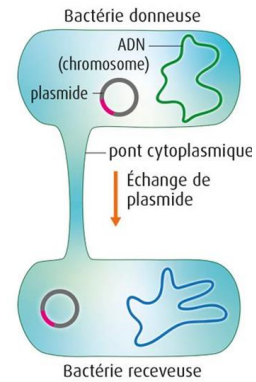
H. influenzae
S. pneumoniae
Neisseria

Induite (traitement thermique ou chimique)

E. coli

Conjugaison

Contact bactérie donatrice/réceptrice

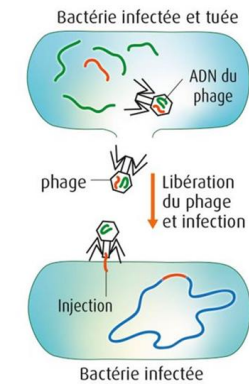


Intra-genre

Inter-genre

Transduction

ADN porté par un phage



Généralisée

Spécialisée

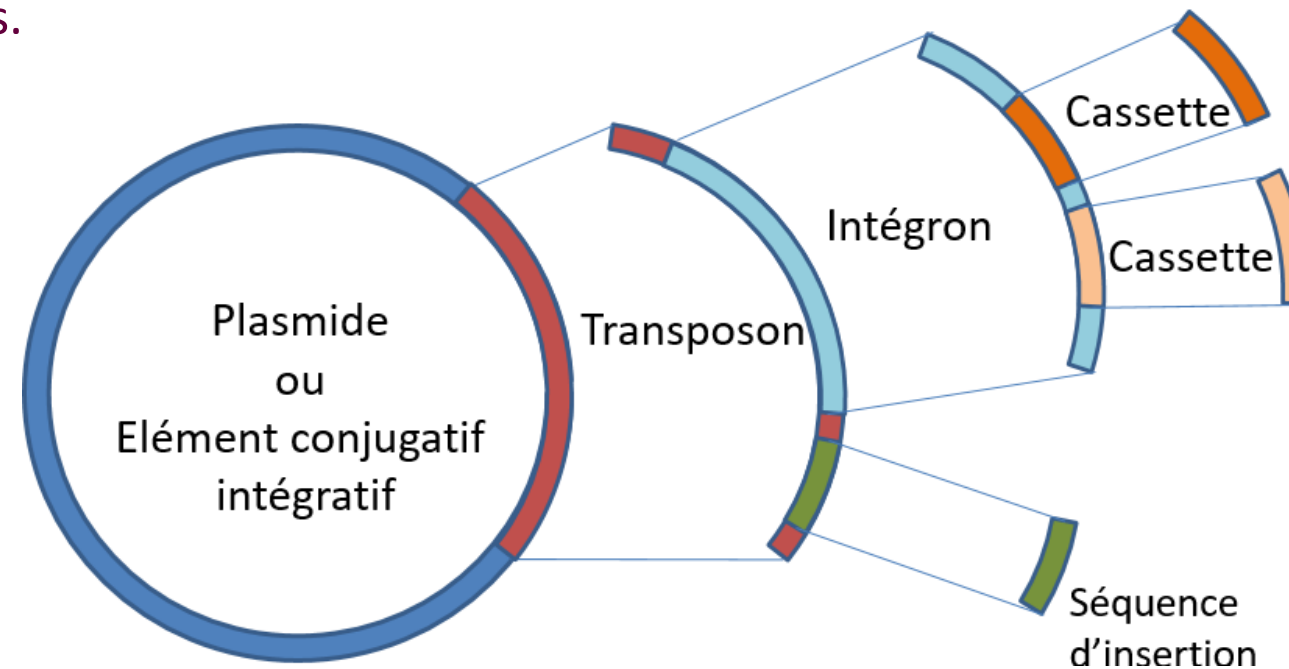
Mécanismes impliquant une homologie entre l'ADN de la bactérie donatrice et celui de la réceptrice, permettant une **recombinaison homologue**

(Adapté Éditions Belin 2020)

Les éléments génétiques mobiles

Relation entre les éléments génétiques mobiles (EGM)

- Les EGM sont des éléments très plastiques qui peuvent s'imbriquer les uns dans les autres.
- Les informations génétiques responsables de la résistance aux antibiotiques sont très souvent portées par des EGM
- Les EGM s'imbriquent pour former des structures complexes pouvant rassembler plusieurs gènes de résistance aux antibiotiques.



Conclusion

Type de variation

Intra-génomique

Inter-génomique

Mécanisme impliqué

Transposition

Mutation

Conjugaison

Transduction

Transformation
naturelle

L'information transmise peut être portée par:

Séquence d'insertion
Transposon

Plasmide F
Transposon conjugatif

Phage

ADN libre

Pourquoi s'intéresser à la génétique bactérienne?

- On peut faire évoluer les bactéries en laboratoire:
 - Intérêt dans la compréhension des bactéries pathogènes
 - Intérêt dans le domaine des biotechnologies
 - Intérêt dans la recherche de nouveaux traitements antibactériens

