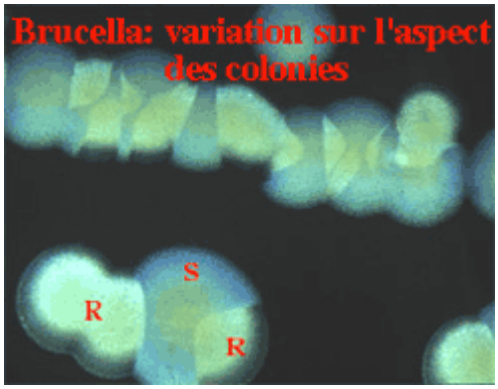
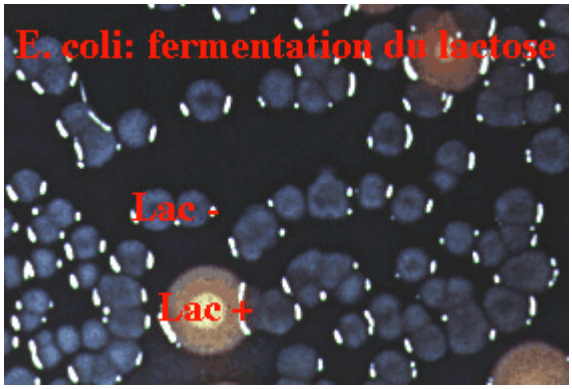
GENETIQUE BACTERIENNE II

Donc les bactéries varient comme sur l'aspect des colonies, l'aptitude à utiliser un substrat.....





La génétique bactérienne est ainsi la science de la variation.

Est-elle aussi celle de l'hérédité, née de croisement ou hybridation entre variétés ou espèces différentes ?

Or les bactéries sont haploïdes.....Néanmoins des possibilités existent

TRANSFERTS DE MATERIEL GENETIQUE

Objectifs d'aujourd'hui :

Combien de types de transfert d'ADN existe-t-il chez les bactéries ?
Donner la définition de la transformation
Donner la définition de la conjugaison
Donner la définition de la transduction
Pouvez-vous préciser leurs principales caractéristiques ?
Quelles ont été les conséquences scientifiques de ces transferts ?
Quelles sont les conséquences médicales de ces transferts ?

A - INTRODUCTION

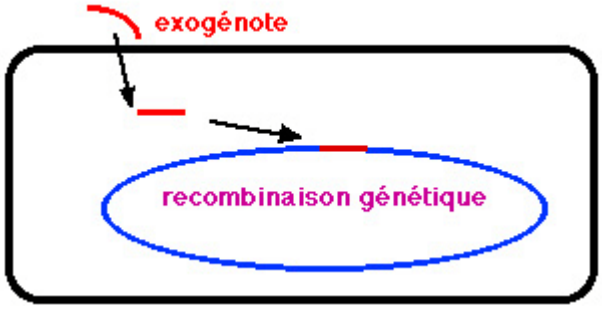
La reproduction par scissiparité est bien monotome, même pour une bactérie. Pourquoi ne pas envisager que les bactéries aient leurs transports (cf dictionnaire Robert par exemple) !!!!!!

Ceux-ci ont été initialement impliqués dans le processus d'adaptation des bactéries à leur environnement, en faisant intervenir des transferts d'ADN bactérien (1920-1965).

Combien et quels sont-ils ?
*** la transformation * la conjugaison * la transduction**

Ces transferts d'acide désoxyribonucléique (ADN) bactérien **doivent être suivis de recombinaison génétique** dite légitime (s'il provient d'une même espèce ou d'une espèce voisine). Dans d'autres

circonstances, l'ADN peut ne pas se recombiner (cf plasmide). Ces transferts sont unidirectionnels, le plus souvent partiels (1 à 2 % du génome transféré) et d'efficacité faible (fréquence de recombinaison de l'ordre de 10^{-6}).



Pour en savoir plus :
http://penguin.d.umn.edu/lectures/Hawley/genetrans/Gene.htm

B - LA TRANSFORMATION BACTERIENNE

Définition

La transformation "naturelle" ou physiologique est le premier modèle connu de transfert de matériel génétique lui-même (ADN), qui est fixé et absorbé par des bactéries réceptrices, dites en état de compétence. Ce modèle a permis de démontrer que l'ADN était le support chimique de l'hérédité en 1944.

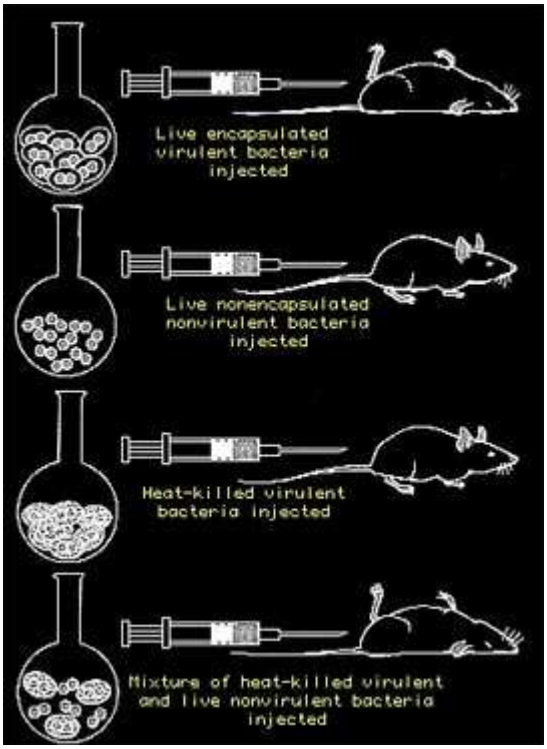
Historique

1928

Frederick Griffith discovers transformation in bacteria and establishes the foundation of molecular genetics. He shows that injecting mice with a mixture of live, avirulent, rough *Streptococcus pneumoniae* Type I and heat-killed, virulent smooth *S. pneumoniae* Type II, leads to the death of the mice. Live, virulent, smooth *S. pneumoniae* Type II are isolated from the dead mice. Not until the 1930's, did Avery, Macleod and McCarty take up Griffith's work and try to explain the results.

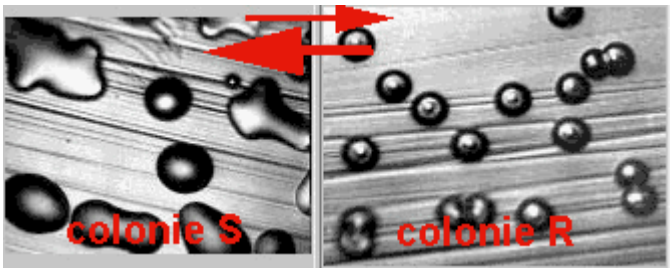
Griffith, F. 1928. The significance of pneumococcal types. J. Hyg. **27**, 113-159.

Pour en savoir plus :
http://www.scisoc.org/opae/forty.htm



Pour en savoir plus :
http://tidepool.st.usm.edu/crswr/transformation.html

Les essais de transformation des pneumocoques R (colonie rough) en S (colonie Smooth) ont été finalement possibles en 1944 avec l'équipe d'Avery du Rockefeller Institute à New York.

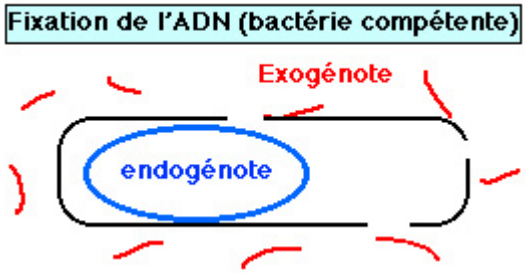


Pour en savoir plus :
http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/A/Avery.html

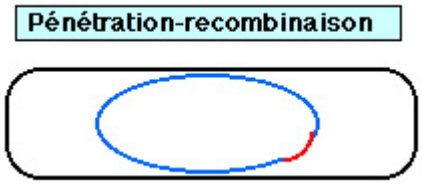
http://www.genethon.fr/projets/HistoireBM/HistoireBM.html#griffith.

Caractéristiques

D'une part, il doit y avoir de l'ADN libéré d'une bactérie (exogénote). D'autre part celui-ci doit être fixé sur une bactérie réceptrice en phase de compétence



Cette **absorption d'ADN polymérisé** est suivie d'une **recombinaison génétique légitime** avec acquisition de nouveaux caractères génétiques stables, donc transmissibles à la descendance dénommés recombinants ou transformants.



Voulez-vous voir une animation:
http://www.fda.gov/cvm/antiresistvideo.htm

Ce transfert naturel d'ADN bactérien est **limité à quelques espèces** telles Streptococcus dont *S. pneumoniae*, *Neisseria*, *Haemophilus*..... Il est **partiel** : une partie de l'exogénote (**1-2% du génome**) pénètre et se recombine (si homologie suffisante).

Applications scientifiques

* Ce mode de transfert a un **grand intérêt historique** : L'ADN est bien le support chimique de l'héridité, et non les protéines.

* Il a permis l'**établissement des premières cartes génétiques partielles chez les bactéries**, et donc des études plus précises sur la virulence, la résistance aux antibiotiques.....

* C'est une **technique de base du génie génétique**, utilisée quotidiennement dans les laboratoires lors de clonage.

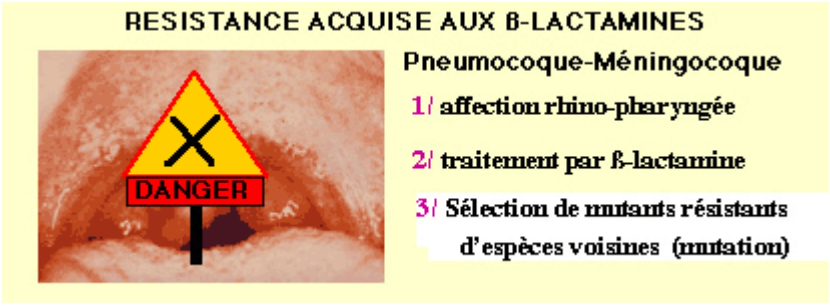
* Le concept de transférer de l'ADN par simple contact **a été développé avec des ADN viraux** dans les années 65, d'où le terme de **transfection**.

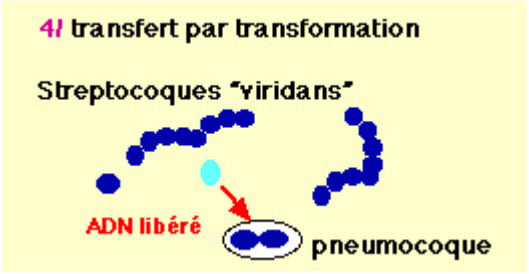
* La découverte ultérieure de la **transformation "artificielle"** a permis alors de transférer divers ADN sous forme de chimère ou hydride comme un plasmide sur lequel sont clonés des gènes bactériens, animaux ou humains à des bactéries non transformables naturellement comme ***E. coli***.

* Pour les espèces non transformables, la technique d'**électroporation** liée à la "création de pores" dans la paroi bactérienne lorsque des impulsions électriques à haute tension sont appliquées lors de la culture a été proposée par la suite. La durée et l'intensité de l'impulsion sont à définir pour chaque espèce.

En bactériologie médicale, son intérêt est lié à l'émergence d'espèces **résistantes aux antibiotiques comme le pneumocoque** ou récemment, le **méningocoque**.

Cette émergence de la résistance, à la pénicilline G par exemple, a été lente depuis l'introduction des antibiotiques. En fait ce phénonème n'a été possible qu'après sélection de mutants résistants (streptocoques buccaux) lors d'antibiothérapie puis de transfert du ou des gènes de cette résistance par transformation naturelle à l'espèce pathogène potentielle en situation de portage.





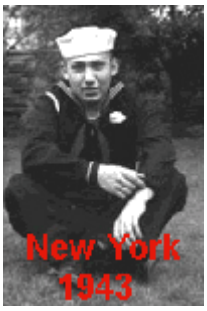
Haut

C - CONJUGAISON OU SEXUALITE BACTERIENNE

Définition

Processus sexuel strict qui nécessite un **contact préalable** et un appariemment entre bactéries de sexe différent (hétérothalliques) avec la formation d'un pont cytoplasmique permettant les échanges bactériens dont celui du chromosome. Le **facteur de sexualité ou de fertilité (F)** permet la synthèse de **pilis sexuels** chez la bactérie donatrice ou mâle et donne la polarité au chomosome. Le transfert d'ADN chromosomique est à sens unique, orienté, progressif et quelquefois total (2 h).

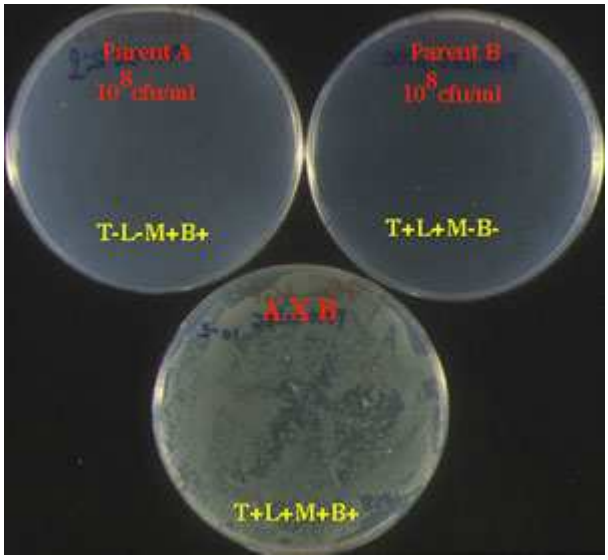
Historique



Joshua Lederberg and **Edward L. Tatum** publish on conjugation in bacteria. The proof is based on the generation of daughter cells able to grow in media that cannot support growth of either of the parent cells. Their experiments showed that this type of gene exchange requires direct contact between bacteria. At the time Lederberg began studying with Tatum, scientists believed that bacteria reproduced asexually, but from the work of Beadle and Tatum, Lederberg knew that fungi reproduced sexually and he suspected that bacteria did as well.

Pour en savoir plus :
http://www.profiles.nlm.nih.gov/BB/Views/Exhibit/

J. LEDERBERG et E. TATUM en 1946 mélangèrent dans un milieu liquide, 2 mutants polyauxotrophes d'*E. coli* K12: 10^8 T-L-M+B+ et 10^8 T+L+M-B- (exigence en thréonine, T- ; leucine, L- ; méthionine, M- et biotine B-). Après plusieurs heures de contact, l'étalement de 10^8 bactéries sur un milieu synthétique sans T, L, M et B est suivi, après incubation, de la croissance d'une centaine de colonies à la surface du milieu. Ces clônes ainsi que leur descendance sont T+ L+ M+ B+. Il ne pouvait s'agir de mutants doublement réverses (probabilité de l'ordre de 10^{-14}) mais de recombinants.

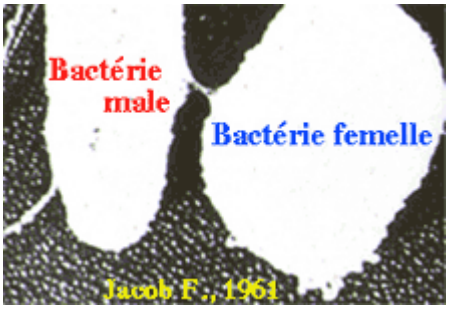


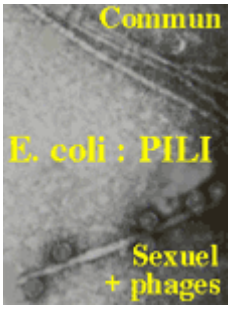
Caractéristiques

- Spécificité - Fréquence : Le transfert d'ADN chromosomique suivi de recombinaison est spécifique (intra espèces), mais limité, en particulier aux espèces à Gram négatif telles *E. coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* et aussi chez les *Streptococcus*. Par contre, ce mode de transfert d'information génétique est très largement rencontré dans le monde bactérien lorsqu'il s'agit de transfert de plasmides conjugatifs (Tra+) porteurs ou non de transposons. La spécificité est, dans ce cas, variable selon le type de plasmides, certains ayant un large spectre (Inc P-1, par exemple).

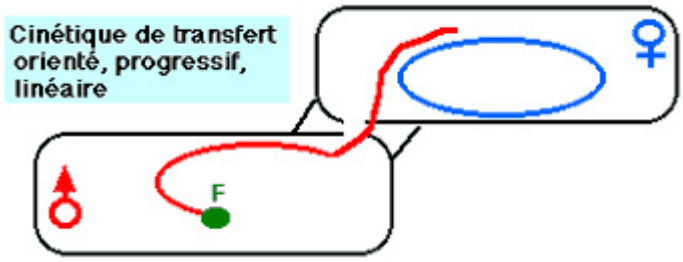
- Différenciation sexuelle : Le transfert d'ADN qui est à sens unique ou orienté (croisements fertiles (F) que dans un sens), met en évidence la différenciation sexuelle entre le donneur et le receveur. Elle porte sur la présence du facteur sexuel, appelé encore facteur de fertilité (F), donnant la polarité à la bactérie donatrice ou mâle (F+). Il s'agit du premier plasmide connu. Son potentiel d'information génétique (de l'ordre de 2 % de celui du chromosome bactérien) code pour la biosynthèse d'appendices ou pili sexuels, pour son insertion possible au chromosome bactérien, pour la mobilisation ou le transfert partiel ou non de ce dernier dans la bactérie réceptrice (F-). La conjugaison est ainsi dénommée sexualité des bactéries.

- Contact ou appariement : Cette phase individualise ce mode de transfert. En effet, le transfert de gènes du donneur au receveur n'est possible qu'après la formation de paires ou couples de bactéries donatrice-réceptrice. Le rôle des pilis sexuels, flexibles ou non (2 à 3 par donneur) est essentiel, bien qu'incomplètement élucidé. Leurs extrémités spécifiques, repérées par des bactériophages, reconnaissent des zones de contact à la surface cellulaire des bactéries réceptrices, s'y fixent et se rétractent. Cette rétraction des pilis sexuels a pour effet de rapprocher les deux bactéries de sexe différent permettant un contact cellulaire étroit (pont cytoplasmique de 100 à 300 mμ).





-Transfert de l'ADN chromosomique : La mobilisation du chromosome de la bactérie donatrice peut alors débuter à travers le pont cytoplasmique sous la forme monocaténaire (un des deux brins transmis). Ce transfert est à sens unique, orienté et progressif, quelquefois total, durant alors une centaine de minutes à 37° C. Son interruption artificielle par agitation mécanique a permis l'analyse cinétique.



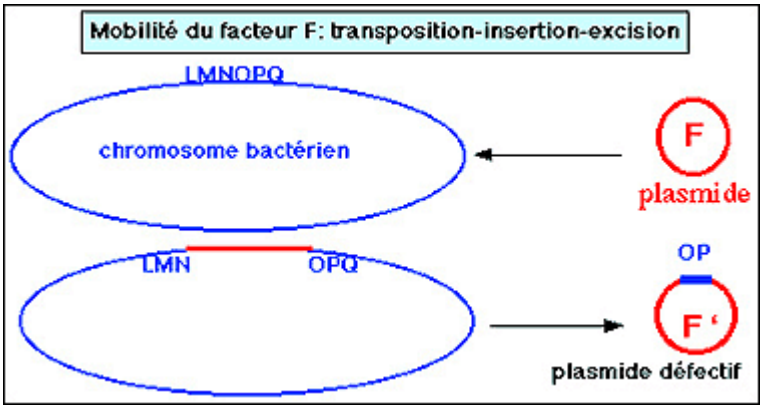
Un processus de réplication asymétrique restaure le brin monocaténaire non transféré du donneur au niveau d'un site réplicateur spécifique proche du pont cytoplasmique ou du pilus. Le processus ultérieur de recombinaison entre certaines régions du brin monocaténaire exogène et celles de l'ADN receveur est mal connu.
Voulez-vous voir une animation: http://www.fda.gov/cvm/antiresistvideo.htm

- Caractères transférés - fréquence : N'importe quel gène bactérien peut être transféré comme l'aptitude à biosynthétiser un acide aminé (thréonine, leucine, sérine)..... La fréquence de recombinaison est faible, de l'ordre de 10^{-6}. La sélection de certains clones (HfrC, par exemple) montra la possibilité d'augmenter notoirement la fréquence de recombinaison de certaines marqueurs jusqu'à 10^{-1}.

Conclusions :

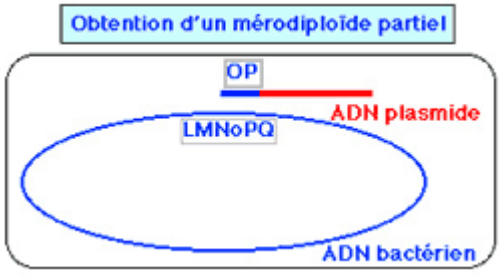
***** Seul le mode de transfert d'ADN bactérien d'une cellule à l'autre après contact (conjugaison) a permis :

- l'établissement de **cartes génétiques du chromosome** bactérien (*E. coli*, *P. aeruginosa*)
- la **circularité du chromosome** bactérien



- la **caractérisation des propriétés remarquables du facteur F** (plasmide = insertion au chromosome en des sîtes limités ou autonome). Le passage de l'état intégré à l'autre par excision peut entrainer la formation d'un plasmide F' (unité autonome de réplication et porteuse de gènes bactériens).

*** La Sex-duction ou F-duction** se définit par le transfert de F' à une nouvelle cellule réceptrice (F-), **suivi ou non de recombinaison légitime** (chromosomique). En l'absence de recombinaison, l'obtention de mérozygotes stables (diploïdes partiels) aboutit à la notion du gène, unité de fonction (gène régulateur, promoteur, opérateur et structure) (JACOB et MONOD, 1961).



* Ce mode de transfert d'information génétique est **rencontré lors d'échange d'ADN non chromosomique** comme l'ADN plasmidique (plasmides conjugatifs). Il s'agit du principal facteur d'évolution des bactéries, en particulier pour l'acquisition de la résistance aux antibiotiques.

D - TRANSDUCTION

Définition

Il s'agit d'un **transfert d'ADN bactérien partiel**, par l'**intermédiaire de bactériophage**s dont le rôle est passif (vecteur). Il est dans ce cas, **virulent** donc se multiplier dans la bactérie. Lors de la phase d'encapsidation, il incorpore de l'**ADN bactérien** fragmenté.

Historique

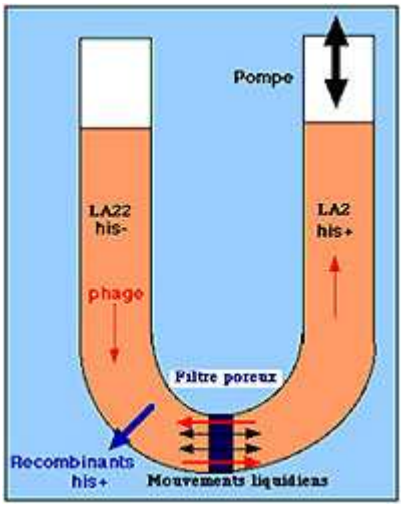
Joshua Lederberg and **Norton Zinder** report on transduction, or transfer of genetic information by viruses. They show that a phage of *Salmonella typhimurium* can carry DNA from one bacterium to another.

1952

Zinder, N and J. Lederberg, 1952. Genetic exchange in Salmonella. J. Bact. **64**: 679-699.

Pour en savoir plus :
http://www.asmusa.org/mbrsrc/archive/SIGNIFICANT.htm#1956

En 1952, N. ZINDER et J. LEDERBERG tentent d'obtenir des recombinants après croisement de mutants auxotrophes de souches de *Salmonella typhimurium* (LA22, LA2) responsables de toxi-infections d'origine alimentaire. La fréquence des recombinants histidine+ tryptophane+, de l'ordre de 10^{-6}, n'est pas modifiée lorsque les souches parentales, séparées par un filtre en verre fritté, ne sont plus en contact (cf expérience de Davis). L'existence d'un agent filtrable, vecteur de l'information génétique est démontrée (bactériophage tempéré produit par la souche parentale lysogène, LA 22).



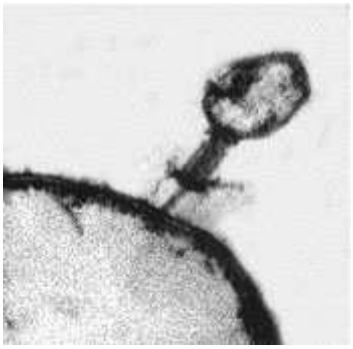
Pour en savoir plus :
http://www.zo.utexas.edu/faculty/sjasper/images/so23_02a.gif
http://www.phage.org/tphage2.gif

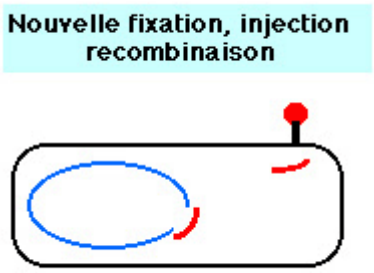
Caractéristiques

. INCIDENCE : Ce phénomène est en relation avec l'existence de nombreuses souches lysogènes. Il est décrit aussi bien chez les espèces bactériennes à Gram positif (Staphylocoques, *Bacillus*) qu'à Gram négatif (Entérobactéries, *Pseudomonas*).

. TYPES : Trois variantes conditionnent les autres caractères tels spécificité du ou des

caractères transduits, fréquence de transduction, recombinaison génétique ou non.





Ce **transfert partiel de gènes bactériens** peut s'accompagner d'une recombinaison légitime (transduction généralisée) ou non (tr. abortive et quelquefois tr. spécialisée).
Pour en savoir plus :
http://www.uark.edu/campus-resources/mivey/m4233/lyso.html

Voulez-vous voir une animation: http://www.fda.gov/cvm/antiresistvideo.htm

Conclusions:

* mode de transfert ayant un **intérêt historique** (phage lambda et *E. coli* dans la transduction restreinte ou spécifique)

* transfert en ADN bactérien ou plasmidique limité (taille du phage)(<50 kb)

* **En bactériologie médicale**, on évoquera le terme de **conversion lysogénique** qui pourrait être une autre modalité de transduction ? Plusieurs exemples ont un intérêt médical.

Haut

E- CONVERSION LYSOGENIQUE

Définition

C'est l'**acquisition par une bactérie d'un caractère somatique particulier déterminé par le génome d'un prophage spécifique**. Son **expression dans toutes les bactéries** est lié à l'**état lysogène**. Il disparait avec la perte de celui-ci.

Exemples :

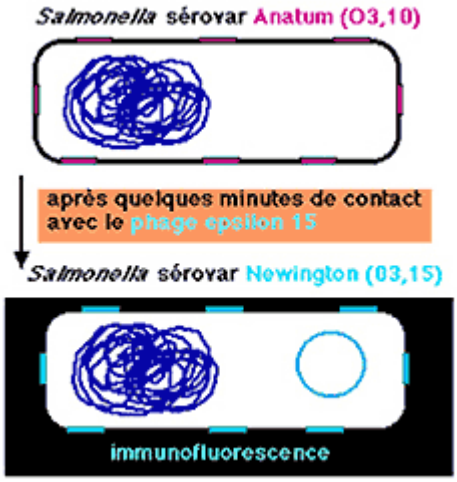
* **toxine** du bacille diphtérique

Pour en savoir plus :
http://www.gsbs.utmb.edu/microbook/ch032.htm

* **toxine** érythrogène par le streptocoque A

* certaines **cytotoxines** (vérotoxines) chez *E.coli* ECEP

* certains **facteurs antigéniques** de *Salmonella*: Voici un exemple de conversion relatif à un antigène somatique (O15) qui est rapidement révélé par immunofluorescence.



AgO	Nature chimique	Dénomination
3,10	acétyl galactosyl- mannosyl - rhammose + phage 15	S. anatum
3,15	galactosyl - mannosyl - rhammose + phage 34	S. newington
3,15, 34	glucosyl - galactosyl - mannosyl - rhammose	S. minneapolis

Conclusion :

La notion de transfert du support chimique de l'hérédité d'une cellule bactérienne à l'autre allait amener à extrapoler ce concept aux cellules eucaryotes.

Pour en savoir plus :
http://www.madsci.org/posts/archives/may97/864507142.Ge.r.html

Ce cours a été préparé par le Professeur A. PHILIPPON (Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Université PARIS V)
(Janvier 2000)

Pour en savoir plus :

Validation de vos connaissances (QCM)

Votre avis nous interesse...

Haut