

L'acquisition de nouveaux gènes par le transfert de gènes entre les bactéries

L'acquisition de nouveaux gènes sont mécanismes naturels complexes, découverts par hasard mais qui ont une importance majeure :

- Dans l'évolution en général
- Dans l'évolution de la résistance bactérienne en particulier
- Dans les biotechnologies.

Seulement 3 mécanismes sont connus :

- Transformation
- Transduction
- Conjugaison

Ces transferts d'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. 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})

1. La transformation

a) Définition

La transformation "naturelle" ou physiologique est le premier modèle connu de transfert de matériel génétique (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.

C'est le transfert d'un fragment d'ADN nu d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. Pour que cela soit possible, un caractère de compétence est nécessaire (il faut que la bactérie soit en état de compétence cad capable d'accepter un ADN exogène). Des facteurs de compétence qui se trouvent dans l'environnement vont se fixer sur le récepteur de la bactérie compétente et vont permettre la fixation covalente de l'ADN à la surface de cette bactérie. Ceci va induire par un signal la production d'autolysines (modifient la membrane et la rendent perméable) et de nucléases (permettent de couper le génome pour l'intégration de l'ADN extérieur). Le fragment d'ADN extérieur (bicaténaire) va ainsi se fixer sur les complexes autolysine-nucléase,

rentrer dans la bactérie où il va être dégradé en ADN simple brin (monocaténaire) pour être finalement intégré au génome bactérien par recombinaison. (exemple : La résistance du Pneumocoque à la pénicilline G).

b) Expériences

En 1928, **Frederick Griffith** démontre qu'il existe chez *S. pneumoniae* un « principe transformant » qui modifie la pathogénicité des pneumocoques.

L'expérience est la suivante :

The diagram illustrates Griffith's experiment with pneumococci. It shows four main experimental paths:

- Path 1:** Live "smooth" (encapsulated) type 1 pneumococci (S₁) are injected into a mouse, resulting in a dead mouse that yields S₁ cells.
- Path 2:** Heat-killed S₁ pneumococci are injected into a mouse, resulting in a live mouse.
- Path 3:** Live "rough" (unencapsulated) pneumococci (R₁ or R₂), derived by subculture from S₁ or S₂, respectively, are injected into a mouse, resulting in a live mouse.
- Path 4:** A mixture of live R₁ or R₂ pneumococci and killed S₁ pneumococci is injected into a mouse, resulting in a dead mouse that yields S₁ cells.

1- Injection pneumocoque (encapsulé) à la souris
⇒ la souris meurt

2- On chauffe le pneumocoque, le pneumocoque est donc mort, et on l'injecte à la souris
⇒ la souris survit

3- Bactérie sans capsule injectée
⇒ la souris survit

Conclusion : c'est le fait d'avoir une capsule qui fait que la souris meurt.

4- Bactérie sans capsule + pneumocoque chauffé ; on injecte le mélange à la souris
⇒ la souris meurt

Explication : Les gènes codant pour la synthèse de la capsule (responsables de la virulence) résistent à la chaleur.
=> Ils transforment la bactérie non capsulée vivante.

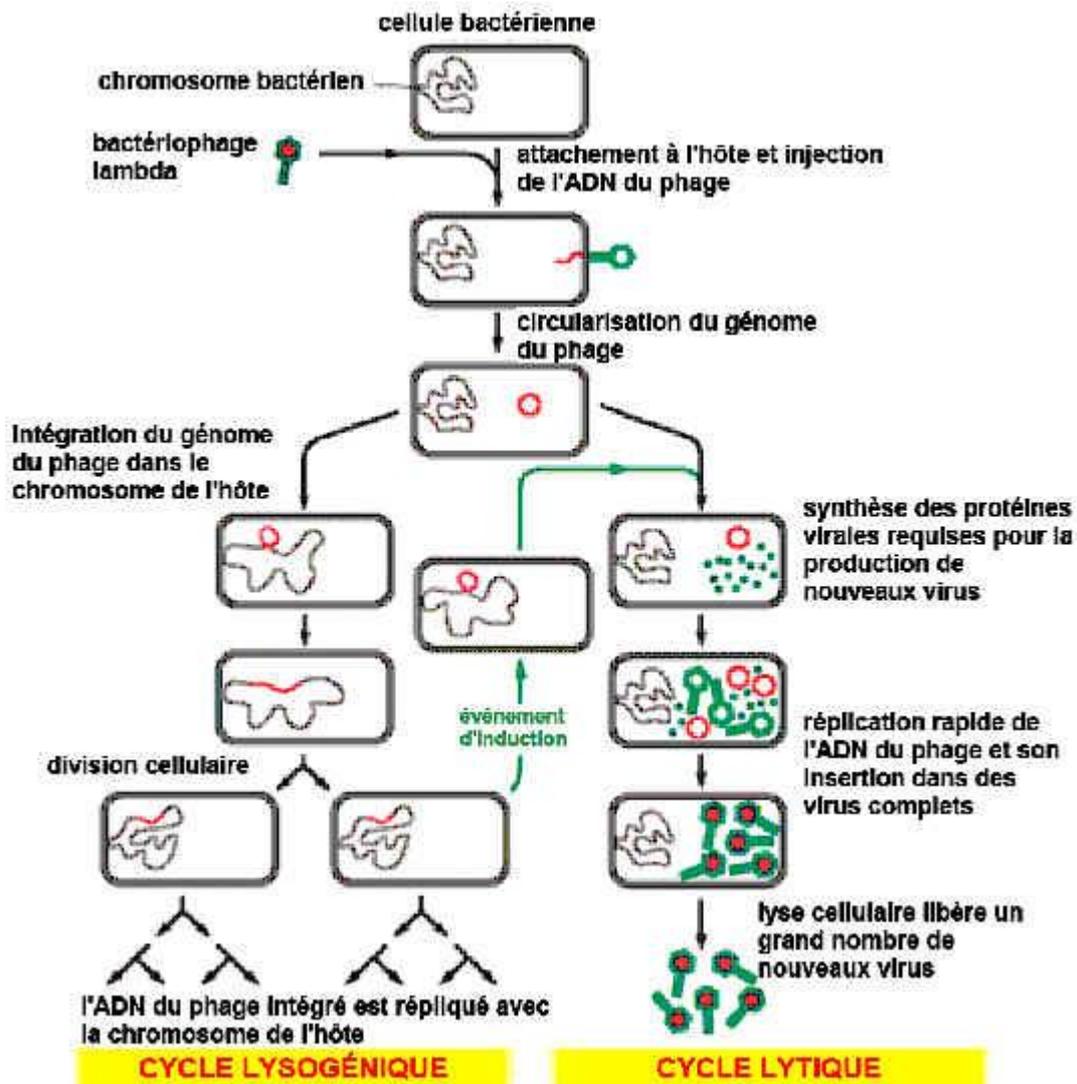
16 ans plus tard**Avery** et coll. Montrent que le « principe transformant » est l'ADN et non des protéines ni des carbohydrates.

La capsule étant constituée de sucres et de protéines on aurait pu penser que c'étaient les composants du « principe transformant » de Griffith. Ainsi Avery a pris ce « principe transformant » (bactéries virulentes à capsule mortes) et il a séparé la partie protéique, sucre, acide nucléique de celui-ci. A chaque fois ces différents composants ont été mélangés avec la bactérie vivante non capsulée et le tout injecté à la souris. La souris qui meurt est celle à qui on a injecté bactérie non virulente+ acide nucléique.

Donc l'ADN est le support des gènes : Ce qui est confirmé par la dernière expérience où la souris ne meurt pas puisque l'ADN a été détruit par les nucléases.

2) Transduction:

C'est un transfert d'information génétique qui est apporté par un bactériophage. Ce virus a 2 devenirs : soit il fait un cycle **lytique** (utiliser la machinerie bactérienne en son profit) soit un cycle **lysogénique**.



On a un attachement du phage à la bactérie (grâce aux récepteurs sur la bactérie) dans laquelle il va injecter et faire rentrer son génome. Deux choses sont alors possibles Soit ce génome va s'intégrer dans le chromosome de la bactérie et il sera répliqué avec l'ADN de la bactérie au moment de la répllication sans être exprimé (silencieux). C'est le cycle lysogénique. Il peut cependant se produire un événement d'induction qui va

induire la transcription de l'ADN du phage et permettre la synthèse de protéines pour la production de nouveaux virus (virions avec des capsules). Lorsque cet ADN est excisé il peut emmener avec lui un bout de génome bactérien et donc, en réinfectant une autre bactérie, lui conférer des propriétés nouvelles. C'est ce qu'on appelle le cycle lytique.

La phase lysogène entraîne des modifications importantes :

- elle induit un état d'immunité : le fait que l'ADN phagique soit intégré dans le génome empêche que d'autres phages viennent infecter la bactérie.

- cela peut permettre l'expression de gènes si le virus a apporté des éléments d'une autre bactérie donnant des nouveautés phénotypiques.

-Il peut aussi y avoir libération de toxines comme la toxine diphtérique (*Corynebacterium diphtheriae*), le botulisme (*Clostridium botulinum*), l'erythroène streptococcique, les entérotoxines des staphylocoques.

NB : La transduction est un formidable outil pour l'évolution : le phage est capable d'apporter l'ADN d'une espèce bactérienne beaucoup plus lointaine alors que dans la transformation les bactéries doivent-être très proches.

3) la conjugaison

a) définition

C'est un transfert de gènes par contact cellulaire

- Permet le transfert de gènes chromosomiques ou plasmidiques
- Existe chez les bactéries à Gram positif et à Gram négatif
- Importance majeure dans la dissémination des gènes de résistance.

b) Découverte de la conjugaison

En 1946, Lederberg démontre la possibilité de recombinaison entre deux populations bactériennes auxotrophes (bactéries ne poussant pas sur milieux minimum carboné mais ayant besoin de l'apport extérieur d'un acide aminé préformé).

Expérience de Lederberg pour montrer que 2 bactéries peuvent échanger de l'information par contact.

Il dispose de **bactéries A+B+C-D-** : elles n'ont pas besoin de A et B pour pousser mais elles ont besoin de C et D ; et de **bactéries A-B-C+D+**.

Lorsque l'on met ces bactéries sur un milieu minimal (A-B-C-D-) aucune ne pousse.

En revanche il observe que s'il les met en contact pendant un certain temps et qu'il met ce mélange sur ce même milieu minimal, des bactéries poussent.

Cela prouve bien qu'elles se sont échangé des gènes

- De plus il fallait que les bactéries soient **vivantes** sinon ça ne marchait pas.
- S'il mettait une membrane poreuse entre les 2 colonies les empêchant de passer ça ne marchait pas non plus, **le contact est donc indispensable.**

=> Lederberg vient de mettre en évidence une autre méthode de transfert horizontal des gènes entre les bactéries.

c) Les étapes de la conjugaison

Physiologie de la conjugaison chez les bactéries à Gram négatif : 4 étapes

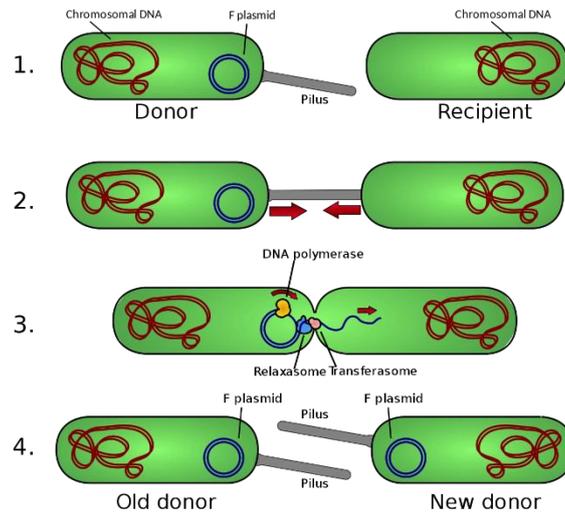
1. Contact cellulaire
2. Préparation du DNA (mobilisation)
3. Transfert d'un brin unique d'ADN
4. Reconstitution du brin manquant à la fois dans la cellule donatrice et dans la réceptrice : le transfert est **conservatif.**

1- une bactérie donatrice de gènes (bactérie mâle), elle possède un facteur F (elle est F+ le facteur F contient entre autres des gènes codant pour la synthèse des pili sexuels (bactérie mâle contient pilus sexuel) et une bactérie réceptrice, dépourvue de facteur F (elle est F-) se mettent en contact par - fusion des membranes

- l'ADN est entre temps préparé au transfert : un brin unique d'ADN est transféré et le brin complémentaire est synthétisé que ce soit dans la bactérie donatrice (qui reste F+) et la bactérie réceptrice (qui devient F+)

4- les cellules se séparent à la fin du transfert.

A la fin on aura 2 bactéries mâle => démultiplication du phénomène.



Facteur F

Le facteur de fertilité ou facteur F est le premier plasmide conjugatif mis en évidence chez les bactéries. Il porte un grand nombre de gènes parmi lesquels nous retiendrons :

- Gènes pour la synthèse de pili sexuels, permettant à une bactérie donneuse F+ (possédant le plasmide) de s'amarrer à une bactérie receveuse F- (ne possédant pas le plasmide)
- Gènes permettant la synthèse et le transfert de l'ADN d'une bactérie à une autre.

Le contact entre la bactérie donneuse (F+) et la bactérie receveuse (F-), réalisé grâce aux pili sexuels, est suivi par la formation d'un pont cytoplasmique permettant le transfert de l'ADN. Le transfert débute au site appelé "origine de transfert" (oriT) et se déroule selon un mode de cercle roulant.

Bactérie Hfr

Le plasmide F étant capable de s'intégrer sur le chromosome bactérien, une bactérie portant le facteur F sur son propre chromosome est appelée Hfr (haute fréquence de recombinaison).

Lors d'un croisement entre une bactérie Hfr et une bactérie F-, le transfert et la réplication de l'ADN (chromosomique) commence au niveau de l'origine de transfert (oriT). Les différents gènes seront transférés l'un après l'autre et c'est uniquement lorsque l'ensemble du chromosome est transféré (environ 2 heures) que le facteur F est transféré lui aussi entièrement. Il est cependant très rare que l'ensemble du chromosome soit transmis, ainsi la bactérie receveuse ne reçoit pas le facteur F et reste donc F-. Elle a pu cependant acquérir, par recombinaison homologue, une partie des gènes de la bactérie donneuse.

