

Les mutations de l'opéron lactose

Le métabolisme du lactose

La bactérie trouve sa source de carbone dans le catabolisme des sucres. Si le glucose est la source de carbone "préférée", le **lactose** (qui est un β -galactoside) peut également être consommé par la bactérie et métabolisé en galactose et glucose. Les enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose ne seront synthétisées qu'en présence de ce substrat :

La **lactose perméase** qui permet l'entrée dans la cellule du lactose et la **β -galactosidase** qui hydrolyse le lactose en glucose et galactose.

L'organisation de l'opéron lactose

Dans l'opéron lactose, on trouve les trois gènes indispensables à la dégradation du lactose. Ils codent :

- La **β -galactosidase** (gène ***lacZ***) qui hydrolyse le lactose en glucose et galactose.
- La **lactose perméase** (gène ***lacY***). Cette protéine membranaire permet l'entrée du lactose dans la cellule.
- La **thiogalactoside transacétylase** (gène ***lacA***). Son rôle n'est pas bien connu. Elle acétyle les β -galactosides non métabolisables qui peuvent alors être éliminés hors de la cellule par diffusion à travers la membrane plasmique.

Ces trois gènes de structure sont précédés par une région responsable de la régulation de leur expression. Cette région régulatrice comprend le **promoteur (P)** et l'**opérateur (O)**.

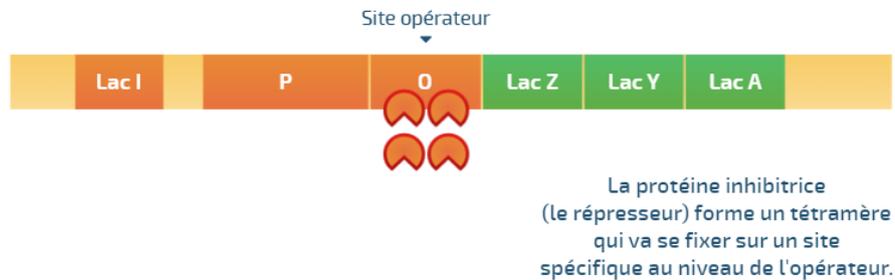
En amont de l'opéron lactose on trouve le gène ***Lac I*** qui est un gène régulateur. Il a son propre promoteur (non inductible) il exprime "en continu" un **répresseur** qui bloque l'expression de l'opéron lactose.

- **en absence** de lactose : LacI est sous sa forme active (tétramérique) et se fixe au niveau du site opérateur O, empêchant la fixation de l'ARN polymérase et donc l'expression de l'opéron lactose. (**Répression**)
- **en présence de lactose**, le répresseur se complexe avec l'allolactose (isomère du lactose). Le répresseur lié à l'allolactose change de conformation, perd son affinité pour l'opérateur et se dissocie de l'opérateur lac. L'opéron lactose peut alors être exprimé. (**Induction**)

Régulation négative de la transcription

En absence de lactose, le répresseur est sous sa forme active. Il va se lier spécifiquement au niveau de l'opérateur de l'opéron lactose bloquant l'accès de l'ARN polymérase au site d'initiation de la transcription.

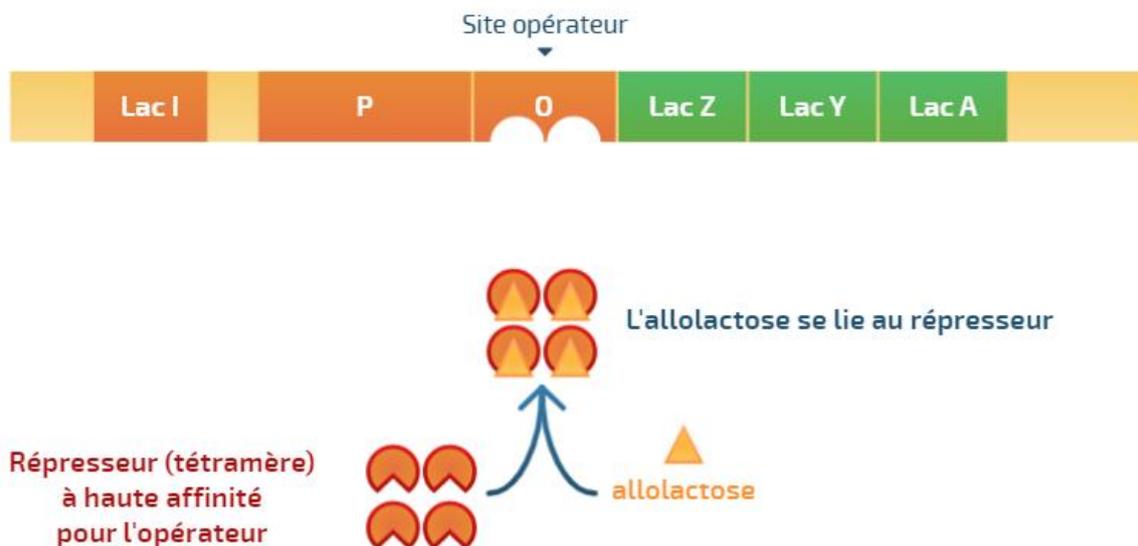
Ainsi, il y a **régulation négative** de la transcription des gènes de l'opéron lactose. Les enzymes nécessaires au métabolisme du lactose ne sont pas synthétisées car inutiles en absence de lactose.

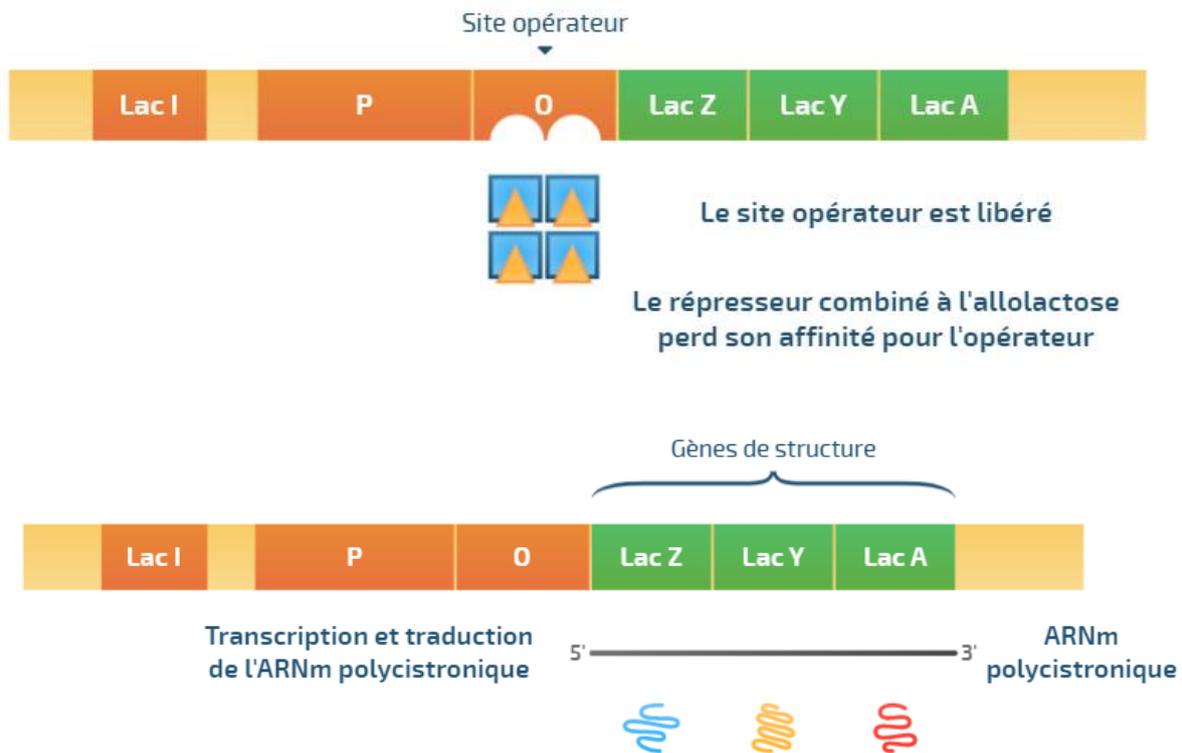


Levée de l'inhibition de la transcription

En présence de lactose, c'est l'**allolactose**, un isomère du lactose, qui va jouer le rôle d'**inducteur** en se liant au répresseur pour l'inactiver. Cette liaison entraîne un changement conformationnel du répresseur qui perd alors son affinité pour l'opérateur.

Le site opérateur étant libéré, l'ARN polymérase peut atteindre le site d'initiation de la transcription et synthétiser l'**ARN polycistronique**. La production des enzymes nécessaires au métabolisme du lactose est donc dépendante de la présence du substrat





Mutations de l'opéron Lactose

1- Mutation des gènes LacZY

Plusieurs types de mutation peuvent interférer avec l'utilisation du lactose. Des mutations dans le gène *lacZ* (Z^-) empêchent le catabolisme du lactose par absence de β -galactosidase fonctionnelle. Des mutations dans le gène *lacY* (Y^-) empêchent la pénétration active du lactose à l'intérieur de la cellule. Dans ces deux cas, le phénotype, symbolisé par Lac^- , c'est-à-dire l'impossibilité d'utiliser le lactose, résulte d'un défaut enzymatique.

2- Les mutations constitutives : mutation du gène Lac I et de l'opérateur O

La mutation de l'opérateur O

La mutation O^c : Si le répresseur possède une structure correcte, mais que la séquence opératrice est altérée par une mutation (O^c) aucune possibilité de former un complexe répresseur - opérateur ; la transcription de l'opéron s'effectue en permanence (même en absence de l'inducteur lactose)

Mutation du répresseur LacI

Une mutation dans le gène I (I^-) conduit à une altération de la structure du répresseur ou à une absence de la protéine. Dans tous les cas, une liaison répresseur - opérateur ne peut s'établir et l'ARN polymérase

peut se fixer au promoteur, et les gènes LacZYA sont toujours exprimés même en absence d'inducteur (lactose)

Une mutation I^s, s signifiant « super-réprimé ». Cette mutation affecte le gène lacI dans une région importante pour la formation du complexe répresseur -inducteur (LacI-lactose). La région essentielle pour la liaison du répresseur à l'opérateur O restant intacte, l'état réprimé est stable. Ces mutants sont incapables d'utiliser le lactose car l'opéron est réprimé en permanence, le lactose n'induit pas la transcription dans ce cas.

Exercice.

I- On possède deux souches de bactéries, *E. coli* A et B. L'ADN chromosomique de la souche A est soumis à une action enzymatique par EcoRI. La région du système lac est isolée puis clonée au site EcoRI du plasmide Pbr322 (figure 1).

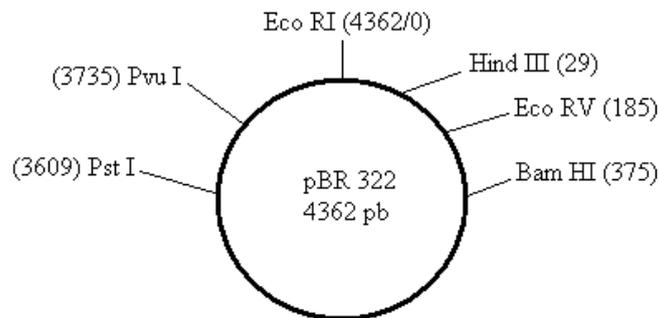


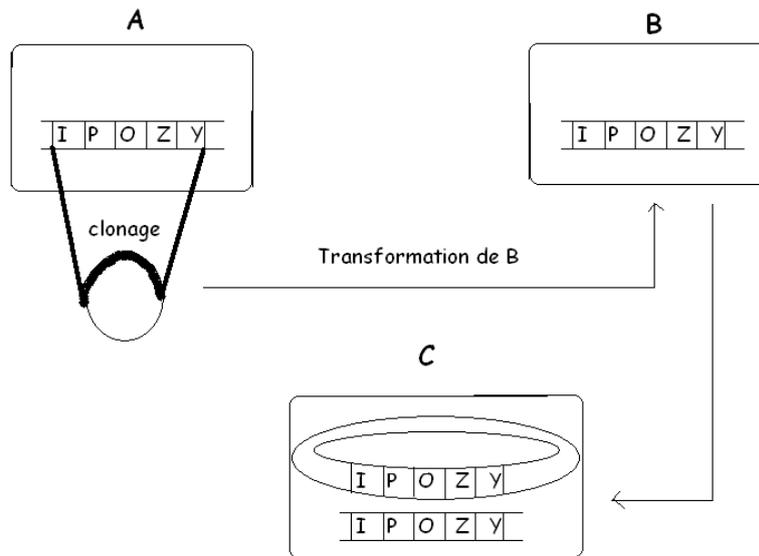
Figure 1.

Le plasmide recombinant est ensuite utilisé pour transformer les bactéries de la souche B. La souche issue de cette transformation est appelée B transformés. Sa capacité à métaboliser le lactose est étudiée dans les mêmes conditions que les souches A et B, voir tableau 1.

Les différences génétiques qui existent entre les souches A et B puis C sont:

-Les souches A et B sont haploïdes, la souche B recombinée (transformée) est partiellement diploïde.

-La souche B transformée contient en plus de son chromosome principal un matériel génétique extra-chromosomique=un plasmide.



On obtient C, partiellement diploïde.

Souche	Génotype	β-galactosidase		Perméase	
		- IPTG	+ IPTG	- IPTG	+ IPTG
1	$I^+ O^+ Z^+ Y^+$	-	+	-	+
2	$I^+ O^c Z^+ Y^+$	+	+	+	+
3	$I^+ O^c Z^+ Y^+ / I^+ O^+ Z^+ Y^+$	+	+	+	+
4	$I^- O^+ Z^+ Y^+$	+	+	+	+
5	$I^- O^+ Z^+ Y^+ / I^+ O^+ Z^+ Y^+$	-	+	-	+
6	$I^- O^+ Z^+ Y^+ / I^+ O^+ Z^- Y^+$	-	+	-	+

IPTG: un inducteur homologue au lactose