

II- Plasmides et bactériophages

1- Caractérisation et Classification des plasmides

1-1 Définition

- Les plasmides sont des **molécules d'ADN** circulaires double-brin, beaucoup plus petits qu'un chromosome. Peuvent exister indépendamment des chromosomes de l'hôte. Ils se trouvent quasi-exclusivement dans les bactéries, à l'exception notable du plasmide **2Mu** que l'on trouve hébergé par le microorganisme eucaryote *Saccharomyces cerevisiae* (levure du boulanger)
- Ce sont des **unités de répllication autonome**. Ils possèdent leur propre origine de répllication et se répliquent en général de manière indépendante du chromosome bactérien. C'est cependant la machinerie de la cellule qui assure leur répllication.
- Ils sont **optionnels pour la cellule hôte**, c'est à dire qu'ils ne sont pas indispensables au métabolisme de la cellule dans des conditions normales de croissance (l'hôte ou les bactéries qui en sont dépourvues vivent normalement).
- Les plasmides peuvent coder pour diverses fonctions.
- Une cellule bactérienne peut en contenir une copie, pour les grands plasmides, ou des centaines pour des plasmides petits de taille.
- Plusieurs plasmides différents peuvent coexister dans une même cellule sous condition de leur compatibilité mutuelle.
- Les plasmides peuvent être éliminés des cellules hôtes. **Ce curage** se fait spontanément ou est induit par des traitements qui inhibent la répllication des plasmides sans affecter la reproduction de la cellule hôte. Parmi les traitements utilisés pour cette élimination on peut citer les mutagène dérivés de l'acridine, les radiations UV ou ionisantes et la croissance des températures supra-optimales.
- Certains plasmides sont capables de s'intégrer aux chromosomes; on appelle ces plasmides des épisomes. Un **épisome** est un plasmide qui peut s'intégrer dans l'ADN chromosomique de la cellule-hôte. De ce fait, il peut rester intact pendant de longues périodes, être dupliqué à chaque division cellulaire de l'hôte, et devenir partie intégrante de son patrimoine génétique.
- **Un réplicon**: est une molécule ou une séquence d'ADN qui possède une origine de répllication et est capable d'être répliquée. Les plasmides et les chromosomes bactériens sont des réplicons séparés.

1-2 Les différents types de plasmides:

1-2-1 Les Facteurs de fertilité

Les plasmides appelés **facteur de Fertilité** "facteur F" ou Les **plasmides conjugatifs** sont les premiers plasmides qui ont été découverts chez la bactérie *Escherichia coli* dans les années 1950. Le facteur F est un acide nucléique long environ 100 kilobases.

Ces plasmides confèrent à la bactérie hôte la capacité de synthèse de pili dit sexuels. Par l'intermédiaire de ces pili, la bactérie porteuse (donneuse) peut transférer une copie du plasmide **F** par processus de conjugaison bactérienne. Les plasmides **F** possèdent au minimum **une origine de réplication** et tous les gènes nécessaires à **la synthèse des pili** et du **transfert du plasmide**. L'information requise pour le transfert du plasmide est contenue dans l'opéron *tra* qui contient au moins 28 gènes. Certains plasmides **F** sont des épisomes, c'est-à-dire qu'ils peuvent s'intégrer dans le génome chromosomique.

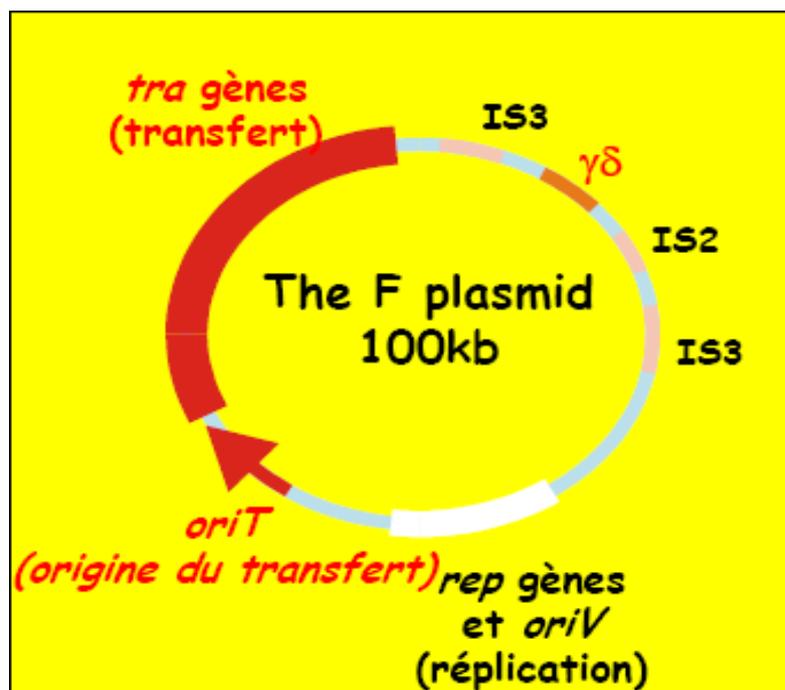


Figure 1: Le facteur F

1-2-2 Les facteurs de résistance

Les plasmides de résistance, appelés aussi plasmides ou facteurs **R**, codent des **résistances aux antibiotiques** et **aux métaux lourds**. Généralement, ils ne sont pas intégrés dans le chromosome de l'hôte. Des gènes codent pour la résistance aux antibiotiques tels que

l'ampicilline, le chloramphénicol et la kanamycine ont été trouvés sur des plasmides. Certains plasmides R possèdent un seul gène de résistance alors que d'autres en ont jusqu'à huit.

Puisque de nombreux facteurs R sont également des plasmides conjugatifs, ils peuvent se propager dans une population par conjugaison comme le facteur F.

Beaucoup de facteurs R contiennent deux groupes de gènes. L'un d'eux est appelé facteur de transfert de résistance (**RTF**); il comprend des gènes nécessaires à la réplication du plasmide et à son transfert par conjugaison. L'autre groupe, appelé **déterminant r**, est formé des gènes de résistance, qui dirigent la production d'enzymes capables d'inactiver certains médicaments ou substances toxiques. Lorsqu'ils se trouvent dans la même cellule, différents facteurs R peuvent produire par recombinaison des facteurs R avec nouveaux ensembles de gènes dans le **déterminant r**.

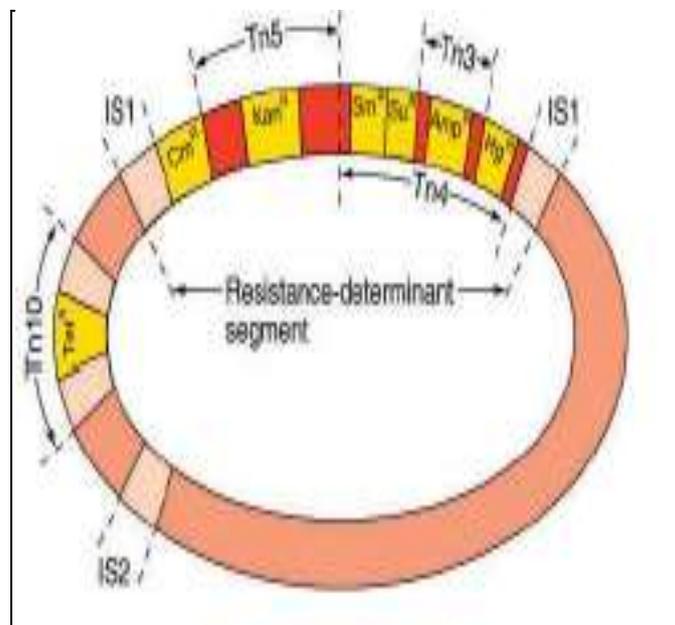


Figure 2: Le Facteur R

1-2-3 Les plasmides Col

Les bactéries hébergent également des plasmides dont les gènes donnent un avantage compétitif dans le monde microbien. **Les bactériocines** sont des protéines bactériennes toxiques synthétisées par des bactéries et qui tuent d'autres bactéries tentant d'occuper le même territoire; les bactéries productrices sont évidemment résistantes à leurs propres bactériocines. Les bactériocines tuent souvent les cellules en formant des canaux dans la membrane plasmique, augmentant sa perméabilité. Elles peuvent également dégrader l'ADN ou l'ARN

ou hydrolyser le peptidoglycane et fragiliser la paroi cellulaire. Les plasmides Col contiennent des gènes pour la synthèse de bactériocines connues sous le nom de **colicine**, qui sont dirigées contre *E. coli*. Des plasmides similaires portent des de bactériocines dirigés contre d'autres espèces. Par exemple, les plasmides Col produisent des **cloacines** qui tuent des espèces d'**Enterobacter**. Certains plasmides Col sont conjugatifs et peuvent en plus porter des gènes de résistance.

1-2-4 Les plasmides de virulence

Il s'avère que les bactéries pathogènes hébergent très souvent des plasmides conjugatifs qui participent à la pathogénicité. Les **plasmides de virulence** portent des gènes codant des facteurs de virulence, ayant un rôle dans le pouvoir pathogène des bactéries. Par exemple les *Escherichia coli* entérotoxigéniques (ETEC) responsable de la diarrhée du voyageur (ou *tourista*) hébergent au moins deux plasmides, l'un portant les gènes codant un facteur de colonisation, l'autre codant des toxines.

1-2-5 Les plasmides métaboliques

Les plasmides métaboliques portent des gènes qui déterminent la synthèse d'enzymes, lesquelles déclenchent le catabolisme de substances telles que des sucres et des hydrocarbures inhabituels.

Chez *E. coli*, les gènes portés par ces plasmides sont par exemple : l'utilisation du citrate comme source de carbone, la production de soufre, l'hydrolyse de l'urée. Chez les salmonelles on a observé la dégradation du lactose ce qui est totalement inhabituel chez ce genre bactérien. Le genre *Rhizobium* porte un plasmide métabolique nécessaire pour induire la nodulation chez les légumineuses et effectuer la fixation d'azote.

Tableau 1: Principaux types des plasmides

Type	Exemple	Taille approximative (kb)	Nombre de copies par chromosome	Hôtes	Phénotypes
Facteur de fertilité	Facteur F	95-100	1-3	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Citrobacter</i>	Pilis sexuel, conjugaison
Plasmides R	RP4	54	1-3	<i>Pseudomonas</i> et autres bactéries Gram négatifs	Résistance à la Ap, Km, Nm, Tc
	R1	80	1-3	bactéries Gram négatifs	Résistance à la Ap, Km, Su, Tc, Hg
	R6	98	1-3	<i>E. coli</i> , <i>Proteus</i>	Su, Sm, Cm, Tc,

				<i>mirabilis</i>	Km
Plasmide Col	ColE1	9	10-30	<i>E. coli</i>	Production de colicine E1
	ColE2		10-15	<i>Shigella</i>	colicine E2
	ColDF13			<i>Enterobacter cloace</i>	Cloacine DF13
Plasmide de virulence	Ent (P307)	83		<i>E. coli</i>	Production d'entérotoxine
	Col V-K30	2		<i>E. coli</i>	Sidérophore pour capture du fer, résistance aux mécanismes immunitaires
Plasmide métabolique	CAM	230		<i>Pseudomonas</i>	Dégradation du camphre
	SAL	56		<i>Pseudomonas</i>	Dégradation du salicylate
	TOL	75		<i>Pseudomonas putida</i>	Dégradation du toluène

2. Les bactériophages

Tout virus de bactérie est appelé bactériophage ou phage. Comme tous les virus, les phages sont des organismes parasites obligatoires possédant une information génétique codée soit ADN mono- ou bicaténaire, ou ARN enveloppé dans des protéines et ou dans une membrane de protection.

L'acide nucléique doit comporter au minimum une copie du génome du phage.

Visible uniquement en microscopie électronique, on ne les détecte à l'œil nu par les « trous » ou plages de lyse qu'ils créent sur des tapis bactériens hôtes.

Les phages peuvent être répertoriés selon leur mode de multiplication, en Cycle lytique et Cycle lysogénique. Dans le premier cas, le phage tue son hôte pour se multiplier, dans le deuxième cas, il reste à l'état dormant et se multiplie en même temps que son hôte sans le tuer.

2. 1. Bactériophage lambda

2.1.1 Morphologie

1-Génome: ADN double brin, adopte à la fois une forme linéaire et circulaire

2- La capsidie protéique, qui protège le génome, est composée d'une tête et une queue. 15 protéines différentes, toutes codées par le génome viral, forme la couche de protéines.

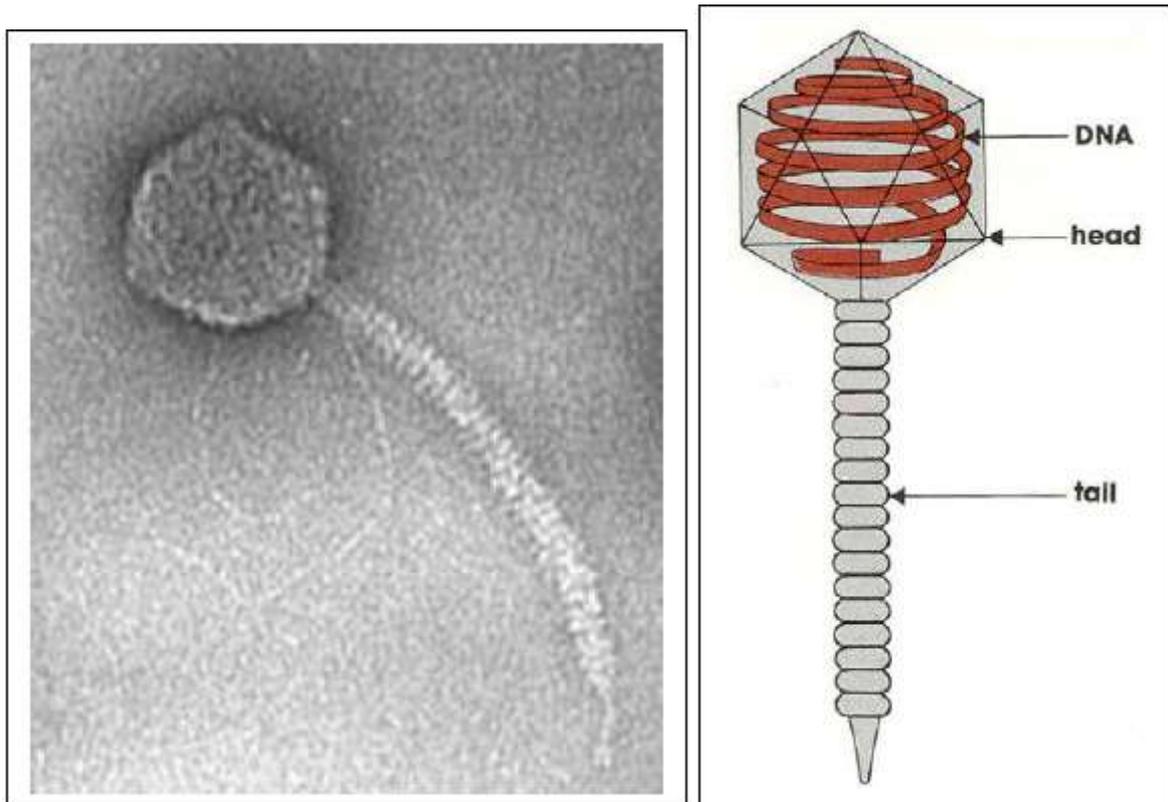


Figure 3 : Structure du bactériophage Lambda

2.1.2. Propriétés du phage lambda

- hôte: *Ecoli*
- Génome: ADN double brin linéaire de 45,5KB est entièrement séquencé.
- Les extrémités de la molécule d'ADN forment une séquence dit cos: ce sont des séquences complémentaires de 12 nucléotides peuvent s'apparier et ainsi recirculariser le génome.
- le phage λ se développe selon 2 cycles d'évolution: lytique et lysogénique

2.1.3 Infection

- a. Le phage Lambda attache à *E. coli* par la queue.
- b. Perce un trou dans la bactérie.
- c. Injecte son génome dans la bactérie. Sa capsid est laissée à l'extérieur de la bactérie.

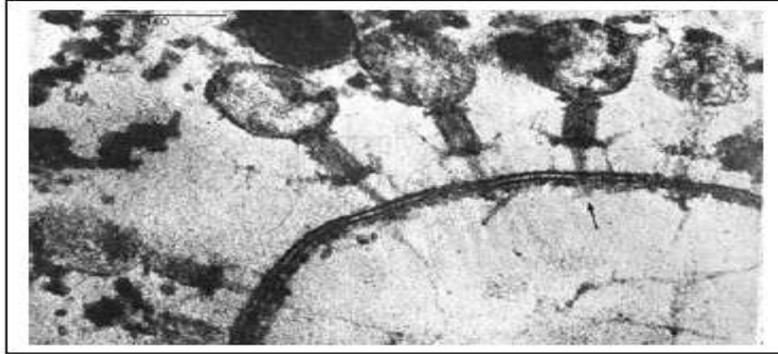


Figure 4: Infection par le phage Lambda

2.1.4 Circularisation du génome

Une fois le phage injecte son génome dans la bactérie, **le génome se transforme d'une forme linéaire à une forme circulaire.**

Les extrémités cos s'apparient. L'appariement favorise la circularisation.

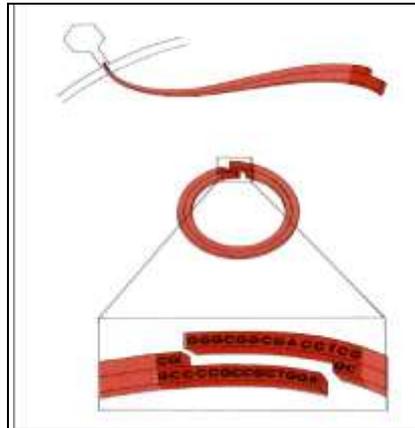


Figure 5 : Circularisation du génome phagique

2.1.5 Développement du phage lambda (cycle lytique et lysogénique)

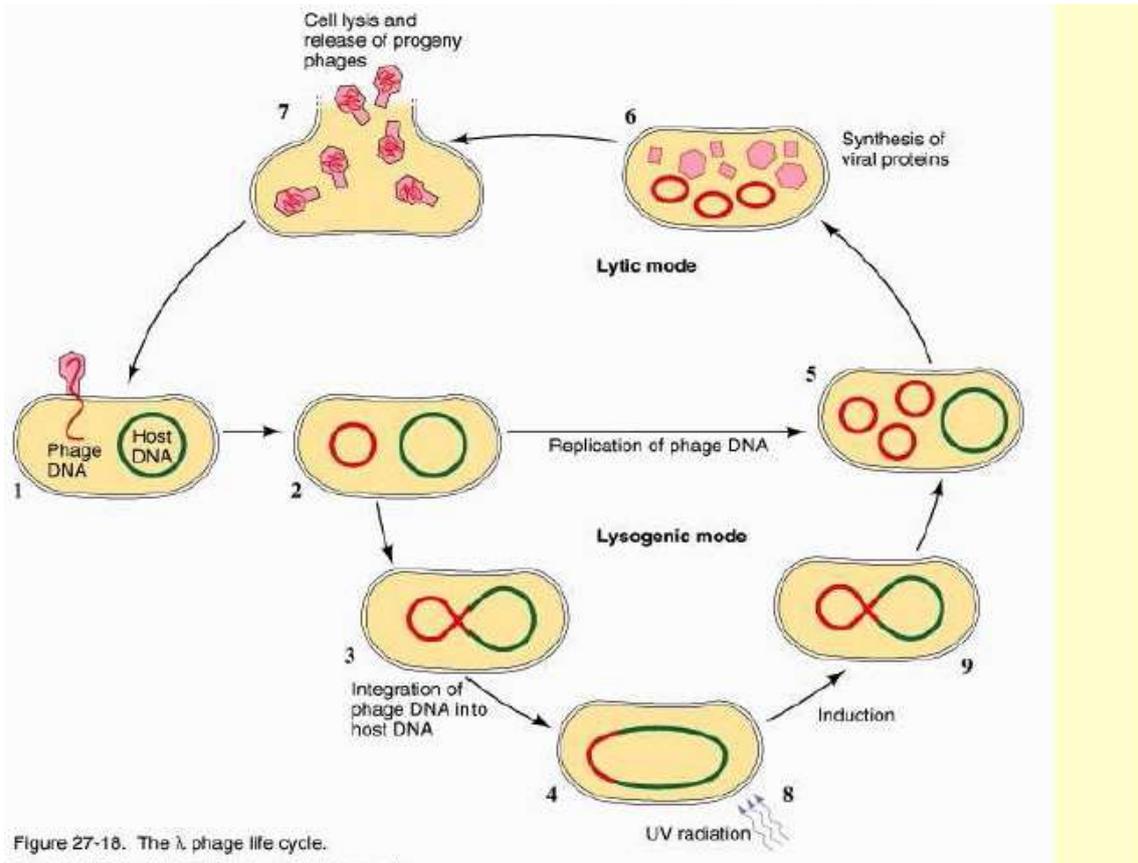


Figure 6 : Cycle de vie du phage lambda

2.1.6 Génome du phage lambda

Le génome de lambda a été complètement séquencé et tous ses gènes ont été bien caractérisés. Le lambda contient les classes suivantes des gènes:

- **Les gènes de la tête** codent les protéines formant la tête du phage
- **Les gènes de la queue** codent les protéines formant la queue du phage
- **Les gènes de la réplication d'ADN** codent les enzymes contrôlant la réplication du génome phagique.
- **Les gènes de la lyse** codent les protéines qui produisent une lyse de la bactérie hôte lors d'un cycle lytique.
- **Les gènes de recombinaison** codent les protéines d'intégration du génome phagique dans et hors du chromosome bactérien.
- **Les gènes de régulation** comme: N, Q, CI, CII, et Cro contrôlent la synchronisation de l'expression de gène et déterminent si lambda quitte la bactérie après un cycle lytique ou lysogénique.

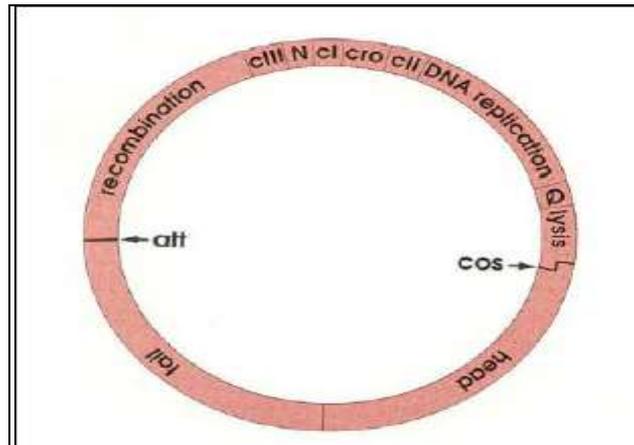


Figure 7 : Principaux gènes portés par le génome du phage lambda

2.2. Phage T4

Virus à ADN double brin

Il attaque *E. coli*

Il est de la famille de *myoviridae*

Il est petit environ 150 nm

Structure du phage T4

- **Virion**

- Capsid (119,5 nm x 86 nm)
- Queue (100 nm x 21 nm) avec une « baseplate » et des fibres.

- Genome de 168,903 bp avec 289 orf's de protéine et 8 tARN et au moins 2 autres ARN stables et petits.

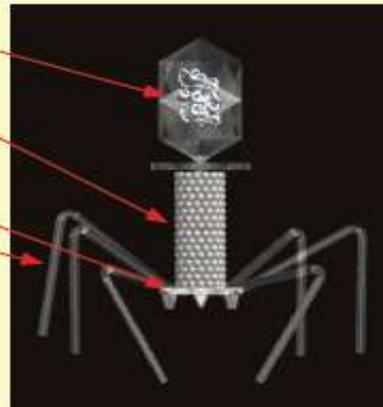


Figure 8 : Structure du phage T4

Le cycle virale du phage T4 (cycle lytique)

- Cycle virale de T4

- Virion libre
- Attachement
- Injection
- Digestion de l'ADN de l'hôte
- Biosynthèse
- Assemblage
- Lyse et dispersion

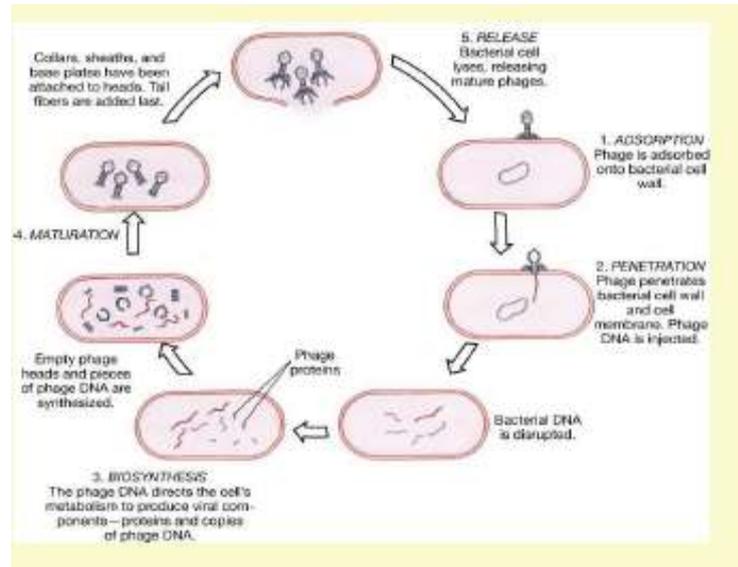


Figure 9 : Cycle de vie du phage T4

Enseignante Responsable Mm R. GHARZOULI FERTOUL