

Génétique des Procaryotes

Chapitre III: les transferts génétique 2- La Transformation et la Transduction

I- La Transformation

1- La découverte de la transformation

Le phénomène de transformation a été mis en évidence pour la première fois chez les pneumocoques (*Streptococcus pneumonia*) **par Griffith (1928)** qui montra que l'ADN était bien le matériel génétique.

Griffith (1928) avait observé que l'injection à des souris d'un mélange de pneumocoques **avirulents ("rough") vivants** et de pneumocoques **virulents ("smooth") tués** pouvait provoquer une septicémie mortelle. Des souris mortes, il avait isolé des pneumocoques virulents ("smooth"). Cette observation resta sans interprétation satisfaisante. Griffith donne le nom de **transformation** à ce changement de bactéries non virulentes en bactéries virulentes pathogènes.

16 plus tard, Avery, MacLeod et McCarty (1944) déterminèrent par la suite le constituant responsable de la transformation décrite par Griffith.

Dans un premier temps, ils préparèrent des extraits de pneumocoque virulent et détruisirent sélectivement l'ADN, l'ARN ou les protéines de l'extrait à l'aide d'enzyme appropriées. Ils exposèrent ensuite des pneumocoques non virulents aux extraits traités. La transformation des bactéries non virulentes n'avait plus lieu lorsque **l'ADN avait été hydrolysé**, ce qui suggère que **l'ADN portait l'information requise pour la transformation**. **Avery et ses collègues en 1944** apportèrent pour la première fois la preuve que le principe transformant découvert par Griffith était bien l'ADN et c'était donc cette molécule qui portait **l'information Génétique**.

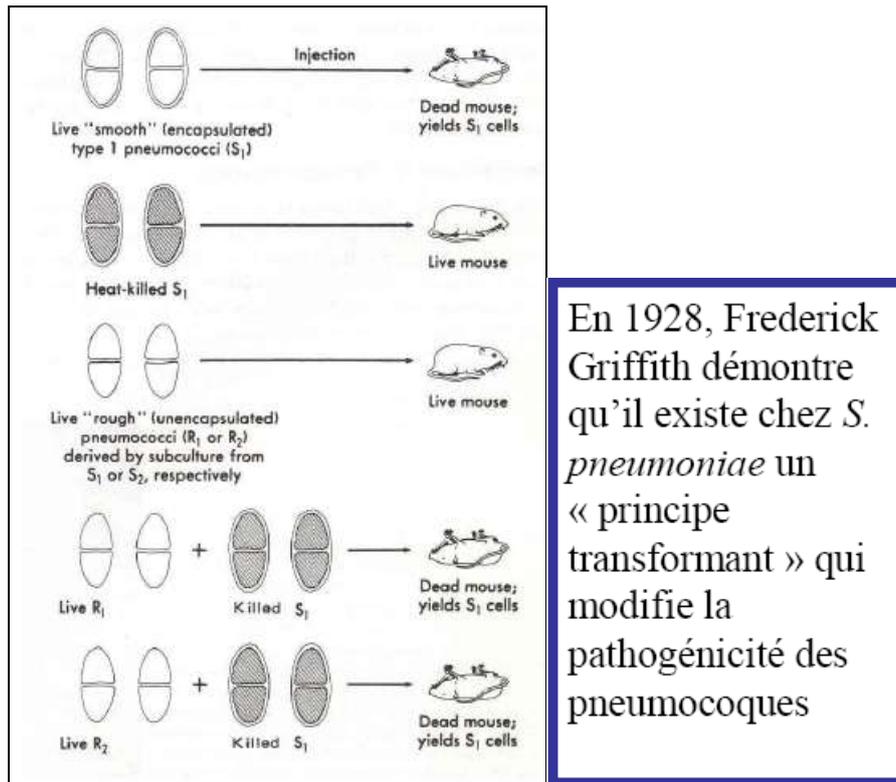


Figure : La découverte de la transformation

2- Caractéristiques de la transformation:

- l'ADN doit être libéré d'une bactérie (exogène)
- l'ADN nu doit se fixer sur une bactérie réceptrice et en phase de **compétence**.
- L'absorption d'ADN est suivie d'une recombinaison légitime avec acquisition de nouveaux caractères génétiques stables, transmissibles à la descendance (recombinants ou transformants)
- Le transfert est partiel: une partie de l'exogène (1 à 2 % du génome) pénètre et se recombine (si l'homologie est suffisante).
- Ce transfert naturel d'ADN bactérien est limité à quelques espèces telles *Streptococcus* dont *S. pneumoniae*, *Neisseria*, *Haemophilus*.....

3- Les bactéries naturellement transformables: notion d'état de compétence

La compétence est la capacité d'une bactérie de recevoir de l'ADN exogène liée à des mécanismes différents en fonction des espèces. C'est un état physiologique particulier caractérisé par la synthèse de protéines particulières (protéines membranaires fixant le DNA, autolysines de la paroi, nucléases, etc.). Certaines espèces bactériennes sont naturellement compétentes (*Bacillus subtilis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus*

pneumoniae, *Haemophilus influenzae*, etc.); d'autres ne le sont pas mais peuvent le devenir expérimentalement (*Escherichia coli*), par exemple par un traitement au CaCl_2 qui rend la membrane cellulaire plus perméable au DNA.

4- Mécanisme de la transformation

La transformation résulte de l'incorporation de DNA nu du milieu extérieur avec, pour conséquence, l'acquisition définitive par la bactérie réceptrice de caractères héréditaires de la bactérie donneuse de DNA.

L'ADN, à l'état bicaténaire, se fixe au niveau d'un site récepteur (30 à 80 sites par cellules); là l'ADN adsorbé porte des coupures simples brin. La pénétration dans la cellule fait intervenir une endonucléase membranaire qui sert d'ADN translocase en dégradant l'un des brins et favorisant la pénétration de l'autre. L'intégration se fait par recombinaison avec déplacement **de la chaîne homologue du receveur pour former un segment hétéroduplex**. La taille moyenne des fragments intégrés est de 10 à 20 Kb et plusieurs insertions sont possibles par chromosome.

Remarque:

Le mécanisme de transformation est sensiblement différent chez les bactéries à Gram négative en raison de la particularité de la paroi. C'est le cas de *Haemophilus influenzae* où la compétence est liée à une augmentation dans le taux de lipopolysaccharides de la membrane externe. D'autre part cette espèce ne produit pas de facteur de compétence et ne peuvent absorber que de l'ADN venant de souches apparentées.

La spécificité de transformation de *H. influenzae* est due à une séquence spéciale de 11 pb (5'AAGTGCGGTAC 3'), répétée 600 fois dans l'ADN de *H. influenzae*. L'ADN doit posséder cette séquence pour être lié à une cellule compétente.

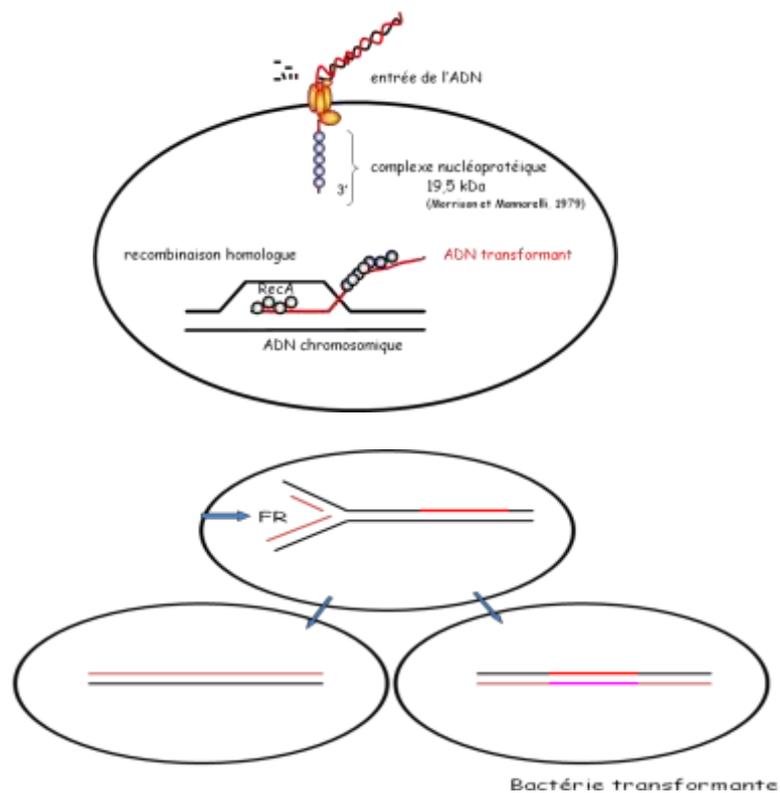


Figure : Les étapes de la transformation

5- Conséquences de la transformation

- Ce mode de transfert a permis de montrer que l'ADN est le support chimique de l'hérédité, 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 de génie génétique, utilisée quotidiennement dans les laboratoires lors de clonage (transformation), dans des bactéries non transformables naturellement comme *E. coli*.
- C'est le mécanisme de la variation antigénique chez les gonocoques et les méningocoque et de l'émergence de certaines espèces résistantes aux antibiotiques (pneumocoque, méningocoque)

II- La Transduction

La **transduction** est un transfert génétique par l'intermédiaire d'un virus (bactériophage) qui est le vecteur de l'exogénote (matériel génétique du donneur).

I. Rappel sur les bactériophages

Les bactériophages sont des particules infectieuses parasites strictes des bactéries; ils sont constitués d'un génome (ADN mono- ou bicaténaire, ou ARN) protégé par une capsidie protéinique. Il existe différents types morphologiques de capsidie.

Les bactériophages se distinguent des bactéries par les propriétés suivantes:

- Présence d'un seul type d'acide nucléique
- Absence de systèmes de biosynthèse
- Mode particulier de multiplication.

1- Cycle lytique: Exemple: phages de type "T"

a) **Adsorption:** résulte de la rencontre fortuite entre une particule phagique et une bactérie; dépend de la spécificité de la capsidie par rapport à des sites récepteurs sur la bactérie.

b) **Injection:** la pénétration de l'acide nucléique phagique.

c) **Synthèse** des constituants phagiques et maturation. On distingue:

- L'arrêt des réplifications et transcription de l'ADN bactérien
- La transcription et répllication de l'ADN phagique
- La synthèse des protéines capsidiques avec l'encapsidation du génome = maturation.

d) **Lyse de la bactérie:** le relâchement des particules infectieuses nouvellement formées est provoqué par l'action d'un lysozyme codé par l'ADN phagique.

2- Cycle lysogène: Exemple: phage lambda.

Certains bactériophages, après la phase d'injection, peuvent entrer dans un cycle lysogène et persister à l'état de **prophage** à l'intérieur de la bactérie. Occasionnellement, le prophage pourra être induit et entrer dans un cycle lytique (multiplication des bactériophages).

Les phages qui entraînent une infection lytique sont dits **virulents** et ceux qui entraînent une infection lysogénique sont dits **tempérés**.

II. Les différents types de transduction

La capside d'un bactériophage peut servir de vecteur pour véhiculer des gènes bactériens d'une bactérie à un'autre. On distingue:

II.1. La transduction généralisée

N'importe quel gène bactérien a théoriquement, la même probabilité d'être transduit.

Au cours de l'infection, le phage se fixe à la paroi de la cellule bactérienne donneuse et injecte son ADN dans la bactérie. L'ADN de phage sert de matrice pour la synthèse de nouvelles molécules d'ADN viral. Il dirige également la synthèse de la capside protéique du phage. Pendant ce temps le chromosome bactérien est fragmenté par des enzymes virales, il arrive que, durant l'assemblage des phages, quelques fragments d'ADN bactériens soient enfermés par erreur à l'intérieur de la capside protéique des bactériophages. Certaines particules virales ainsi formées contiennent alors de l'ADN bactérien plutôt que l'ADN phagique. Quand les particules virales libérées infectent par la suite une nouvelle population de bactéries, il y a à l'occasion transfert de gènes bactériens à des cellules receveuses. La transduction de l'ADN cellulaire par un virus peut avoir pour conséquence la recombinaison de l'ADN de la cellule hôte donneuse et de celui de la cellule hôte receveuse. Le processus de la transduction généralisée est typique des bactériophages tels que le phage P1 de *E. coli* et le phage P22 de *Salmonella*.

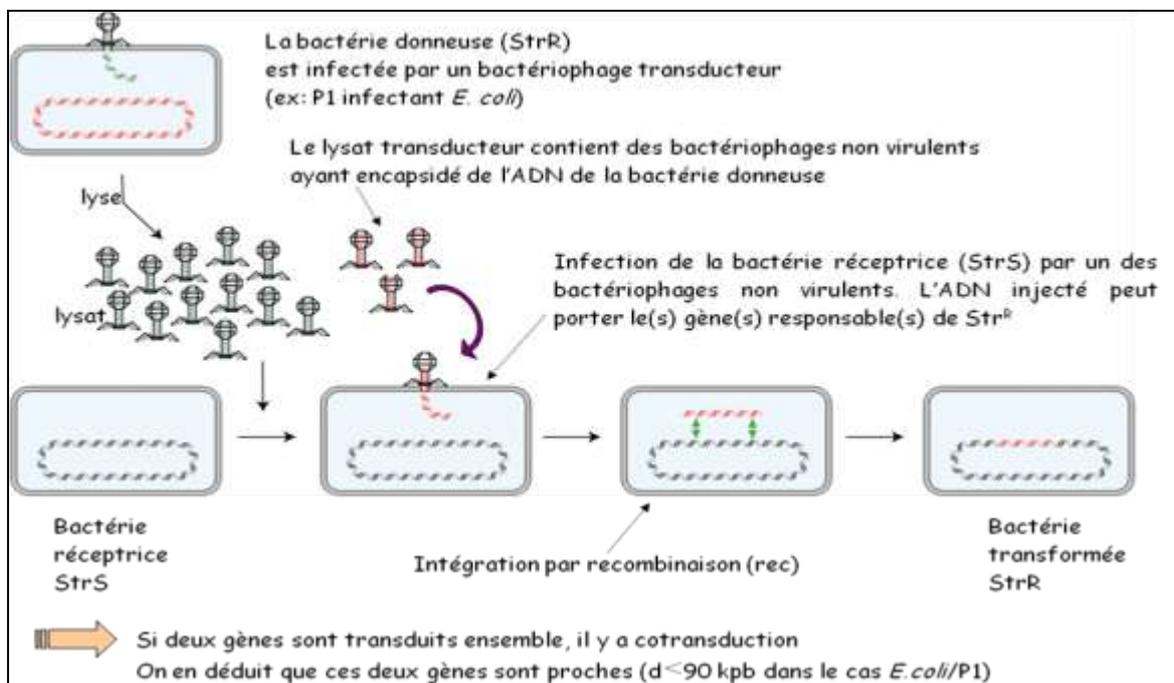


Figure : La transduction Généralisée

II.2. La transduction spécialisée

Pour un phage donné et pour une espèce bactérienne donnée, ce sont toujours les mêmes gènes qui sont transduits; exemple: phage λ et gène *gal*: cette spécificité dépend du site spécifique d'intégration du prophage dans le chromosome bactérien pendant le cycle lysogène. Lorsque le phage λ se fixe comme un prophage en point précis du chromosome, situé près du locus Gal. Des échanges peuvent survenir entre phage et la partie du chromosome proche du site de fixation. Lorsque le prophage se transforme en bactériophage virulent et se multiplie, certains virus seront porteurs de matériel génétique de l'hôte. Certains des bactériophages formés qui portent des gènes bactériens peuvent avoir perdu un ou plusieurs de leurs propres gènes: ils sont dits **défectifs** (λ_d). Un tel bactériophage porteur de gène bactérien *gal* sera dit $\lambda_{d_{gal}}$. Les bactériophages porteurs d'exogénote (matériel génétique issu d'une autre cellule) pourront le transmettre à la bactérie qu'ils infectent. Ce transfert est rare, sa fréquence est de 10^{-5} (transduction à basse fréquence).

Lorsque un tel bactériophage devient prophage, la bactérie infectée devient partiellement diploïde: avec le bactériophage λ , le gène *gal* peut être transmis à une bactérie Gla^- avec la formation un hétérozygote gal^+/gal^- .

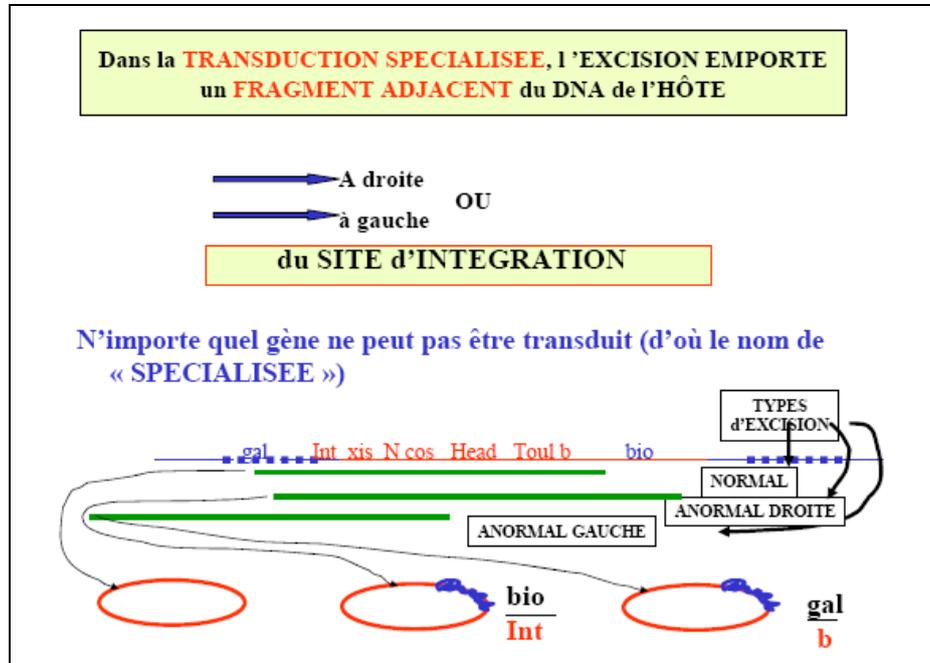


Figure : La transduction Spécialisée

La Transfection

Un phénomène voisin de la transformation mais qui implique un ADN phagique nu. Dans la majorité des cas ceci aboutit à la production des virus par des cellules. Comme pour la transformation il existe des phénomènes de compétence, qui chez les bactéries Gram négatives (*E. coli*), peuvent être liés à une déficience en lipopolysaccharides au niveau de la membrane externe. Pour ces souches, l'efficacité de la transfection est liée à la concentration en calcium du milieu.

Enseignante Responsable: Mm R .GHARZOULI FERTOUL