

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine 1

Département de Microbiologie

# Régulation de l'Expression Génique chez les Microorganismes (REGM)

*Destiné aux étudiants de niveau Master 1, spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes*

Synthèse élaborée par : Dr. ARABET Dallel

Année Universitaire : 2017/2018

*« Cela semblait autre fois si simple, l'ADN disait au corps comment fabriquer les protéines. Les instructions provenaient de chapitres appelés gènes. Les brins du cousin chimique de l'ADN; l'ARN, servaient de messagers moléculaires, portant les ordres pour les usines à protéines des cellules, et les traduisant en action. Entre les gènes s'étendent de longues portions d' « ADN Poubelle », incohérent, inutile et inerte. C'était autre fois. »*

*Elizabeth Pennisi*

*Shining a light on the genome's « dark matter »*

*Science, 2010 (p. 1614)*

# *Table des matières*

Avant-propos

Chapitre I : Principaux mécanismes de régulation de la transcription

Section 1 : Organisation des complexes de transcription chez la

levure.....	Page 01
Introduction.....	Page 01
1. Généralités sur les levures.....	Page 01
• <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	Page 01

2. Spécificités de la transcription chez la levure (les eucaryotes).....	Page 03
a. Les séquences régulatrices de la transcription.....	Page 03
b. Définition du promoteur minimal.....	Page 05
c. Les éléments de régulation.....	Page 05

*Les séquences régulatrices proximales.....	Page 06
---	---------

3. Assemblage du complexe de pré-initiation de la transcription.....	Page 06
a. La voie séquentielle.....	Page 07
b. La voie de l'holoenzyme.....	Page 09
4. Le complexe médiateur.....	Page 09

Section 2 : Remodelage de la chromatine et régulation de la transcription.....

Introduction.....	Page 11
1. Définition de la chromatine.....	Page 11
2. La chromatine et la transcription.....	Page 13
3. Remodelage de la chromatine.....	Page 14
3.1. En agissant sur les histones.....	Page 14
a) La méthylation.....	Page 14
b) L'acétylation.....	Page 14
c) La phosphorylation.....	Page 14

Section 3 : Contrôle de l'arrêt de la transcription chez *Saccharomyces*

<i>cereviae</i> .....	Page 16
Introduction.....	Page 16
1. Facteurs impliqués dans la résolution de l'arrêt transcriptionnel.....	Page 16
1.1. Rôle de TFIIIF dans la résolution de l'arrêt transcriptionnel.....	Page 16
1.2. Rôle de TFIIIS dans la résolution de l'arrêt transcriptionnel.....	Page 17
2. Ubiquitination et dégradation de l'ARN polymérase II.....	Page 17

Section 4 : Rôle et mécanismes de dégradation des ARNm chez *E. coli*

(régulation post-transcriptionnelle).....	Page 18
Introduction.....	Page 18
1. Dégradation des ARNm chez les procaryotes (cas de <i>E. coli</i> ).....	Page 18
a) Les principales ribonucléases.....	Page 18
• Les endoribonucléases.....	Page 18
• Les exoribonucléases.....	Page 19
b) Les mécanismes de dégradation des ARNm.....	Page 19
c) Le dégradosome.....	Page 21
2. Dégradation des ARNm chez les eucaryotes.....	Page 22

Section 5 : Les ARN régulateurs et le mécanisme du *Silencing* (Régulation

post-transcriptionnelle).....	Page 24
1. L'interférence ARN (ARNi) ou <i>Silencing</i> .....	Page 24
• Les micro ARN.....	Page 26
2. Rôle des ARNsi et des ARNmi dans l'inhibition de l'initiation de la	

traduction.....	Page 28
3. Application thérapeutique de l'interférence (Silencing) ARN.....	Page 28
Chapitre II : Réponse Générale au Stress chez les Microorganismes.....	Page 30
Introduction Générale au chapitre.....	Page 33
Section 1 : Mode de régulation de la réponse au choc thermique chez les bactéries.....	Page 33
Introduction.....	Page 33
1. Historique.....	Page 33
2. Quand parle-t-on de stress thermique	Page 34
3. Les étapes de la réponse au choc thermique chez les bactérie- <i>E.coli</i> comme modèle.....	Page 34
3.1.Transcription des HSPs.....	Page 34
3.2.Rôle des HSPs.....	Page 35
3.3.Les principales HSPs bactériennes.....	Page 35
a) Les HSPs chaperons.....	Page 35
b) Les HSPs protéases.....	Page 37
4. Régulation de l'expression du gène <i>rpoH</i> .....	Page 38
• Régulation positive des HSPs.....	Page 38
Section 2 : Résistance au stress acide chez les bactéries lactiques.....	Page 41
Introduction.....	Page 41
1. Généralité sur les bactéries lactiques.....	Page 41
2. Production d'acide lactique par les BL.....	Page 42
a) Bactéries utilisées dans la production d'acide lactique.....	Page 42
b) Fermentation lactique chez les BL.....	Page 42
c) Influence de l'oxygène sur la croissance des BL.....	Page 43
3. Mécanismes de résistance des bactéries lactique au stress acide.....	Page 43
• Protéines induites par les BL lors d'un stress acide.....	Page 44
Section 3 : Stress oxydatif chez la levure.....	Page 45
Introduction.....	Page 45
1. Métabolisme de l'oxygène chez les organismes aérobies.....	Page 45
2. Les étapes de la réduction de l'O <sub>2</sub> .....	Page 45
3. Mécanismes de résistance au stress oxydatif chez la levure.....	Page 46
*Le glutathion.....	Page 46
*La superoxyde-dismutase (SOD).....	Page 48
*Les glutarédoxines et les thiorédoxines.....	Page 49
*La catalase.....	Page 50
Chapitre 3 : Régulation catabolique et Quorum Sensing.....	Page 51
Section 1 : Biosynthèse des antibiotiques par les <i>Streptomyces</i> .....	Page 51
Introduction.....	Page 51
1. Définition et caractéristiques principales du genre <i>Streptomyces</i> .....	Page 51
1.1.Génétique des <i>Streptomyces</i> .....	Page 51
1.2.Ecologie des <i>Streptomyces</i> .....	Page 51
2. Bioactivité des <i>Streptomyces</i> .....	Page 52
3. Production des antibiotiques par les <i>Streptomyces</i> .....	Page 52
3.1.Définition des antibiotiques.....	Page 52
3.2.Les antibiotiques produits par les <i>Streptomyces</i> .....	Page 52
Section 2 : Répression catabolique chez les Gram positif.....	Page 53
Introduction.....	Page 53
1. La diauxie (Expérience de Monod 1942).....	Page 53
2. La répression catabolique dépendante de CcpA.....	Page 55

• Mécanismes du système à deux composants.....	Page 55
Section 3 : Communication et transmission du signal chez les Gram positif....	Page 57
Introduction.....	Page 57
1. Définition du Quorum Sensing.....	Page 57
2. Mécanismes du QS chez les bactéries.....	Page 57
3. Le QS chez les bactéries Gram positif.....	Page 59
Références Bibliographiques.....	Page 62

# *Avant-propos*

L'*ADN* (Acide Désoxyribo-Nucléique) et l'*ARN* (Acide Ribo-Nucléique). On ne sait jusqu'à présent pas, laquelle des deux molécules est apparue en premier .... De nombreuses hypothèses existent mais aucune n'a pu atteindre la certitude. Cependant, le monde entier, aussi bien les spécialistes du domaine que ceux qui ne le sont pas, est désormais certain que tous les secrets de la *VIE* sont résumés dans ces deux molécules mystères.

L'un portant l'information génétique déchiffrée en son langage quadri-basique, l'autre permettant sa transformation en protéines, l'*ADN* et l'*ARN* sont les matrices des deux plus fascinants processus moléculaires : la transcription et la traduction.

Si l'énigme du passage de l'*ADN* à la protéine a été résolu (théorie du Dogme Central), celui des mécanismes de régulation des gènes n'est jusqu'à présent pas bien élucidé. Comment deux cellules contenant le même *ADN* est donc la même information génétique, peuvent-elles donner naissance à deux organes structurellement et fonctionnellement différents ?!!! Comment deux cellules exactement identiques peuvent-elles réagir différemment aux changements environnementaux ?! Et puis, par quelle intelligence peuvent-elles décider de leur sort dans telle ou telle condition de vie ?! ... Ces questions et d'autres, ont longtemps occupé les chercheurs et le font toujours. Certaines ont bien trouvé des réponses, d'autres mettent encore les équipes de recherches partout dans le monde, à cheval pour arriver à leur trouver des explications.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'essence de cette matière intitulée : Régulation de l'Expression Génique chez les Microorganismes (REGM). Destinée aux étudiants de Master 1, elle a pour objectif de développer leurs connaissances déjà reçues pendant leur formation en Licence. Après avoir étudié les bases de la transcription et de la traduction, les étudiants sont estimés prêts à recevoir des informations de niveau de complexité supérieur et de comprendre ainsi les différents et les plus importants mécanismes impliqués dans la régulation de l'expression des gènes. Étant destinée à des Microbiologistes de formation, la matière REGM s'intéresse particulièrement à la régulation de l'expression des gènes chez les microorganismes dans leurs deux grandes catégories : Procaryotes et Eucaryotes.

Ainsi, le cours s'organise en trois grands Chapitres :

- Les principaux mécanismes de régulation de la transcription
- Le stress et la réponse au stress chez les microorganismes, et
- La répression catabolique et le Quorum Sensing.

Chacun des chapitres est divisé en sections détaillant des mécanismes de régulation chez certains microorganismes modèles tels que la levure (pour les eucaryotes), les bactéries Gram positif et les bactéries lactiques à titre d'exemple.

A la fin de l'enseignement ; l'étudiant sera capable de distinguer les différents mécanismes impliqués dans la régulation des gènes eucaryotes de ceux employés chez les procaryotes. Son niveau d'analyse et les bases de ses connaissances en matière de biologie moléculaire progresseront et attendront un niveau supérieur de complexité et de compréhension.

Ce niveau d'apprentissage construit les bases pour comprendre des mécanismes encore plus compliqués de la biologie moléculaire, nécessaires pour tout futur chercheur dans un monde scientifique qui ne cesse d'évoluer ....

***Dr. ARABET Dallel***

*Chapitre I : Principaux  
mécanismes de régulation de  
la transcription*

*Section 01 : Organisation  
des complexes de  
transcription chez la levure*

**Introduction :**

Le premier organisme eucaryote dont le génome a été séquencé est la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Goffeau *et al.*, 1996). Elle représente l'organisme modèle de l'étude génomique, protéomique et métabolomique chez les eucaryotes.

Ainsi, tout au long de l'évolution de la biologie moléculaire et de la génétique, toutes les découvertes scientifiques bouleversantes ont été réalisées d'abord sur la levure et notamment en ce qui concerne les mécanismes d'expression et de régulation des gènes.

Dans ce cours, les principaux complexes de transcription identifiés et décrits chez la levure et spécifiquement *S. cerevisiae* seront entretenus.

**1. Généralités sur les levures :**

Les levures sont des microorganismes, eucaryotes, vivants sur les fruits, les fleurs, les aliments et tout autre endroit contenant du sucre. Elles survivent à un large spectre de conditions environnementales (Hencké, 2000) :

- La température : Elles tolèrent des températures variant de 0 à 50 °C et peuvent proliférer à des températures entre 12 et 40 °C.
- Le pH : Elles peuvent se développer à des valeurs de pH allant de 2,8 à 8.
- La dessiccation : Elles possèdent une tolérance presque complète à la dessiccation.
- La pression osmotique : Elles sont connues pour être très résistantes à la pression osmotique.
- La résistance à l'alcool : Elles peuvent survivre dans des conditions contenant 20 % d'alcool.

• *Saccharomyces cerevisiae* :

*Saccharomyces cerevisiae* est la levure la plus connue et la plus étudiée mais surtout, la plus utilisée dans l'industrie (Rosano and Ceccarelli, 2014). En effet, *S. cerevisiae* est principalement utilisée pour la production vinicole en raison de sa forte capacité de fermentation, sa tolérance au faible pH et aux hauts niveaux d'alcool. Elle est également utilisée en boulangerie (levure de boulanger), en industrie pharmaceutique (production des protéines et criblage des nouveaux médicaments) et dans la recherche scientifique en générale où elle représente le modèle cellulaire eucaryote (Pitkänen *et al.*, 2014).

---

## Section 1 : Organisation des complexes de transcription chez la levure

---

*S. cerevisiae* est un champignon unicellulaire. Elle prend la forme d'une cellule ronde ou ovale de 5 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre (**Figure 01**). Elle possède un génome à ADN double brin linéaire de 13 millions de paires de bases (pb), partagé en 16 chromosomes. Elle se réplique assez rapidement à 30 °C environ toutes les deux heures. Elle peut vivre sous deux types de conditions :

- En aérobiose : où elle se reproduit rapidement grâce à la respiration. Ou ;
- En anaérobiose : où elle fermente le sucre en alcool.

Ce microorganisme est classé comme étant anaérobie facultatif (**Visser *et al.*, 1990**) avec une préférence pour le mode fermentatif (**Pronk *et al.*, 1996; Barnett, 2003**).



**Figure 01** : Image de *Saccharomyces cerevisiae* sous microscope électronique (image de la collection de la *National Collection of Yeast Cultures NCYC*, prise en août 1957)

## **2. Spécificités de la transcription chez la levure (les eucaryotes) :**

Chez les eucaryotes comme chez les procaryotes, la transcription consiste à transmettre l'information génétique emmagasinée sur la molécule d'ADN à une molécule reconnue par le ribosome afin de la transformer en protéines. Il s'agit donc de la synthèse de l'ARN messenger (**ARNm**). Dans ce passage de l'information, plusieurs facteurs indispensables doivent intervenir pour assurer un passage correct et fidèle. L'opération de la synthèse de l'**ARNm** requiert l'intervention d'une enzyme appelée l'**ARN polymérase**.

Contrairement aux procaryotes qui ne possèdent qu'une seule ARN polymérase, les eucaryotes quant à eux en possèdent trois. L'ARN polymérase responsable de la synthèse de l'**ARNm** chez les eucaryotes est nommée ARN polymérase **II** (**ARN pol II**).

Dans une expression génique de base, la transcription nécessite l'intervention de l'ARN pol II en association avec six (06) facteurs généraux de transcription qui sont : **TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIF et TFIIH** (**Kandiah et al., 2014**). Pour répondre à des signaux internes ou externes (stress, quorum sensing, ...), la transcription des gènes peut passer d'un niveau basique à un niveau supérieur : on parle alors d'*activation* ou à un niveau inférieur (voire nul) et on parle alors de *répression*. L'activation et la répression de l'expression des gènes est le résultat de l'intervention d'*activateurs* ou de *répresseurs* qui agissent directement ou indirectement sur la machinerie transcriptionnelle. On parle de la régulation de l'expression génique. L'engagement d'activateurs ou de répresseur est contrôlé par des séquences dites : *régulatrices* qui se trouvent sur la molécule d'ADN.

### **a. Les séquences régulatrices de la transcription :**

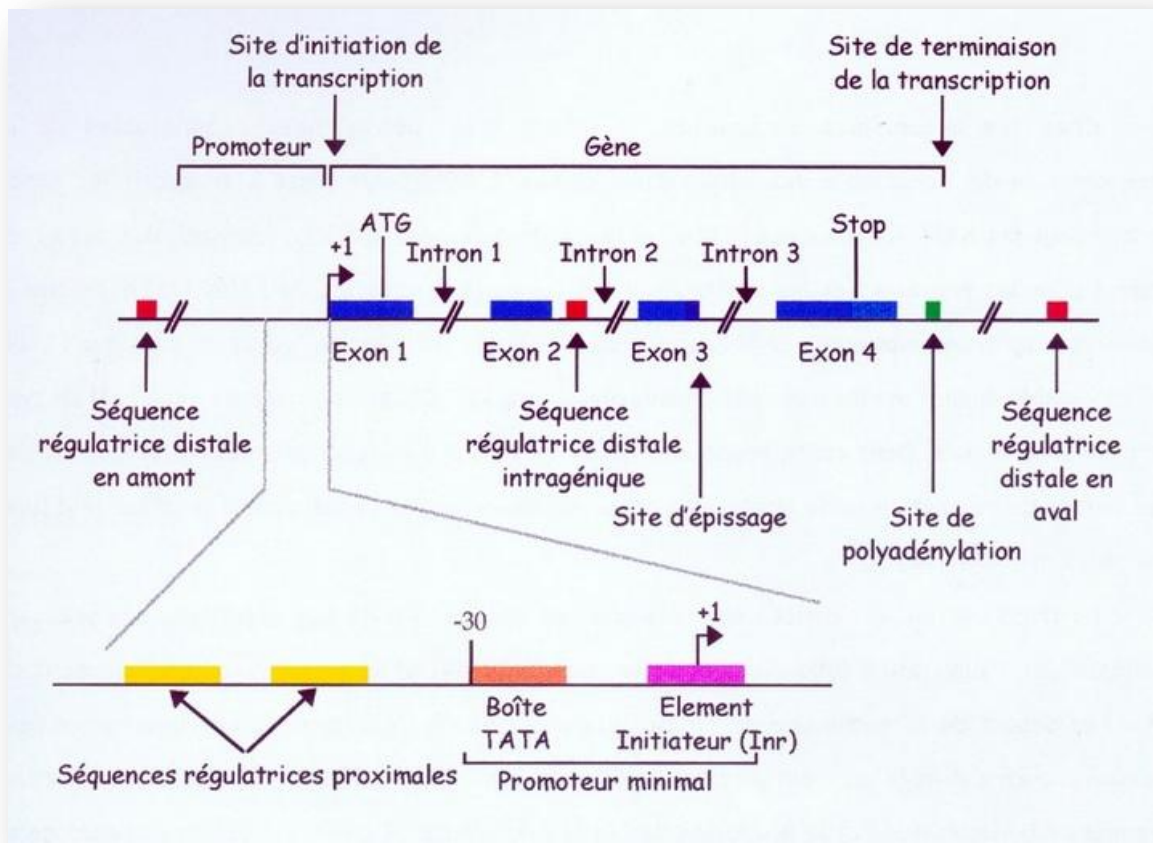
Les gènes sont les parties de l'ADN portant l'information nécessaire pour synthétiser une protéine. Cette définition peut laisser penser que seuls ces fragments d'ADN sont informatifs ! La réponse est NON ! En effet, l'expression du gène lui-même est modulée par des séquences d'ADN spécifiques regroupées en unité fonctionnelle appelée : « **Promoteur** ». Les promoteurs sont partagés en deux classes :

- Des promoteurs minimaux : qui se trouvent près du gène et qui sont spécifiquement reconnus par les différents facteurs généraux de transcription.
- Des séquences régulatrices : elles mêmes divisées en deux groupes :
  - Les séquences régulatrices proximales : placées à proximité du site d'initiation de la transcription.

## Section 1 : Organisation des complexes de transcription chez la levure

- Les séquences régulatrices distales : placées loin du site d'initiation, elles peuvent être en aval ou en amont de ce dernier.

Au niveau de ces séquences régulatrices, viennent se lier des protéines régulatrices en guise d'activateurs ou de répresseurs, afin de réguler l'expression du gène cible (Weis and Reinberg, 1992) (Figure 02).



**Figure 02** : Schéma représentatif des différentes séquences intervenant dans la régulation de l'expression génique (Weis and Reinberg, 1992).

Le gène est délimité par le site initiateur représenté par le point (+1) et s'arrête au niveau du signal STOP. Le promoteur minimal contient le site initiateur ainsi que la TATA *Box* située à (-30 pb) du site initiateur du gène. Les séquences régulatrices distales et proximales entourent le gène.

**b. Définition du promoteur minimal :**

Le promoteur minimal peut être défini comme ça a été reporté par **Weis and Reinberg (1992)** : « La plus petite unité nécessaire et suffisante à l'initiation de la transcription *in vitro* par l'ARN pol II et les facteurs généraux de transcription ».

La constitution du promoteur minimal se résume à la *TATA Box* et/ou l'élément initiateur qu'on abrège « **Inr** ».

- L'élément initiateur :

En effet, l'élément **Inr** est considéré également comme l'une des séquences conservées chez les gènes transcrits par l'ARN pol II mais moins conservé que la *TATA Box*. Il est constitué d'une séquence riche en pyrimidines. Le rôle principal de l'élément **Inr** est de permettre la transcription des gènes qui ne contiennent pas de *TATA Box*. Cependant, les deux éléments conservés peuvent coexister et fonctionner dans ce cas, en complète synergie (**Emami et al., 1997**).

- La *TATA Box* :

La séquence consensus de la *TATA Box* est : TATA(A/T)A(A/T). Généralement elle se trouve à 30 pb en amont du site initiateur du gène. Cependant, chez la levure *S. cerevisiae*, elle est localisée à **120** pb en amont. Cet élément est reconnu par la sous-unité **TBP** (*TATA Binding Protein*) du facteur générale de transcription **TFIID** (**O'Shea-Greenfield and Smale, 1992**).

**c. Les éléments de régulation :**

Chez les organismes supérieurs, les tissus différenciés sont constitués de cellules qui portent toutes le même patrimoine génétique hérité des parents. Cependant, chaque tissu possède ses spécificités fonctionnelles et structurales ! Cette énigme qui a longtemps occupé les chercheurs a été résolue lorsque l'on a compris que le taux d'expression d'un gène donné varie des cellules d'un tissu à l'autre. Cette possibilité de changer le taux d'expression est due aux **séquences régulatrices**. En effet, chaque gène possède au niveau de son promoteur, des séquences qui permettent d'augmenter ou de diminuer le niveau de son expression. Les séquences régulatrices fonctionnent en association avec des **protéines régulatrices**. Ce mécanisme permet de contrôler l'expression des gènes en fonction des besoins métaboliques et physiologiques et de l'état de différenciation cellulaire.

\*Les séquences régulatrices proximales :

Ce sont des séquences qui se trouvent souvent en plusieurs exemplaires. Elles sont situées en amont du site d'initiation entre (-40) et (-110) pb. Elles exercent leur fonction de régulation en interagissant avec des protéines spécifiques. Lorsque la protéine joue le rôle d'activateur, on parle de *Upstream Activating Sequences (UAS)*. Dans ce cas la régulation va dans le sens d'augmenter le taux d'expression du gène. Dans le cas contraire, c'est-à-dire de répression, on parle alors de *Upstream Repression Sequences (URS)* où le niveau d'expression du gène diminue.

Parmi les séquences régulatrices proximales les mieux connues, on cite la boîte **CAAT** et les motifs riches en **GC**. En ce qui concerne les protéines régulatrices, on cite à titre d'exemple l'activateur **Sp1** découvert chez la levure et qui se fixe aux motifs riches en **GC** et augmente le taux de transcription (**Gill et al., 1994**).

\*Les séquences régulatrices distales :

Contrairement aux séquences régulatrices proximales, les séquences régulatrices distales peuvent se situer soit en amont soit en aval de l'**Inr** (**Ptashne, 1988**). La distance qui les sépare de ce dernier peut atteindre des milliers de paires de bases et elles peuvent être en *Cis* ou en *Trans* du gène (c'est-à-dire sur le même chromosome ou sur un autre chromosome) (**Goldsborough and Kornberg, 1996**). Lorsque la séquence active la transcription du gène on parle de « *enhancer* », lorsqu'elle le réprime on parle de « *silencer* ». Le mécanisme d'action de ces séquences est jusqu'à présent mal élucidé.

### **3. Assemblage du complexe de pré-initiation de la transcription :**

L'étape la plus importante et la plus régulée de la transcription est l'initiation. Cette dernière commence par la formation d'un complexe dit de « **pré-initiation** » (**PIC** pour *Pre-Initiation Complex*) (**Burley and Roeder, 1996**). En effet, la formation du PIC débute d'abord par la reconnaissance de la *TATA Box* par le facteur TFIID et plus précisément, par la sous unité TBP (**Davison et al., 1983**). La fixation du TFIID sur le promoteur déclenche l'assemblage du reste des facteurs généraux de transcription. Il existe ainsi deux théories d'assemblage du PIC possibles (**Patikoglou and Burley, 1997 ; Hoffmann et al., 1997 ; Lee and Young, 2000**):

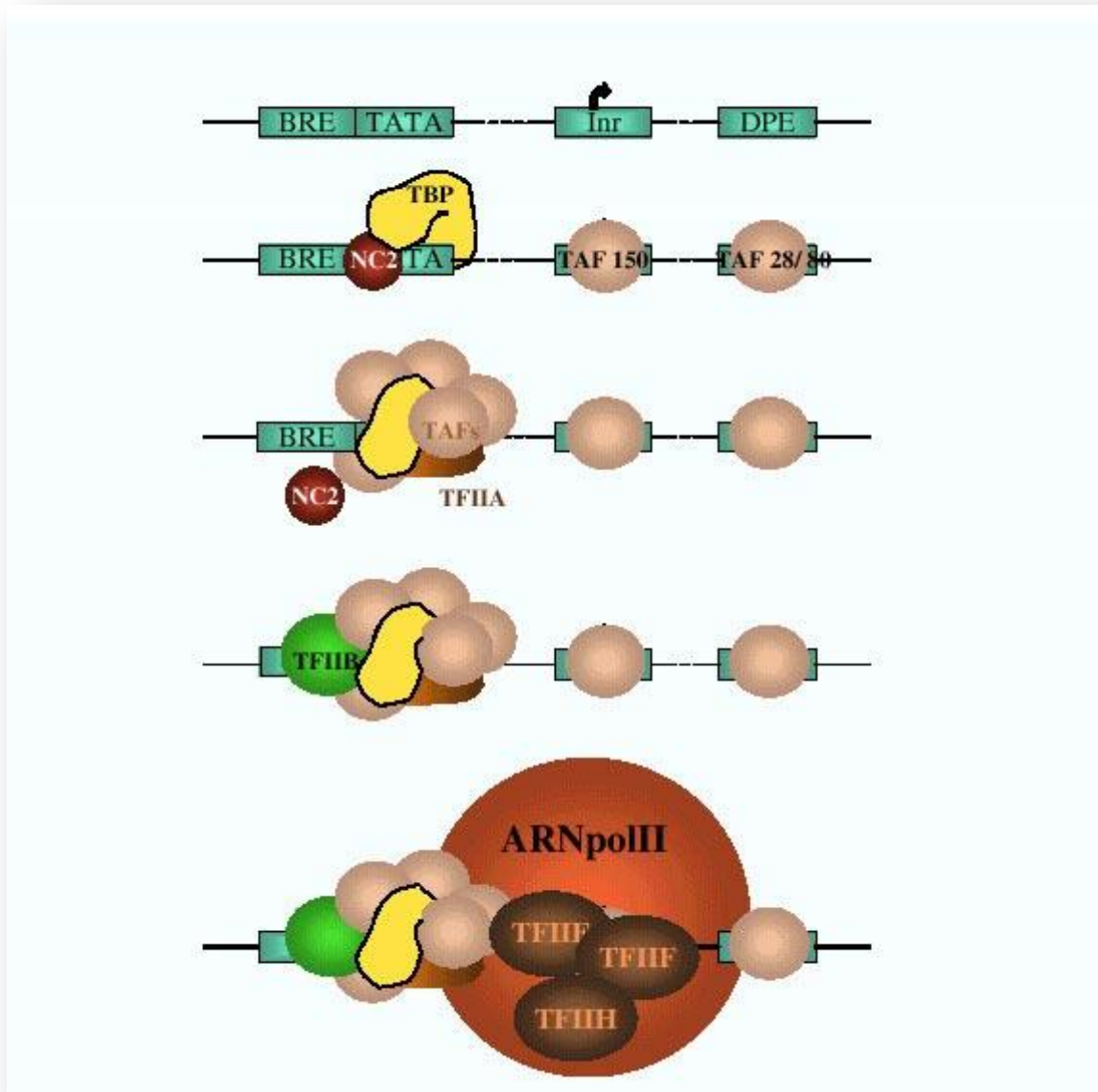
- Soit la voie « Séquentielle » où les facteurs se fixent sur le promoteur dans un ordre bien déterminé.

- Soit la voie « de l'Holoenzyme » où les facteurs sont pré-assemblés dans un complexe et viennent ensuite se fixer tous ensemble sur le promoteur.

**a. La voie séquentielle :**

Dès que le facteur TFIID reconnaisse la TATA *Box*, il fait appel aux autres facteurs généraux de transcription. Le premier qui vient se lier au promoteur est le facteur **TFIIA**. Le rôle de ce dernier est de stabiliser les liaisons entre le TFIID et la TATA *Box* en interagissant directement avec l'ADN (**Pugh, 2000**). Le complexe TFIID/TFIIA/ADN est reconnu par le facteur **TFIIB** (**Maldonado et al., 1990**). Il est important de souligner que chez *S. cerevisiae*, une mutation du gène codant le TFIIB entraîne un déplacement du site **Inr** ce qui entrave la transcription (**Pinto et al., 1994**). TFIIB est responsable du recrutement de l'ARN pol II et du facteur **TFIIF** (**Roeder, 1996**). Le TFIIF rejoint alors le PIC (**Zawel et al., 1995**). Ce facteur réduit les interactions non-spécifiques de l'ARN pol II avec l'ADN ce qui permet son bon positionnement (**Conaway and Conaway, 1993**). Le rôle le plus important de ce facteur s'agit de permettre le passage de l'étape de l'initiation à l'étape de l'élongation de la transcription en évitant un arrêt prématuré de l'ARN pol II (**Yan et al., 1999**). L'étape suivante de la formation du PIC consiste en l'insertion du facteur **TFIIE** (**Zawel and Reinberg, 1995; Orphanides et al., 1996**). Le rôle de ce dernier consiste à recruter le facteur **TFIIH** et l'aider à créer une ouverture au niveau de l'ADN (**Maxon et al., 1994**) (**Figure 03**).

Malgré que l'étude de la voie d'assemblage séquentiel du PIC *in vitro* a permis la compréhension du rôle de chacun des facteurs généraux de la transcription, il semble qu'elle ne reflète pas la réalité. Des études ont pu isoler des complexes d'holoenzymes contenant tous les facteurs généraux associés à l'ARN pol II en une seule grosse structure (pour revue voir **Lemon and Tjian, 2000**).



**Figure 03** : Schéma représentatif de l'ordre de fixation des facteurs généraux de la transcription suivant la voie séquentielle d'assemblage du PIC (**Bouallagua, 2017**).

DPE : *Down Stream Promotor Element*, qui est l'une des séquences régulatrice hautement conservée placée en aval de l'**Inr**.

BRE : *Binding Recognition Element*, qui est l'une des séquences régulatrice placée en amont de l'**Inr**.

Les TAF : *TBP Associated Factors*, des facteurs se liant à la TBP pour favoriser sa fonction.

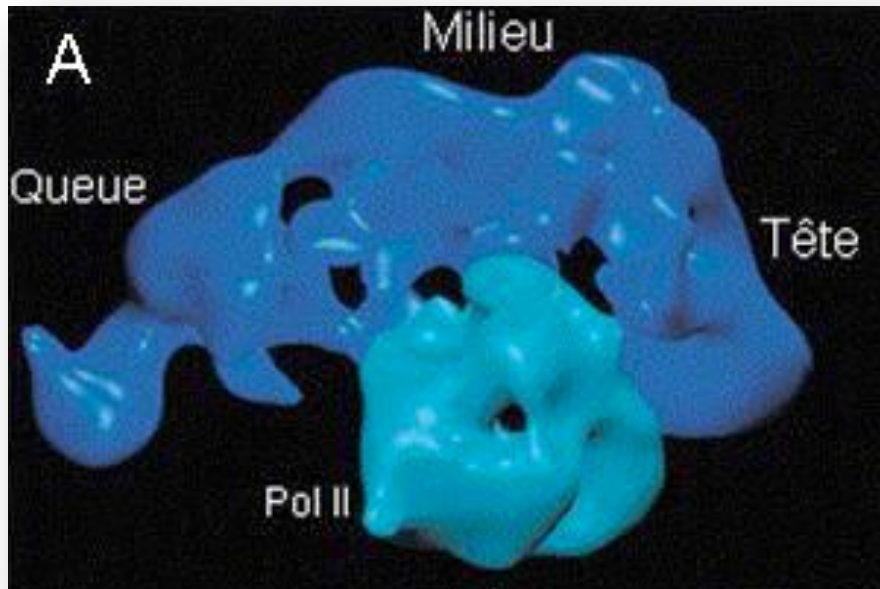
**b. La voie de l'holoenzyme :**

Cette hypothèse stipule que juste après l'emplacement du TFIID sur la TATA *Box*, un complexe macromoléculaire appelé « Holoenzyme », vient se placer sur l'ADN. L'holoenzyme contient non seulement l'ARN pol II et le reste des facteurs généraux de la transcription mais aussi des facteurs de régulation (co-activateur) (**Kandiah *et al.*, 2014**). En effet, la composition d'un holoenzyme varie d'un organisme à l'autre et même d'un tissu à l'autre. Chez *S. cerevisiae*, l'holoenzyme est constitué de la machinerie transcriptionnelle ainsi que de protéines appelées **SRB** (*Suppressor of RNA polymerase B*) (**Koleske and Young, 1994**). Il a été également démontré que l'holoenzyme de la levure pourrait contenir le complexe **SWI/SNF** de remodelage de la chromatine (Voire le cours remodelage de la chromatine) (**Wilson *et al.*, 1996**).

L'hypothèse de l'holoenzyme reste également loin de la réalité parce qu'elle ne prend pas en compte la nécessité de la flexibilité des interactions moléculaires pour répondre aux différentes conditions lors de la transcription. La formation du PIC chez les eucaryotes demeure ainsi l'une des énigmes moléculaire qui attend la résolution.

**4. Le complexe médiateur :**

Chez la levure *S. cerevisiae* le médiateur est un complexe protéique impliqué dans la régulation de l'expression des gènes transcrits par l'ARN pol II (**Kim *et al.*, 1994**). Il stimule la transcription et augmente le taux de transcription basale en interagissant avec des activateurs. Le médiateur est composé de 25 sous-unités (**Guglielmi *et al.*, 2004**). Les protéines de ce complexe chez la levure sont nommées Med1-22, Med31, Cdk8 et CycC (**Bourbon *et al.*, 2004**) (**Figure 04**).



**Figure 04** : Image capturée par microscopie électronique du complexe médiateur de *S. cerevisiae* (en bleu foncé) associé à l'ARN pol II (en bleu clair) (Davis *et al.*, 2002) résolution 35 Å.

*Section 02 : Remodelage de  
la chromatine et régulation  
de la transcription*

**Introduction :**

Il est actuellement connu, que la structure et l'organisation du génome chez les organismes eucaryotes est beaucoup plus complexe que chez les bactéries. L'existence d'un noyau chez ces organismes impose la condensation de l'ADN dans cet espace assez restreint, faisant ainsi face à la contrainte de la taille génomique plus ou moins importante. Ainsi, l'ADN des eucaryotes adopte une structure condensée et surenroulée permettant de l'emmagasiner dans le noyau. Cette structure s'appelle la « **Chromatine** ».

Étant une structure condensée, la chromatine doit quand même laisser l'ADN accessible pour pouvoir assurer ses fonctions (transmission de l'information génétique). Pour cette raison, la molécule d'ADN eucaryote est liée à des complexes protéiques qui jouent un double rôle (**Soutourina et al., 2006**) :

- Lever la barrière de la chromatine d'une part, et d'autre part ;
- Préserver la structure chromatinienne.

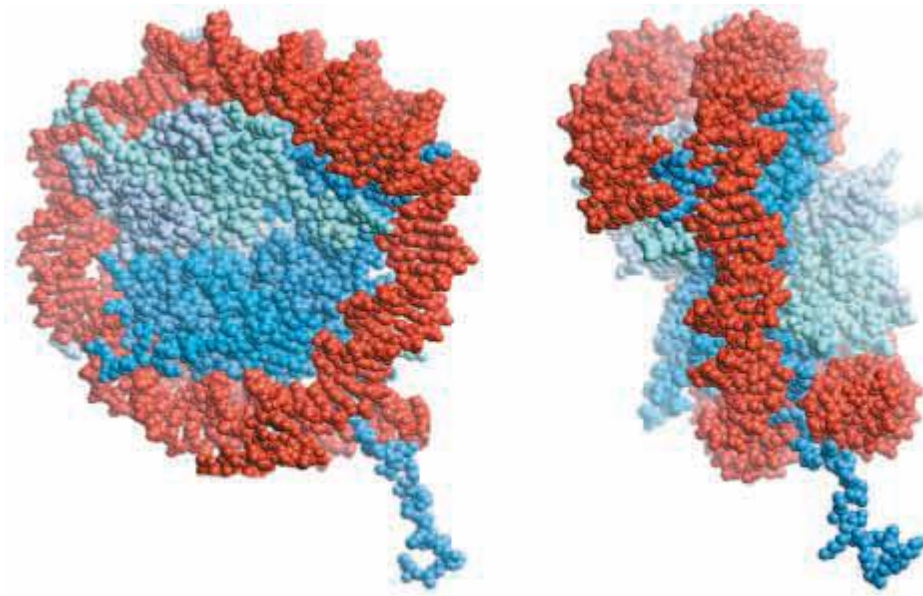
L'état de la chromatine est donc un facteur décisif de l'accessibilité de l'ADN et donc de la régulation de l'expression génique chez les eucaryotes.

**1. Définition de la chromatine :**

La chromatine est le niveau suprême de condensation de l'ADN chez les eucaryotes. Dans cette structure, l'ADN est associé à des protéines appelées « **Histones** ». Les histones sont des protéines de charge positive (ce qui leur permet de se lier étroitement à l'ADN chargé négativement), très conservées au cours de l'évolution. Sous microscopie électronique, la chromatine se présente sous forme d'un chapelet où des fragments d'ADN nus sont séparés par des formes globulaires composées de l'association d'ADN et d'histones ; c'est les « **Nucléosomes** » (**Kornberg and Thomas, 1974**).

- Les nucléosomes :

Un nucléosome est composé d'un cœur protéique formé de 08 protéines histones : 2H2-A, 2H2-B, 2H3 et 2H4. Autour du cœur du nucléosome s'enroule 146 pb d'ADN (faisant 1,65 tour). Cette structure est finalement verrouillée par les histones H1 et H5 appelés « *Linker histones* » (**Arents et al., 1991**). Un espace de 20 à 90 nucléotides sépare les nucléosomes les uns des autres (**Figure 05**).



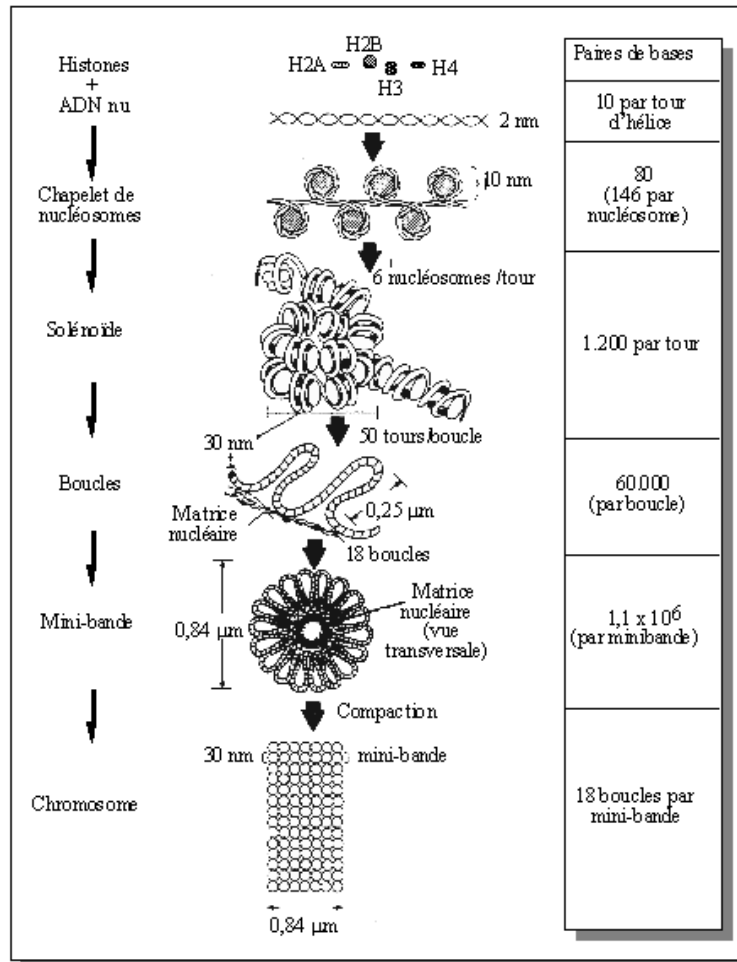
**Figure 05** : Représentation de la structure cristallographique du nucléosome (**Luger *et al.*, 1997**).

La structure en rouge représente la molécule d'ADN et celle en bleue représente les histones.

- Le solénoïde:

Lorsque six nucléosomes s'enroulent sur eux-mêmes ils forment ce que l'on appelle le « **Solénoïde** » (**Ray *et al.*, 1996**). L'ensemble des solénoïdes constitue l'**Euchromatine** ou l'**Hétérochromatine**.

Dans l'euchromatine, sont observées des régions décondensées indiquant des fragments d'ADN en transcription ou en réplication. Ces régions sont dites « **actives** ». Alors que dans l'hétérochromatine, ces régions sont absentes. L'hétérochromatine représente la forme la plus condensée où se trouvent les régions « **silencieuses** » de l'ADN (**Figure 06**).



**Figure 06** : Schéma représentant les différents niveaux de condensation de la chromatine (Walter *et al.*, 1995)

## 2. La chromatine et la transcription :

Comme déjà indiqué, la chromatine est une structure dense qui limite l'accès des protéines du métabolisme de l'ADN et notamment les facteurs de transcription et la machinerie transcriptionnelle, ce qui empêche l'expression des gènes. Il a été démontré que le niveau d'enroulement de la chromatine inhibe non seulement l'initiation mais aussi l'élongation de la transcription (Orphanides *et al.*, 1998). Pour résoudre ce problème, les cellules eucaryotes sont dotées de protéines spécifiques qui facilitent l'accès à l'ADN et permettent l'expression des gènes. C'est le cas du facteur « **Elongator** » décrit chez la levure (Travers, 1999). Il est important de souligner qu'un facteur semblable a été identifié chez l'homme (Kolaj-Robin and Seraphine, 2017).

**3. Remodelage de la chromatine :**

**3.1. En agissant sur les histones :**

Pour pouvoir surmonter l'obstacle de la condensation de la chromatine et permettre à la machinerie transcriptionnelle ou répliquative de s'installer et d'accéder à l'ADN, la cellule a besoin d'un dispositif lui assurant l'ouverture de la chromatine. On appelle ce processus « remodelage » de la chromatine. Le dispositif en question interpelle des enzymes capables d'introduire des modifications sur la liaison ADN/histones, rendant ainsi la molécule d'ADN accessible. Parmi les modifications qui puissent avoir lieu on site : La méthylation ; l'acétylation et la phosphorylation (**Daujat et al., 2002**).

a) La méthylation :

C'est une modification introduite sur les molécules d'histones grâce à des enzymes appelées **Histone Méthyl-Transférases (HMT)**. Il existe deux types d'**HMT**, certaines qui sont capables de rajouter un groupement méthyl ( $\text{CH}_3$ ) au niveau des résidus Lysines (Lys) des histones H3 et H2-B. Il s'agit par exemple de l'enzyme **SUV39H1** identifiée chez la levure et l'homme. Les **HMT** du deuxième type sont capables de l'ajouter au niveau des résidus Arginine (Arg) et sont appelés **PRMT1** (*protein arginine methyltransferase 1*). Elles ciblent les histones H3, H2-B et H4 (**Schurter et al., 2001**).

b) L'acétylation :

Cette réaction est catalysée par des enzymes appelées **Histone Acétyl-Transférases (HAT)**. Chez la levure, la **HAT** la mieux étudiée est la **GCN5**. Cette dernière rajoute un groupement acétyle au niveau des résidus Lys des histones H3 et H4 (**Vettese-Dadey et al., 1996**).

c) La phosphorylation :

La phosphorylation touche le résidu Serine (Ser) en position 10 de l'histone H3. Elle est réalisée grâce à une enzyme de type Kinase. Chez la levure, la kinase la mieux caractérisée pour la phosphorylation des histones est la **Snf1** (**Lo et al., 2001**).

**3.2. En utilisant le complexe SWI/SNF :**

Le complexe **SWI/SNF** (pour **SW**itching/**S**ucrose **N**on **F**ermentin) est un complexe protéique composé de **11** sous-unités. Il a un poids moléculaire de **2 MDa** (Méga-Dalton).

## ***Section 2 : Remodelage de la chromatine et régulation de la transcription***

---

C'est le premier complexe identifié chez la levure pour sa capacité à intervenir dans le remodelage de chromatine lors de la transcription (**Côté *et al.*, 1994**).

Son mécanisme d'action repose sur l'engagement d'un activateur transcriptionnel qui permet le changement du positionnement et de la structure des nucléosomes, ce qui rend l'ADN plus accessible. Cette action est ATP dépendante (pour revue voir **Kingston and Narlikar, 1999**).

Le complexe **SWI/SNF** n'intervient que dans le remodelage de la chromatine de certains gènes.

D'autres complexes protéiques ont été décrits chez la levure, tels que le complexe **RSC** (***Remodels the Structure of Chromatine***). Il est l'un des homologues du complexe **SWI/SNF** (**Cairns *et al.*, 1996**).

Toutes ces stratégies permettent de rendre la molécule d'ADN accessible et permettent ainsi la transcription des gènes. Le remodelage de la chromatine est l'un des processus crucial de la régulation transcriptionnelle des gènes chez les eucaryotes.

*Section 03 : Contrôle de  
l'arrêt de la transcription  
chez Saccharomyces  
cerevisiae*

**Introduction :**

Pendant la transcription, l'ARN polymérase II peut rencontrer des obstacles provoquant son arrêt. Ces obstacles peuvent être :

- Des dommages de l'ADN
- Des séquences difficiles à transcrire
- Des déplétions en nucléotides
- Des obstacles physiques sur l'ADN, ou
- La structure de la chromatine (les régions d'hétérochromatine) (**Wilson *et al.*, 2013**).

Quelque soit l'origine de l'arrêt, si la pause de l'ARN polymérase II persiste elle écoule progressivement vers le statut « **d'arrêt transcriptionnel** » (**Gu and Reines, 1995a**). Dans ce cas, deux scénarios peuvent avoir lieu :

- a) Soit l'ARN polymérase II est capable de surmonter l'obstacle et de reprendre la transcription.
- b) Soit elle en est incapable et l'élongation est arrêtée.

Dans les deux cas, l'ARN polymérase II arrêtée nécessite l'intervention de facteurs additionnels pour reprendre l'élongation ou pour être éliminée.

**1. Facteurs impliqués dans la résolution de l'arrêt transcriptionnel :**

Il a été prouvé, que l'arrêt transcriptionnel de l'ARN polymérase II est suivi d'un phénomène particulier. En effet, l'enzyme effectrice de la transcription fait une sorte de « **marche arrière** » le long de la molécule d'ADN matrice. Cette « marche arrière » ne dépasse pas généralement 2-14 pb (**Gu and Reines, 1995b**). Ce phénomène est d'une importance cruciale dans la résolution de l'arrêt car il engendre la sortie de l'extrémité 3' de l'ARNm du site actif de la polymérase ce qui facilite l'action des facteurs de réparation.

Pour redémarrer la transcription, les facteurs TFIIF et TFIIIS (appelé Dst1 chez *S. cerevisiae*) agissent en concert.

**1.1. Rôle de TFIIF dans la résolution de l'arrêt transcriptionnel :**

Ce facteur associé au PIC (Pre-initiation Complex) est retrouvé également pendant l'élongation. Lors de l'arrêt transcriptionnel TFIIF se lie à l'ARN polymérase II au niveau du tunnel d'entrée de l'ADN (**Chen *et al.*, 2010 ; Zhang *et al.*, 2005**). Jusqu'à présent le rôle de

TFIIF n'est pas très bien élucidé, cependant, on pense qu'il pourrait aider la polymérase à redémarrer en re-stabilisant les liaisons ADN/ARN pol/Transcrit.

### **1.2. Rôle de TFIIS dans la résolution de l'arrêt transcriptionnel :**

Ce facteur est connu sous le nom de Dst1 chez *S. cerevisiae*. Son rôle se résume à aider l'ARN polymérase à couper l'extrémité 3' du transcrit lorsqu'elle recule (c'est-à-dire après qu'elle effectue sa marche arrière). Ainsi, l'extrémité 3' de l'ARNm est replacer dans le site actif de l'ARN polymérase ce qui permet un redémarrage de la transcription (**Svejstrup, 2007**).

Dans certains cas, les facteurs TFIIF et TFIIS semblent être incapables de résoudre le blocage d'une ARN polymérase arrêtée et reculée. Cette dernière est alors éliminée en dégradant sa grande sous-unité. Ce phénomène est réalisé grâce à un processus appelé : **L'ubiquitination**.

## **2. Ubiquitination et dégradation de l'ARN polymérase II :**

\*Définition de l'ubiquitine :

L'ubiquitine est un peptide de 76 acides aminés. Il sert de marqueur de protéines à éliminer. Il peut ainsi mener à plusieurs conséquences y compris leur dégradation. Il est inséré sous forme de monomère sur lequel peut être synthétisé une nouvelle chaîne d'ubiquitine (**Heride et al., 2014 ; Sadowski et al., 2012**).

Dans le cas de l'ARN polymérase II, un monomère d'ubiquitine vient se lier à la sous-unité Rbp1 (la plus grosse sous-unité de l'ARN polymérase). Ensuite, une chaîne linéaire formée d'au moins 4 nouvelles ubiquitines est alors rajoutée. Cette dernière se lie spécifiquement aux résidus « sérines » non-phosphorylés du CTD (Carboxy-Terminal-Domain). Ceci confirme l'importance de la déphosphorylation lors du passage de l'initiation vers l'étape de l'élongation de la transcription. Cette chaîne d'ubiquitine mène à la dégradation de la Rbp1 et donc, de l'ARN polymérase en activant un multicomplexe enzymatique appelé le **Protéasome** (**Wilson et al., 2013**).

*Section 04 : Rôle et  
mécanismes de dégradation  
des ARNm chez E.coli  
(Régulation post-  
transcriptionnelle)*

## **Section 4 : Rôle et mécanismes de dégradation des ARNm chez *E.coli* (Régulation post-transcriptionnelle)**

---

### **Introduction :**

Les gènes comportent dans leur langage quadri-basique de l'ADN toutes les informations nécessaires pour la synthèse des protéines. Ces informations sont transmises aux organites de synthèse par l'intermédiaire de l'ARN messager (ARNm). Ainsi, la dégradation des ARNm est une méthode efficace pour réprimer un gène donné. C'est l'un des multiples niveaux de régulation post-transcriptionnelle des gènes.

Dans ce mécanisme, de nombreuses protéines sont impliquées entre des enzymes et des facteurs de régulation. Ici, seuls les mécanismes de dégradation seront entretenus.

### **1. Dégradation des ARNm chez les procaryotes (cas de *E.coli*) :**

#### **a) Les principales ribonucléases :**

Chez *E.coli*, comme chez les autres bactéries, la dégradation des ARNm nécessite l'intervention d'enzymes particulières appelées « **ribonucléases** ». Elles sont classées selon leur mode de dégradation en : Endoribonucléases et en Exoribonucléases. Les premières sont capables d'atteindre l'intérieur de la molécule d'ARN et d'effectuer des coupures aux niveaux des liaisons phosphodiester. Les autres ciblent les extrémités 3' (ou 5') afin de libérer des mononucléotides. Chez *E.coli*, seules des exoribonucléases 3'-5' ont été décrites (**Zuo and Deutscher, 2001**).

- Les endoribonucléases :

- La RNase E :

C'est l'endoribonucléase clé de la dégradation des ARNm. Elle est codée par le gène *rne-1* (**Carpoussis et al., 2009**). Elle est formée de 1061 acides aminés et possède deux domaines fonctionnels différents : un au niveau de son extrémité N-terminale qui abrite le site catalytique de l'enzyme et l'autre sur l'extrémité C-terminale qui porte un complexe protéique appelé « **Dégradosome** » (**Callaghan et al., 2005**). La particularité de l'RNase E c'est qu'elle dégrade préférentiellement les ARNm dont l'extrémité 5' est monophosphorylée.

#### **Section 4 : Rôle et mécanismes de dégradation des ARNm chez *E.coli* (Régulation post-transcriptionnelle)**

---

- La RNase G :

Cette enzyme codée par le gène *rng*, est considérée comme un paralogue de l'RNase E à cause de la très grande homologie avec son domaine catalytique (Okada *et al.*, 1994). Cependant, cette enzyme est active uniquement sur certains ARNm.

- L'RNase III :

Codée par le gène *rnc*, cette enzyme clive spécifiquement les ARN doubles brins mais peut également être rencontrée dans la dégradation des ARNm.

- Les exoribonucléases :

Parmi les exoribonucléases décrites chez *E.coli* ; l'RNase II, la PNPase et l'RNase R sont les principales enzymes intervenant dans la dégradation des ARNm (Cheng and Deutscher, 2005). Ce sont comme déjà dit, des exoribonucléases 3'-5'. L'RNase II et l'RNase R sont connues pour générer des ribonucléotides monophosphates alors que la PNPase génère des ribonucléotides diphosphates. Il a été démontré que chez *E.coli*, 90% de l'activité exoribonucléolytique est assurée par l'RNase R et la PNPase.

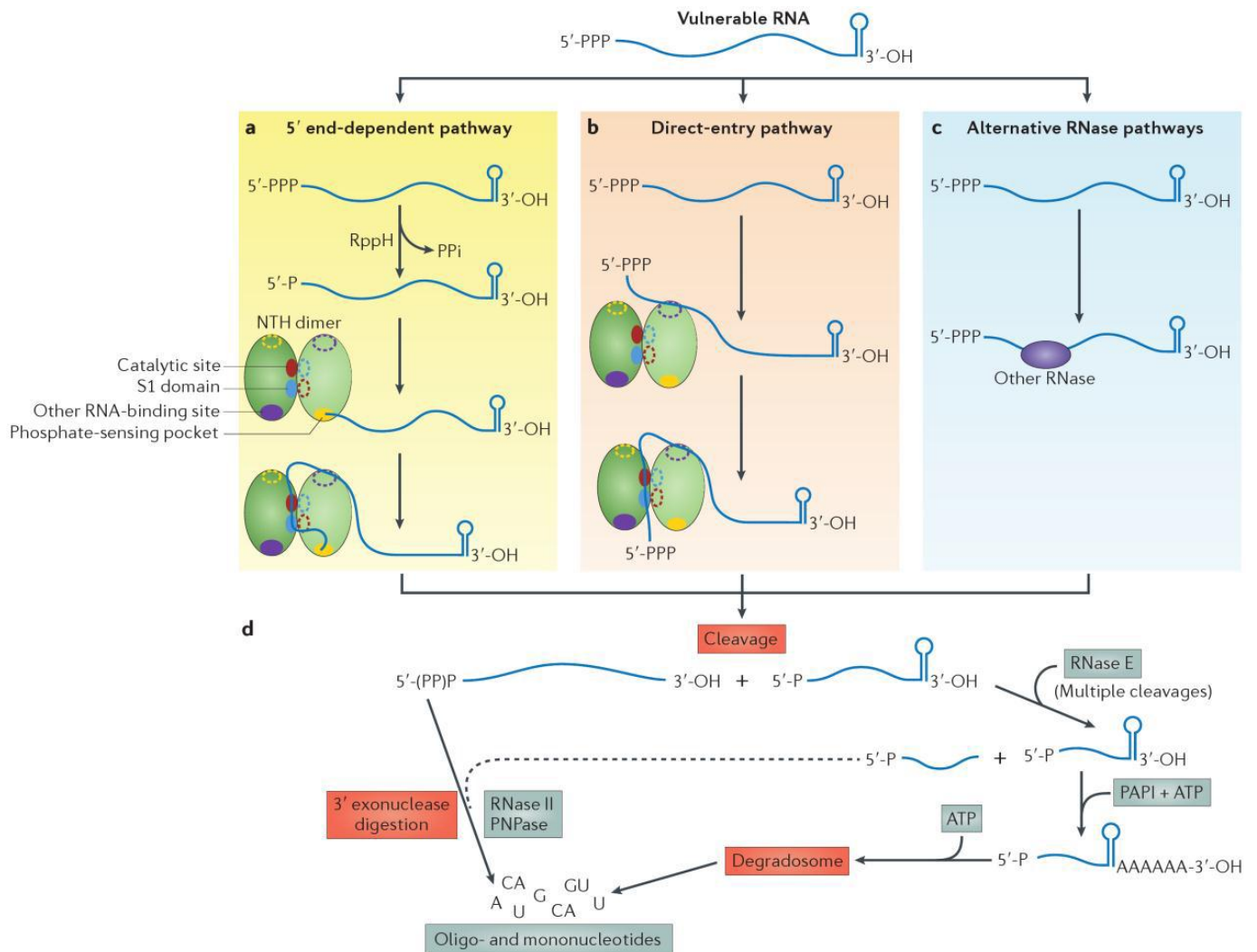
##### **b) Les mécanismes de dégradation des ARNm :**

Les multiples études réalisées sur *E.coli* s'intéressant à la dégradation des ARNm ont pu définir un modèle global décrivant le processus (Figure 07). Il est actuellement admis que dans les conditions normales de croissance, la dégradation des ARNm est initiée par un clivage endoribonucléolytique impliquant principalement l'RNase E (Carpoussis *et al.*, 2009). L'RNase G et l'RNase III sont également capables de réaliser la même opération. Cette dégradation primaire génère des fragments d'ARNm qui seront à leur tour soumis à la même opération produisant ainsi des fragments de plus en plus courts. Ces derniers seront pris en charge par les exoribonucléases 3'-5' qui vont les dégrader en mononucléotides. Un modèle de dégradation par l'RNase E a été proposé (Bouvier and Carpoussis, 2011). Il stipule deux voies d'entrée susceptibles pour cette enzyme lors de la dégradation de l'ARNm :

- Soit l'extrémité 5' de l'ARNm est sous forme monophosphorylée (grâce à l'intervention d'une enzyme appelée RppH). Dans ce cas, l'RNase E attaque directement la molécule d'ARNm. Son action est donc dépendante de l'extrémité 5'.

## Section 4 : Rôle et mécanismes de dégradation des ARNm chez *E.coli* (Régulation post-transcriptionnelle)

- Soit l'extrémité 5' est triphosphorylée et est donc pas reconnue par l'RNase E. Dans ce cas, cette dernière utilise alors la voie « Directe » de dégradation et attaque l'ARNm indépendamment de l'extrémité 5'.



**Figure 07 :** Mécanismes généraux de la dégradation des ARNm (Mackie, 2013)

- a- Dégradation dépendante de l'extrémité 5' où cette dernière est monophosphatée après l'intervention de la RppH.
- b- Voie directe de dégradation par l'RNase E indépendante de l'extrémité 5'.
- c- Cas où l'RNase E est remplacée par l'RNase G ou la PNPase.

#### ***Section 4 : Rôle et mécanismes de dégradation des ARNm chez E.coli (Régulation post-transcriptionnelle)***

---

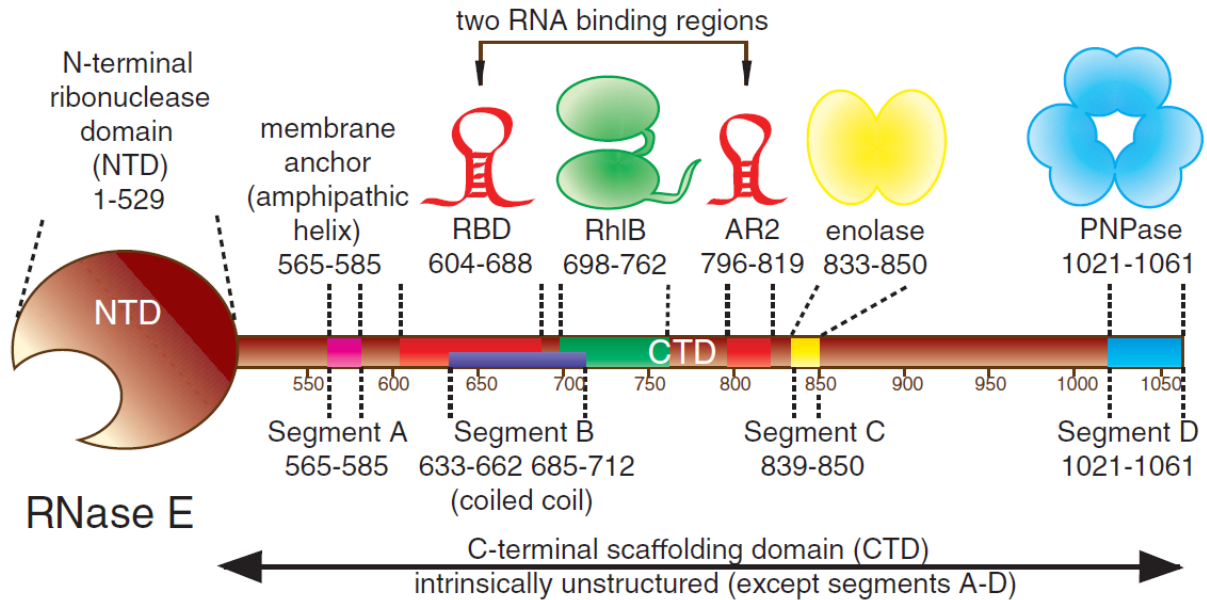
##### **c) Le dégradosome :**

La dégradation des ARNm chez *E.coli* nécessite l'intervention de plusieurs partenaires protéiques. Chacune de ces protéines est capable d'agir de manière indépendante de l'autre. Cependant, il a été démontré qu'elles peuvent s'associer pour former un complexe protéique appelé : **Dégradosome** (Carpoussis *et al.*, 1994).

Le dégradosome est principalement composé de l'association de quatre protéines (**Figure 08**) :

- 1) L'RNase E dont le domaine C-terminal sert de support pour tout le complexe comme ça a été déjà indiqué.
- 2) La PNPase qui exerce là aussi son activité exoribonucléolytique.
- 3) La Dead-Box RhIB qui est une hélicase servant à ouvrir la molécule d'ARNm. Et ;
- 4) L'énolase qui est une enzyme glycolytique. La fonction de cette enzyme dans le dégradosome n'est pas bien élucidée mais il est probable qu'elle joue un rôle dans la stabilité du complexe (Py *et al.*, 1996).

## Section 4 : Rôle et mécanismes de dégradation des ARNm chez *E.coli* (Régulation post-transcriptionnelle)



**Figure 08** : Schéma du domaine C-terminal de l'RNase E montrant toutes les protéines composant le dégradosome (Gorna *et al.*, 2012)

### 2. Dégradation des ARNm chez les eucaryotes :

Chez les eucaryotes, les ARNm prêts à être traduits sont protégés d'une dégradation rapide est non contrôlée par deux éléments stabilisants en cis : une coiffe méthylguanosine à l'extrémité 5' de la molécule et une queue poly-A à l'extrémité 3'. Pour pouvoir réguler l'expression d'un gène donné par la voie de dégradation des ARNm, il est inévitable de remodeler la molécule ribonucléoprotéique. Ceci fait intervenir des signaux spécifiques et nécessite le recrutement d'activateurs et d'enzymes de dégradation.

Il est maintenant établi que la dégradation des ARNm chez les eucaryotes commence par la dégradation de la queue poly-A. Cette opération est appelée la « déadénylation ». Elle est suivie par l'élimination de la coiffe « *decapping* en anglais ». Les ARNm sont ensuite facilement et rapidement dégradés dans le sens 5'-3' par des exoribonucléases cytoplasmiques appelée Xrn1.

Il est important de noter que le couplage de la traduction et de la dégradation des ARNm intervient aussi dans certains mécanismes de dégradation des ARNm aberrants comme ceux contenant des codons stop précoces (Voie de *Nonsense-Mediated mRNA Decay* ou

#### ***Section 4 : Rôle et mécanismes de dégradation des ARNm chez E.coli (Régulation post-transcriptionnelle)***

---

« **NMD** ») ou ceux bloquant le ribosome lors de l'élongation de la traduction (Voie du **No-Go Decay** ou « **NGD** ») ainsi que dans le cas de dysfonctionnement de l'une des sous-unités du ribosome (Voie du **Non-functional 18S-rRNA Decay** ou « **18S NRD** ») (**Graille and Séraphin, 2012 ; Fourati et al., 2014**). Ces mécanismes sont souvent appelés : Mécanismes d'assurance qualité.

*Section 05 : Les ARN  
régulateurs et le mécanisme  
du Silencing (Régulation post-  
transcriptionnelle)*

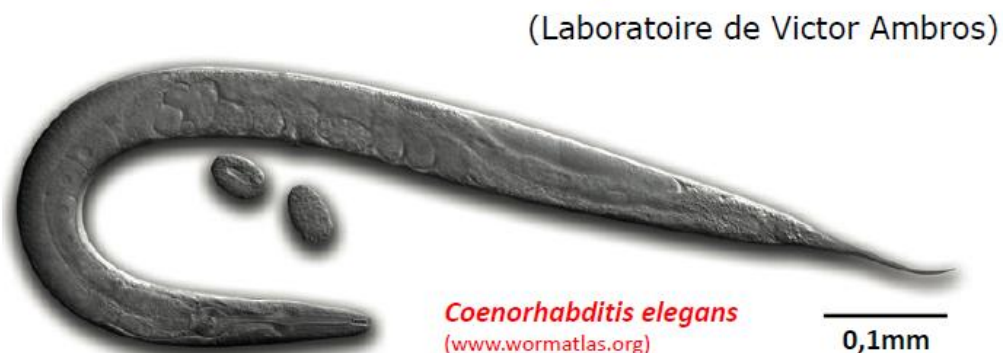
**Introduction :**

L'une des recherches les plus marquantes de la dernière décennie était la découverte d'un nombre surprenant d'ARN non codants (**ARNnc**) produits à partir des génomes eucaryotes. Contrairement aux ARN messagers (**ARNm**), les **ARNnc** ne sont pas traduits en protéines. Cependant, ils sont décrits comme le facteur clé de la régulation de nombreuses fonctions biologiques. Dans ce cours, certaines catégories des **ARNnc** seront décrites et leur rôle dans la régulation de l'expression des gènes expliqué.

**1. L'interférence ARN (ARNi) ou le Silencing:**

Le mot « interférence » signifie : une intervention contradictoire. En sciences biologiques, l'interférence ARN (**ARNi**) ou *Silencing* est une voie de régulation du taux d'ARN messager (**ARNm**) traduit, et donc de l'expression post-transcriptionnelle des gènes. **Andrew Fire** et **Craig Mello** ont obtenu le prix Nobel en 2006 pour l'explication des bases de ce mécanisme chez le nématode *Caenorhabditis elegans* (**Fire et al., 1998**) (**Figure 09**).

Le mécanisme de l'interférence de l'ARN a été probablement sélectionné au cours de l'évolution pour prémunir les cellules contre l'introduction de gènes étrangers et en particuliers, ceux de virus ou de transposons (**Wicks and Carter, 2011**). L'ARNi permet également de nettoyer la cellule de l'**ARNm** non fonctionnel (Fonction *Housekeeping*).



**Figure 09:** Photo de *Caenorhabditis elegans* prise au laboratoire de Victor Ambros (**Gutheret, 2008**).

## **Section 5 : Les ARN régulateurs et le mécanisme du Silencing (Régulation post-transcriptionnelle)**

---

L'interférence ARN est assurée grâce à une catégorie d'**ARNnc**. Il s'agit des *Small interfering RNAs* (**ARNsi**) et des Micro-ARN (**ARNmi**).

- Les *Small Interfering RNAs* (**ARNsi**):

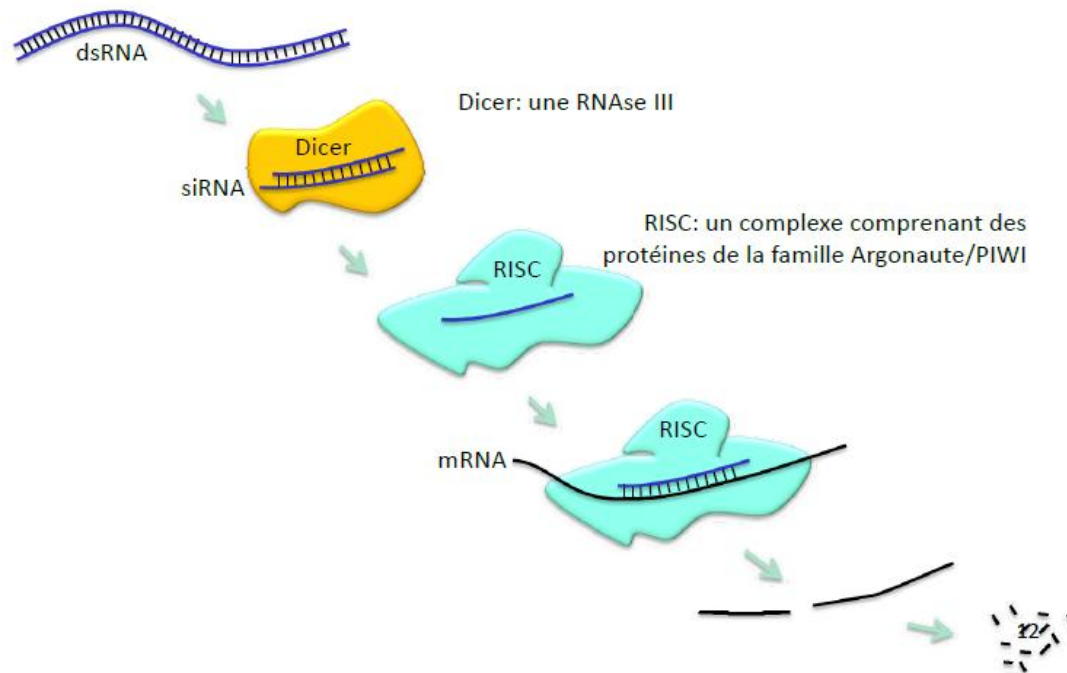
Ces ARN ont comme précurseurs de longs ARN double brins (**ARNds** pour *Double Strand RNA*) (**Georg, 2011**). Ces ARN possèdent deux brins parfaitement complémentaires de plus de 200 nucléotides. Ils peuvent avoir pour origine des séquences répétées inversées ou être issus de transcription de transgènes ou de transposons (**Rivas et al., 2001**). Ils peuvent aussi être issus de la synthèse par des ARN polymérases ARN-dépendantes.

Une autre voie de génération des **ARNsi** est la transfection par des vecteurs viraux. En effet, ces derniers expriment de petits ARN en forme d'épingle à cheveux appelés conventionnellement **ARNsh** (pour *Small Hairpin RNAs*).

Ces précurseurs seront par la suite pris en charge par une ribonucléase de type III appelée **DICER** pour être clivés en de petits ARN de 21 à 25 nucléotides. Ces courts fragments obtenus sont les **ARNsi** (**Wicks and Carter, 2011**).

- Mécanisme d'action des **ARNsi** :

L'interférence ARN est l'une des stratégies utilisées par la cellule (aussi bien eucaryotique que procaryotique) pour contrôler la quantité d'**ARNm**. C'est donc une régulation post-transcriptionnelle en réprimant l'expression de gènes et les rendre ainsi « silencieux » d'où le nom *Silencing*. En effet, la ribonucléase **DICER** transfère les **ARNsi** à un complexe multienzymatique appelé : *RNA Induced Silencing Complex* (**RISC**). Le brin sens de l'**ARNsi** appelé *Passenger* est clivé en 9+12 nucléotides. Le brin anti-sens appelé *Guide* dirige le complexe **RISC** vers les **ARNm** possédant une séquence complémentaire au brin *Guide*. Si l'**ARNsi** et l'**ARNm** sont parfaitement complémentaires, le complexe **RISC** hydrolyse l'**ARNm** qui n'est donc plus traduit en protéines. Dans le cas où la complémentarité est partielle alors l'**ARNm** n'est pas hydrolysé mais sa traduction est inhibée (**Beisel et al., 2010**) (**Figure 10**).



**Figure 10 :** Mécanisme du *Silencing* (Gutheret, 2008).

•Les micro-ARN (ARNmi) :

Les micro-ARN ou **ARNmi** forment une classe d'**ARNnc**. Ce sont des molécules d'ARN constituées de 19 à 24 nucléotides (Chao and Vogel, 2010). Conservés au cours de l'évolution, ces ARN ont été découverts pour la première fois chez le nématode *C. elegans* en 1993 puis chez tous les organismes vivants.

Ces **ARNmi** ont une origine endogène. Ils sont synthétisés dans le noyau sous forme de *Primary micro-RNA* (**pri-ARNmi**) à partir des gènes transcrits par l'ARN polymérase II ou III. Les **pri-ARNmi** ont une longueur d'environ 500 à 3000 nucléotides. Ils possèdent une coiffe en 5' et une queue polyadénylée en 3'. Ils se présentent en structure d'épingle à cheveux. Les extrémités 5' et 3' des **pri-ARNmi** sont ensuite clivées par une ribonucléase de type III appelée « **Drosha** » pour donner naissance à des fragments d'environ 60 à 70 nucléotides toujours en structure d'une épingle à cheveux (Xue and Zhang, 2018). Ces derniers sont appelés **pré-ARNmi**. A ce moment là, les **pré-ARNmi** sont prêts pour être transportés au cytoplasme où l'épingle à cheveux sera défaits, il en résulte alors des **ARNmi** double brins. L'un des deux brins des **ARNmi** sera dégradé et l'autre sera transporté vers le

## ***Section 5 : Les ARN régulateurs et le mécanisme du Silencing (Régulation post-transcriptionnelle)***

---

complexe **RISC** pour intervenir dans le processus de dégradation des **ARNm** (**Xue and Zhang, 2018**).

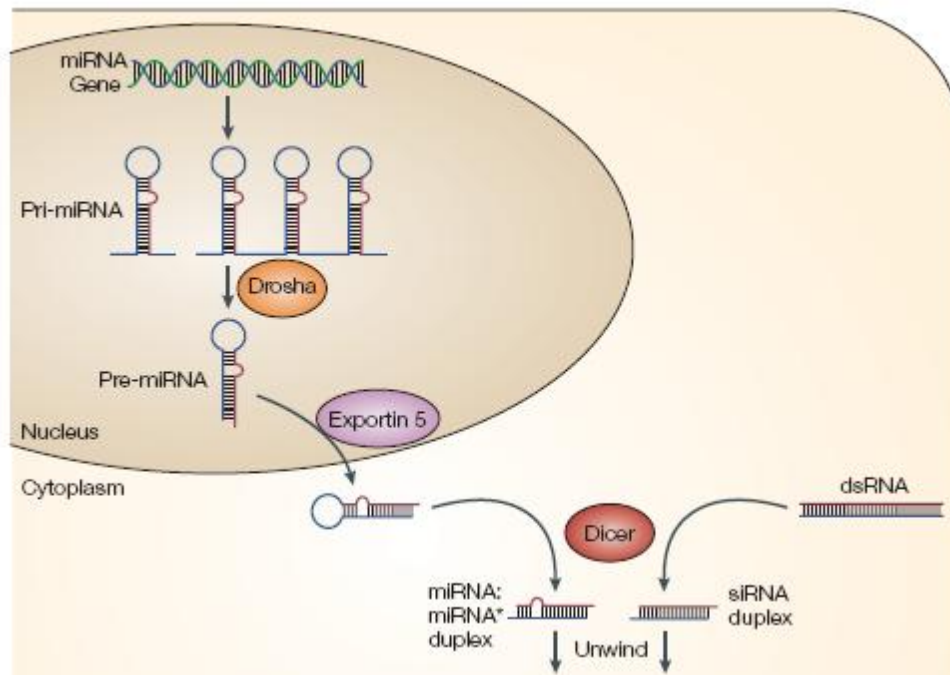
### • Rôles des **ARNmi** dans la cellule :

Les **ARNmi** jouent un rôle très important dans la régulation de l'expression génique et interviennent dans le contrôle de divers processus cellulaires tels que (**Ramassone et al., 2018**) :

- La prolifération cellulaire
- Le contrôle du cycle cellulaire
- La mort cellulaire programmée
- La différenciation cellulaire
- La production d'hormone et ;
- La réponse immunitaire

### • Mécanisme d'action des **ARNmi** :

Les **ARNmi** exercent le rôle de régulation génique à travers la dégradation des **ARNm**. C'est donc une régulation post-transcriptionnelle qu'ils assurent. Leur mécanisme d'action est similaire à celui décrit chez les **ARNsi** (**Chao and Vogel, 2010**) (**Figure 11**).



**Figure 11** : Mécanisme de dégradation des ARNm par les ARNsi et les ARNmi (He and Hannon, 2004).

## **2. Rôle des ARNsi et des ARNmi dans l'inhibition de l'initiation de la traduction :**

Le **eIF-4F** est un complexe protéique impliqué dans l'initiation de la traduction. Il est composé de 3 sous-unités et d'au moins deux facteurs additionnels, notamment la *poly A-Binding Protein (PABP)*. Ce facteur reconnaît la coiffe et la queue poly-A de l'ARNm et participe au recrutement de la sous-unité 40S du ribosome.

Le complexe **ARNmi-RISC** inhibe l'initiation de la traduction de plusieurs manières :

- En interférant avec le facteur d'initiation **eIF-4F**.
- En empêchant l'association de la sous-unité 60S du ribosome à la sous-unité 40S.
- En intervenant dans la désadénylation de la queue poly-A grâce à l'interaction avec la **PABP** ce qui entraîne dans tous les cas, la dégradation de l'ARNm.

## **3. Application thérapeutique de l'interférence (Silencing) ARN :**

Il est maintenant établi que les **ARNsi** et les **ARNmi** jouent un rôle primordiale dans la régulation de l'expression des gènes et peuvent alors de ce fait être utilisés dans le traitement de nombreuses maladies telles que :

## ***Section 5 : Les ARN régulateurs et le mécanisme du Silencing (Régulation post-transcriptionnelle)***

---

- L'inhibition de l'infection des lymphocytes T par le virus du SIDA.
- Les thérapies anticancéreuses.
- La fibrose pulmonaire.

Cependant, ces molécules prometteuses rencontrent toujours des obstacles par rapport à leur utilisation clinique. En effet, les ARN régulateurs en général, ont un temps de demi-vie très court. Ils sont très rapidement dégradés par les nucléases du sérum ou des fluides extracellulaires. Ils sont aussi connus pour générer des effets indésirables (stimulation du système immunitaire, sécrétion de cytokines inflammatoires, ...etc.) à cause de leurs instabilité (ARN double brins pour les ARNsi) (Chao and Voogel, 2010 ; Vishnoi and Rani, 2017).

Ces pour toutes ces raisons qu'il y a peu de thérapies cliniques à base du *Silencing*. Malgré ça, l'utilisation de ce mécanisme pour guérir des maladies jusque là mortelles demeure le rêve des chercheurs.

*Chapitre II : Réponse  
Générale au Stress chez les  
Microorganismes*

Les cellules des organismes vivants nécessitent l'assemblage de conditions environnementales et physiologiques stables pour pouvoir mener une vie ordinaire. Cependant, elles peuvent subir de temps à autre, des agressions perturbant leur mode de vie habituel. Ces agressions peuvent être de nature aigüe ou chronique, elles sont appelées « **Stress** ». Dans ce type de situation, l'adaptation aux nouvelles conditions devient indispensable pour la survie cellulaire nécessitant ainsi la mise en œuvre de divers mécanismes. Les cellules commencent d'abord par la détection du changement puis ensuite l'engagement d'une réponse adéquate visant à en moduler les effets (**Wirth et al., 2003**).

### I- Définition du stress :

«Le stress correspond à toute modification dans le génome, le protéome, ou dans l'environnement, qui provoque une croissance réduite ou affecte la capacité à survivre. De telles modifications conduisent la cellule à tenter de restaurer un profil métabolique qui serait favorable à la survie, ou bien à une croissance plus rapide. » (**Booth, 2002**).

Il est important de noter que par le mot « métabolismes » on sous-entend toutes les étapes de l'expression génique : transcription, traduction et modifications post-traductionnelles.

A ces modifications, les cellules vivantes répondent via plusieurs stratégies leur permettant d'échapper voire, d'éliminé le stress. On parle de la « réponse au stress ». La nature et l'efficacité de la réponse cellulaire au stress est fonction de plusieurs facteurs (**Martin, 1995 ; Carvalho et al., 2003**) y compris:

- L'état physiologique de la cellule et ;
- La composition du milieu où elles se trouvent.

Il existe deux types de stress :

- Le stress prolongé et ;
- Le stress de type choc

#### I.1. Le stress prolongé :

Ce type de stress rend le milieu hostile pour la cellule mais permet quand même sa croissance, les paramètres qui règnent dans ces conditions sont appelés : « **paramètres sub-optimaux** ». L'adaptation cellulaire à ce type de stress s'accompagne de profonds

changements métaboliques et notamment au niveau de la glycolyse (Marceau *et al.*, 2002 ; Prasad *et al.*, 2003).

## **I.2. Le stress de type choc :**

Le stress peut également prendre la forme d'une agression intense et rapide (choc). Il a été rapporté que le taux de survie cellulaire après un tel stress est fonctions de plusieurs facteurs y compris : l'état physiologique de la cellule, le genre, l'espèce et parfois même la souche (Kim *et al.*, 1999). Selon Booth (2002), les individus d'une même population cellulaire peuvent répondre de manière différente à une contrainte de type choc mais peuvent aussi en parallèle, développer un système de communication inter-espèce pour homogénéiser leur réponse (voir le cours du Quorum Sensing).

### **II- Réponse cellulaire au stress- Particulièrement la réponse bactérienne :**

La réponse bactérienne au stress vise soit à rétablir l'homéostasie cellulaire (SOS, chaperons, transporteurs, ....etc) soit à se protéger des effets du stress en essayant de lui échapper par exemple (modification de l'enveloppe, sporulation, formation de biofilms, motilité, ....etc). Il est important de noter que la réponse au stress peut être générale ou spécifique, autrement dit, indépendante ou dépendante de la nature du stress subit.

De manière générale, dans leur réponse au stress, les bactéries expriment ou répriment certains de leurs gènes après la détection du stress. Les études ont permis de déterminer deux grands systèmes de régulation génique : le système dit à **deux composants** et les **facteurs de régulation** (Baliarda, 2003).

- En ce qui concerne le système à deux composants, il s'agit là d'une protéine Histidine Kinase (HK) appelée « senseur » et d'une protéine Régulatrice de Réponse (RR). Le principe de ce système repose sur la phosphorylation de la HK (souvent une autophosphorylation) suite à la détection du stress. Une cascade de phosphorylation se déclenche alors jusqu'à celle de la protéine RR. Cette dernière étant en liaison directe avec l'ADN déclenche à son tour une réponse appropriée au stress subit en activant la transcription de gènes spécifiques ou en provoquant leur répression.
- Pour les facteurs de régulation, il s'agit principalement du facteur sigma qui guide l'ARN polymérase vers des promoteurs spécifiques aidant à déclencher une réponse au stress.

Dans les cours qui suivent, seront étudiées quelques contraintes (stress) souvent rencontrés par la cellule bactérienne ainsi que les stratégies moléculaires adoptées par les cellules bactériennes pour pouvoir les surmonter.

*Section 01 : Mode de  
régulation de la réponse au  
choc thermique chez les  
bactéries*

**Introduction :**

L'une des agressions que puisse subir la cellule vivante est le changement de la température. Ce type de stress est l'un des mieux étudiés chez tous les types d'organismes vivants et notamment les bactéries. On parle de « **Choc Thermique** ».

**1. Historique :**

La première fois où la réponse au choc thermique (appelée en anglais *Heat Shock Reponse* (**HSR**)) a été décrite, était en **1962** par le chercheur Italien **Ferruccio Ritossa** (**De Maio et al., 2012**). En effet, Ritossa observa une série d'élargissements ou de renflements (en anglais « *Puffings* ») au niveau de certains des chromosomes géants des glandes salivaires de drosophiles soumises à un choc thermique (**Wirth et al., 2003 ; De Maio et al., 2012**).

Cette découverte impressionnante a ouvert la porte à d'autres chercheurs pour approfondir les études dans ce domaine. Ainsi, et pendant la décennie suivante, plusieurs études importantes ont permis d'apporter plus de précision concernant la nature de ce phénomène. Il a été démontré que les renflements observés lors de l'expérience de Ritossa étaient (**Ritossa, 1962 ; Wirth et al., 2003**) :

- 1- Induits par plusieurs stress autres que l'hyperthermie.
- 2- Produits dans l'espace de quelques minutes après le stress.
- 3- Associés à une nouvelle synthèse d'ARN.
- 4- Trouvés dans différentes espèces de drosophiles et dans différents tissus (organes).
- 5- Accompagnés par la régression D'autres renflements présents avant le stress.

Il a été déduit que ces élargissements chromosomiques correspondaient à l'induction rapide et vigoureuse de l'activité de gènes spécifiques lors du stress. Ces gènes ont été dénommés : *Heat Shock Genes* (**HSG**). Et que l'induction de ces gènes réprime celle des autres séquences exprimées en état physiologique ordinaire.

Il a été également démontré quelques années plus tard, que l'apparition des « puffs » étaient accompagnée de la synthèse d'un petit nombre de protéines distinctes appelées *Heat Shock Proteines* (**HSPs**) (**Wirth et al., 2003**). Les recherches se succèdent pour démontrer l'UNIVERSALITÉ de la réponse au choc thermique, l'ubiquité des **HSPs** ainsi que leur conservation remarquable au cours de l'évolution ce qui démontre leur importance pour la survie des organismes.

## **2. Quand parle-t-on de stress thermique ? :**

La notion de stress thermique implique l'augmentation de la température à des valeurs intolérables par la cellule vivante. Ceci sous-entend que cette valeur est complètement dépendante de la nature de la cellule en question. Ainsi, il a été rapporté que chez la drosophile par exemple, l'induction des gènes codant les **HSPs** se fait à une température située entre 33 et 37°C. Alors que chez les mammifères, la réponse au stress thermique est déclenchée au cours des états fébriles. En ce qui concerne les bactéries à leur grande variété, ceci dépend de l'intervalle de température auquel la souche bactérienne peut se développer. Les bactéries thermophiles ne se trouvent en état de stress que lorsque la température dépasse les 50°C alors que chez les bactéries psychrophile les **HSPs** sont exprimés à 25°C (**Wirth et al., 2003**).

## **3. Les étapes de la réponse au choc thermique chez les bactéries – *Escherichia coli* comme modèle :**

### **3.1. Transcription des HSPs :**

Les HSPs sont des protéines qui ont principalement, une fonction chaperon ou protéase. En effet, l'augmentation de la température lors du choc thermique affecte souvent l'hydratation et l'équilibre redox de la cellule, ce qui engendre l'agrégation et le mauvais repliement des protéines. Ces dernières perdent ainsi leur fonction biologique ce qui fait perdre à la cellule son homéostasie (**Jolly and Morimoto, 2000**). C'est pour cette raison que la majorité des **HSPs** ont une fonction chaperon ou protéase.

Les protéines chaperons sont des protéines qui accompagnent d'autres protéines néo-synthétisées, depuis leur traduction et jusqu'à ce qu'elles regagnent leur emplacement pour exercer leur fonction. Les chaperons les aident ainsi à adopter leur forme tridimensionnelle et les protègent de l'action des protéases cellulaires. Dans l'état de stress thermique, les **HSPs** chaperons interviennent dans la remise en forme tridimensionnelle des protéines endommagées suite aux effets de l'augmentation de la température.

Lorsque les protéines chaperons échouent dans la réparation des protéines endommagées, les **HSPs** protéases interviennent pour les éliminer.

Chez les bactéries, contrairement aux gènes exprimés en état physiologique ordinaire, les gènes codant les **HSPs** possèdent des séquences consensus (situées à -10 et -35 pb)

## ***Section 1 : Mode de régulation de la réponse au choc thermique chez les bactéries***

---

différentes au niveau de leurs promoteurs. Ainsi, ils sont reconnus par un autre facteur que le facteur  $\sigma^{70}$  rencontré chez les autres gènes. Il s'agit du facteur  $\sigma^{32}$ .

Sept promoteurs précédant les gènes codant des **HSPs** ont été jusque là identifiés. Leur séquences consensus ont été déterminées et il s'est avéré que, elles aussi, sont situées à (-10) et (-35) pb mais leur séquences sont différentes :

(-10 pb) : Pribnow box (TATAAT)

(-35 pb) : Variable selon le gène (PyTGAPuA) (avec Py : Pyrimidine et Pu : Purine)

Le facteur  $\sigma^{32}$  est codé par le gène *rpoH*, appelé également *htpR* ou *hin*. Sigma 32 guide le core de l'enzyme ARN polymérase pour reconnaître exclusivement, les promoteurs des gènes codant les **HSPs**. Il est très important de souligner que toute la régulation de l'expression des gènes codant les **HSPs** est pratiquement modulée par le gène *rpoH*.

### **3.2. Rôle des HSPs :**

Il est maintenant bien établi que la fonction des **HSPs** n'est pas limitée à la réponse au choc thermique. La présence des **HSPs** est nécessaire tout au long de la vie cellulaire et quelque soit la température (**Jolly and Morimoto, 2000 ; Wirth et al., 2003**). L'augmentation de la concentration cellulaire des **HSPs** lors du stress thermique pourrait indiquer que le besoin à leur fonction s'accroît.

### **3.3. Les principales HSPs bactériennes :**

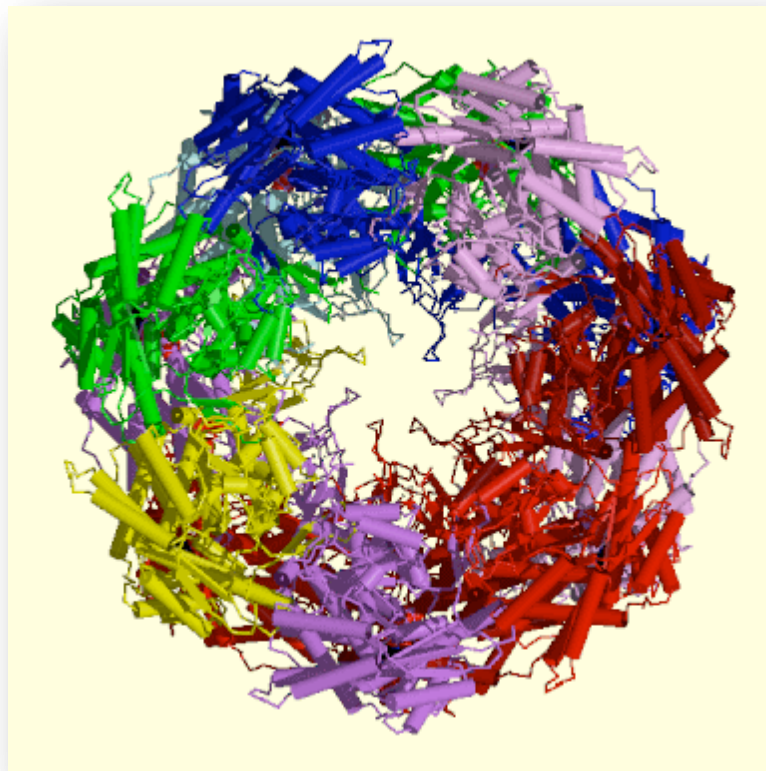
Comme ça était déjà expliqué, les **HSPs** se partagent principalement en deux grandes familles (**Nocker, 2001**) :

- La famille des **HSPs** chaperons et ;
- La famille des HSPs Protéases.

#### *a) Les HSPs Chaperons :*

Cette famille est formée par les couples DnaK-DnaJ et GroES-GroEL. Beaucoup d'études ont démontré que ces protéines sont les éléments clés de la croissance cellulaire même à température optimale (**Thammavongs et al., 1996 ; Wirth et al., 2003 ; De Maïo et al., 2012**). Leur rôle devient de plus en plus vital lors d'un stress thermique. Ainsi, le couple GroES-GroEL constitue près de 1% des protéines totales chez *E.coli* à 30°C alors que sa concentration passe à 12% à 46°C. Ceci témoigne l'importance du rôle qu'il joue.

La protéine GroEL est l'homologue des protéines de la famille **HSP60** chez les eucaryotes. Elle se présente sous la forme d'un tétradécamère arrangé en une structure de double anneaux symétriques. Quant à GroES (**Figure 12**), homologue des protéines de la famille **HSP10** chez les eucaryotes, elle est sous forme d'un anneau de 7 sous-unités de 10KD. A température optimale, le couple GroES-GroEL intervient dans le repliement des chaînes protéiques naissantes et les maintient dans un état compétent jusqu'à leur transport vers leur site d'action. Cette activité est ATP dépendante. Dans un état de choc thermique, GroES-GroEL remet les protéines endommagées à leur état de repliement correct.



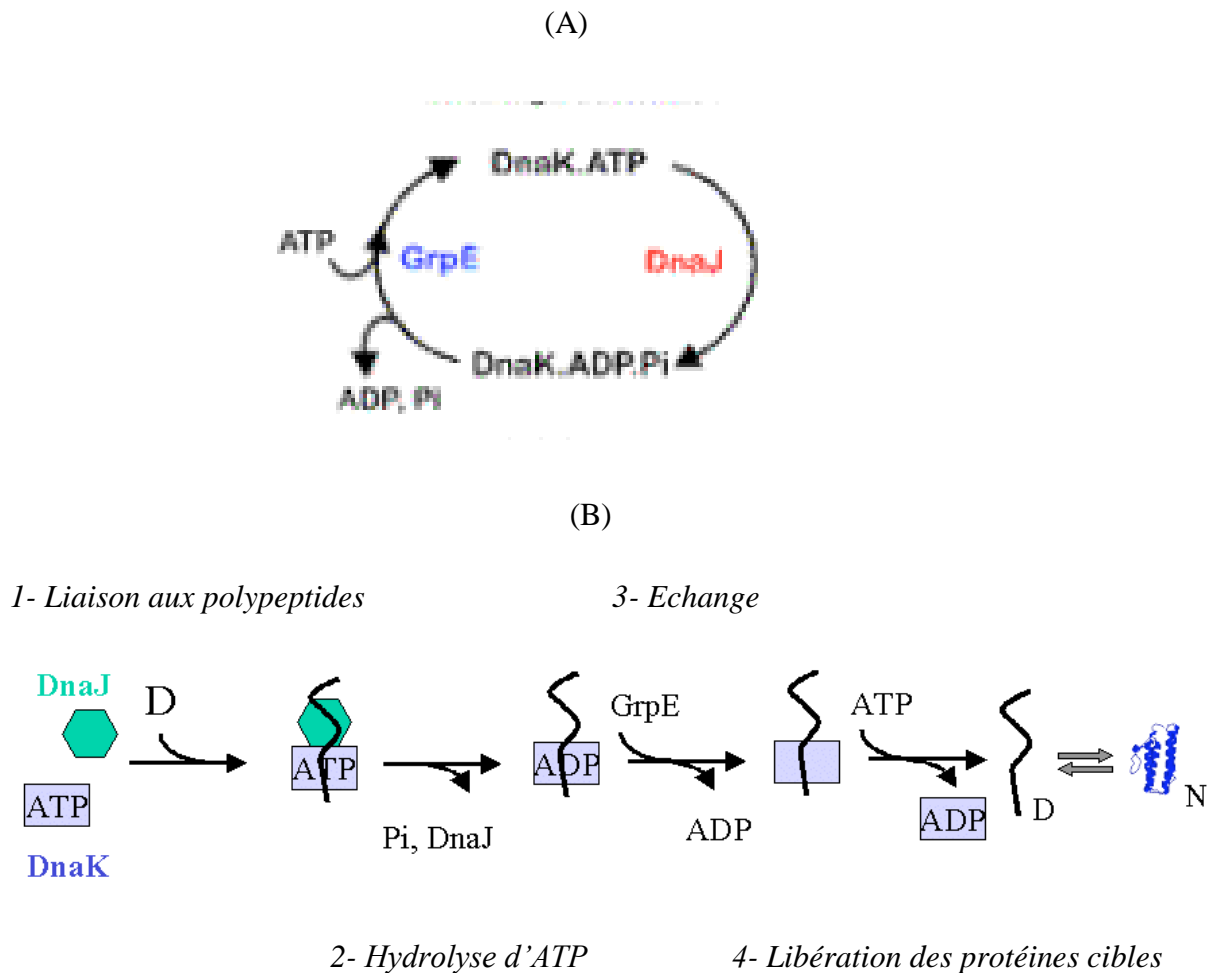
**Figure 12** : Image de la structure tridimensionnelle de GroES (**Bleves, 2010**)

En ce qui concerne le couple DnaK-DnaJ, il est l'homologue des protéines de la famille **HSP70** chez les eucaryotes. Ce couple se présente chacun sous forme d'un monomère. Il a été démontré que ces protéines sont impliquées dans la morphogénèse et favorise les interactions protéines-protéines.

Aussi bien GroES-GroEL que DnaK-DnaJ jouent un rôle dans la protéolyse sans pour autant être des protéases.

## Section 1 : Mode de régulation de la réponse au choc thermique chez les bactéries

Une troisième protéine chaperon joue un rôle très important dans la réponse au choc thermique. Il s'agit de la protéine dénommée GrpE. C'est une protéine cytoplasmique qui fonctionne en association permanente avec le couple DnaK-DnaJ. Elle participe ainsi dans la désagrégation et la réparation des protéines endommagées suite à l'augmentation de la température. Il a été démontré que cette protéine joue un rôle également dans la réponse au stress osmotique (**Figure 13**).



**Figure 13** : Le système de la machinerie DnaK,DnaJ,GrpE (**Bleves, 2010**)

(A) Cycle de la machinerie en utilisant l'ATP

(B) Les différentes étapes de réparation des protéines endommagées par le choc thermique en utilisant la machinerie DnaK,DnaJ,GrpE

b) Les **HSPs** protéases :

Parmi les **HSPs** à activité protéases les mieux étudiées et les plus importants, on cite la protéine Lon. C'est une sérine protéase ATP-dépendante. Dans les conditions normales, elle

est chargée de la dégradation des protéines mutantes ou anormalement repliées. Cette enzyme est ainsi nécessaire à l'homéostasie cellulaire. Dans les conditions de stress, elle dégrade les protéines endommagées d'une manière progressive jusqu'à l'obtention de petits polypeptides de 5 à 10 acides aminés de long.

#### **4. Régulation de l'expression du gène *rpoH* :**

Il existe deux types de régulation de l'expression des **HSPs** : Une régulation positive et une régulation négative (**Nocker, 2001**).

Dans la régulation positive, le gène *rpoH* codant le facteur  $\sigma^{32}$  joue le rôle de la principale clé de la régulation de l'expression des **HSPs**. En effet, la régulation du gène *rpoH* permet le contrôle de la synthèse, de la stabilité et de l'activité de  $\sigma^{32}$  selon la nature et la durée du choc thermique. Tandis que la régulation négative est fonction d'un répresseur qui se lie à l'opérateur au niveau du promoteur des gènes codant les **HSPs** et bloque ainsi leur expression (**Boutibones, 1995 ; Nocker, 2001**). Par la suite, seule la régulation positive sera détaillée.

##### **• Régulation positive des HSPs :**

Chez *E. coli* la régulation des gènes du choc thermique (**HSG**) est principalement modulée par le facteur  $\sigma^{32}$  codé par le gène *rpoH* (**Gross et al., 1990**). En effet, l'augmentation de la température de 30°C à 42°C stimule la production et l'accumulation de  $\sigma^{32}$  et augmente sa stabilité. Ce phénomène engage l'ARN pol II dans la direction des gènes dont les promoteurs sont reconnus par  $\sigma^{32}$ . Ces derniers sont ainsi induits et plus de 30 **HSPs** sont produites (**Nocker, 2001**). Il est très important de noter que la transcription du gène *rpoH* n'est pas accélérée suite à une augmentation de température entre 30 et 42°C. En effet, la transcription de ce gène reste stable et est induite par des promoteurs reconnus par le facteur  $\sigma^{70}$ . Ce n'est que lorsque la température atteint les 50°C (Température létale pour *E. coli*) que la transcription du *rpoH* est induite. Cette dernière n'implique plus le facteur  $\sigma^{70}$  mais un autre facteur appelé  $\sigma^E$  (**Gross et al., 1990**) (**Figure 14**). Cette constatation cruciale a permis aux chercheurs de stipuler que la régulation du gène *rpoH* est plutôt modulée lors de sa traduction et non pas lors de sa transcription (**Nocker, 2001**).

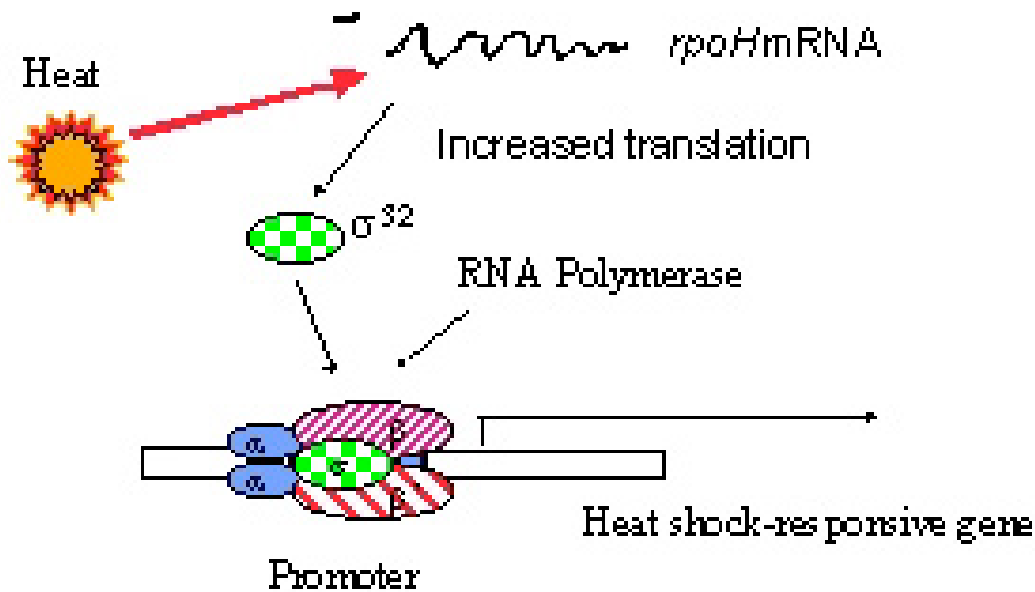


Figure 14 : Régulation transcriptionnelle de *rpoH* (Bleves, 2010)

La régulation de  $\sigma^{32}$  et donc des **HSPs** est basée sur un système de compétition entre l'ARN pol II et la machinerie DnaK,DnaJ,GrpE (Figure 15). Dans les conditions physiologiques ordinaires, la machinerie DnaK,DnaJ,GrpE capte le peu de facteurs  $\sigma^{32}$  produits et empêche ainsi sa liaison à l'ARN pol II et donc la transcription des **HSPs**. Quand les conditions changent, et que la cellule se trouve en état de choc thermique, la machinerie DnaK,DnaJ,GrpE s'oriente vers la réparation des protéines endommagées suite à l'augmentation de la température et libère ainsi  $\sigma^{32}$  qui sera pris en charge par l'ARN pol II (Gross *et al.*, 1990 ; Nocker, 2001).

Il est important de noter que la période de la réponse au choc thermique (qui dure en effet quelques minutes) confère la stabilité au facteur  $\sigma^{32}$ . La demi-vie de ce dernier ne dépasse pas 1 min dans les conditions physiologiques ordinaires et augmente significativement dans les 4 à 5 min suivant le choc thermique. Cependant, l'accumulation des **HSPs** suite à leur traduction accélérée, provoque à partir de la 6<sup>ème</sup> minute suivant le choc thermique, une dégradation rapide du facteur  $\sigma^{32}$  accumulé (Gross *et al.*, 1990 ; Nocker, 2001). Ce système de « turn-over » hautement contrôlé explique la nature transitoire de la réponse au choc thermique.

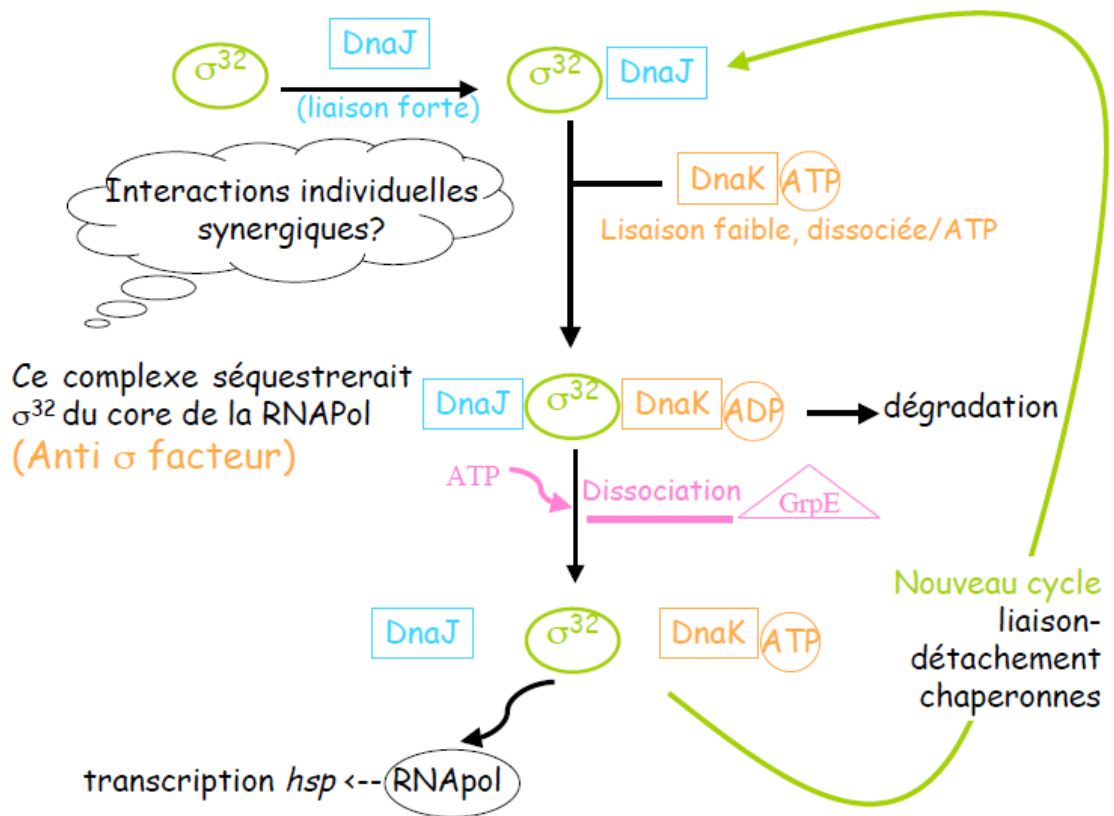


Figure 15: Schéma récapitulatif du circuit de la régulation positive de  $\sigma^{32}$  (Bleves, 2010)

*Section 02 : Résistance au  
stress acide chez les bactéries  
lactiques*

**Introduction :**

Le secteur agro-alimentaire est connu pour l'utilisation de certains auxiliaires technologiques. Les bactéries en font partie, particulièrement dans les industries fermentaires (produits laitiers, vins, vinaigres, ...etc). Durant les procédés industriels, les bactéries sont susceptibles de subir des contraintes physico-chimiques nuisant à leur croissance et leur développement. Ainsi, l'augmentation de la température dans les produits qui nécessitent la cuisson (production du cheddar à titre d'exemple), de l'osmolarité dans les produits qui nécessitent l'ajout du sucre ou du sel (confitures) ou les variations du pH rend les milieux hostiles pour la bactérie et l'oblige à s'adapter aux nouvelles conditions. Plusieurs études scientifiques se sont alors intéressées à l'exploration des différentes stratégies bactériennes développées pour répondre à ces types de stress dans l'objectif d'améliorer la production et les qualités organoleptiques des aliments.

Les bactéries lactiques sont parmi les bactéries les plus utilisées en industrie agroalimentaire. Leur capacité à produire l'acide lactique en a fait l'un des meilleurs alliés industriels. Cependant, ce même produit qui fait leur divinité fait aussi la première contrainte à leur croissance : la chute du pH. Dans ce cours, on s'intéresse à la capacité des bactéries lactiques à répondre au stress acide et les stratégies moléculaires engagées par celles-ci.

**1. Généralités sur les bactéries lactiques :**

Les Bactéries Lactiques (BL) sont définies comme étant des microorganismes procaryotes, Gram positif, non mobiles. Elles ne produisent pas de spores, se présentent sous forme de coques ou de bacilles et elles fermentent les sucres en acide lactique (**Stiles and Holzapfel, 1997**).

Actuellement, les BL englobent 12 genres. Elles sont généralement mésophiles mais certaines sont psychrotolérantes ou thermotolérantes. Elles se développent majoritairement à pH entre 4,0-4,5 et certaines sont encore actives à pH 9,6 ou 3,2. Les BL ont des tolérances très variables vis-à-vis du sel. Il faut noter que les BL sont bien tolérées par l'homme et les animaux (statut **GRAS : Generally Recognized As Safe**).

Les BL sont connues pour leur capacité à fermenter le lactose (dirose formé de glucose et de galactose) en acide lactique. Il existe des BL homofermentaires, capables de transformer le lactose en 100% d'acide lactique, des BL hétérofermentaires facultatives ; capables de transformer le lactose en acide lactique ou en acide lactique et acide acétique et enfin, des BL

hétérofermentaires stricts qui transforment le lactose en acide lactique et acide acétique ou en acide lactique et alcool+CO<sub>2</sub> (Vandamme *et al.*, 1996).

## **2. Production d'acide lactique par les BL :**

L'acide lactique fut identifié pour la première fois en 1847 par **Blondeau** comme produit de la fermentation bactérienne. Il a été extrait pour la première fois du lait grâce à **Scheele** en 1870 (Morabito, 1994).

### **a) Bactéries utilisées dans la production d'acide lactique :**

Les bactéries utilisées dans la production d'acide lactique doivent posséder certaines qualités particulières :

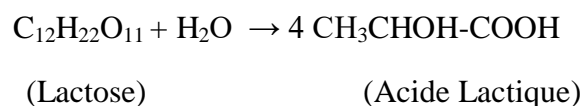
- La rapidité de fermentation
- La production réduite de co-produits
- La résistance à l'acide lactique lui-même et,
- Des besoins nutritionnels aussi faibles que possible

Il est important de souligner que dans les industries agro-alimentaires, une capacité à résister à des pH entre 5 et 7 et des températures qui dépassent les 40°C sont des caractères favorisant car dans ces conditions les contaminations par des bactéries indésirables, voire pathogènes, sont limitées. À ces conditions répond une large gamme des BL (Morabito, 1994).

### **b) Fermentation lactique chez les BL :**

Comme toutes les bactéries, les BL tirent leur énergie de la dégradation des sucres et particulièrement le lactose. Elles suivent dans cette dégradation une voie fermentative qui aboutit principalement à la production d'ATP et d'acide lactique à un pourcentage de plus de 85% chez les homofermentaires. Chez les homofermentaires facultatives et les hétérofermentaires, le pourcentage d'acide lactique descend à 50%. Les réactions suivantes résument le processus de dégradation pour les deux types bactériens :

\*Pour les homofermentaires :



\*Pour les hétérofermentaires :



(Ethanol)



(Acide acétique)

- **Remarque** : Cette réaction de production d'acide lactique nécessite l'intervention d'une enzyme spécifique capable de transformer le pyruvate en fin de la glycolyse, il s'agit de la « Lactate déshydrogénase ».

### c) Influence de l'oxygène sur la croissance des BL :

Les BL sont généralement des bactéries aéro-anaérobies facultatifs ayant une préférence pour les conditions anaérobies. En présence d'oxygène la croissance de ces bactéries et souvent ralentie par la production de peroxyde d'hydrogène. En effet, les BL ne possèdent pas de catalase cependant, elles sont munies d'autres moyens de défense (**Morabito, 1994**).

### 3. Mécanismes de résistance des bactéries lactiques au stress acide :

Pendant le processus de la fermentation, notamment au cours d'une production industrielle, les BL produisent de l'acide lactique. Ce dernier finit par s'accumuler dans le milieu jusqu'au moment où le pH diminue. Lorsque le pH extracellulaire devient inférieur au pH intracellulaire, l'acide lactique pénètre dans les cellules bactériennes et commence à s'y accumuler : On parle là de stress acide (**Russell and Diez Gonzalez, 1998**).

L'entrée de l'acide lactique, son accumulation et la chute du pH intracellulaire agissent sur la cellule bactérienne en perturbant (**Brul and Coote, 1999**) :

- L'équilibre ionique du milieu extérieur ce qui empêche le passage de certains ions métalliques à l'intérieur des cellules bactériennes, sachant que ces ions sont souvent des cofacteurs enzymatiques indispensables.
- D'autres cations vitaux pour la cellule bactérienne ne trouvent plus leur chemin de pénétration à cause du blocage des perméases (protéines transmembranaires de transport). Ces dernières sont saturées par les protons  $H^+$  libérés suite à la dissociation de l'acide lactique.

- Certaines activités enzymatiques essentielles à la croissance bactérienne.

Il est important de souligner que la présence d'acide lactique en quantité importante dans la cellule provoque des dommages importants non seulement sur les protéines mais aussi sur l'ADN.

Ainsi, pour lutter contre cette contrainte, les BL ont mis en place des mécanismes leur permettant de rétablir leur homéostasie et ce en utilisant une armada de protéines.

• **Protéines induites par les BL lors d'un stress acide :**

Des études menées chez la souche VI-1010 de *Lactobacillus bulgaricus* lors d'un stress acide, a permis d'identifier 50 protéines induites. Parmi ces protéines 21 ont été identifiées. Elles englobent (**Morabito, 1994**) :

- a- Trois protéines fortement induites, il s'agit des protéines GroES, GroEL et DnaK. Ces protéines appartiennent à la famille des protéines chaperons (voir le cours du stress thermique). Elles sont impliquées dans le repliement et l'adressage aux protéases des protéines endommagées. Elles prennent en charge alors les protéines dénaturées suite à la chute du pH. Ces résultats ont été également décrits chez *Lactococcus lactis* et *Bacillus subtilis*.
- b- L'une des sous-unités de l'ATPase :  $F_0F_1$  est surexprimée lors de la réponse au stress acide. Ce complexe protéique expulse les protons hors de la cellule en hydrolysant de l'ATP. Son rôle indispensable dans la résistance au stress acide a déjà été établi chez plusieurs espèces de BL.
- c- Plusieurs protéines appartenant au métabolisme général ont été identifiées lors de la réponse au stress acide. Il s'agit par exemple de la 1-phosphofructo-kinase qui convertit le fructose 1-phosphate en 1-6-biphosphate. Cette action de phosphorylation fait partie du système à deux composants qui met en jeu par la suite une protéine régulatrice de réponse.
- d- L'activation de production de composés basiques tels que l'uréase et l'arginine dismutase dans une tentative de diminuer le pH interne.

Les mécanismes de réparation de l'ADN et ceux de dégradation des protéines irréparables sont aussi mis en jeu lors de la réponse au stress acide (**Champomier-verge et al., 2001**).

*Section 02 : Répression  
catabolique chez les Gram  
positif*

## Introduction :

L'oxygène ( $O_2$ ), élément indispensable à la vie cellulaire de tous les organismes aérobies étant l'accepteur final de toutes les réactions d'oxydoréduction chez ce type d'organismes. Pourtant, cet élément vital pourrait dans certains cas, devenir toxique et nuire à la vie cellulaire, c'est ce que l'on appelle « **Le stress oxydatif** ».

### 1. Métabolisme de l'oxygène chez les organismes aérobies :

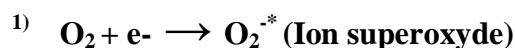
Afin d'obtenir de l'énergie, tous les organismes aérobies utilisent l'oxygène pour leur respiration et l'oxydation des nutriments. Ainsi, la molécule d' $O_2$  est indispensable pour leur subsistance car elle joue le rôle d'accepteur final d'électrons dans toutes les réactions d'oxydoréduction.

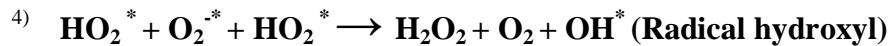
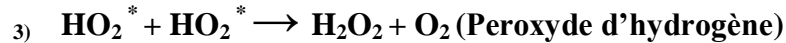
Alors que l'oxydation demeure le moyen le plus efficace pour obtenir de l'énergie, la tolérance des organismes vis-à-vis des sous-produits de l'oxygène générés au cours de la respiration, reste limitée (**Vichnevetskaia & Roy, 1999 ; Scandalios, 2005**). En effet, contrairement à la molécule d' $O_2$  qui n'est pas réactive (grâce à l'organisation de ses électrons), les sous-produits oxygénés sont réactifs (radioactifs) suite à l'acquisition d'électrons d'une étape à l'autre dans le processus d'oxydoréduction. Ce type de produit est appelé : **Reactive Oxygen Species (ROS)**.

En conditions dites « physiologiques », la production d'ROS demeure faible et ne concerne qu'un petit pourcentage de l' $O_2$  lors de la respiration. Dans ce cas, elle est indispensable à la vie cellulaire et participe à divers processus vitaux tels que : la régulation des gènes et le fonctionnement de certaines enzymes. Cependant, quand la production des ROS est amplifiée de façon excessive, ceci aboutit à un déséquilibre cellulaire. C'est le **Stress Oxydatif** (**Todorova, 2007**).

### 2. Les étapes de réduction de l' $O_2$ :

Au cours de la respiration, les étapes qui mènent à la production de sous-produits radioactifs sont représentées par les réactions suivantes (**Vichnevetskaia & Roy, 1999 ; Scandalios, 2005**) :





Remarque : En plus d'être produits suite à des processus d'oxydoréduction (**Scandalios, 2005**); les ROS peuvent être le résultat direct de la présence de certains xénobiotiques dans l'environnement tels que : les herbicides, les pesticides et l'ozone (**Todorova, 2007**).

Parmi les organismes aérobies les mieux étudiés : les levures et particulièrement *Saccharomyces cerevisiae*. Beaucoup de recherches se sont concentré sur l'étude des mécanismes de résistance au stress oxydatif chez cet organisme largement utilisé en industrie (voir les chapitres précédents) afin d'améliorer la production et mieux maîtriser ses conditions (**Nguyen, 2015**).

### 3. Mécanismes de résistance au stress oxydatif chez la levure :

Pour résister au stress oxydatif et protéger les composants cellulaires, la levure s'est dotée d'un double jeu de systèmes de protection : Enzymatiques et Non-enzymatiques.

a- La réponse Non-enzymatique au stress oxydatif :

En ce qui concerne le système Non-enzymatique, *S. cerevisiae* recrute principalement de petites molécules solubles dans l'eau ou dans les lipides. Ces molécules agissent comme des « Nettoyeurs » (*Scavengers* en anglais). En effet, elles captent les ROS qu'elles utilisent comme réducteurs. Ces derniers, en gagnant des électrons perdent alors leur radioactivité et sont par conséquent éliminés de l'environnement. Parmi les molécules engagées dans ce système, le **Glutathion** est le mieux étudié et le plus connu pour sa grande efficacité.

#### \*Le Glutathion :

Le Glutathion est un tripeptide qui se compose de 3 acides aminés : la cystéine, la glycine et l'acide glutamique. La biosynthèse du glutathion chez la levure est connue pour agir comme un puissant anti-oxydant. Son absence entraîne une diminution de la durée de vie cellulaire et augmente l'appoptose. Le glutathion existe dans la cellule sous-deux formes :

- Le glutathion réduit (GSH) et,
- Le glutathion oxydé (GSSH).

La forme réduite est rencontrée plus souvent (Pocsi *et al.*, 2004) et l'augmentation de la forme GSSH est considérée comme indicateur de stress oxydatif.

Chez la levure, le glutathion est synthétisé suite à un processus à deux étapes ATP dépendantes (Figure 16). L'enzyme  $\gamma$ -glutamyl cystéine synthetase rassemble le Glutamate et la cystéine. Cette enzyme est codée par le gène *GSH1* chez *S.cerevisiae* (Lisowsky, 1993). Le produit de cette première étape est par la suite combiné à la glycine dans une étape catalysée par l'enzyme glutathion synthetase codée par le gène *GSH2* (Grant *et al.*, 1997).

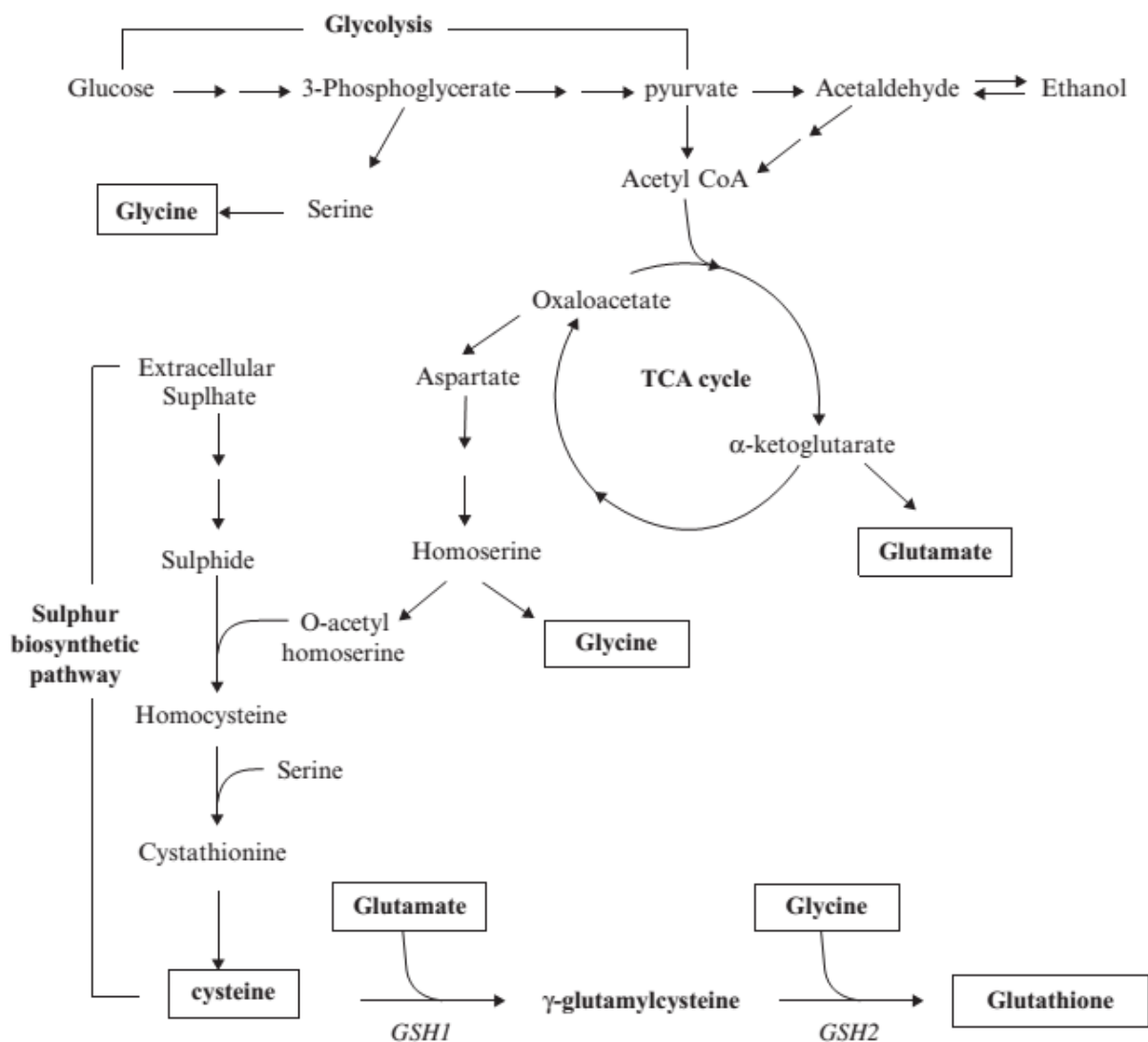


Figure 16 : Biosynthèse du glutathion et interactions avec les autres voies métaboliques (Anand *et al.*, 2009).

Par ailleurs, la défense enzymatique contre le stress oxydatif implique plusieurs enzymes telles que : les Glutarédoxines, les thiorédoxines, les superoxydes dismutases et les catalases.

b- La réponse enzymatique au stress oxydatif :

Cette stratégie de réponse repose sur le recrutement de différentes enzymes qui agissent en concert pour « détoxifier » la cellule de la radioactivité générée par les différentes ROS. Parmi les enzymes clés, on cite :

**\*La superoxyde-dismutase (SOD) :**

Cette enzyme existe chez tous les organismes aérobies et même certains organismes anaérobies et au niveau de tous les compartiments cellulaires susceptibles de subir un stress oxydatif. Elle était découverte pour la première fois par **McCord et Fridovich** en **1969** dans le sang bovin. Il est important de souligner que les formes cytoplasmiques et mitochondriale de la SOD sont distinctes (**Todorova, 2007**).

Le rôle principal de cette enzyme est décrit dans l'élimination de l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ . Elle catalyse la réaction suivante :



Ainsi, la SOD est l'une des premières enzymes intervenant dans la réponse au stress oxydatif en agissant pendant les premières étapes de la respiration.

Il existe trois types de SOD qui peuvent être distinguées par le cofacteur qui leur est associé (**Fridovich, 1986**) :

- La Fe-SOD dont le cofacteur est le fer. Elle est rencontrée chez les procaryotes et le chloroplaste.
- La Mn-SOD associée au manganèse. Elle est rencontrée également chez les procaryotes et au niveau de la mitochondrie.
- Enfin, la Cu/Zn-SOD dont le cofacteur est soit du cuivre, soit du zinc. Elle se trouve dans le cytoplasme ou chez la mitochondrie.

Chez *S.cerevisiae*, deux SOD ont été décrites : la Cu/Zn-SOD codée par le gène *SOD1* et localisée dans le cytosol, le noyau, la mitochondrie et le lysosome. Et la MN-SOD codée par le gène *SOD2* et retrouvée chez la mitochondrie (**Gralla & Kosman, 1992**). Cette dernière est

prétendue être l'enzyme majeure de la réponse au stress oxydatif causé par la présence de l'anion superoxyde chez la mitochondrie. Quant à la Cu/Zn-SOD, les espèces de ROS auxquelles elle s'attaque ne sont jusqu'à présent pas bien élucidées en raison de la localisation critique de l'enzyme (le cytosol) (Todorova, 2007).

**\*Les Glutarédoxines et les Thiorédoxines :**

Ces deux familles d'enzymes structurellement similaires ont été très bien conservées au cours de l'évolution, particulièrement, en ce qui concerne leurs sites actifs. Elles regroupent des protéines ubiquitaires, thermostables à activité oxydoréductases intervenant dans divers processus cellulaires notamment la réparation des dommages de l'ADN et des protéines (Wheeler & Grant, 2004).

*S.cerevisiae* possède deux Glutarédoxines différentes codées par les gènes *GRX1* et *GRX2* (Grant, 2001). La première (*GRX1*) est responsable de l'élimination de l'anion superoxyde et travaille ainsi en association avec la SOD pendant les premières étapes de la respiration. Elle agit donc en tant que glutathion S-transferases. La deuxième (*GRX2*) a la capacité d'éliminer le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et agit donc comme une glutathion peroxidases (Collinson *et al.*, 2002 ; Collinson & Grant, 2003).

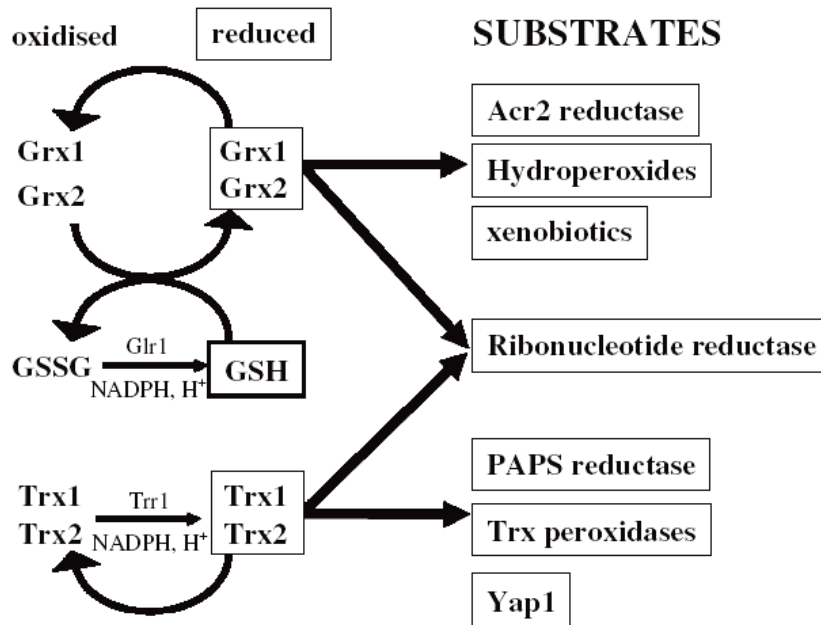
En ce qui concerne les Thiorédoxines, la levure *S.cerevisiae* en possède également deux : *TRX1* et *TRX2* (Gan, 1991), qui fonctionnent sur le même mode des Glutarédoxines précédemment décrites avec plus de sensibilité pour le  $H_2O_2$  (Figure 17).

- **Exemple: La Glutathion peroxidase (GPx) :**

Cette enzyme représente l'acteur majeur de la défense contre le stress oxydatif lorsqu'il est induit par le  $H_2O_2$ . En effet, elle est capable de transformer cet élément radioactif en alcool grâce au pouvoir réducteur du glutathion. Il existe deux types GPxs :

- Une GPx classique qui est une enzyme tetramérique soluble. Et,
- Une GPx phospholipidique (GPxP) qui est monomérique soluble et qui peut être rencontrée également dans la fraction membranaire.

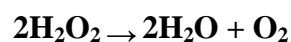
*S.cerevisiae* ne possède aucune GPx classique. Cependant, elle possède 3 GPxP. Cette caractéristique est très particulière de la levure (Todorova, 2007).



**Figure17** : Le système Glutarédoxine/Thiorédoxine chez *S.cerevisiae* (Todorova, 2007)

**\*La catalase :**

La catalase est l'enzyme qui intervient dans la phase finale de détoxification des ROS. Elle catalyse la réaction :



La catalase existe sous deux formes chez la levure : la catalase A peroxysome codée par le gène *CTA1* et la catalase T cytoplasmique codée par le gène *CTT1*. Les connaissances concernant ces deux enzymes sont limitées mais il a été démontré que leur rôle s'étend à plusieurs types de stress. Les souches délétées de la catalase T subissent une augmentation à 70% d'oxydation ce qui démontre l'importance du rôle de cette enzyme dans la maintenance de la balance redox. Il a été également reporté que la catalase T a un rôle beaucoup plus général dans la réponse au stress. Elle intervient notamment dans la réponse au stress thermique et osmotique (Belazzi *et al.*, 1991).

*Chapitre II : Réponse  
Générale au Stress chez les  
Microorganismes*

*Section 01 : Biosynthèse des  
antibiotiques par les  
Streptomyces*

### Introduction :

Depuis la découverte des antibiotiques dans les années 1950, les Streptomycètes occupent les premiers rangs des microorganismes producteurs de ces molécules bioactives (**Hwang *et al.*, 2001 ; Marinelli, 2009**). Le mot Streptomycète regroupe toutes les espèces du genre *Streptomyces* dérivant de la famille des *Streptomycetaceae*, de l'ordre des *Actinomycetales*, et de la classe des *Actinobacteria*.

#### 1. Définition et caractéristiques principales du genre *Streptomyces* :

Le nom *Streptomyces* est issu du Grec : *Streptos* qui veut dire « courbé » et *Myces* qui veut dire « champignon » (**Williams *et al.*, 1989**). Les *Streptomyces* sont jusqu'à présent, les actinomycètes les mieux étudiés et les plus connus pour leur capacité extraordinaire à produire une large gamme de métabolites secondaires bioactifs.

Les *Streptomyces* sont des microorganismes procaryotes (dépourvus de noyau), Gram positif, possédant une paroi riche en acide diaminopimélique (**Lechevalier et Lechevalier, 1981**). Ils sont sensibles aux antibactériens et aux lysozymes (**Mariat et Sebald, 1990**). Ces caractéristiques étaient déterminantes pour classer définitivement ce groupe de microorganismes dans le règne des bactéries.

##### 1.1. Génétique des *Streptomyces* :

Avec une taille de 8 million de paires de bases, le génome des *Streptomyces* est compté parmi les plus grands génomes bactériens. Il est connu pour être riche en G+C% (entre 69 et 78%). Les *Streptomyces* possèdent également des plasmides linéaires et plus classiquement, des plasmides circulaires (**Stackebrandt et Schumann, 2006**). Les génomes de certaines souches appartenant à ce genre ont été entièrement séquencés, c'est le cas du génome de *Streptomyces coelicolor* et *S. avermitili* à titre d'exemple (**Bentley *et al.*, 2002 ; Ikeda *et al.*, 2003**).

##### 1.2. Écologie des *Streptomyces* :

Les *Streptomyces* se rencontrent presque partout. Le sol en est le réservoir le plus riche (**Dhanasekaran *et al.*, 2009**). Ils constituent une partie très importante de la microflore tellurique dont le nombre diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente (**Waksman, 1963**). Ils sont également présents dans les eaux douces où ils sont à l'origine de certaines odeurs et goûts terreux rencontrés parfois dans les eaux de consommation. Parmi les

substances en question, on peut citer la géosmine (Zaitlin *et al.*, 2003 ; Madigan et Martinko, 2007). Quant à l'air, les *Streptomyces* s'y retrouvent sous forme de spores. Ce genre bactérien est également capable de se développer sur une très large gamme de substrats et possède un grand pouvoir d'adaptation aux variations des conditions environnementales (Andreyuk *et al.*, 1990).

### 2. Bioactivité des *Streptomyces* :

Le genre *Streptomyces* est responsable de la production de 70 à 80% des substances naturelles à application médicale ou agronomique dont les antibiotiques (Berdy, 2005 ; Manteca *et al.*, 2008). Depuis 1955, les bactéries appartenant au genre *Streptomyces* sont responsables de la production de plus de 90% des antibiotiques naturels connus jusque là (Hwang *et al.*, 2001 ; Marinelli, 2009). En plus aux antibiotiques, les *Streptomyces* sont responsables de la production de plusieurs antifongiques, anti-tumoraux, antiparasitaires, pesticides, et beaucoup d'autres substances.

### 3. Production des antibiotiques par les *Streptomyces* :

#### 3.1. Définition des antibiotiques :

Du grec *Anti* qui veut dire « Contre » et *Bios* qui veut dire « Vie ». Le mot antibiotique désigne tout composé chimique élaboré par un microorganisme ou produit par synthèse dont l'activité thérapeutique se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique par l'inhibition de certains processus vitaux à l'égard des microorganismes sensibles.

#### 3.2. Les antibiotiques produits par les *Streptomyces* :

Les *Streptomyces* synthétisent des antibiotiques appartenant à différentes classes chimiques. Ils sont fournisseurs de : B-lactamines, peptides, nucléosides, fosfomycine, tetracyclines, anthracines, anamycines, polyènes et d'oligosides. Les molécules antibactériennes des *Streptomyces* agissent prioritairement au niveau de la biosynthèse et du maintien de la paroi cellulaire, des protéines et de l'ADN.

*Section 02 : Répression  
catabolique chez les Gram  
positif*

**Introduction :**

La nature ubiquitaire des bactéries, fait que ces organismes rencontrent des conditions de vie très fluctuantes et notamment en matière de ressources nutritionnelles. Ces dernières sont la base de la duplication bactérienne étant la source d'énergie. Ainsi, les bactéries utilisent les nutriments pour fabriquer leurs propres lipides, glucides et acides aminés. L'ensemble des réactions chimiques permettant d'utiliser les nutriments pour fabriquer ses propres molécules s'appelle : L'**anabolisme**. Cette opération nécessite de l'énergie qui est, quant à elle issue de la dégradation de molécules organiques. Cette opération s'appelle : Le **catabolisme**. L'ensemble des réactions chimiques réalisées lors du catabolisme et de l'anabolisme est connu sous le nom de **Métabolisme**.

L'un des éléments les plus importants issus des ressources nutritionnelles est le **Carbone**. Cet élément minéral rentre dans la constitution de toutes les molécules indispensables à la vie cellulaire. En plus, il est l'une des meilleures sources d'énergie pour la cellule. Le métabolisme de cet élément est donc primordial pour la vie cellulaire et détermine les capacités de la cellule à s'adapter et à survivre.

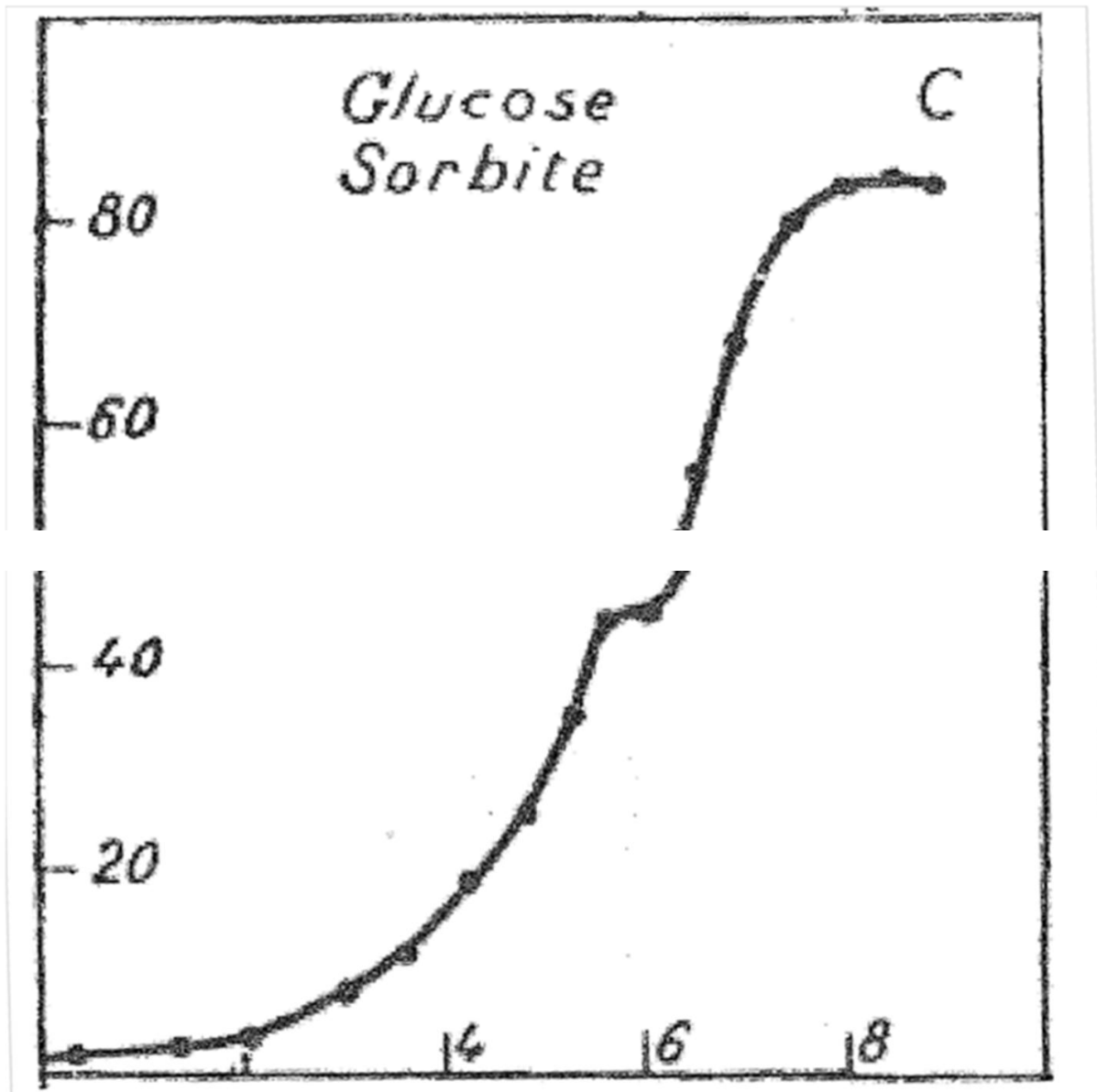
Pour toutes ces raisons, le métabolisme du carbone est hautement contrôlé au sein de la cellule et ce en contrôlant les gènes impliqués dans son transport et son utilisation. Ces mécanismes de contrôle génique du métabolisme du carbone a été et est toujours largement étudié par les scientifiques.

**1. La diauxie (expérience de Monod, 1942) :**

L'étude du métabolisme carboné chez les bactéries a été entretenue pour la première fois en **1942** par **Jack Monod**. Son expérience consistait à cultiver une bactérie dans un milieu contenant deux sources différentes de carbone (**Figure 18**). Il a observé que la bactérie utilise les deux sources de carbone préférentiellement et non pas de manière concomitante et que les deux utilisations sont séparées par une phase de latence (**Monod, 1942**). Il a nommé ce phénomène : La **Diauxie**.

Des expériences ultérieures ont pu montrer que l'utilisation des sources préférentielles de carbone (telles que le glucose), était capable de réprimer les gènes codant pour le transport et l'utilisation des autres sources secondaires de carbone. Cette régulation génique est appelée : La répression catabolique **CCR** (*Carbon Catabolite Repression*) (**Contesse et al., 1970**).

La répression catabolique est étroitement liée au système de transport : carbohydate PhosphoTransférase Système (PTS) qui régit le transport et la phosphorylation des sucres chez plusieurs bactéries et notamment les Gram positif (**Bachem et al., 1997 ; Deutscher, 2008 ; Görke and Stülke, 2008**).



**Figure 18** : La diauxie selon l'expérience de Jack Monod 1942 (**Monod, 1942**)

Monod a cultivé *Bacillus subtilis* sur milieu contenant le glucose et le sorbitol. La bactérie utilise d'abord le glucose ensuite le sorbitol dans deux étapes séparées par une phase de latence.

Chez les Gram positif, la répression catabolique est un mécanisme qui implique principalement un régulateur global appelé CcpA (Catabolite Control **P**roteine **A**). Ce facteur

est l'équivalent de l'AMPc dans la répression catabolique chez les Gram négatif. Il est responsable de la régulation de près de 10% du génome bactérien (**Görke and Stülke, 2008**). Grâce au CcpA, les gènes impliqués dans le transport et le métabolisme des sucres secondaires sont réprimés lorsque un sucre principal tel que le glucose existe dans le milieu.

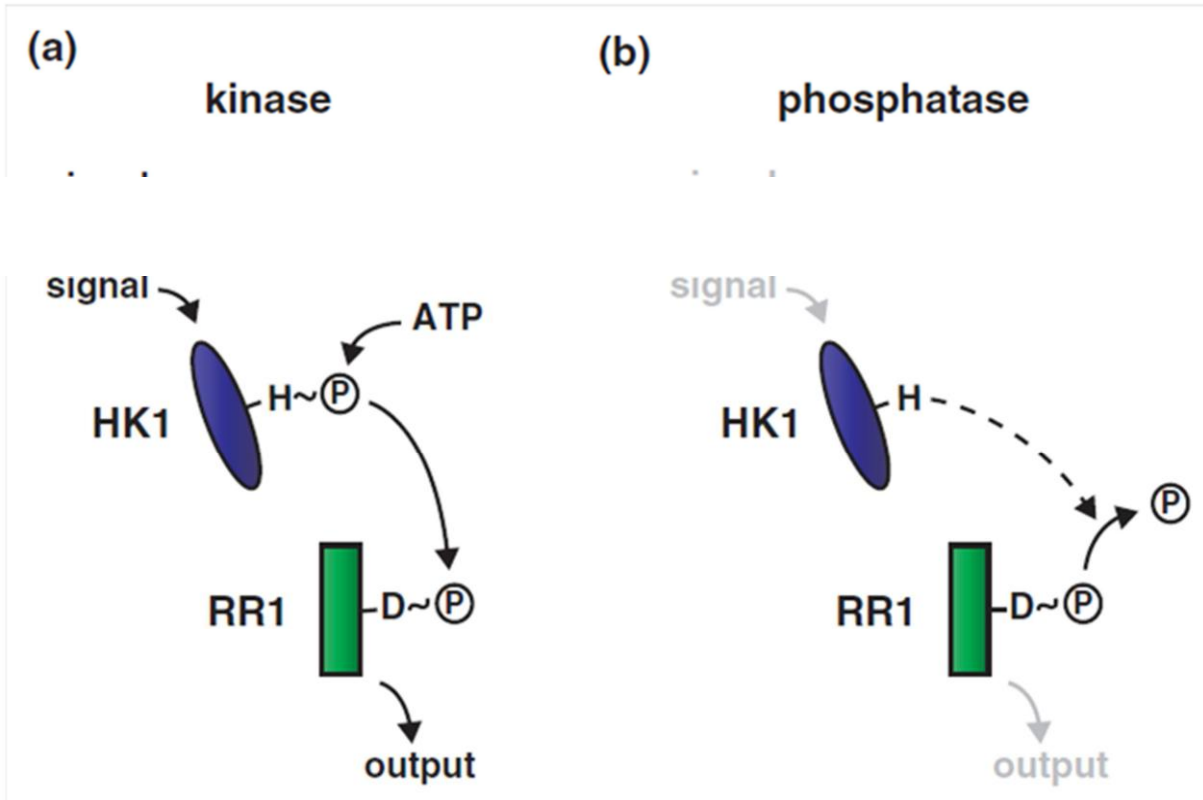
## **2. La répression catabolique dépendante de CcpA :**

La répression catabolique chez les bactéries Gram positif est principalement basée sur l'action du régulateur CcpA. Ce dernier agit directement avec l'ADN pour activer ou réprimer l'expression des gènes impliqués dans le transport des sucres et notamment le système PTS. Le régulateur CcpA lui-même est géré par un système de régulation appelé : **à deux composants**.

### **• Mécanismes du système à deux composants :**

Les systèmes à deux composants (SDC) ont été identifiés pour la première fois chez les bactéries (**Gao and Stock, 2009**). Leur principe de fonctionnement repose sur la transduction du signal suite à la réception d'un stimulus environnemental auquel la cellule répond pour pouvoir y survivre. Le mécanisme conventionnel des SDC fait appel à une histidine kinase et à une protéine régulatrice. L'histidine kinase ressent le stimulus (protéine senseur) et s'autophosphoryle par une réaction ATP dépendante. Elle transmet ensuite le phosphate à la protéine régulatrice qui lui correspond ce qui induit une modification conformationnelle de celle-ci. En absence du stimulus, l'histidine kinase joue le rôle d'une phosphatase et déphosphoryle la protéine régulatrice lui correspondant pour éviter des réactions non désirées (**Gao and Stock, 2009**) (**Figure 19**).

Dans le cas du régulateur CcpA, ce dernier doit être lié à l'ADN pour pouvoir activer les gènes du métabolisme des sucres primaires (glucose par exemple). Cette liaison nécessite l'intervention d'un SDC dans lequel, le senseur est une protéine Kinase/ Phosphatase appelée HprK/P-ATP dépendante et la protéine régulatrice est appelée Hpr (**Henkin et al., 1991**). Cet état est déclenché lorsque le glucose 6-phosphate est présent dans le milieu et réprimé dans le cas inverse. Ceci indique que les gènes de transport et de métabolisme du glucose sont régulés par le mécanisme de régulation catabolique. Il est important de souligner que le glucose se trouve au sommet des sucres préférés par les bactéries mais ceci n'empêche qu'il existe des espèces bactériennes qui ont une autre préférence que le glucose.



**Figure 19 :** Schéma décrivant le mécanisme du système à deux composants (SDC) (Podgornaia and Laub, 2013).

- (a) Dans la présence du stimulus, la phosphorylation du senseur (en bleu) induit la phosphorylation de la protéine régulatrice (en vert)
- (b) En absence du stimulus, la phosphorylation du senseur n'a pas lieu et la protéine régulatrice et déphosphorylée pour inhiber l'activation de la transcription.

La répression catabolique est donc l'un des mécanismes utilisés par la cellule pour assurer une régulation transcriptionnelle des gènes. Elle permet l'utilisation préférentielle et hiérarchique des sucres ce qui assure une meilleure utilisation des ressources nutritives du milieu et donc une meilleure croissance cellulaire.

*Section 03 : Communication  
et transmission du signal chez  
les Gram positif*

#### **Introduction :**

Pendant très longtemps, les bactéries ont été considérées comme des organismes possédant une faible capacité d'interaction. Ce n'est qu'aux débuts des années 1970 que cette idée a été contestée. En effet, il a été prouvé que les bactéries ont développé au cours du temps une capacité de « vie sociale », de communication et d'interaction qui les rend susceptibles de coordonner leur comportement dans un groupe unifié et homogène rappelant l'organisation que l'on rencontre chez les organismes pluricellulaires (**Henke and Bassler, 2004 ; Nadell et al., 2009**). Cette stratégie de communication inter-bactéries est connue actuellement sous le nom de : **Quorum Sensing (QS)**.

#### **1. Définition du Quorum Sensing (QS) :**

Le **QS** est un mode de communication intra et inter-espèce bactériennes. Il est basé sur la production et la sécrétion de petites molécules **médiatrices** appelées : Autoinducteurs. Ces molécules sont produites au cours de la croissance bactérienne. En effet, la notion d'autoinducteur a été proposée par **Kaplan et Greenberg** en **1985** lors de l'étude de la régulation des gènes modulant la bioluminescence chez la bactérie *Vibrio fischeri*. Le **QS** est actuellement étendu sur différents types bactériens et même des Archae (**Camilli and Bassler, 2006**).

L'activité médiatrice des autoinducteurs repose sur leur concentration dans le milieu externe. Ainsi, lorsque leur concentration atteint un seuil critique, ces petites molécules deviennent capables de pénétrer dans la cellule et d'interagir avec un récepteur qui leur est spécifique. Ce dernier est souvent un régulateur transcriptionnel. Elles peuvent alors soit induire, soit réprimer l'expression d'un gène donné (**Czajkowski and Jafra, 2009 ; Water and Bassler, 2005**).

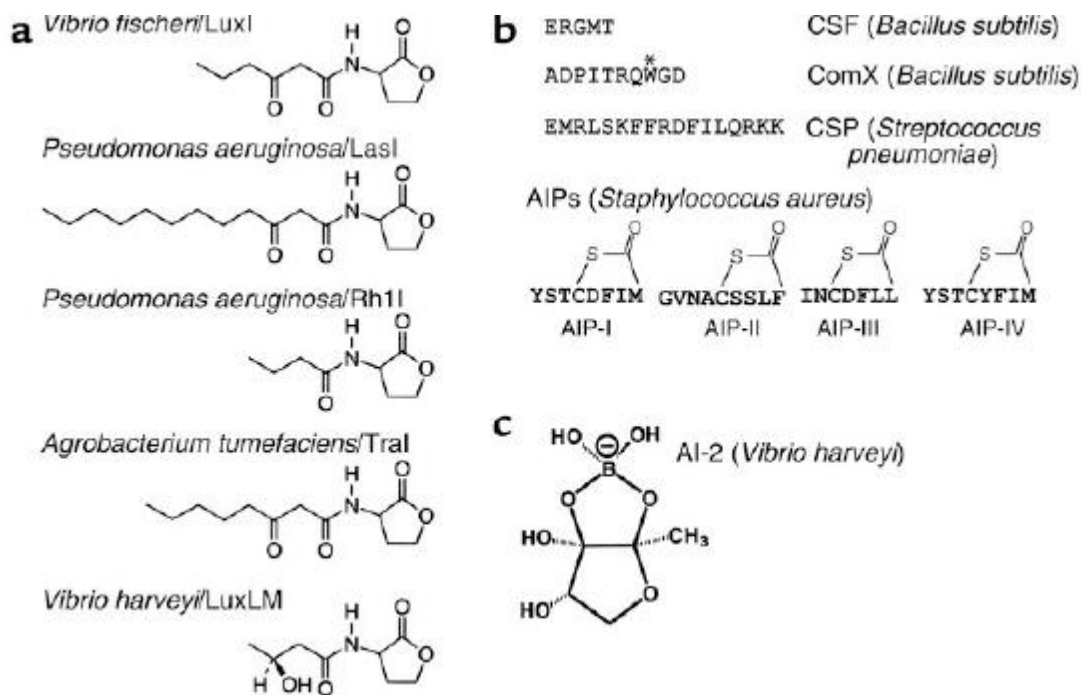
Il est ainsi tout à fait logique que la concentration externe des autoinducteurs évolue en fonction de la densité de la population bactérienne. Plus la population est dense plus la communication est établie et est efficace.

#### **2. Mécanisme du QS chez les bactéries :**

Le système **QS** est rencontré à la fois chez les bactéries Gram négatif que positif (**Parker and Sperandio, 2009**). Cependant, la nature des molécules médiatrices est différente. En effet, chez les bactéries Gram négatif le **QS** implique des petites molécules dérivées d'acides

### Section 3 : Communication et transmission du signal chez les bactéries Gram positif

gras. Les mieux étudiées sont les autoinducteurs appelés AHL pour N-Acyl-Homosérine Lactons (Salmond *et al.*, 1995) (Figure 20). Alors que chez les bactéries Gram positif, il est basé sur la production de dérivés peptidiques (Czajkowski and Jafra, 2009). Un troisième type d'autoinducteurs a été récemment décrit aussi bien chez les bactéries Gram négatif que positif, il s'agit de la molécule dénommée AI-2 dont la nature varie selon la souche (Bassler ; 2002).

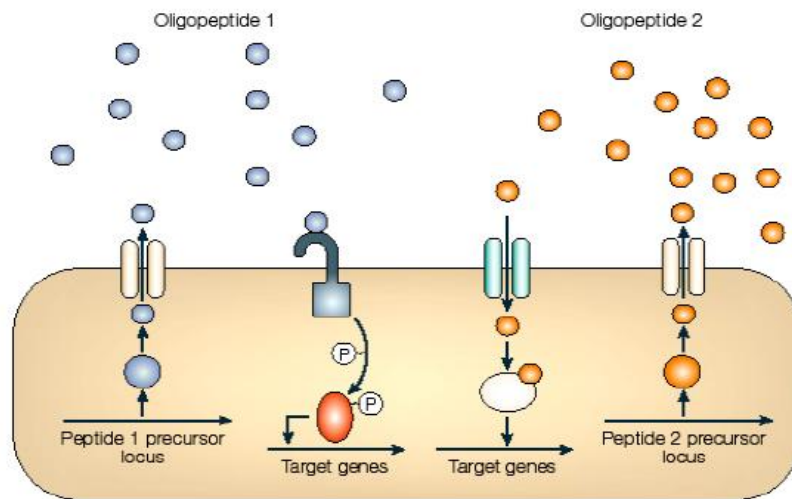


**Figure 20** : Structure d'autoinducteurs chez certaines bactéries modèles dans l'étude du QS (Bassler, 2002)

- Autoinducteur AHL caractéristiques des bactéries Gram négatif
- Certains autoinducteurs de bactéries Gram positif
- AI-2 de *Vibrio harveyi* (diester de borate furanosylé).

Trois composants majeurs sont impliqués dans le mécanisme du QS chez les bactéries. En plus à l'autoinducteur, intervient impérativement un couple de protéines : Une Synthase et un récepteur (Waters and Bassler, 2005).

Grâce à cette stratégie de communication, les bactéries peuvent exprimer différents types de gènes. On cite à titre d'exemple les gènes impliqués dans la génération de la bioluminescence, les gènes de la sporulation (**Figure 21**), de la compétence, de la production d'antibiotiques, de la sécrétion de facteurs de virulence, de la production de pigments et particulièrement, les gènes impliqués dans la formation du **biofilm** (**Rutherford and Bassler, 2012**).



**Figure 21** : Exemple de QS chez des bactéries Gram positif (**Sansonetti, 2009**)

*Bacillus subtilis* peut s'engager vers une sporulation ou une compétence grâce au système QS

### 3. Le QS chez les bactéries Gram positif :

Il est actuellement connu, que les bactéries Gram positif utilisent des dérivés peptidiques dans l'établissement de la communication entre elles. L'autoinducteur peptidique est généré par une molécule précurseur puis sécrété en dehors de la cellule par transport actif. Le signal peptidique ne pourra être détecté que lorsque sa concentration extracellulaire atteint un niveau minimal. Deux récepteurs membranaires de nature histidine kinases interagissent alors avec la molécule médiatrice (**Kleerebezem et al., 1997 ; Miller and Bassler, 2001 ; Waters and Bassler, 2005**). L'interaction peptide-ligand déclenche une série de réaction de phosphorylation aboutissant à la fin à la protéine régulatrice. Cette action en cascade active donc un récepteur qui se fixe par la suite sur l'ADN et régule l'expression d'un gène spécifique (**Lazizzera and Grossman, 1998 ; Miller and Bassler, 2001**).

### Section 3 : Communication et transmission du signal chez les bactéries Gram positif

Il est toujours aussi important de souligner que ce système de communication est modulé par la densité cellulaire de la population bactérienne.

Parmi les systèmes les mieux étudiés de régulation génique basée sur le QS, le système *Agr* décrit chez *Staphylococcus aureus*. Ce dernier utilise la stratégie du QS sur deux étapes pour déclencher une infection chez l'homme.

En effet, lorsque la densité cellulaire du *S.aureus* est faible dans le milieu, la bactérie se contente de sécréter une molécule médiatrice de nature peptidique responsable d'augmenter l'adhésion aux surfaces. Lorsque la densité cellulaire devient importante, les gènes codant pour des toxines et des protéases sont alors induits grâce au signal QS et l'infection est alors établie (Lyon and Novick, 2004) (Figure 22). Des systèmes de régulation génique semblables ont été également décrits chez d'autres bactéries Gram positif telles que : *Bacillus subtilis* et *Streptococcus pneumoniae*.

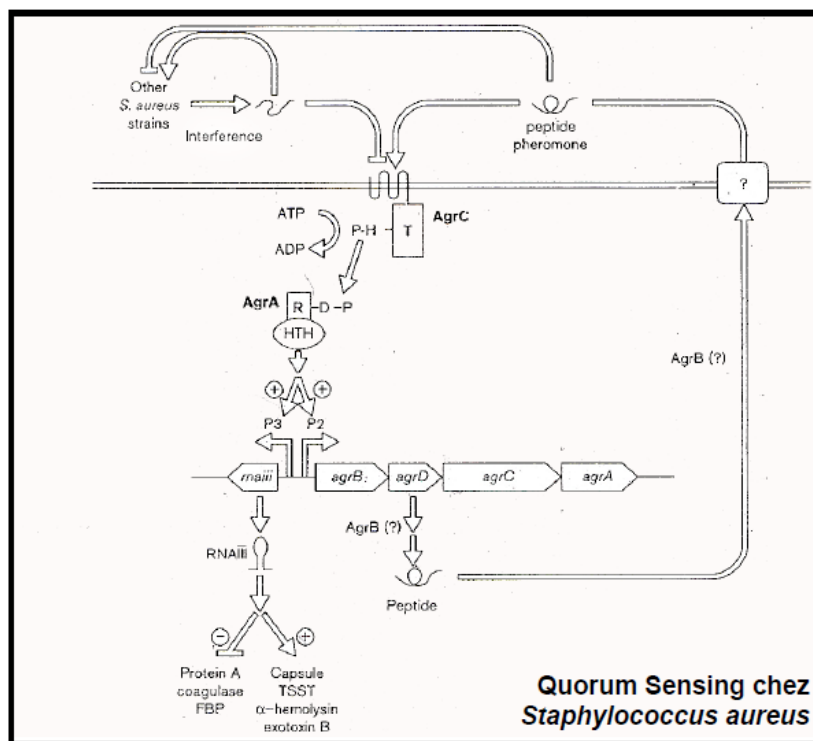


Figure 22 : Cascade de phosphorylations du système QS chez *S. aureus* (Sansoneetti, 2009)

### ***Section 3 : Communication et transmission du signal chez les bactéries Gram positif***

---

D'autres stratégies de signalisation par QS ont été décrites de nos jours impliquant des molécules de natures différentes de ce qui a été précédemment discuté dans ce texte. Il s'agit par exemple des Quinolones identifiés chez *Pseudomonas aeruginosa* (Pesci *et al.*, 1999), de l'A1-3 décrit chez les bactéries pathogènes entériques (LaSarre and Federle, 2013) et d'autres.

*Références*  
*Bibliographiques*

**A**

**Anand** K. Bachhawat , D. G., Jaspreet Kaur , Neha Kasturia, Anil Thakur , Hardeep Kaur, Akhilesh Kumar , and Amit Yadav (2009) Glutathione Production in Yeast. *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*: 260-278.

**Arents** G, Burlingame RW, Wang BC, Love WE, Moudrianakis EN. (1991) The nucleosomal core histone octamer at 3.1 Å resolution: a tripartite protein assembly and a left-handed superhelix. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **88**(22):10148-52.

**B**

**Bachem** S, Faires N & Stülke J (1997) Characterization of the presumptive phosphorylation sites of the *Bacillus subtilis* glucose permease by site-directed mutagenesis: Implication in glucose transport and catabolite repression. *FEMS Microbiol. Lett.* **156**: 233–238.

**Barnett** PG. (2003) Determination of VA health care costs. *Med Care Res Rev.* 60: 124S-141S. Review.

**Bassler** BL. (2002) Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria. *Cell.* **109**(4):421-4. Review.

**Beisel** CL, Chen YY, Culler SJ, Hoff KG, Smolke CD. (2010) Design of small molecule-responsive microRNAs based on structural requirements for Drosha processing. *Nucleic Acids Res.* **39**(7):2981-94.

**Belazzi** T, Wagner A, Wieser R, Schanz M, Adam G, Hartig A & Ruis H (1991) Negative regulation of transcription of the *Saccharomyces cerevisiae* catalase T (CTT1) gene by cAMP is mediated by a positive control element. *Embo Journal* **10**: 585-592.

**Bentley** SD, Chater KF, Cerdeno-Tarraga AM, Challis GI, Thomson NR, James Kd, Harris DE et al. (2002) Complete genome sequence of the model actinomycete, *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature.* **417**(6885):141-7.

**Berdy** J. (2005) Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot.* **58** :1-26.

**Bleves** S, (2010) Régulation de la réponse au stress thermique «Heat-Shock» chez les bactéries à Gram négatif. Cours destiné au Licence. Université de Luminy, Marseille. France.

**Bouallagua I.** (2017) Les papillomavirus et la régulation de la transcription. Cours de l'Institut Pasteur - Unité "Expression génétique et Maladies", Département de Biologie du Développement, Paris - France.

**Bourbon HM, Aguilera A, Ansari AZ, Asturias FJ, Berk AJ, Bjorklund S, Blackwell TK, Borggreffe T, Carey M, Carlson M, et al.** (2004). A unified nomenclature for protein subunits of mediator complexes linking transcriptional regulators to RNA polymerase II. *Mol Cell* **14**, 553-557.

**Boutibonnes P, Bisson V, Thammavongs B, Hartke A, Panoff JM, Benachour A, Auffray Y.** (1995) Induction of thermotolerance by chemical agents in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403. *Int J Food Microbiol.* **25**(1):83-94.

**Bouvier M, Carpousis AJ** (2011). A tale of two mRNA degradation pathways mediated by RNase E. *Mol. Microbiol.* **82**: 1305–1310.

**Brul S, Coote P.** (1999) Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms. *Int J Food Microbiol.* **50**(1-2):1-17.

**Burley SK, Roeder RG.** (1996) Biochemistry and structural biology of transcription factor IID (TFIID). *Annu Rev Biochem.* **65** : 769-99. Review.

## **C**

**Cairns BR, Lorch Y, Li Y, Zhang M, Lacomis L, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Du J, Laurent B, Kornberg RD.** (1996) RSC, an essential, abundant chromatin-remodeling complex. *Cell.* **87**(7):1249-60.

**Callaghan AJ, Marcaida MJ, Stead JA, McDowall KJ, Scott WG, Luisi BF** (2005). Structure of *Escherichia coli* RNase E catalytic domain and implications for RNA turnover. *Nature* **437**, 1187–1191.

**Camilli A<sup>1</sup>, Bassler BL.** (2006) Bacterial small-molecule signaling pathways. *Science.* **311**(5764):1113-6.

**Champomier-Vergès MC**, Chaillou S, Cornet M, Zagorec M. (2001) *Lactobacillus sakei*: recent developments and future prospects. *Res Microbiol.* 10:839-48. Review. Corrected and republished in: *Res Microbiol.* 2002 Mar;**153**(2):115-23.

**Carpousis AJ**, Luisi BF, McDowall KJ (2009). Endonucleolytic Initiation of mRNA Decay in *Escherichia coli*. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **85**: 91–135.

**Carpousis AJ**, Van Houwe G, Ehretsmann C, Krisch HM (1994). Copurification of *E. coli* RNAase E and PNPase: Evidence for a specific association between two enzymes important in RNA processing and degradation. *Cell* **76**: 889–900.

**Chao Y<sup>1</sup>**, Vogel J. (2010) The role of Hfq in bacterial pathogens. *Curr Opin Microbiol.***13** (1):24-33.

**Chen ZA**, Jawhari A, Fischer L, Buchen C, Tahir S, Kamenski T, Rasmussen M, Lariviere L, Bukowski- Wills JC, Nilges M, et al. (2010). Architecture of the RNA polymerase II–TFIIF complex revealed by cross- linking and mass spectrometry. *EMBO J.* **29**: 717–726.

**Cheng ZF**, Deutscher MP (2005). An Important Role for RNase R in mRNA Decay. *Mol. Cell* **17**: 313–318.

**Collinson EJ** & Grant CM (2003) Role of Yeast Glutaredoxins as Glutathione S-transferases. *Journal of Biological Chemistry* **278**: 22492-22497.

**Collinson EJ**, Wheeler GL, Garrido EO, Avery AM, Avery SV & Grant CM (2002) The yeast glutaredoxins are active as glutathione peroxidases. *Journal of Biological Chemistry* **277**: 16712-16717.

**Conaway RC**, Conaway JW. (1993) General initiation factors for RNA polymerase II. *Annu Rev Biochem.* **62**: 161-90. Review.

**Contesse G**, Crépin M, Gros F, Ullmann A & Monod J (1970) On the mechanism of catabolite repression. In *The lactose operon*, Beckwith JR & Zipser D (eds) pp 401– 4015. Cold Spring Harbo.

**Côté J**, Quinn J, Workman JL, Peterson CL. (1994) Stimulation of GAL4 derivative binding to nucleosomal DNA by the yeast SWI/SNF complex. *Science.* **265**(5168):53-60.

**Czajkowski R, Jafra S.** (2009) Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. *Acta Biochim Pol.* 2009;56(1):1-16.

**D**

**Davis J, Takagi Y, Kornberg R, and Asturias F** (2002). Structure of the Yeast RNA Polymerase II Holoenzyme. Mediator Conformation and Polymerase Interaction. *Mol Cell* **10**, 409.

**Davison BL, Egly JM, Mulvihill ER, Chambon P.** (1983) Formation of stable preinitiation complexes between eukaryotic class B transcription factors and promoter sequences. *Nature.* **301**(5902): 680-6.

**Daujat S, Bauer UM, Shah V, Turner B, Berger S, Kouzarides T.** (2002) Crosstalk between CARM1 methylation and CBP acetylation on histone H3. *Curr Biol.* **12**(24):2090-7.

**De Maio A, Santoro MG, Tanguay MR, Hightower LE** (2012) Ferruccio Ritossa's scientific legacy 50 years after his discovery of the heat shock response: a new view of biology, a new society, and a new journal. *Cell Stress and Chaperones.* **17**:139–143

**Deutscher J** (2008) The mechanisms of carbon catabolite repression in bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* **11**: 87–93.

**Dhanasekaran D, Selvamani S, Panneerselvam A and Thajuddin N.** (2009). Isolation and characterization of actinomycetes in Vellar Estuary, Annagkoil, Tamil Nadu. *Afr J Biotechnol.* **8** (17): 4159-4162.

**E**

**Emami KH, Jain A, Smale ST.** (1997) Mechanism of synergy between TATA and initiator: synergistic binding of TFIID following a putative TFIIA-induced isomerization. *Genes Dev.* **15**; 11(22): 3007-19.

**F**

**Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC.** (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*, *Nature*, **391**: 806-811.

**Fridovich I** (1986) Superoxide dismutase. In: *Advances in enzymology and Related Areas of Molecular Biology* (Meister, A., Ed.), Wiley, New Yourk, pp 61–97.

**Fourati Z, Roy B, Millan C, Coureux PD, Kervestin S, van Tilbeurgh H, He F, Usón I, Jacobson A, Graille M.** A highly conserved region essential for NMD in the Upf2 N-terminal domain. *J Mol Biol.* 426(22):3689-702.

## G

**Gao R & Stock AM** (2009) Biological insights from structures of two-component proteins. *Annu. Rev. Microbiol.* **63**: 133–154.

**Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, Davis RW, Dujon B, Feldmann H, Galibert F, Hoheisel JD, Jacq C, Johnston M, Louis EJ, Mewes HW, Murakami Y, Philippsen P, Tettelin H, Oliver SG.** (1996). Life with 6000 genes. *Science.* **25**, 546-563.

**Görke B & Stülke J** (2008) Carbon catabolite repression in bacteria: many ways to make the most out of nutrients. *Nat. Rev. Microbiol.* **6**: 613–624

**Graille AM.** (2014) A highly conserved region essential for NMD in the Upf2 N-terminal domain. *J Mol Biol.* **11;426(22)**:3689-702.

**Gan ZR** (1991) Yeast thioredoxin genes. *Journal of Biological Chemistry* **266**: 1692-1696.

**Gill RF, Abastado JP, Wei WZ.** (1994) Systematic identification of H-2 Kd binding peptides and induction of peptide specific CTL. *J Immunol Methods.* **176(2)**: 245-53.

**Goldsborough AS, Kornberg TB.** (1996) Reduction of transcription by homologue asynapsis in *Drosophila* imaginal discs. *Nature.* **381(6585)**: 807-10.

**Górna MW, Carpousis AJ, Luisi BF** (2012). From conformational chaos to robust regulation: the structure and function of the multi-enzyme RNA degradosome. *Q. Rev. Biophys.* **45**: 105–145.

**Graille M, Séraphin B.** (2012). Surveillance pathways rescuing eukaryotic ribosomes lost in translation. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **13(11)**:727-35.

**Gralla EB & Kosman DJ** (1992) Molecular genetics of superoxide dismutases in yeast and related fungi. *Advances in Genetics* **30**: 251-319.

**Grant** CM (2001) Role of the glutathione/glutaredoxin and thioredoxin systems in yeast growth and response to stress conditions. *Molecular Microbiology* **39**: 533-541.

**Grant** CM, MacIver FH & Dawes IW (1997) Glutathione synthetase is dispensable for growth under both normal and oxidative stress conditions in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* due to an accumulation of the dipeptide gamma-glutamylcysteine. *Molecular Biology of the Cell* **8**: 1699-1707.

**Gross** C, Straus D, Erickson J, Yura T. (1990) 8 The Function and Regulation of Heat Shock Proteins in *Escherichia coli*. Cold Spring Harbor Monograph Archive, North America,. Available at: <https://cshmonographs.org/index.php/monographs/article/view/3597>. Date accessed: 21 Feb. 2018.

**Gu** W, Reines D. (1995a) Identification of a decay in transcription potential that results in elongation factor dependence of RNA polymerase II. *J Biol Chem.* **270**(19):11238-44.

**Gu** W, Reines D. (1995b) Variation in the size of nascent RNA cleavage products as a function of transcript length and elongation competence. *J Biol Chem.* **270** (51):30441-7.

**Guglielmi** B, van Berkum NL, Klapholz B, Bijma T, Boube M, Boschiero C, Bourbon HM, Holstege FC, and Werner M (2004). A high resolution protein interaction map of the yeast Mediator complex. *Nucleic Acids Res* **32**, 5379-5391.

**Gutheret** D. (2008) Les petits ARN régulateurs Apport de la génomique. Université Paris Sud 11. Disponible sur le site : <http://www.esil.univ-mrs.fr/~dgaut/Cour>. Consulté en Octobre 2016.

## *H*

**He** L, Hannon GJ. (2004) MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet.* **5**(7):522-31. Review.

**Henke** JM, Bassler BL. (2004) Bacterial social engagements. *Trends Cell Biol.* **14**(11):648-56. Review.

**Heride** C, Urbé S, and Clague MJ. (2014). Ubiquitin code assembly and disassembly. *Curr. Biol. CB* **24**: R215–R220.

**Henke** KD (2000) Control of health care by the economist?. *Z Arztl Fortbild Qualitatssich.* **94**(10):816-8.

**Henkin** TM, Grundy FJ, Nicholson WL & Chambliss GH (1991) Catabolite repression of alpha-amylase gene expression in *Bacillus subtilis* involves a trans-acting gene product homologous to the *Escherichia coli* *lacl* and *galR* repressors. *Mol. Microbiol.* **5**: 575–584.

**Hoffmann** A, Oelgeschläger T, Roeder RG. (1997) Considerations of transcriptional control mechanisms: do TFIID-core promoter complexes recapitulate nucleosome-like functions? *Proc Natl Acad Sci U S A.* **94**(17): 8928-35. Review.

**Hwang** BK, Lim SW, Kim BS, Lee JY and Moon SS. (2001) Isolation and in vivo and in vitro antifungal activity of phenylacetic acid and sodium phenyl acetate from *Streptomyces humidus*. *Appl Environ Microbiol.* **67**: 3730-3745.

## *I*

**Ikeda** H, Ishikawa J, Hanamoto A, Shinose M, Kikuchi H, Shiba T, Sakaki Y, Hattori M and Omura S (2003) Complete genome sequence and comparative analysis of the industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*. *Nature Biotechnology.* **21**(5): 526531.

## *J*

**Jolly** C, Morimoto RI. (2000) Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J Natl Cancer Inst.* **92**(19):1564-72. Review.

## *K*

**Kandiah** E, Trowitzsch S, Gupta K, Haffke M, Berger I. (2014) More pieces to the puzzle: recent structural insights into class II transcription initiation. *Curr Opin Struct Biol.* **24**: 91-7. Review.

**Kim** YJ., Björklund S, Li Y, Sayre MH, and Kornberg RD (1994). A multiprotein mediator of transcriptional activation and its interaction with the C-terminal repeat domain of RNA polymerase II. *Cell* **77**, 599-608.

**Kingston** RE, Narlikar GJ. (1999) ATP-dependent remodeling and acetylation as regulators of chromatin fluidity. *Genes Dev.* 13(18):2339-52. Review.

**Kleerebezem** M, Quadri LE, Kuipers OP, de Vos WM. (1997) Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Gram-positive bacteria. *Mol Microbiol.* 24(5):895-904. Review.

**Kolaj-Robin** O, Séraphin B. (2017) Structures and Activities of the Elongator Complex and Its Cofactors. *Enzymes.* 41:117-149.

**Koleske** AJ<sup>1</sup>, Young RA. (1994) An RNA polymerase II holoenzyme responsive to activators. *Nature.* 368(6470): 466-9.

**Kornberg** RD, Thomas JO. (1974) Chromatin structure; oligomers of the histones. *Science.* 184(4139):865-8.

## *L*

**LaSarre** B, Federle MJ. (2013) Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev.* 77(1):73-111. Review.

**Lazzera** BA<sup>1</sup>, Grossman AD. (1998) The ins and outs of peptide signaling. *Trends Microbiol.* 6(7):288-94.

**Lechevalier** HA and Lechevalier MP. (1981) Introduction to the order Actinomycetales, dans : Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Ballows A. et Schlegel H.G. *The prokaryote volume 2.* Springer-Verlag Edition Berlin : 1915-1922.

**Lee** TI, Young RA. (2000) Transcription of eukaryotic protein-coding genes. *Annu Rev Genet.* 34: 77-137. Review.

**Lemon** B<sup>1</sup>, Tjian R. (2000) Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control. *Genes Dev.* 14(20):2551-69.

**Lisowsky** T (1993) A high copy number of yeast  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase suppresses a nuclear mutation affecting mitochondrial translation. *Current Genetics* 23: 408-413.

**Lo** WS, Duggan L, Emre NC, Belotserkovskya R, Lane WS, Shiekhattar R, Berger SL. (2001) Snf1--a histone kinase that works in concert with the histone acetyltransferase Gcn5 to regulate transcription. *Science.* 293(5532):1142-6.

**Luger K**, Rechsteiner TJ, Flaus AJ, Waye MM, Richmond TJ. (1997) Characterization of nucleosome core particles containing histone proteins made in bacteria. *J Mol Biol.* **272**(3):301-11.

**Lyon GJ**, Novick RP. (2004) Peptide signaling in *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. *Peptides.* **25**(9):1389-403. Review.

## *M*

**Madigan MT** and **Martinko JM**. (2007) *Biologie des microorganismes*. Pearson Education France, 11e édition : 331-423, 686-718.

**Mackie GA** (2013). RNase E: at the interface of bacterial RNA processing and decay. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**: 45–57.

**Maldonado E**, Ha I, Cortes P, Weis L, Reinberg D. (1990) Factors involved in specific transcription by mammalian RNA polymerase II: role of transcription factors IIA, IID, and IIB during formation of a transcription-competent complex. *Mol Cell Biol.* **10**(12): 6335-47.

**Mariat F** and **Sebald M**. (1990) Les actinomycètes, dans : **Leminor L**. *Bactériologie médicale*. Médecine Science Flammarion Edition France: 54-62.

**Marinelli F**. (2009) Antibiotics and *Streptomyces*: the futur and antibiotic discovery. *Microbiology today.* **2**: 20-23.

**Manteca A**, Alvarez R, Salazar N, Yague P and Sanchez J.(2008) Mycelium differentiation and antibiotic production in submerged culture of *Streptomyces coelicolor*. *Appl & Environ Microb.* **74**: 3877-3886.

**Maxon ME**, Goodrich JA, Tjian R. (1994) Transcription factor IIE binds preferentially to RNA polymerase IIa and recruits TFIIH: a model for promoter clearance. *Genes Dev.* **8**(5): 515-24.

**Miller MB**, Bassler BL. (2001) Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* **55**:165-99. Review.

**Monod J** (1942) *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*. Université de Paris, France.

**Morabitto D.** (1994) production d'acide lactique par *Lactobacillus casei* sur lactoserum: études cinétiques, modélisation et simulation de procédé intégré. Thèse de doctorat, institut national polytechnique de lorraine. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. France.

## *N*

**Nadell CD, Xavier JB, Foster KR.** (2009) The sociobiology of biofilms. *FEMS Microbiol Rev.* **33**(1):206-24.

**Nguyen TD, Guyot S, et al.** (2015). Protection of living yeast cells by micro-organized shells of natural polyelectrolytes. *Process Biochemistry* **50**(10): 1528-1536.

**Nocker A, Hausherr T, Balsiger S, Krstulovic NP, Hennecke H, Narberhaus F.** (2001) A mRNA-based thermosensor controls expression of rhizobial heat shock genes. *Nucleic Acids Res.* **29**(23):4800-7.

## *O*

**Okada Y, Wachi M, Hirata A, Suzuki K, Nagai K, Matsushashi M** (1994). Cytoplasmic axial filaments in *Escherichia coli* cells: possible function in the mechanism of chromosome segregation and cell division. *J. Bacteriol.* **176**: 917–922.

**Orphanides G, Lagrange T, Reinberg D.** (1996) The general transcription factors of RNA polymerase II. *Genes Dev.* **10**(21) :2657-83. Review

**O'Shea-Greenfield A, Smale ST.** (1992) Roles of TATA and initiator elements in determining the start site location and direction of RNA polymerase II transcription. *J Biol Chem.* **15**; 267(2):1391-402.

## *P*

**Parker CT, Sperandio V.** (2009) Cell-to-cell signalling during pathogenesis. *Cell Microbiol.* **11**(3):363-9.

**Patikoglou G, Burley SK.** (1997) Eukaryotic transcription factor-DNA complexes. *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* **26** :289-325.

**Pesci EC**, Milbank JB, Pearson JP, McKnight S, Kende AS, Greenberg EP, Iglewski BH. (1999) Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci U S A. **96**(20):11229-34.

**Pitkänen E**, Jouhten P, Hou J, Syed MF, Blomberg P, Kludas J, Oja M, Holm L, Penttilä M, Rousu J, Arvas M. (2014) Comparative genome-scale reconstruction of gapless metabolic networks for present and ancestral species. PLoS Comput Biol. **10**(2): e1003465

**Pinto I**, Wu WH, Na JG, Hampsey M. (1994) Characterization of sua7 mutations defines a domain of TFIIB involved in transcription start site selection in yeast. J Biol Chem. **269**(48):30569-73.

**Pocsi I**, Prade RA & Penninckx MJ (2004) Glutathione, altruistic metabolite in fungi. Advances in Microbial Physiology **49**: 1-76.

**Podgornaia AI** & Laub MT (2013) Determinants of specificity in two-component signal transduction. Curr. Opin. Microbiol. **16**: 156–162 Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.01.004>.

**Pronk JT**, Yde Steensma H, Van Dijken JP. (1996) Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast. **12**(16):1607-33. Review.

**Ptashne M**. (1988) How eukaryotic transcriptional activators work. Nature. **335**(6192): 683-9. Review.

**Pugh BF**. (2000) Control of gene expression through regulation of the TATA-binding protein. Gene. **255**(1): 1-14. Review.

**Py B**, Higgins CF, Krisch HM, Carpousis AJ (1996). A DEAD-box RNA helicase in the *Escherichia coli* RNA degradosome. Nature **381**: 169–172.

## ***R***

**Ramassone A**, Pagotto S, Veronese A, Visone R. (2018) Epigenetics and MicroRNAs in Cancer. Int J Mol Sci. 2018. **19** (2): 459-587.

**Ray** E<sup>1</sup>, Yaneva J, Ivanchenko M, van Holde K, Zlatanova J. (1996) Linker histones inhibit T4 and *Escherichia coli* DNA ligases. *Biochem Biophys Res Commun.* **222**(2):512-8.

**Ritossa** F (1962) A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia.* **18**:571–573.

**Roeder** RG (1996) Nuclear RNA polymerases: role of general initiation factors and cofactors in eukaryotic transcription. *Methods Enzymol.* **273**: 165-71. Review.

**Rosano** GL, Ceccarelli EA. (2014) Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. *Front Microbiol.* **5**: 172.

**Russell** JB, Diez-Gonzalez F. (1998) The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Adv Microb Physiol.* **39**:205-34. Review.

**Rutherford** ST, Bassler BL. (2012) Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med.* **2**(11). Review.

## S

**Sadowski** M, Suryadinata R, Tan AR, Roesley SNA, and Sarcevi B. (2012). Protein monoubiquitination and polyubiquitination generate structural diversity to control distinct biological processes. *IUBMB Life* **64**: 136–142.

**Salmond** GP, Bycroft BW, Stewart GS, Williams P. (1995) The bacterial 'enigma': cracking the code of cell-cell communication. *Mol Microbiol.* **16**(4):615-24. Review

**Sansonetti** P. (2009) Vie bactérienne commune, on se compte et on s'adapte. Quorum Sensing. Laurence Caron. Foule Bleu. Collège de France. Paris. [https://www.college-de-france.fr/media/philippe-sansonetti/UPL3750847292590728858\\_20091210.pdf](https://www.college-de-france.fr/media/philippe-sansonetti/UPL3750847292590728858_20091210.pdf). Consulté le 01 janvier 2018.

**Scandalios** JG (2005) Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **38**: 995-1014.

**Schurter** BT<sup>1</sup>, Koh SS, Chen D, Bunick GJ, Harp JM, Hanson BL, Henschen-Edman A, Mackay DR, Stallcup MR, Aswad DW. (2001) Methylation of histone H3 by coactivator-associated arginine methyltransferase 1. *Biochemistry.* **40**(19):5747-56.

**Soutourina** J, Bordas-Le Floch V, Gendrel G, Flores A, Ducrot C, Dumay-Odelot H, Soularue P, Navarro F, Cairns BR, Lefebvre O, Werner M. (2006) Rsc4 connects the chromatin remodeler RSC to RNA polymerases. *Mol Cell Biol.* **26**(13):4920-33.

**Stackebrandt** E and Schumann P. (2006) Introduction to the Taxonomy of *Actinobacteria*, dans: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K., Stackebrandt E. Prokaryotes. Springer Science, Business Media, LLC edition New York, USA: 297-321.

**Stiles** ME, Holzapfel WH. (1997) Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol.* **36**(1):1-29. Review.

**Svejstrup** JQ. (2007). Contending with transcriptional arrest during RNAPII transcript elongation. *Trends Biochem. Sci.* **32** : 165–171.

## *T*

**Thammavongs** B, Corroler D, Panoff JM, Auffray Y, Boutibonnes P. (1996) Physiological response of *Enterococcus faecalis* JH2-2 to cold shock: growth at low temperatures and freezing/thawing challenge. *Lett Appl Microbiol.* **23**(6):398-402.

**Todorova** T (2007) Glutathione S-transferases and oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur, Strasbourg. France. 24-37.

**Travers** A. (1999) Chromatin modification by DNA tracking. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **96**(24):13634-7. Review.

## *V*

**Vandamme** P, Pot B, Gillis M, De Vos P, Kersters K, Swings J (1996) Polyphasic taxonomy, a consensus approach of bacterial systematic. *Microbiol Rev.* **60**: 407-438.

**Vettese-Dadey** M, Grant PA, Hebbes TR, Crane- Robinson C, Allis CD, Workman JL. (1996) Acetylation of histone H4 plays a primary role in enhancing transcription factor binding to nucleosomal DNA in vitro. *EMBO J.* **15**(10):2508-18.

**Vichnevetskaia** KD & Roy DN (1999) Oxidative stress and antioxidative defense with an emphasis on plants antioxidants. *Environment Reviews* **7**: 31–51.

**Vishnoi A**<sup>1</sup>, Rani S (2017) MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. *Methods Mol Biol.* **1509**:1-10.

**Visser W**, Scheffers WA, Batenburg-van der Vegte WH, van Dijken JP. (1990) Oxygen requirements of yeasts. *Appl Environ Microbiol.* **56**(12):3785-92.

## W

**Waksman SA.** (1963) *Ma vie avec les microbes.* Albin Michel Edition USA: 280.

**Walter PP**<sup>1</sup>, Owen-Hughes TA, Côté J, Workman JL. (1995) Stimulation of transcription factor binding and histone displacement by nucleosome assembly protein 1 and nucleoplasmin requires disruption of the histone octamer. *Mol Cell Biol.***15**(11):6178-87.

**Waters CM**, Bassler BL. (2005) Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol.* **21**:319-46.

**Weis L**, Reinberg D. (1992) Transcription by RNA polymerase II: initiator-directed formation of transcription-competent complexes. *FASEB J.***6**(14): 3300-9. Review.

**Wheeler GL & Grant CM** (2004) Regulation of redox homeostasis in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Physiologia Plantarum* **120**: 12-20.

**Wicks K**, Carter DR. (2011) RNAi2011: Gene Regulation by Small RNAs. *J RNAi Gene Silencing.* **7**:431-3.

**Williams ST**, Goodfellow M, Alderson G, Wellington EMH, Sneath PHA and Sackin MJ. (1983) Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *J Gen Microbiol.* **129**: 1743-1813.

**Wilson CJ**, Chao DM, Imbalzano AN, Schnitzler GR, Kingston RE, Young RA. (1996) RNA polymerase II holoenzyme contains SWI/SNF regulators involved in chromatin remodeling. *Cell.* **84**(2):235-44.

**Wilson MD**, Harreman M, Taschner M, Reid J, Walker J, Erdjument-Bromage H, Tempst P, and Svejstrup JQ (2013). Proteasome-Mediated Processing of Def1, a Critical Step in the Cellular Response to Transcription Stress. *Cell* **154**: 983– 995.

**Wirth D**, Christians E.S, Drion Pv, Dessy-Doize C, Gustin P. (2003) Les protéines de choc thermique (heat shock proteins-Hsps). II. Hsp70 : biomarqueur et acteur du stress cellulaire. *Ann. Méd. Vét.* **147** : 127-144.

**X**

**Xue Y** and Zhang Y. (2018) Emerging roles for microRNA in the regulation of Drosophila circadian cloc. *BMC Neurosci* . 19:1-9.

**Y**

**Yan P**, Coindre JM, Benhattar J, Bosman FT, Guillou L. (1999) Telomerase activity and human telomerase reverse transcriptase mRNA expression in soft tissue tumors: correlation with grade, histology, and proliferative activity. *Cancer Res.* **59**(13): 3166-70.

**Z**

**Zaitlin B**, Watson S, Dixon J and Steel D. (2003) Actinomyetes in Elbow River Basin Alberta Canada. *Water Qual Res J Canada.* **38**(1): 115-125.

**Zawel L**, Kumar KP, Reinberg D. (1995) Recycling of the general transcription factors during RNA polymerase II transcription. *Genes Dev.* **9**(12):1479-90.

**Zhang C**, Zobeck KL, and Burton ZF. (2005). Human RNA polymerase II elongation in slow motion: role of the TFIIF RAP74 alpha1 helix in nucleoside triphosphate-driven translocation. *Mol. Cell. Biol.* **25**: 3583–3595.

**Zuo Y**, Deutscher, MP(2001). Exoribonuclease superfamilies: structural analysis and phylogenetic distribution. *Nucleic Acids Res* **29**: 1017–1026.