

## Module Génétique des Procaryotes

### Chapitre III: Les transferts génétique

#### 1. La Conjugaison

##### 1- Propriétés des transferts horizontaux

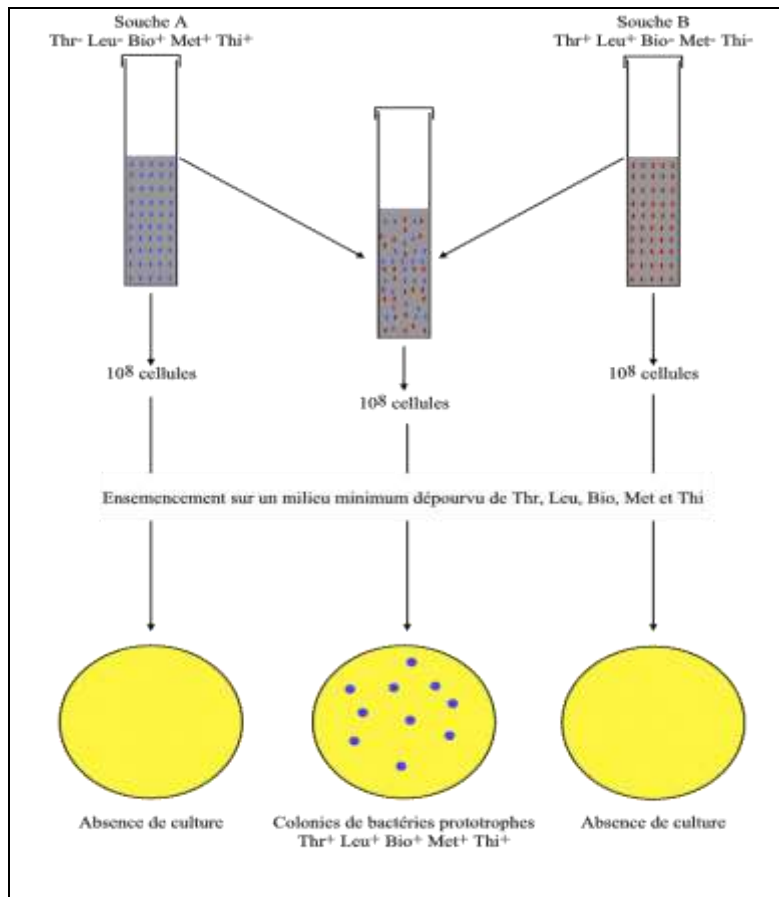
- Impliquent la mise en présence de deux ADN différents.
- Un minimum d'homologie pour permettre l'appariement
- Une recombinaison entre séquence homologue.
- Ensemble de processus qui permettent à une cellule procaryote (receveuse) d'intégrer dans son génome un fragment d'ADN étranger (donneur)
- Les gènes éventuellement présents dans ce fragment pourront être perpétués et exprimés comme l'ensemble du génome receveur.
- Toujours asymétrique: seule une fraction du génome donneur est mise en présence de la totalité du génome receveur.
- Processus occasionnels.

##### 2- La conjugaison bactérienne

###### 2-1 Découverte de la conjugaison

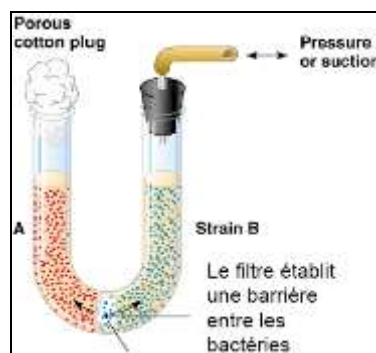
L'expérience de Joshua Ledebereg et Edward L. Tatum en 1946 apporta la preuve initiale de la conjugaison bactérienne, **le transfert de matériel génétique par contact direct entre les cellules**. Ils mélangèrent deux souches auxotrophes, incubèrent la culture pendant plusieurs heures dans milieu nutritif et les étalèrent sur une gélose de milieu minimum. L'expérience a fait appel à deux souches A et B de *Escherichia coli* K12 poly-auxotrophes. La souche A est auxotrophe pour la **thréonine** et la **leucine** et la souche B est auxotrophe pour **la biotine**, la **méthionine** et **la thiamine**. Des colonies recombinantes **prototrophes** apparurent sur le milieu minimum après incubation. Les chromosomes de ces deux souches étaient donc capables de s'associer et de se recombinaison.

L'utilisation de souches poly-auxotrophes présente en effet un avantage majeur car la réversion vers l'état prototrophe est très rare.



**Figure: Mise en évidence de la conjugaison bactérienne (Ledeberg et Tatum « 1946 »).**

Ledeberg et Tatum n'avaient pas directement prouvé que le contact physique des cellules est nécessaire au transfert de gènes. Ceci fut démontré par Bernard Davis (1950) qui construisit un tube en U consistant en deux branches reliées à leur base par un filtre de verre fritté. Le filtre permet le passage du milieu, mais pas des bactéries. Le tube en U fut rempli de milieux nutritifs et chaque branche fut inoculée par une souche auxotrophe différente de *E. coli*. Après 4 heures d'incubation, les bactéries furent étalées sur un milieu minimum. Davis découvrit que lorsque les deux souches auxotrophes étaient séparées l'une de l'autre par un filtre, le transfert de gènes n'avait pas lieu. **Un contact direct était donc requis pour la recombinaison que Ledebereg et Tatum avaient observée.**



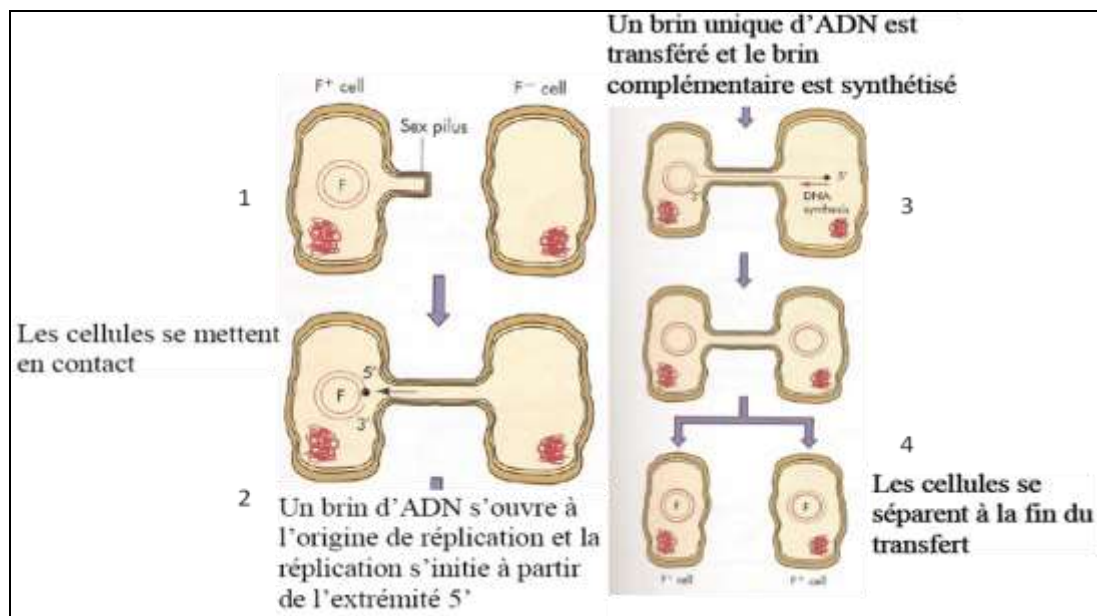
**Figure: l'expérience de B. Davis (1950)**

## 2-2 Le croisement $F^+ \times F^-$

En 1952, William Hayes démontra que le transfert de gènes observé par Ledeberg et Tatum s'effectuait **dans un sens déterminé**. En fait, il existe des souches définies comme donneuses ( $F^+$ ) et receveuse ( $F^-$ ), et le transfert de gènes n'est pas réciproque.

Les souches  $F^+$  contiennent un facteur F extrachromosomique qui porte les gènes pour la formation des pili et pour le transfert de plasmide. Chez les bactéries à Gram négatif, le plasmide porte des gènes qui dirigent la synthèse de pili sexuels, prolongements de la surface de la cellule donneuse qui établissent un pont avec la cellule receveuse et contribuent à mettre les deux bactéries en contact direct. Au cours de la conjugaison le plasmide se réplique en même temps qu'une copie monocaténaire de son ADN est transférée à la cellule receveuse où le brin complémentaire est synthétisé.

On constate donc que les bactéries donneuses ayant des facteurs F (cellule  $F^+$ ) transfèrent ce plasmide à des cellules receveuses (cellule  $F^-$ ) qui deviennent alors  $F^+$ .



**Figure** : Croisement  $F^+ \times F^-$

- **La conjugaison chez les Gram positives**

La conjugaison plasmidique a aussi lieu chez les Gram positifs, en particulier dans les genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces* et *Clostridium*. Dans certains cas (*Enterococcus*), il a été montré que le mécanisme est différent: le contact n'est pas réalisé par les pili comme chez les Gram négatifs. Les receveurs relâchent dans le milieu externe des peptides diffusibles, les phéromones, qui induisent chez les donneurs (porteurs de plasmides conjugatifs) la synthèse d'une protéine de surface. Cette protéine est une sorte d'adhésine: elle provoque la formation de grands agrégats entre donneurs et receveurs. Ces agrégats sont le site des transferts génétiques dont les mécanismes demeurent encore inconnus.

### 2-3 Les souches Hfr

Le facteur F est un épisode et peut s'intégrer dans le chromosome bactérien en de nombreux sites différents par recombinaison entre séquence d'insertion homologue, présentes dans le plasmide et le chromosome de l'hôte. Ce type de donneur est appelé **Hfr** (haute fréquence de recombinaison).

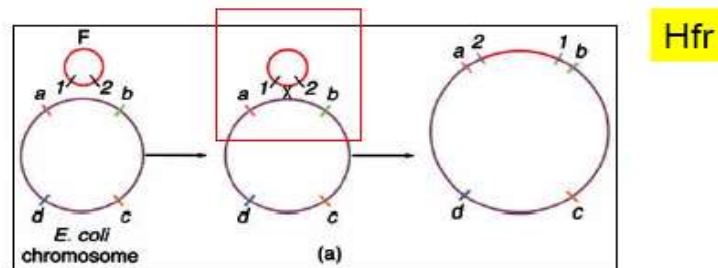


Figure : Origine des Hfr : intégration du facteur F dans le chromosome

Quand la conjugaison s'effectue entre une cellule Hfr et une cellule  $F^-$ , le chromosome de la première se réplique (ainsi que son facteur F intégré), et un brin parental du chromosome est transféré à la cellule receveuse. La réplication du chromosome Hfr commence au milieu du facteur intégré, si bien qu'une petite partie de ce dernier constitue le premier élément à pénétrer dans la cellule  $F^-$  avec les autres gènes chromosomiques à sa suite. Habituellement le chromosome se brise avant d'être entièrement transféré mais, une fois qu'il est à l'intérieur, l'ADN de la cellule donneuse peut se recombiner avec celui de la cellule receveuse (l'ADN de la cellule donneuse qui n'est pas intégré est dégradé). En conséquence, par suite de sa conjugaison avec cellule Hfr, **une cellule  $F^-$  peut acquérir de nouvelles versions des gènes chromosomiques. Par contre elle demeure une cellule  $F^-$  si elle n'a pas reçu un facteur F entier au cours de la conjugaison.**

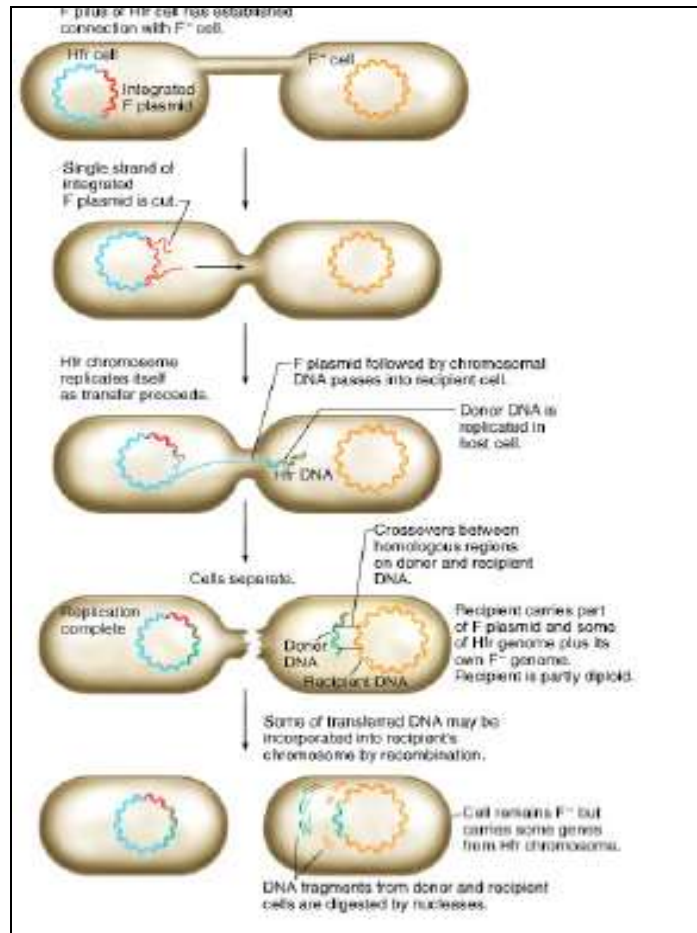


Figure : Croisement Hfr X F<sup>-</sup>

## 2-4 La Sexduction (Facteur F')

Le plasmide F étant un épisome, il peut quitter le chromosome bactérien. Durant ce processus le plasmide fait parfois des erreurs d'excision et emporte une portion du matériel chromosomique pour former **un plasmide F'**. La cellule F' conserve tous ses gènes, certains porté par le plasmide, et ne peut effectuer un croisement qu'a avec une receveuse F<sup>-</sup>. La **conjugaison F' x F<sup>-</sup> est essentiellement identique au croisement F<sup>+</sup> X F<sup>-</sup>**. Les gènes bactériens sur le plasmide F' sont transférés avec celui-ci et ne doivent pas être incorporés dans le chromosome de la cellule receveuse afin d'être exprimés, la receveuse devient F'. Un tel transfert est souvent appelé sexduction.

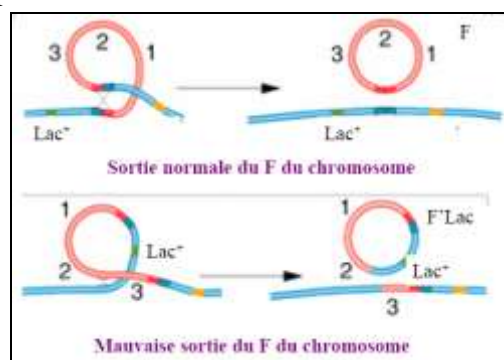
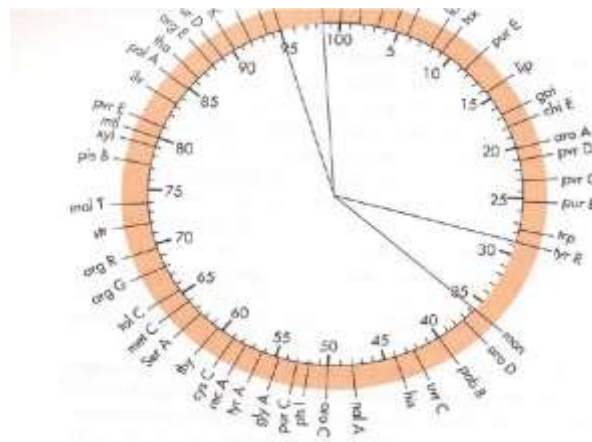


Figure : Phénomène de Sexduction

### 3. La cartographie du génome:

La localisation des gènes dans le génome de n'importe quel organisme est une tâche très complexe.

La conjugaison Hfr est très utilisée pour déterminer la localisation relative de gènes bactériens. Cette technique découle du fait que, durant la conjugaison, le chromosome linéaire passe d'un donneur à un receveur avec une vitesse constante. Dans une expérience de croisement interrompu, le canal de conjugaison est brisé et le croisement Hfr X F<sup>-</sup> est arrêté à des intervalles réguliers après le début de conjugaison, en soumettant la culture à une agitation vigoureuse dans un mixeur. L'ordre et la chronologie du transfert de gènes peuvent être déterminés parce qu'ils reflètent l'ordre des gènes dans le chromosome bactérien. Il en résulte une carte chromosomique circulaire avec des distances exprimées en minutes écoulées jusqu'au transfert d'un gène. Cette technique permet de localiser avec une précision raisonnable des gènes distants de 3 minutes ou davantage.



**Enseignante responsable Mm R. GHARZOULI FERTOUL**