

Agent Infectieux Cours n°10

Jeudi 31 Janvier

Pr Marie-Hélène NICOLAS-CHANOINE

Ronéotypeuse : Aude DE VALS

Ronéoelectrice : Amina DEBBAH

Cours n°10

Génétique Bactérienne : les échanges génétiques, évolution, plasticité des génomes bactériens

Désolé si les diapos ne sont pas très visibles. La prof a eu la bonne idée de mettre un fond bleu sur la plus part...

Sommaire

Introduction

I/ Evolution et Biodiversité

- 1- Caractéristiques des Mutations
- 2- Conséquences des Mutations

II/ Evolution via l'Acquisition Transversale d'Information Génétique

- 1- La Transformation
- 2- La Transduction
- 3- La Conjugaison

III/ Eléments Contribuant à la Plasticité Bactérienne

- 1- Les Séquences d'Insertion et Les Transposons
- 2- Les Intégrons

Conclusion

Introduction

Rappel : les bactéries sont des cellules procaryotes, ce qui veut dire qu'elles n'ont pas de noyau.

Par rapport aux cellules eucaryotes qui sont les cellules qui donnent les tissus, elles n'ont pas de membrane nucléaire, qu'un seul chromosome (certaines bactéries en possèdent 2 mais c'est extrêmement rare), et elles ne se divisent pas par mitose mais par scissiparité (expliqué plus tard). Elles n'ont pas de système respiratoire telles que les mitochondries car la respiration se fait via les membranes cytoplasmiques et la synthèse des protéines se fait uniquement grâce aux ribosomes.

Bactérie = cellule procaryote		
Paramètre	Protiste supérieurs	Protistes inférieurs
Membrane nucléaire	présence	absence
Chromosome	plusieurs (2n)	un en général
Mitose	présence	absence
Centre respiratoire	mitochondries	Membrane cytoplasmique
Centre synthèse	réticulum endoplasmique avec ribosomes	ribosomes
	Eucaryotes	Procaryotes

Ces caractéristiques de la cellule procaryote va avoir une influence sur la plasticité des bactéries.

Les bactéries existent depuis des milliards d'années et ont un ancêtre commun avec l'homme car quand on compare leurs génomes on observe qu'il y a des gènes conservés. Les bactéries ont une capacité d'adaptation à l'environnement puisqu'il existe des bactéries vivant dans des milieux froids comme les eaux des glaciers ou au contraire dans les eaux chaudes. Elles ont en particulier une capacité d'adaptation au monde animal, qui inclue l'homme.

Chez l'homme il y a 10^{14} bactéries ce qui représente 10 fois plus que les cellules composant nos tissus ! Il y a donc plus de bactéries dans notre organisme que de cellules qui nous constituent.

La division des bactéries se fait par scissiparité (différent d'une reproduction sexuelle) : une bactérie va donner en 2 autres, qui vont elles mêmes en donner 2 autres etc. Il s'agit d'une division exponentielle. Les bactéries qui nous intéressent dans le monde médical se divisent toutes les 20 minutes en moyenne (entre 17min jusqu'à 33heures, 22h par exemple pour les mycobactéries). La réplication qui a alors lieu quand la bactérie « se copie » peut être source d'erreurs et donc des mutations qui sont à la base de l'évolution et de la biodiversité chez les bactéries.

I/ Evolution et Biodiversité

Quand l'ADN bactérien se réplique, il est transcrit en ARN messager qui est lui même traduit en protéine.

Il y a dans ces protéines formées, 1 acide aminé erroné pour 10 000 acides aminés corrects, donc un taux d'erreurs de l'ordre de 10^{-5} .

La bactérie est pourvue d'enzymes qui vont dégrader les protéines inintéressantes mais c'est sur cette base là qu'il va y avoir ensuite possibilité d'évolution chez les bactéries. En effet, dans les protéines erronées au départ, il y en a qui vont servir à faire des mutants qui vont pouvoir s'adapter à l'environnement.

Les erreurs peuvent également se faire au moment de la réplication de l'ADN, mais en moins grand nombre avec un taux d'erreurs de 10^{-10} .

1- Caractéristiques des Mutations

- **Rares** pour maintenir la conservation de l'espèce, mais **quantifiables** : le taux de mutation se définit comme la probabilité pour une bactérie de muter (pour un caractère défini) pendant l'unité de temps de génération c'est à dire pendant la réplication. Elles se produisent à des taux variables : des **souches hypermutatrices** ont été récemment mises en évidence (l'erreur de l'ADN ne se fera pas à 10^{-10} mais à 10^{-7} et il y aura donc 1000 fois plus d'erreurs. Ces erreurs pourront être considérées comme favorables aux bactéries parce qu'à partir de là il va pouvoir y avoir dans l'environnement une sélection de mutants). La dégénérescence du code génétique est donc la base fondamentale de l'adaptabilité et de la biodiversité des bactéries.
- **Spontanées** puisque liées à une mauvaise réplique de l'ADN. Ainsi, les bactéries mutantes **préexistent** dans la population bactérienne à l'agent sélecteur.

Exemple des antibiotiques : de la même façon qu'un choc thermique va provoquer un stress chez la bactérie, les antibiotiques créent des stress. Cela va entraîner l'activation de gènes normalement silencieux qui va aboutir à la synthèse de protéines qui vont détruire et modifier l'ADN pour essayer de le réparer. Il va donc y avoir une activation de la réplication chez les bactéries en situation de stress, ce qui va favoriser la survenue d'erreurs et donc de mutations .

L'antibiotique crée donc un stress, qui va agir sur la modification de l'ADN et donc favoriser l'apparition de mutants.

- **Discontinues** dans le sens où la mutation survient ou ne survient pas, en suivant la loi du tout ou rien. On peut cependant observer des mutations successives, notamment chez les souches hypermutatrices.

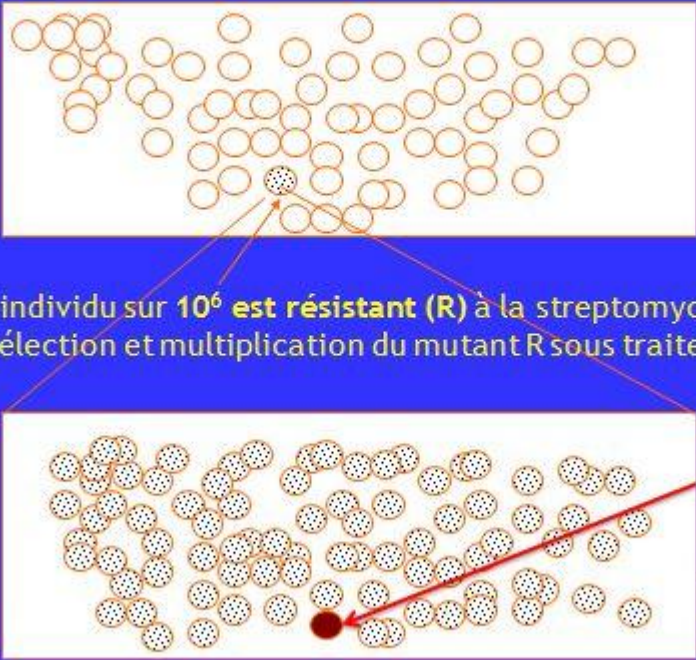
Exemple de Mycobacterium Tuberculosis : pathogène strict, très difficile à traiter car il s'agit de bactéries très imperméables. Le premier antibiotique qui a été utilisé dans l'histoire du traitement de la tuberculose a été la streptomycine.

On a détecté chez des gens en cours de traitement des sélections de souches devenues résistantes à la streptomycine. En regardant le taux de mutations, on a vu qu'il était de 10^{-6} (donc beaucoup plus élevé qu'en temps normal où il est de 10^{-10}). Ceci était lié à la présence de souches hypermutatrices.

Ainsi, quand on va mettre en contact la population bactérienne où préexiste un mutant résistant à la streptomycine avec la streptomycine, cela va tuer toutes les bactéries sensibles tandis que le mutant résistant va lui pouvoir se multiplier (réplication et donc mutations ++). Au sein de cette population résistante à la streptomycine, il va de la même façon se développer d'autres mutants résistants à la rifampicine (puisque'il y a de la réplication provoquée par le stress antibiotique), et dont le taux de mutations est de 10^{-8} . Mais **la probabilité qu'il y ait dans une population bactérienne une souche résistante aux 2 antibiotiques est de $10^{-6} \times 10^{-8} = 10^{-14}$** , c'est à dire qu'il faudrait 10^{14} bactéries/mL dans le foyer infecté pour qu'il y ait un mutant, ce qui n'est pas possible (maximum $10^8/10^{10}$ bactéries par mL). Ainsi a été proposé pour la tuberculose, au regard de la présence d'hypermutateurs à la streptomycine et à la rifampicine, des **bithérapies**. Cela évite de sélectionner des mutants.

Cependant on a aujourd'hui des souches de M. Tuberculosis résistantes aux 4 majeurs antibiotiques utilisées pour cette maladie. Ceci est du au fait que les gens n'ont pas pris correctement leur traitement et c'est pourquoi on peut avoir des personnes qui vont développer une primo-infection avec une souche multi-résistante.

Sélection de double mutant chez *Mycobacterium tuberculosis*



1 individu sur 10^6 est résistant (R) à la streptomycine: sélection et multiplication du mutant R sous traitement

Parmi les souches R à la streptomycine, 1 cellule sur 10^8 est R à la rifampicine
Taux de mutation = 10^{-8}

Nécessité d'une population 10^{14} cellules dans un foyer pour sélection d'un double mutant

- **Stables** : le caractère acquis par mutation est transmissible à la descendance. Il peut se maintenir même en l'absence de l'agent sélecteur pendant un certain temps, si la

mutation confère un avantage à la bactérie. Il existe cependant des **mutations reverse** qui disparaissent au cours du temps si elles ne sont pas utiles à la survie de la bactérie. Les souches sauvages reprennent le dessus (au bout d'un certain temps) en l'absence de l'agent sélecteur (contradictoire mais cela coûte de l'énergie à la cellule de fabriquer des protéines mutantes).

2- Conséquences des Mutations

Il peut y avoir des mutations dans des gènes codant qui ne vont rien entraîner, c'est ce qu'on appelle **les mutations silencieuses**. Un nucléotide est remplacé par un autre mais cela ne va pas changer la séquence d'acides aminés (rappel : plusieurs codons codent pour un même aa). Cela va donner de la variabilité génétique mais pas phénotypique.

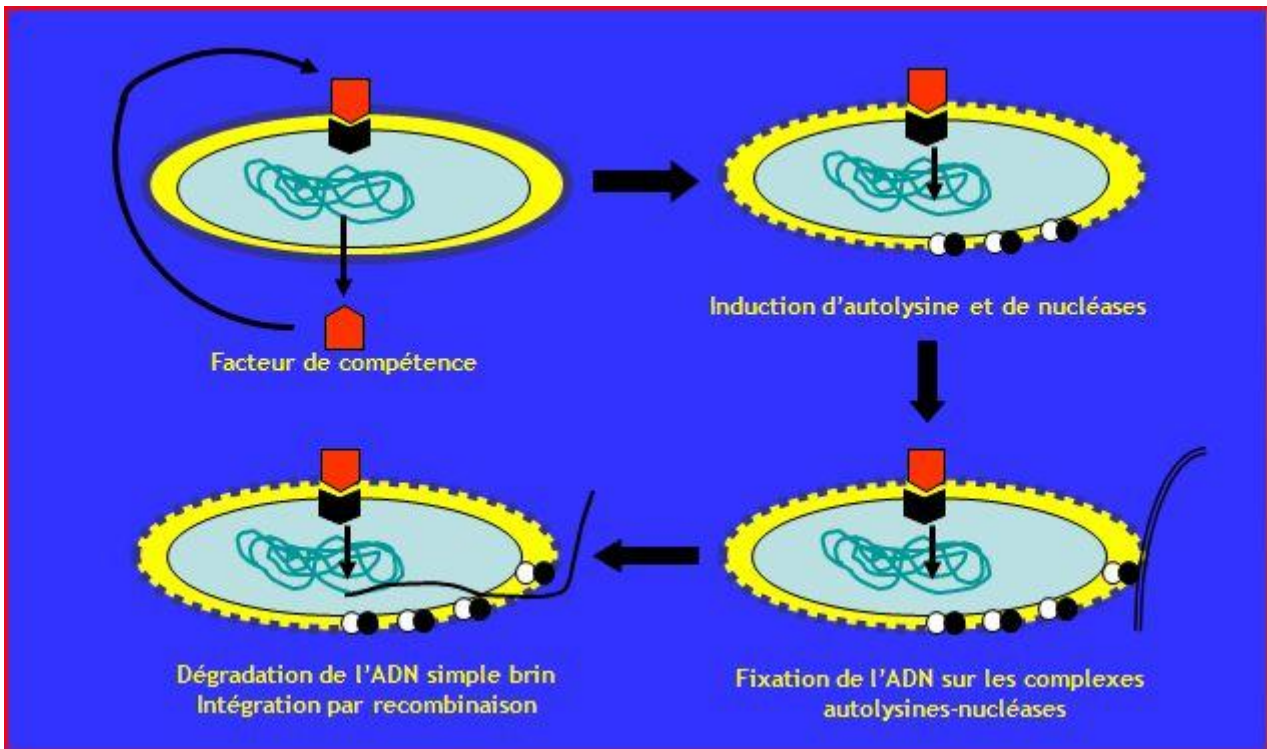
Une mutation peut entraîner un **décalage dans le cadre de lecture** avec apparition d'un codon stop par exemple, ou à cause d'une délétion (disparition d'un bout de gène) : le produit formé est non fonctionnel et donc détruit.

Enfin, il y a des mutations qui conservent le cadre lecture mais qui fabriquent des aa nouveaux, ce qui donne lieu à une nouvelle protéine pouvant favoriser ou non la survie de la bactérie. C'est ce qui permet la biodiversité.

II/ Evolution via l'Acquisition Transversale d'Information Génétique

Il existe d'autres moyens pour la bactérie d'acquérir de l'information génétique.

1- La Transformation



C'est le transfert d'un fragment d'ADN nu d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice. Pour que cela soit possible, un caractère de **compétence** est nécessaire. Des facteurs de compétence présents dans l'environnement vont se fixer sur des récepteurs de la membrane de la bactérie compétente. Ceci va induire la production d'**autolysines** (modifient la membrane et la rendent perméable) et de **nucléases** (permettent de couper le génome pour l'intégration de l'ADN extérieur). Le fragment d'ADN extérieur va ainsi se fixer sur les complexes autolysine-nucléase, rentrer dans la bactérie où il va être dégradé en ADN simple brin pour être finalement intégré à son génome.

C'est un phénomène qui a été décrit chez le Pneumocoque. En effet on a vu apparaître autour des années 85 des pneumocoques dits de sensibilité réduite à la pénicilline. Chaque antibiotique vise un élément biologique indispensable à la vie bactérienne et pour la pénicilline il s'agit de Protéines dites « Liants la Pénicilline » ou PLP, qui sont accrochées dans la membrane cytoplasmique et vont permettre la synthèse du peptide 2 glycane.

C'est dans la gorge que l'on va retrouver le pneumocoque, et c'est également le siège de nombreux streptocoques comme par exemple streptococcus mitis.

Chez les souches de sensibilité réduite à la pénicilline, on a ce qu'on appelle une structure ou un **gène mosaïque**. Quand on a fait la séquence du gène codant pour la PLP chez les pneumocoques résistants, on a découvert qu'il y avait des fragments de séquence provenant de streptocoques. Le pneumocoque est en effet une bactérie compétente qui a laissé rentrer de l'ADN provenant de streptocoque, ce qui a entraîné des recombinaisons entre les gènes codant pour les PLP des pneumocoques et ceux des streptocoques. Cette protéine recombinée reste fonctionnelle pour le pneumocoque mais n'est pas reconnue par la pénicilline, d'où l'apparition de pneumocoques résistants.

Anecdote : on sait fabriquer au laboratoire des cellules dites compétentes pour leur intégrer de l'ADN : soit par traitement chimique au chlorure de calcium (on casse la membrane pour la rendre perméable) soit par des chocs électriques (électroporation).

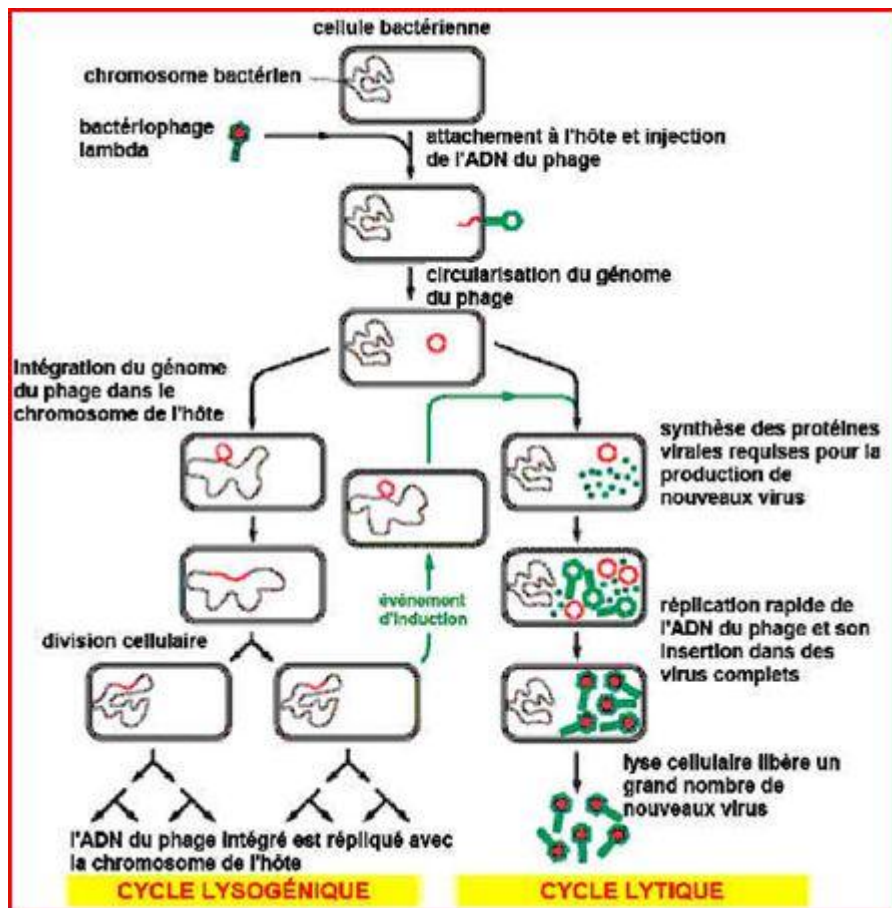
2- La Transduction

C'est un transfert d'information génétique qui est apporté par un **phage** (=virus des bactéries). Ce virus a 2 possibilités : soit il fait un **cycle lytique** soit un **cycle lysogénique**.

On a un attachement du phage à la bactérie dans laquelle il va faire rentrer son génome (qui peut être de l'ARN ou de l'ADN) qui va circuler dans la bactérie.

2 choses sont alors possibles :

- soit ce génome va s'intégrer dans le chromosome de la bactérie et il sera répliqué avec l'ADN de la bactérie au moment de la réplication. C'est le cycle lysogénique. Il peut cependant se produire un événement x qui va induire une excision de l'ADN phagique qui s'était recombinaisonné avec le chromosome de la bactérie ce qui conduit à un cycle lytique qui peut se faire d'emblée.
- l'ADN du phage va être transcrit et permettre la synthèse de protéines pour la production de nouveaux virus. Lorsque cet ADN est excisé il peut emmener avec lui un bout de génome bactérien et donc, en réinfectant une autre bactérie, lui conférer des propriétés nouvelles.



Les phages virulents ont un cycle lytique car ils détruisent les bactéries, tandis que les phages dits tempérés ont un cycle qui comporte une phase lysogène puis une phase lytique.

La phase lysogène entraîne des modifications importantes :

- elle induit un état d'immunité : le fait que l'ADN phagique soit intégré dans le génome empêche que d'autres phages viennent infecter la bactérie.
- cela peut permettre l'expression de gènes si le virus a apporté des éléments d'une autre bactérie donnant des nouveautés phénotypiques.

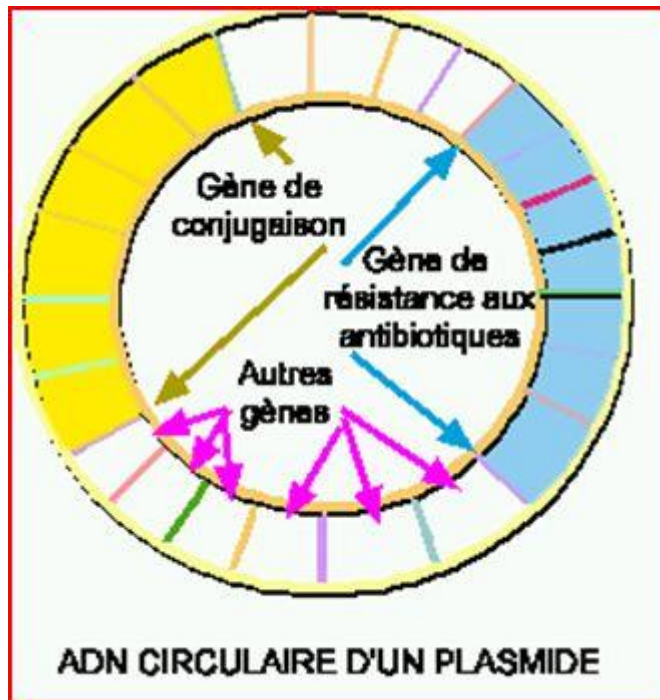
Par exemple les salmonelles possèdent des antigènes bactériens apportés par des phages. Il peut aussi y avoir libération de toxines comme la toxine diphtérique, le botulisme, l'erythrogène streptococcique, les entérotoxines des staphylocoques...

(La scarlatine est une angine provoquée par un streptocoque où une toxine est produite due à une infection par un phage. Ainsi tous les streptocoques peuvent donner une angine, mais seuls ceux qui auront intégré dans leur génome le gène de cette toxine erythrogène apportée par un phage pourront donner la scarlatine).

3- Conjugaison

C'est le transfert d'information génétique via les **plasmides**.

Les plasmides sont des éléments extra-chromosomiques qui sont capables de se répliquer. Ce sont des morceaux d'ADN bicaténaire, circulaire, présents dans l'environnement.



En 1959 lors d'une épidémie au Japon, on a découvert que le caractère multi-résistant de *Shigella Dysenteriae* était dû aux plasmides. En effet si on retirait le plasmide, la bactérie perdait cette résistance.

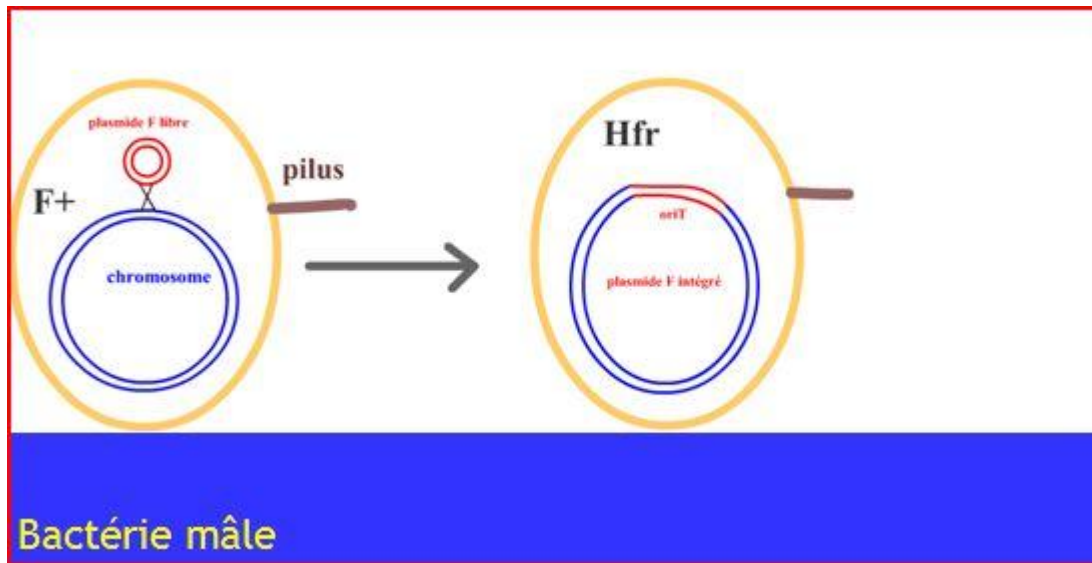
La présence de plasmides (en extra-chromosomique donc) confère à la bactérie des caractères phénotypiques majeurs :

- une résistance aux antibiotiques (plus de 90% des résistances aux antibiotiques sont portées par des plasmides !)
- une résistance aux métaux lourds (composés mercuriels, sels de plombs...)
- une production de toxines comme pour *E. Coli* entéropathogènes, entérotoxiques, entéroinvasifs ou encore *Vibrio Cholerae* (bactérie du choléra) dont les souches pathogènes sont celles qui portent un plasmide codant pour une entérotoxine.
- Une acquisition de caractères métaboliques comme l'hémolysine, la fibrinolysine des staphylocoques.

Certains plasmides sont dits **conjugatifs**, c'est à dire qu'ils vont pouvoir passer d'une bactérie à une autre par un système de conjugaison. On va prendre l'exemple du **facteur F** (pour Fertilité) mais ils y a pleins d'autres plasmides qui le font.

Le plasmide F est un plasmide un peu particulier car il est capable de s'intégrer au chromosome bactérien.

Lorsque le facteur F est intégré au chromosome bactérien, la bactérie devient **Hfr** (Haute Fréquence de Recombinaison). Chez Escherichia Coli par exemple, l'intégration du facteur F peut se faire à différents endroits du chromosome.

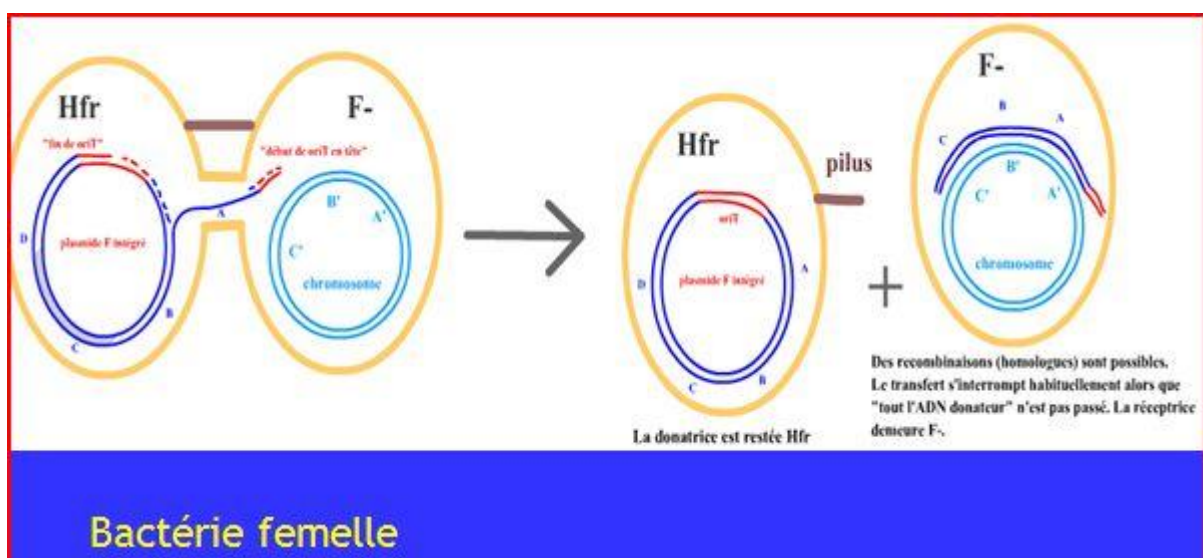


Pour pouvoir être conjugatif, ce plasmide doit :

- avoir des **gènes pour s'intégrer dans le chromosome**,
- fabriquer des « **pili** » (pluriel de pilus : *ce sont des appendices se situant à la surface de la paroi de nombreuses bactéries (wikipédia)*) qui sont indispensables à la conjugaison pour amarrer les cellules,

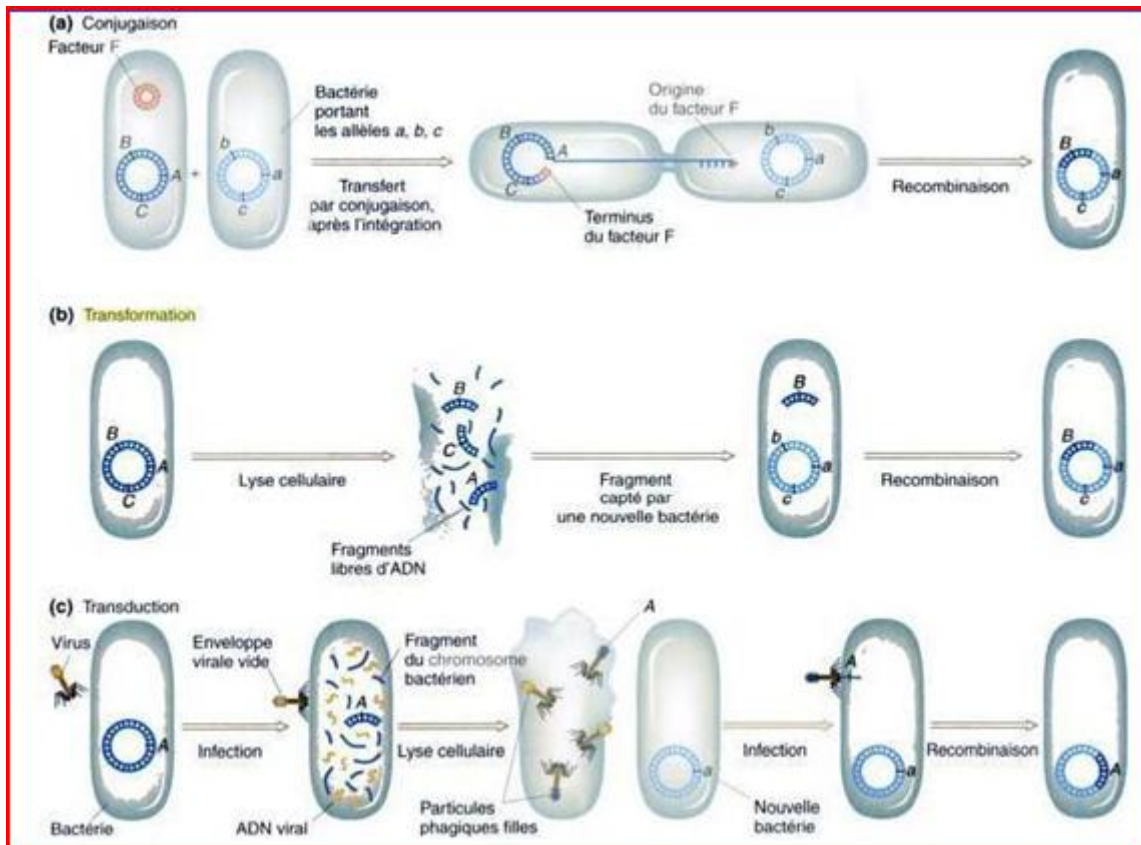
La bactérie qui a intégré le plasmide à son chromosome (bactérie Hfr) va amarrer des cellules bactériennes qui n'ont pas de plasmide et leur **transférer** (grâce au plasmide intégré donc) **un bout de chromosome de la bactérie initiale**.

Note : la bactérie mâle devient femelle quand elle intègre le plasmide à son chromosome.



Un brin d'ADN est donc transféré tandis que l'autre va se répliquer et on va retrouver une bactérie Hfr qui aura reconstitué ses 2 brins.
 Le brin qui est passé dans l'autre bactérie va lui aussi se dupliquer et il y aura à un moment donné des recombinaisons homologues avec le chromosome de la bactérie réceptrice.
 C'est donc un moyen pour la bactérie d'acquérir dans son chromosome des fragments de chromosome venant d'une autre bactérie.

Tableau Récapitulatif des 3 mécanismes que les bactéries ont acquis de façon Transversale de l'information génétique (diapo 27)



III/ Eléments contribuant à la plasticité bactérienne

Note : la prof a vraiment speedé sur cette partie, surtout pour les intégrons, car elle était en retard du coup j'ai fait ce que j'ai pu mais désolé si ce n'est pas très clair :s

Ce sont les Séquences d'Insertion, les Transposons et les Intégrons.

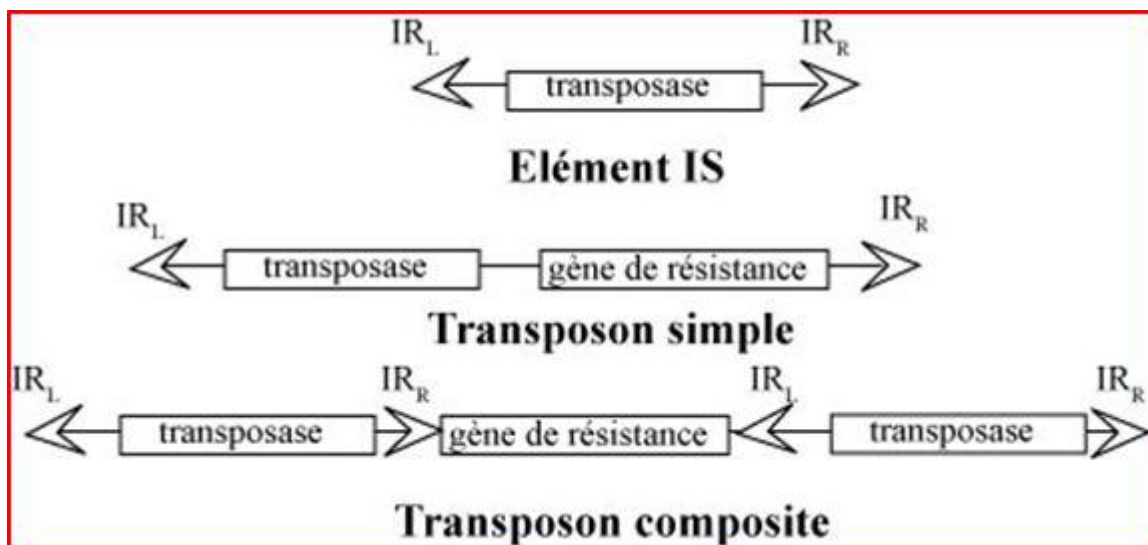
1- Les Séquences d'Insertion et les Transposons

Une **séquence d'insertion** est un gène qui s'appelle **transposase** avec aux extrémités, des séquences répétées inversées de 12 à 14 paires de bases. Ces séquences d'insertion vont pouvoir sauter dans le génome d'un endroit à un autre.

Il peut y avoir des gènes de résistance aux antibiotiques qui se sont mis dans ces éléments d'insertion. C'est ce qu'on appelle les Transposons comme les **Transposons Composites** (2 séquences d'insertion qui entourent un gène de résistance).

Une séquence d'insertion ou un transposon s'insère n'importe où dans le génome par **recombinaison homologue** et peut donc s'insérer dans un gène. Cela peut entraîner :

- un arrêt de la transcription d'un gène (comme une mutation) ou alors
- favoriser l'expression de certains gènes en se mettant en amont de ceux-ci (par l'apport d'un promoteur)



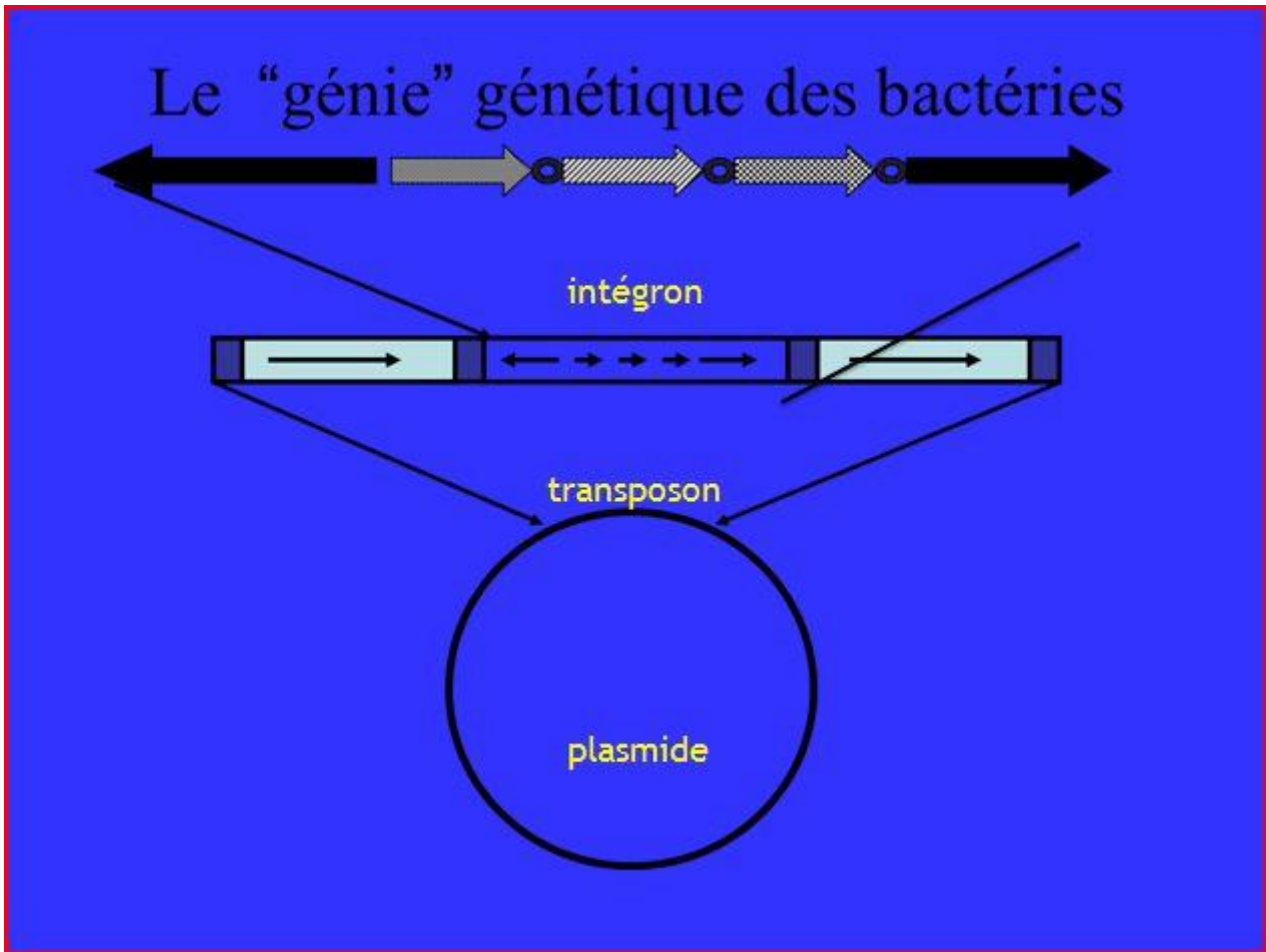
2- Les intégrons

Ce sont des structures génétiques spécialisées dans l'acquisition de gènes de résistance.

Le génie génétique des bactéries c'est la capacité des bactéries à mettre des cassettes avec des intégrases dans des intégrons qui vont eux même se mettre dans les transposons lesquels vont se mettre dans les plasmides.

Quand on fait des séquences de plasmides on est capable de voir l'insertion par différents mécanismes (les séquences d'insertions, les transposons, les cassettes) d'information génétique dans le plasmide.

Ces informations génétiques qui sont dans le plasmide vont pouvoir à un moment donné passer sur le chromosome, comme vu précédemment.



Conclusion

Il y a un arsenal d'outils génétiques chez les bactéries pour assurer leur biodiversité qui est le garant de leur survie.

La dégénérescence du code génétique est quelque chose de favorable aux bactéries et les outils sont efficaces puisque cela fait des milliards d'années que les bactéries ont réussi à se diversifier et à persister, grâce à ces éléments de plasticité génétique.