

**Université Mohamed Kheider –Biskra-**  
**Faculté de sciences exactes et de sciences de la**  
**nature et de la vie**  
**Département de sciences de la nature et de la vie**



# **Cours de Génétique Microbienne**

**3 ème année Microbiologie**

**Réalisé par: Dr. Benabdallah F.**

# Contenu de module

**I – Structure et organisation du matériel génétique :**  
Chromosome, plasmides, matériel génétique viral.

**II – mutation et mécanismes de réparation de l'ADN :** Taille de mutation, effet mutagène, agents mutagènes, mécanismes de réparation de l'ADN.

**III- Recombinaison génétique et éléments génétiques transposables:** recombinaison homologue, recombinaison site spécifique, éléments génétiques transposables et applications

**IV –Transferts génétiques chez les bactéries:** analyse et construction génétiques : conjugaison, transformation, transduction et phages transducteurs, applications, cartographie génétique.

**V – Phénomène de restriction modification :** système de restriction modification, enzymes de restriction, cartographie de restriction et applications.

**VI – Régulation de l'expression des gènes :** régulation transcriptionnelle(exemples : *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae*), régulation traductionnelle.

**VII – Génétique des bactériophages :** réplication du génome viral, recombinaison génétique chez les virus, mécanismes de l'expression génétique en cascade chez les virus et maintien à l'état prophage.

# **Chapitre 01:**

## **Structure et organisation du matériel génétique**

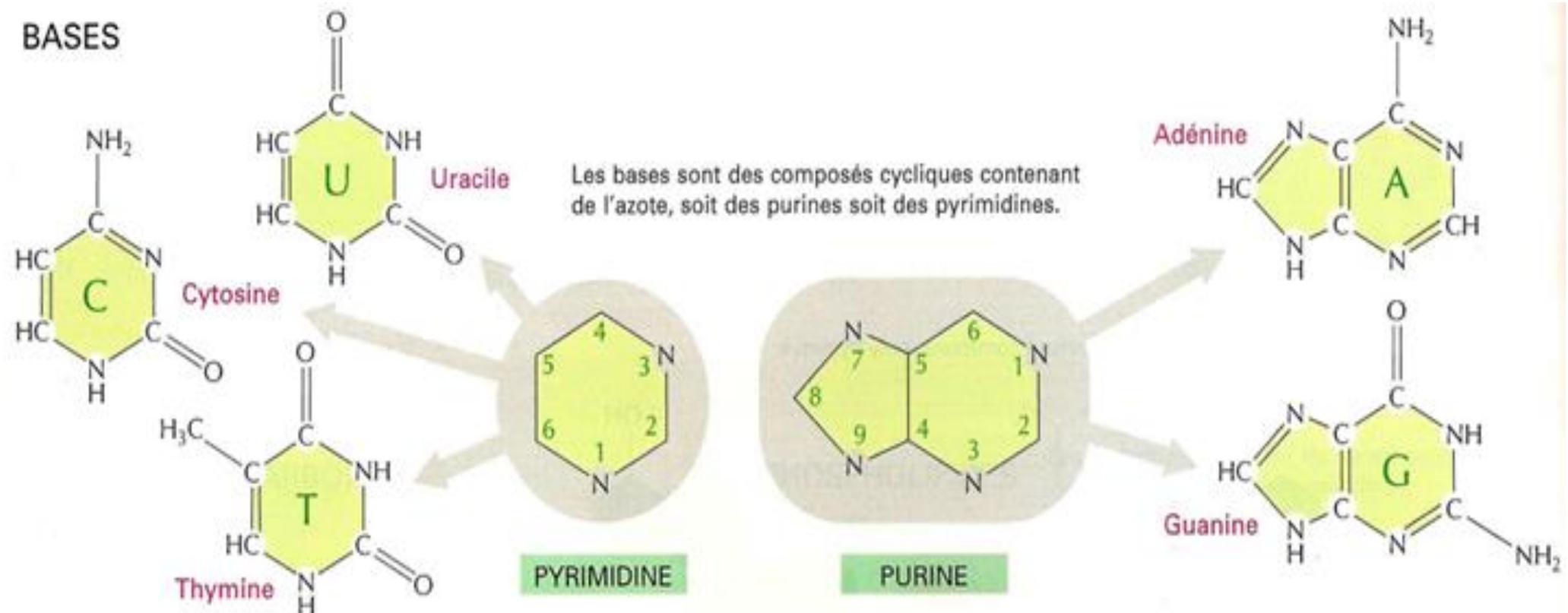
# 1-1 Acides nucléiques

Les acides nucléiques sont des polymères de nucléotides. Ils en existent deux types :

- **L'ADN** (acide désoxyribonucléique) qui code l'information génétique et se transmet au fil des générations de cellules.
- **Les ARN** (acides ribonucléiques) qui permettent l'expression de l'information génétique et participent à la régulation de cette expression.

# Nucléosides, Nucléotides (monomères de l'ADN et des ARN)

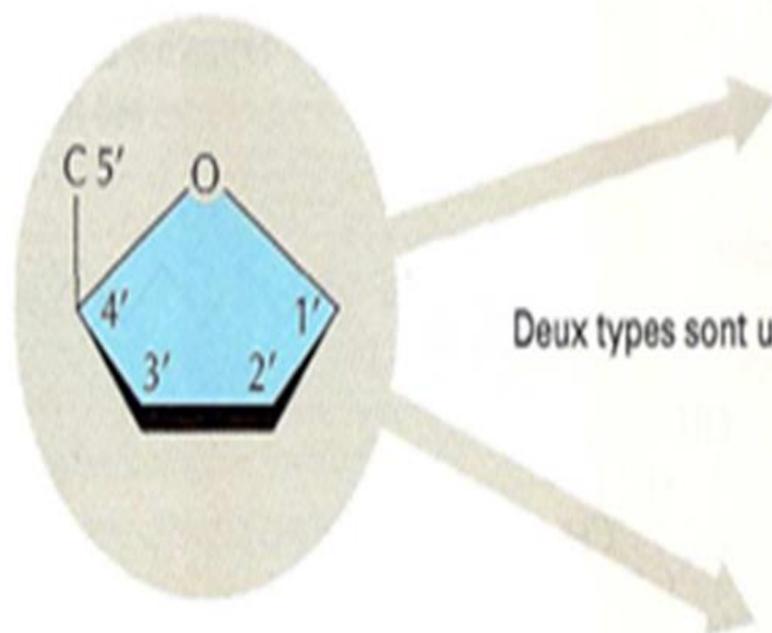
Les acides nucléiques. Sont des polymères constitué d'unités appelées **nucléotides**, d'où le nom de **Polynucléotides**. Les nucléotides, monomères de macromolécules ADN et ARN, peuvent eux-mêmes être hydrolysés en leur 3 constituants principaux. : **une base azotée hétérocyclique**, un **Pentose**. et **l'acide phosphorique**.



# SUCRES

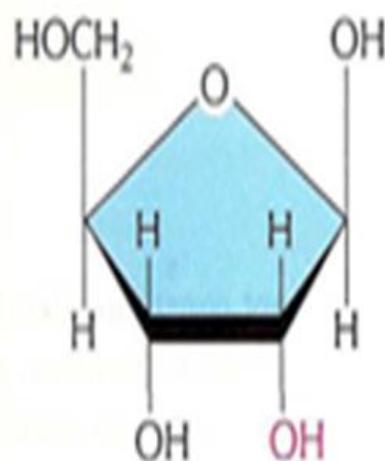
## PENTOSE

Un sucre à  
5 carbones

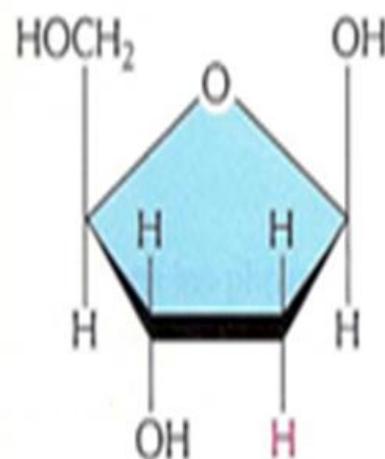


Deux types sont utilisés

Chaque carbone numéroté sur le sucre d'un nucléotide est suivi d'un « prime » ; on parle donc de « carbone 5-*prime* », etc.



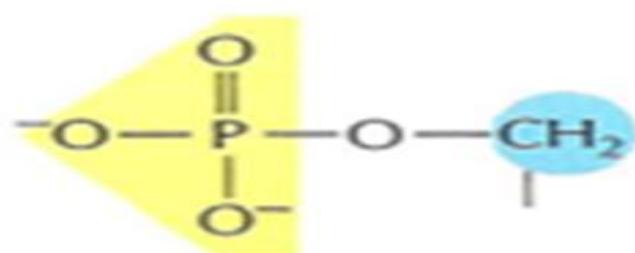
$\beta$ -D-ribose  
utilisé dans les acides  
ribonucléiques



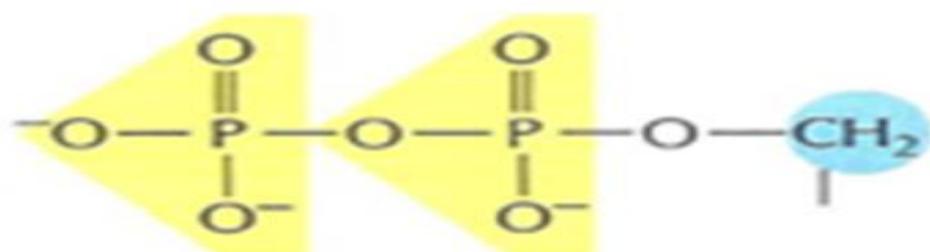
$\beta$ -D-2-désoxyribose  
utilisé dans les acides  
désoxyribonucléiques

## PHOSPHATES

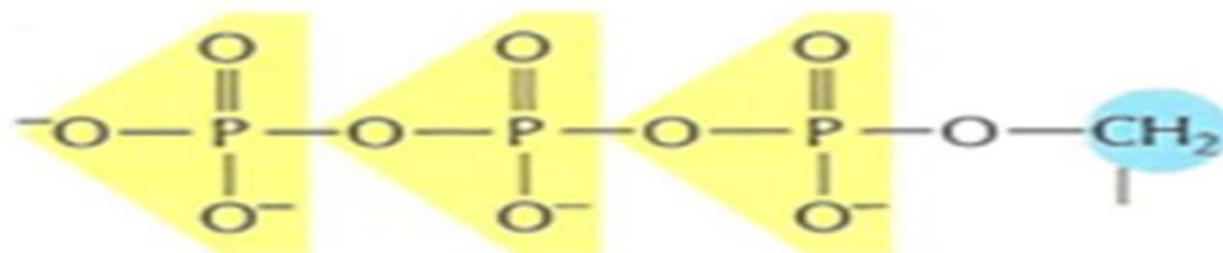
Les phosphates sont normalement reliés au C5 hydroxyle d'un sucre, le ribose ou le désoxyribose (designé par 5'). Les mono-, les di- et les triphosphates sont fréquents.



Comme  
dans l'AMP



Comme  
dans l'ADP



Comme  
dans  
l'ATP

C'est le phosphate qui rend le nucléotide négativement chargé.

# Nucléosides

✓ **Un nucléoside** se compose de :

- **Une base azotée** (= nucléobase) qui peut être
  - Une purine : adénine A ou guanine G
  - Une pyrimidine : cytosine C, thymine T ou uracile U

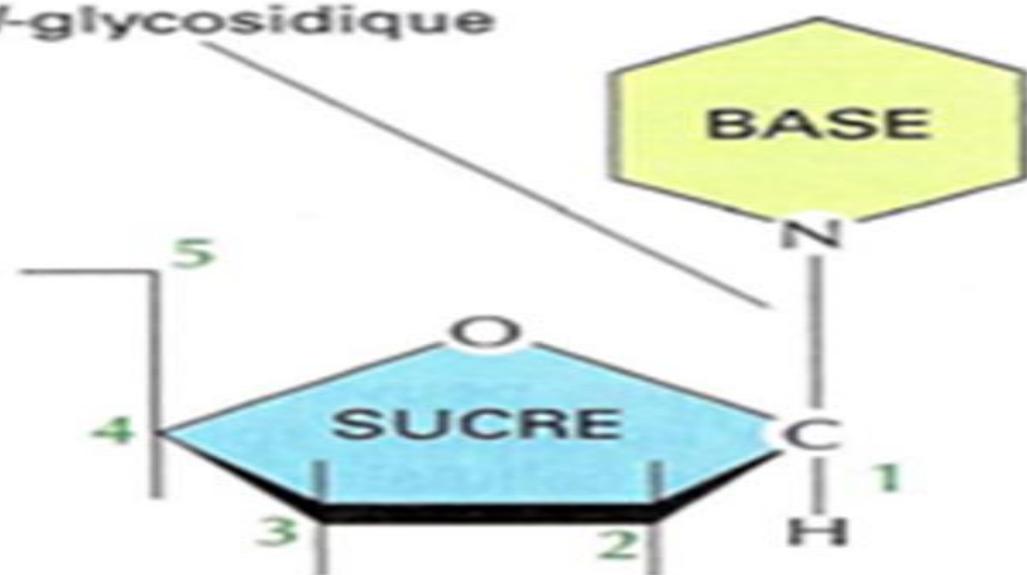
La thymine est propre à l'ADN et l'uracile est propre à l'ARN.

Il existe aussi, en particulier dans l'ADN de certains bactériophages, des bases anormales: 5 Hydroxyméthylcytosine au lieu de La Cytosine.. Ou de l'hydroxyméthyluracile.

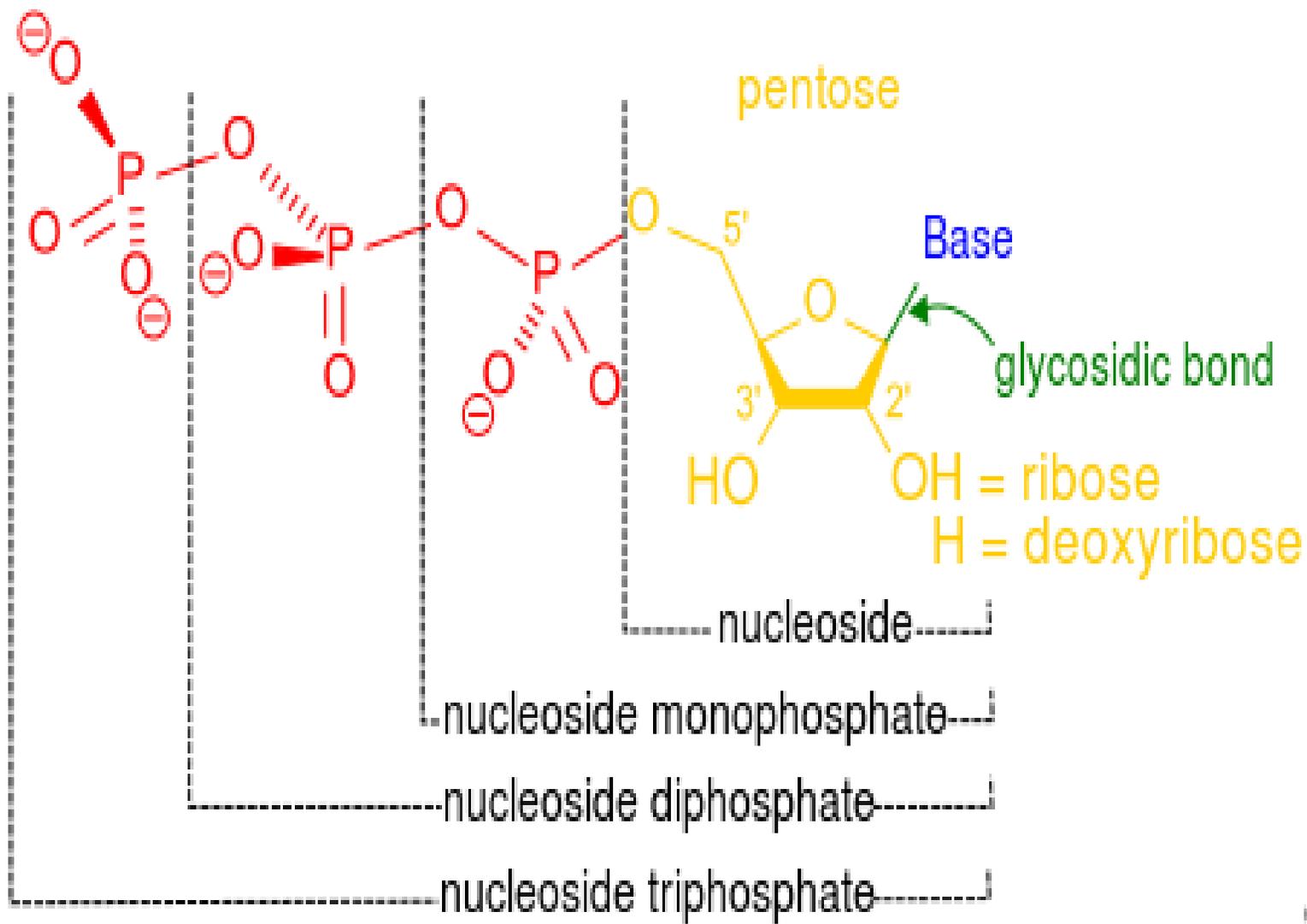
- **Un pentose** (sucre à 5 carbones) nommé ribose dans l'ARN et désoxyribose dans l'ADN.
- ✓ Un nucléoside se forme par établissement d'une **liaison N-glycosidique** entre le **pentose** et **la base**. Cette liaison unit l'azote 9 de la base purique ou l'azote un de la base pyrimidiques et le carbone 1' du Pentose.

# LIAISON SUCRE-BASE

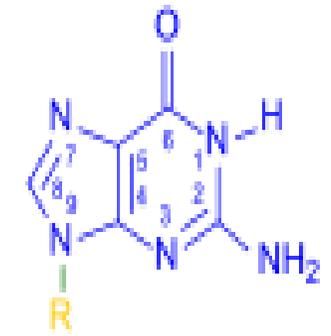
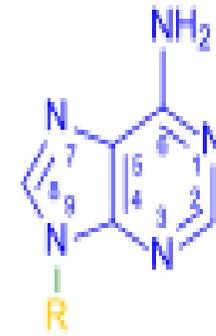
Liaison  
*N*-glycosidique



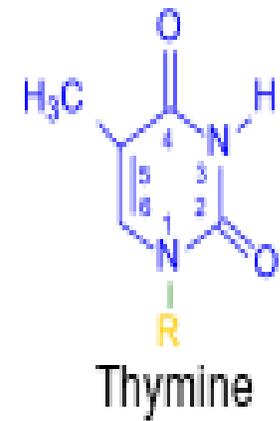
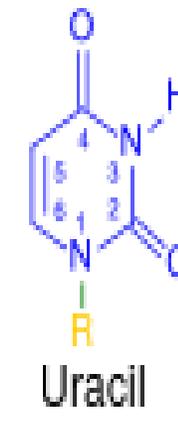
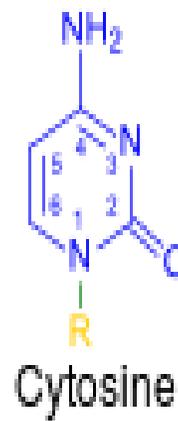
La base est liée au même  
carbone (C1) que celui  
utilisé dans les liaisons  
sucre-sucre.



## Purines



## Pyrimidines



- ✓ Les noms des nucléosides sont formés à partir du nom des bases qui les définissent :
- Dans l'ARN (ribonucléosides) : adénosine, guanosine, cytosine, uridine
  - Dans l'ADN (désoxyribonucléosides) (+ « désoxy » sauf thymidine) :désoxyadénosine, désoxyguanosine, désoxycytosine, thymidine.

NUCLÉOSIDES DE L'ARN ET DE L'ADN.

Bases azotées		Nucléosides de l'ARN	Désoxynucléosides de l'ADN (d- pour désoxy-)
Bases puriques	Adénine	Adénosine	d-Adénosine
	Guanine	Guanosine	d-Guanosine
Bases pyrimidiques	Cytosine	Cytidine	d-Cytidine
	Uracile	Uridine	-
	Thymine	-	Thymidine

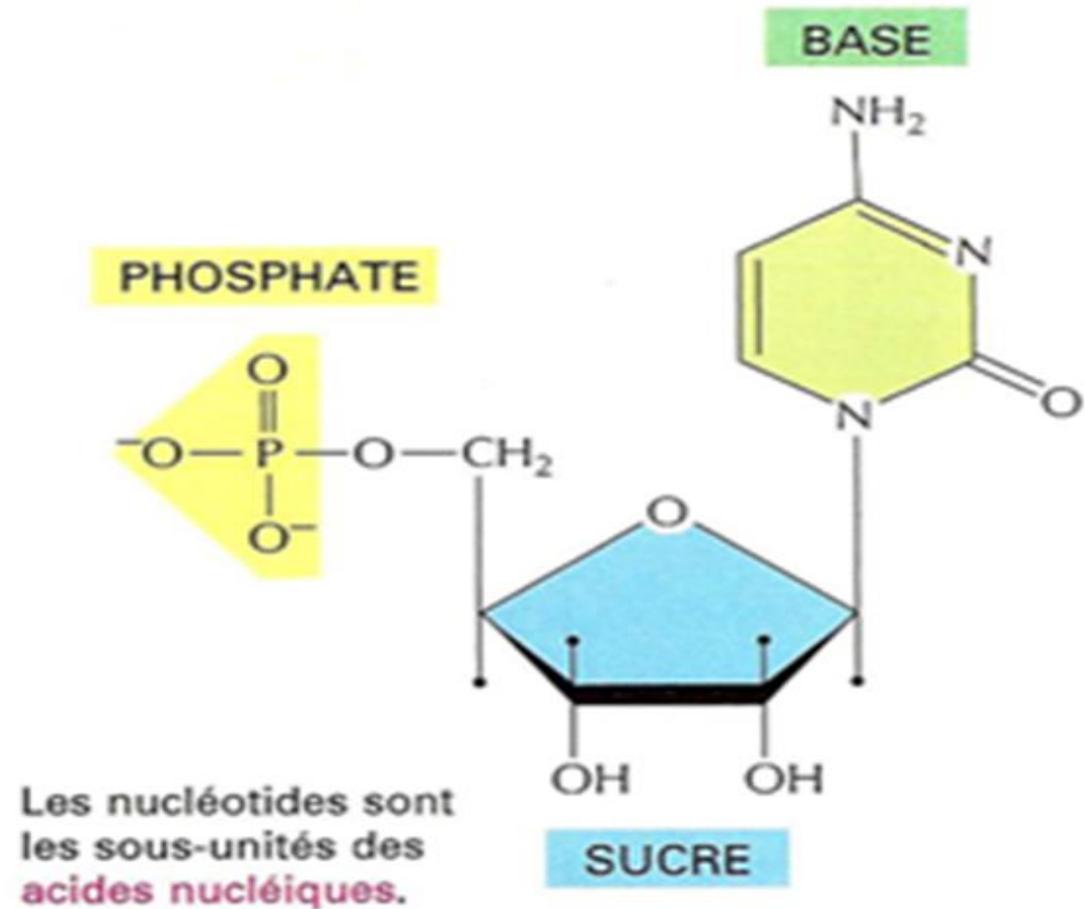
## Nucléotides

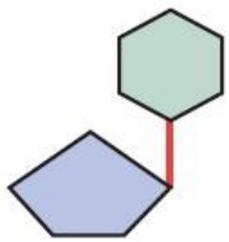
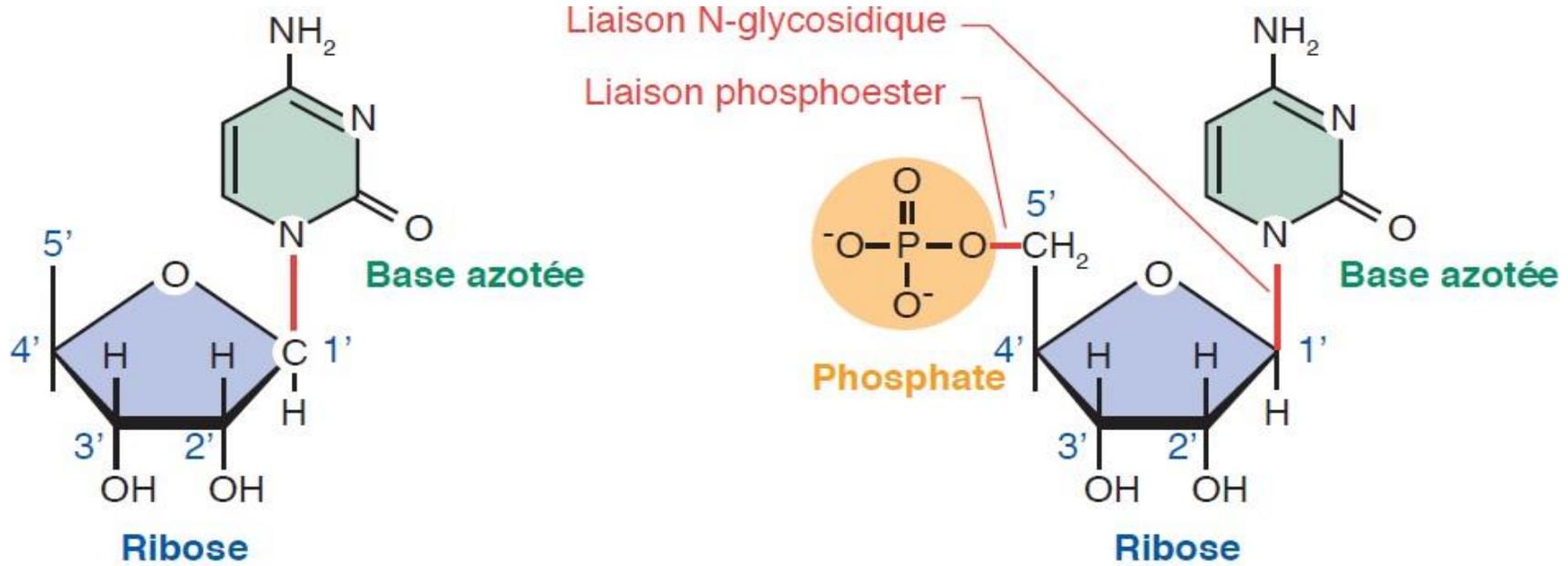
Les nucléotides sont composés d'un nucléoside relié à un ou trois phosphates par une liaison phosphoester (figures 1-5). On les qualifie alors de monophosphate, diphosphate ou triphosphate.

- ✓ Le nom du nucléotide est formé de celui du nucléoside + le nombre de phosphates (exemple : ATP = adénosine triphosphate).

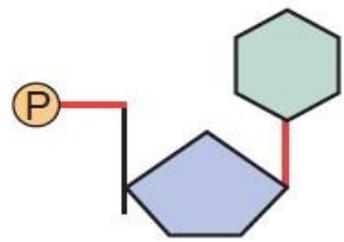
## NUCLÉOTIDES

Un nucléotide est composé d'une base contenant de l'azote, d'un sucre à 5 carbones et d'un ou plusieurs groupements phosphate.





A

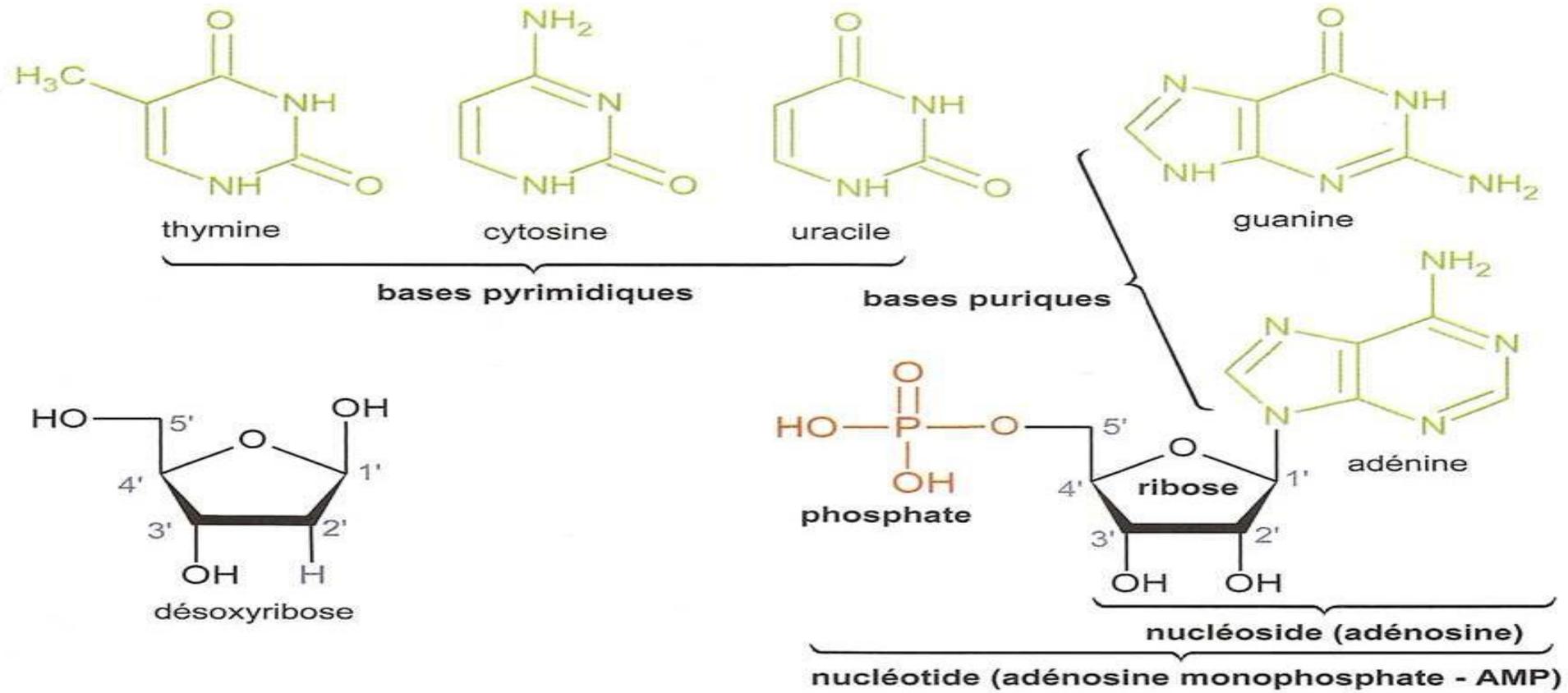


B

A. Organisation d'un nucléoside (forme schématique en bas)

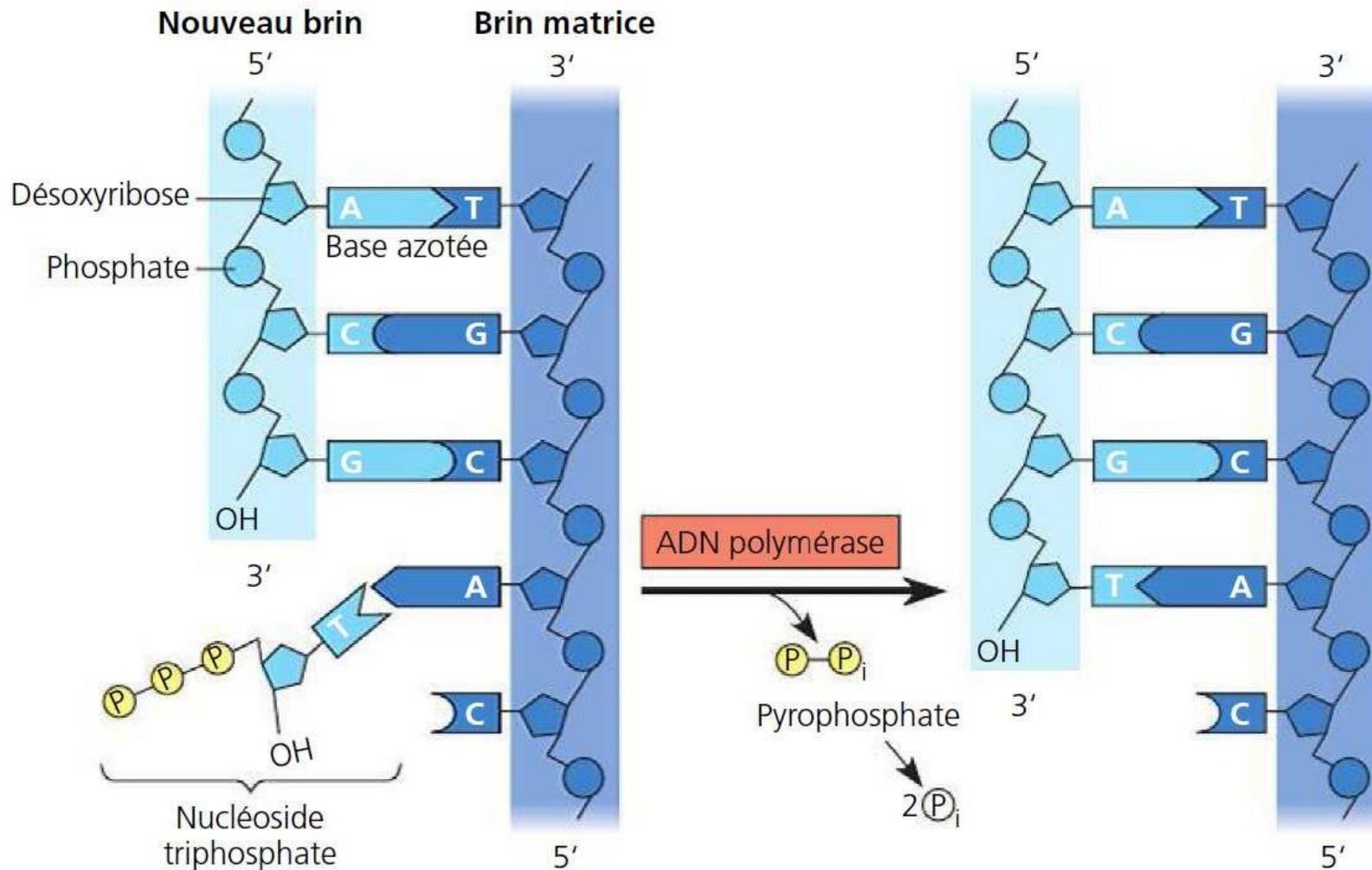
B. Organisation d'un nucléotide (forme schématique en bas).

**Un nucléoside pyrimidique et son nucléotide (monophosphate) dans les ARN.  
D'après SEGARRA et al. (2014).**

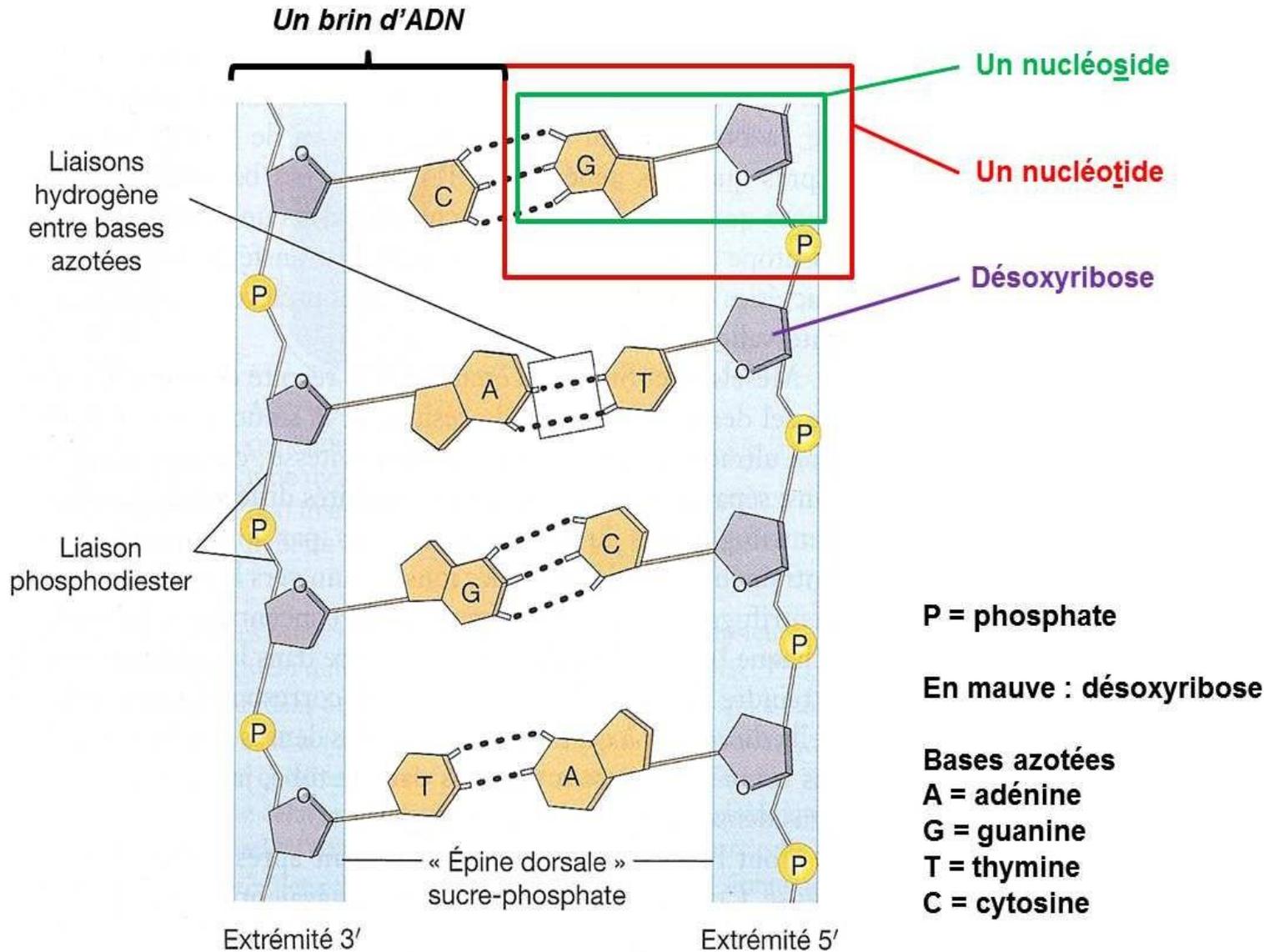


Les constituants des nucléotides et désoynucléotides ; exemple de l'AMP.

- ✓ Les **polynucléotides**, notamment l'ADN et l'ARN, sont réalisés par condensation de nucléotides triphosphates ; l'opération fait perdre deux phosphates (pyrophosphate) au nucléotide incorporé. La liaison formée entre nucléotides est une **liaison phosphodiester**.



**Polymérisation de l'ADN.**  
D'après CAMPBELL et al. (2012).



La liaisons phospho-diester est établie entre le carbone 3' d'un premier nucléotide et le carbone 5' du nucléotide suivant.

De sorte que ces liaisons définissent un sens à la molécule : le début étant le nucléotide dont le phosphate en 5' ne serait lié à aucun autre nucléotide et la fin correspond au nucléotide dont la fonction alcool en 3' n'est pas estérifiée

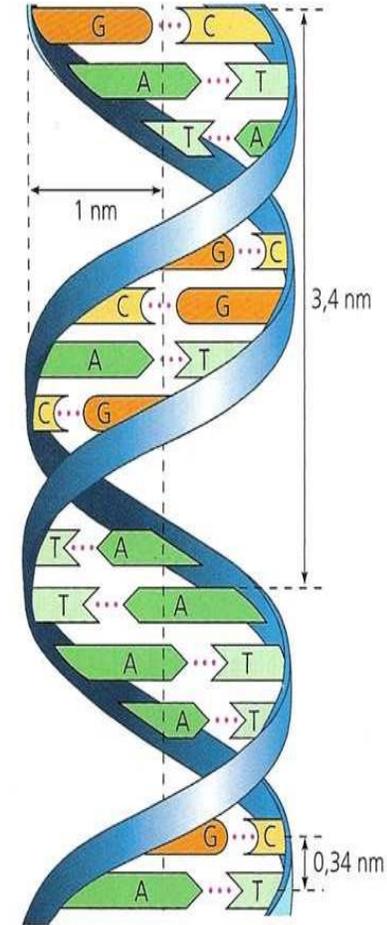
**Structure et composition de l'ADN.**  
 D'après RAVEN *et al.* (2007)

Il résulte une molécule d'ADN **bicaténaire**, c'est-à-dire qu'il est fait de **deux brins** : rigoureusement, il s'agit donc d'un **double polymère de nucléotides associés par des liaisons hydrogène**.

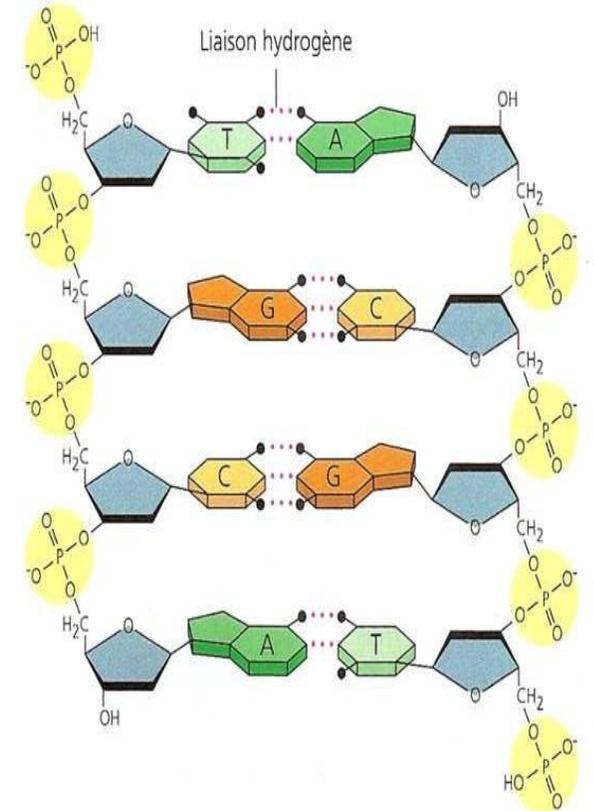
Chaque brin peut être **orienté** : on trouve une **extrémité 5' P** (*carbone 5'* associé à un groupement phosphate libre, sans nucléotide derrière) et une **extrémité 3' OH** (carbone 3' portant un groupement OH, non associé à un nucléotide).

## Structure secondaire de l'ADN

- Pour qualifier la **structure secondaire de l'ADN**, on dit qu'il présente une **structure en double hélice** car il est fait de **deux brins qui s'enroulent en hélice** ; les deux brins sont **antiparallèles**, c'est-à-dire qu'ils sont **orientés de manière inverse l'un par rapport à l'autre** (un brin  $3' \rightarrow 5'$  et l'autre  $5' \rightarrow 3'$ ).
- L'hélice est, dans la forme majoritaire de l'ADN (ADN-B) une hélice **droite**. Un tour de spire est réalisé toutes les **10 paires de bases** environ.



(a) Principales caractéristiques tridimensionnelles de la structure de l'ADN



(b) Composition chimique fondamentale

Autre vision de la constitution de l'ADN (à droite) et illustration de la structure en double hélice (à gauche).

D'après CAMPBELL & REECE (2004)

# 1-2 Organisation et structuration des génomes

Le mot **génom**e peut avoir plusieurs définitions selon les auteurs ou le contexte d'emploi :

- ✓ Il peut désigner **l'ensemble de l'information génétique d'un individu**.  
Quand on s'intéresse à la variété interindividuelle, il sera plus pertinent d'employer la notion de **génotype**.
- ✓ Ensemble des **unités informatives (gènes)** seulement.
- ✓ À Ensemble des **unités transcrites ou transcriptibles en ARN** (y compris les ARN autres que messagers).
- ✓ **La totalité de l'ADN**, qu'il soit **codant ou non**.

# Nature et localisation de génome

## Génome des Eucaryotes

Le génome des Eucaryotes comprend

- ✓ **Le génome nucléaire** : des chromosomes au sens strict, longs filaments d'ADN associés à des protéines présentant des niveaux variables de condensation.

La taille totale est très variable mais généralement nettement plus important que celle du génome bactérien.

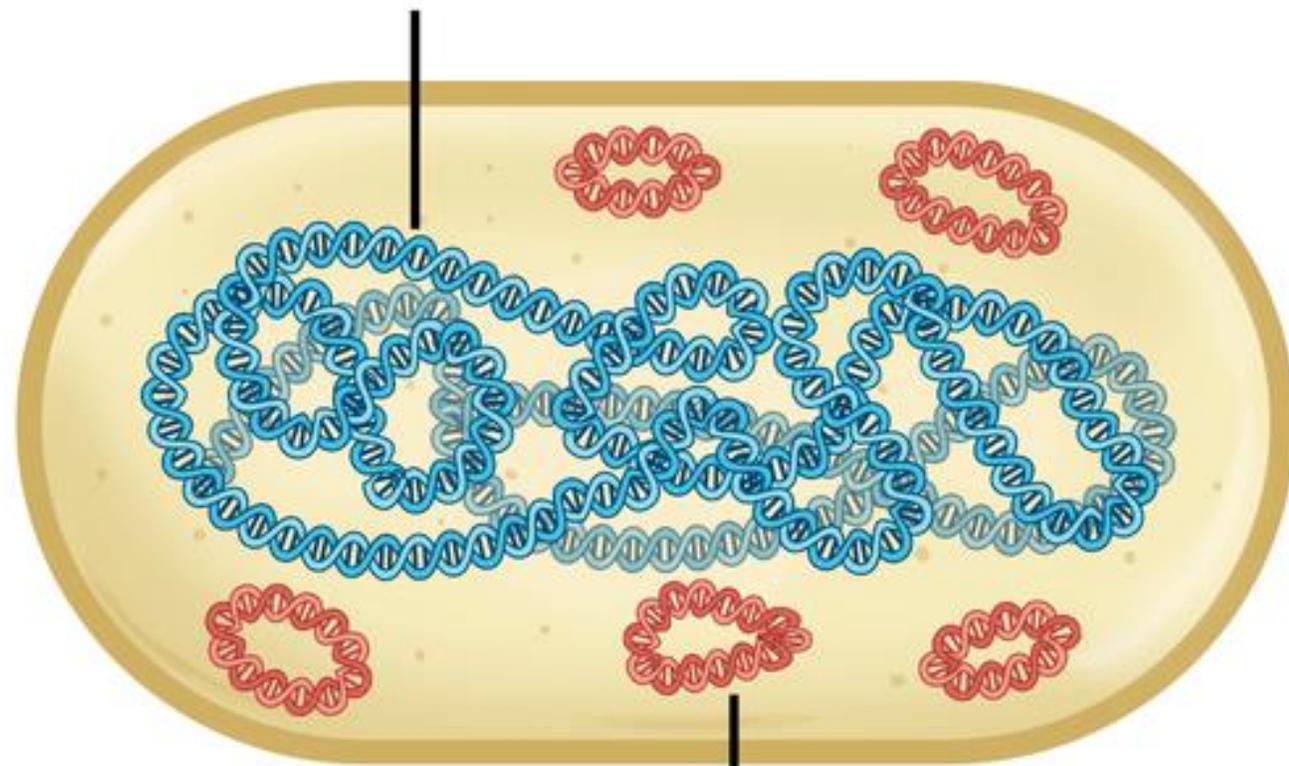
- ✓ **Le génome extranucléaire** : il s'agit du génome des organites semi-autonomes (plastides, mitochondries). Il s'agit de petits chromosomes circulaires qui code une partie des polypeptides de l'organite.

## Génome des Eubactéries

Le génome des Eubactéries comprend :

- ✓ Un « **chromosome bactérien** » (parfois appelé génophore)
  - Exceptionnellement plusieurs) de taille souvent inférieure à celui des Eucaryotes (exemple *E. coli* 4 640 kb),
  - le plus souvent circulaire (mais on en trouve des linéaires chez quelques espèces d'Eubactéries).
  - Ce chromosome bactérien est situé dans une zone du cytosol appelée **nucléoïde**.
- ✓ **Des plasmides**
  - petits ADN bactériens circulaires, capables de s'autorépliquer de façon autonome (taille : en général quelques centaines à milliers de pb).
  - Ils ne sont pas essentiels à la bactérie et permettent, entre autres, les échanges génétiques entre individus.
  - Ces plasmides sont en nombre variable (différents ou parfois tous de même type) ; il peut arriver qu'ils soient absents.

**Chromosome**



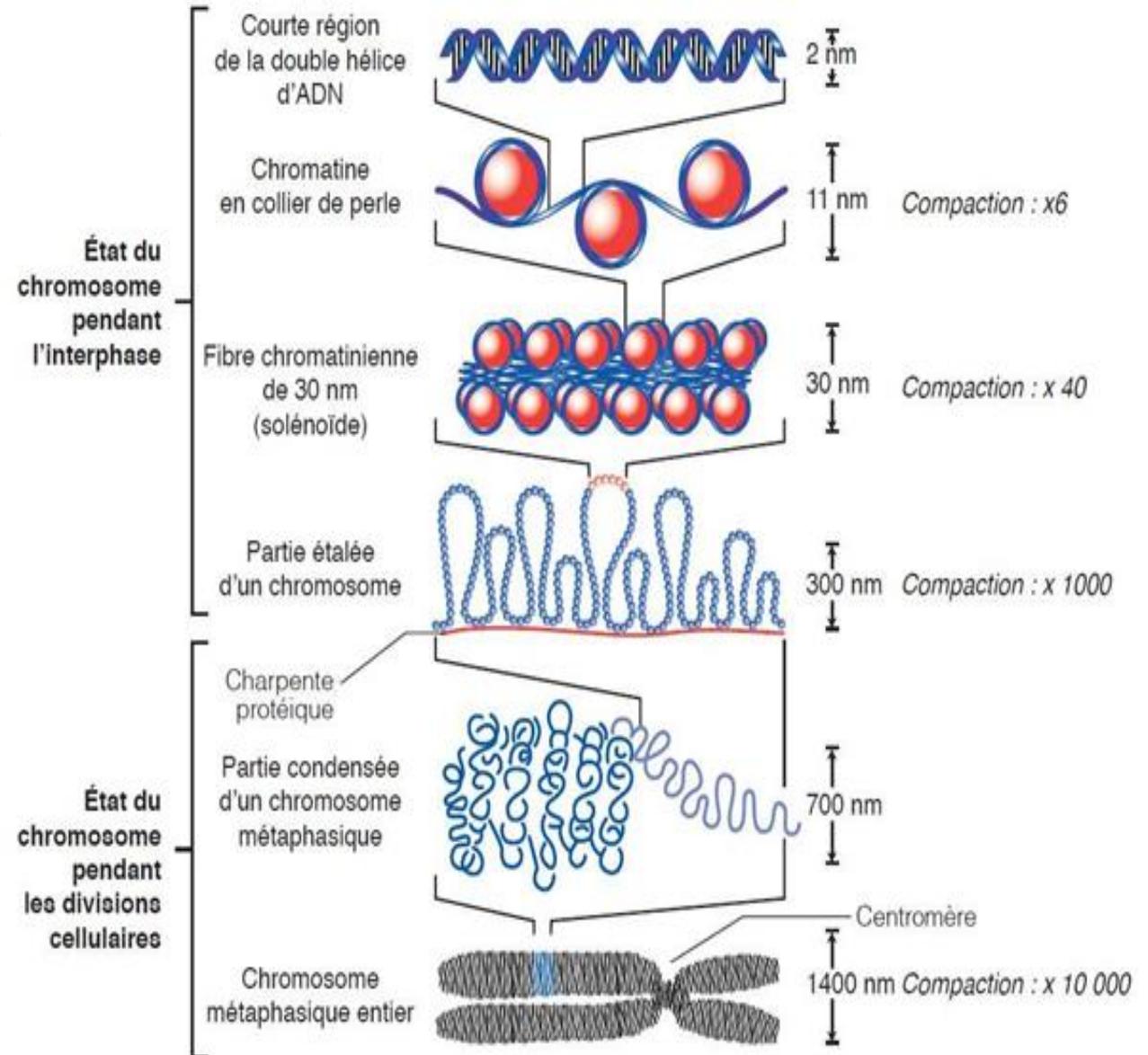
**Plasmide**

	Localisation	Organisation de l'ADN	Nombre de molécules d'ADN	Taille du génome	Structure des gènes
Eucaryotes	Noyau (= <b>génomenucléaire</b> )	Linéaire	Plusieurs différentes  (état souvent dominant : diploïdie)	Élevée : généralement de $10^6$ à $10^{11}$ pb  Homme : $3,2 \times 10^9$ pb  (cas de certaines 'amibes' : $10^{11}$ à $10^{12}$ !!)	Introns + exons (gènes morcelés)  Quelques espèces avec très peu d'introns (ex. levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )
	Organites semi-autonomes (= <b>génomextra-nucléaire</b> )	Circulaire	1 en plusieurs copies  Mitochondrie humaine :  1 à 15 copies, souvent 5	Petite : de $10^4$ à $10^6$  ADNmt humain : $16,6 \times 10^3$ pb	Pas d'introns
Eubactéries	Cytoplasme : <b>chromosome bactérien</b> (dans nucléoïde)	Souvent circulaire (linéaire chez quelques espèces)	1 (très rarement plusieurs)	Moyenne : de $10^6$ à $10^7$ pb  <i>E. coli</i> : $4,64 \times 10^6$ pb (Mycoplasmes : $10^5$ pb)	Pas d'introns
	Cytoplasme : <b>Plasmides</b> (génomextra-chromosomique)	Circulaire	Nombre variable	Très petite : $10^3$ à $10^5$ pb  (en moyenne quelques milliers de pb)	Pas d'introns

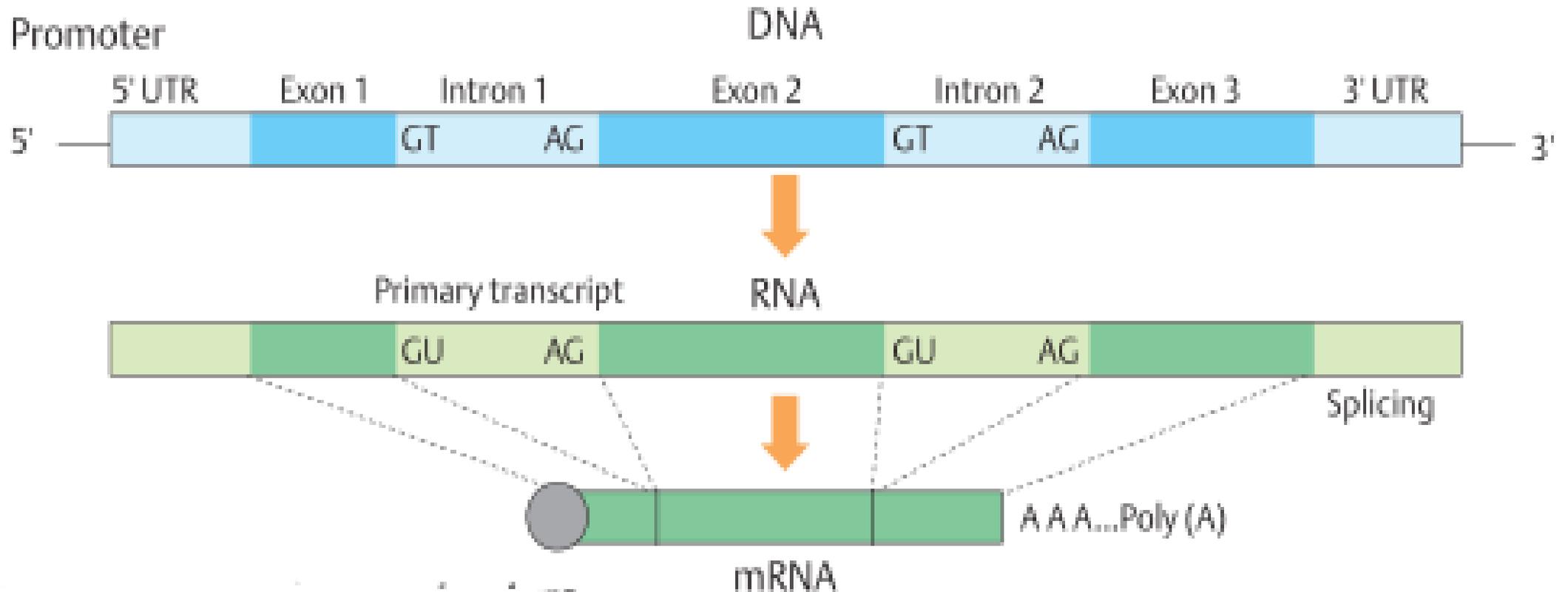
# Organisation de génome

## Organisation de génome des eucaryote

- Le génome nucléaire eucaryote est fondamentalement fragmenté en de multiples chromosomes linéaires (ex. 8 chez la Drosophile, 46 chez l'Homme).
- Il est associée à des protéines : on trouve deux types de protéines associées, les protéines de travail (permettant la transcription, la réplication, l'expression génétique...) et les protéines de structures dont les histones qui sont des protéines fortement basiques qui facilitent les liaisons à l'ADN chargé négativement et forme les nucléosomes.



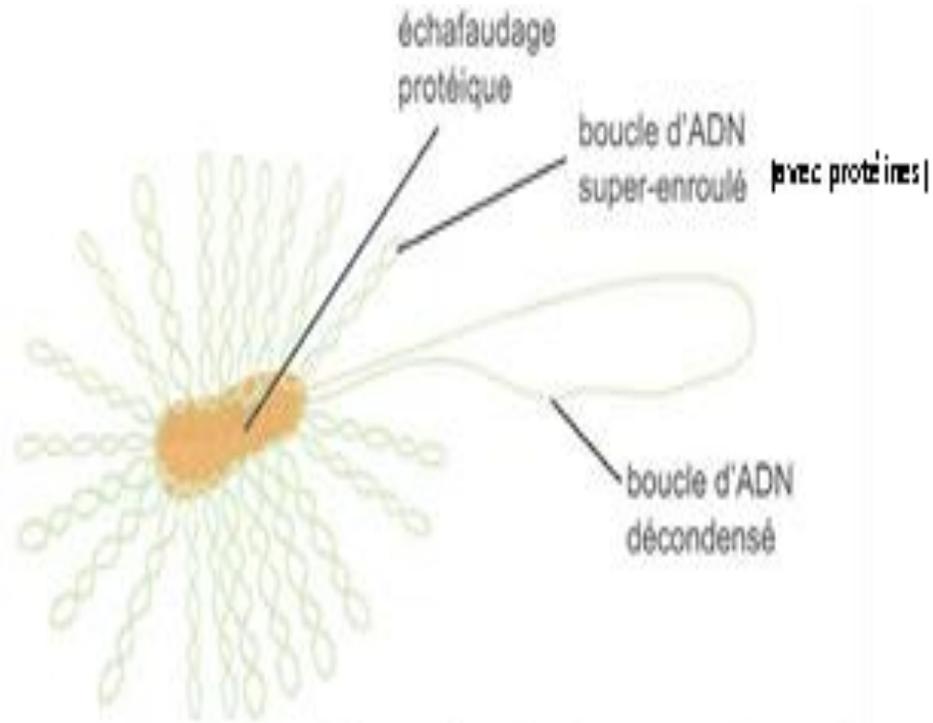
Chez les eucaryotes, les gènes sont **morcelés** (= gènes mosaïques) avec des régions **non codantes (introns)** séparant les portions **codantes (exons)**



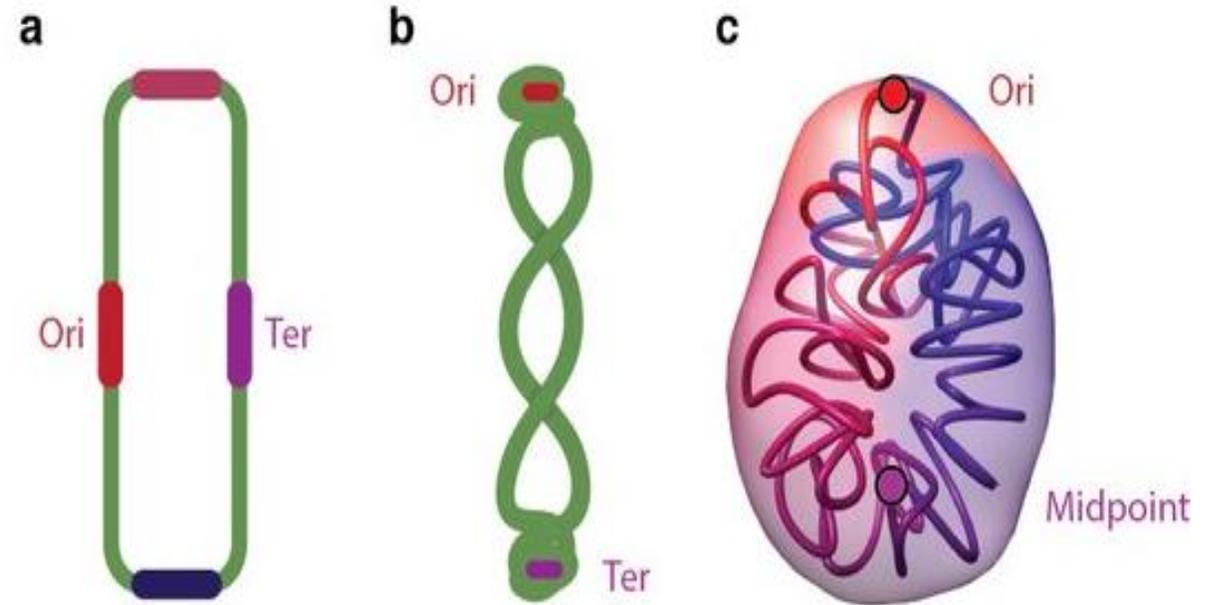
# Organisation de génome bactérien

## 1) Chromosome

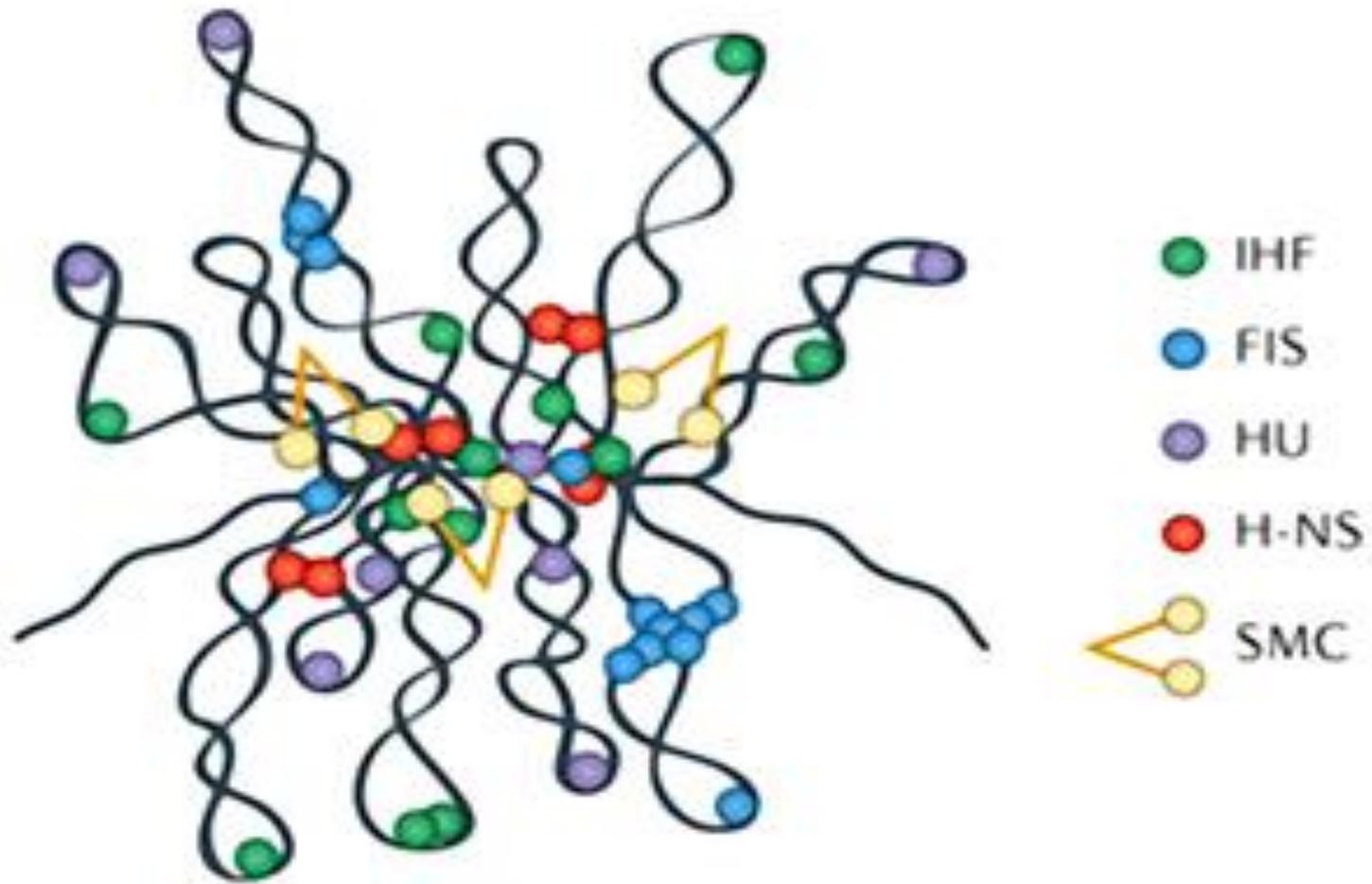
- **Le chromosome** bactérien est constitué d'ADN « nu » (absence de protéines de type histone, mais il existe des protéines associées tout de même, notamment celles qui interviennent dans la régulation et quelques protéines de structures qu'on appelle **NAP** (Nucleoid Associated Proteins), circulaire (rarement linéaire) et replié en une cinquantaine de boucles associé à un noyau protéique.
- La condensation est permise par un surenroulement de l'ADN permis par les NAP ; des topoisomérases gèrent également le degré d'enroulement et donc de compaction de l'ADN .
- Le chromosome bactérien est souvent circulaire. Notons que les protéines du nucléoïde présentent beaucoup d'AA basiques (ionisés positivement) qui font aisément des liaisons avec les charges négatives de l'ADN.



Organisation de l'ADN dans le chromosome bactérien  
(D'après T. Brown : *Genomes - second edition*, Wiley-Liss, 2003).

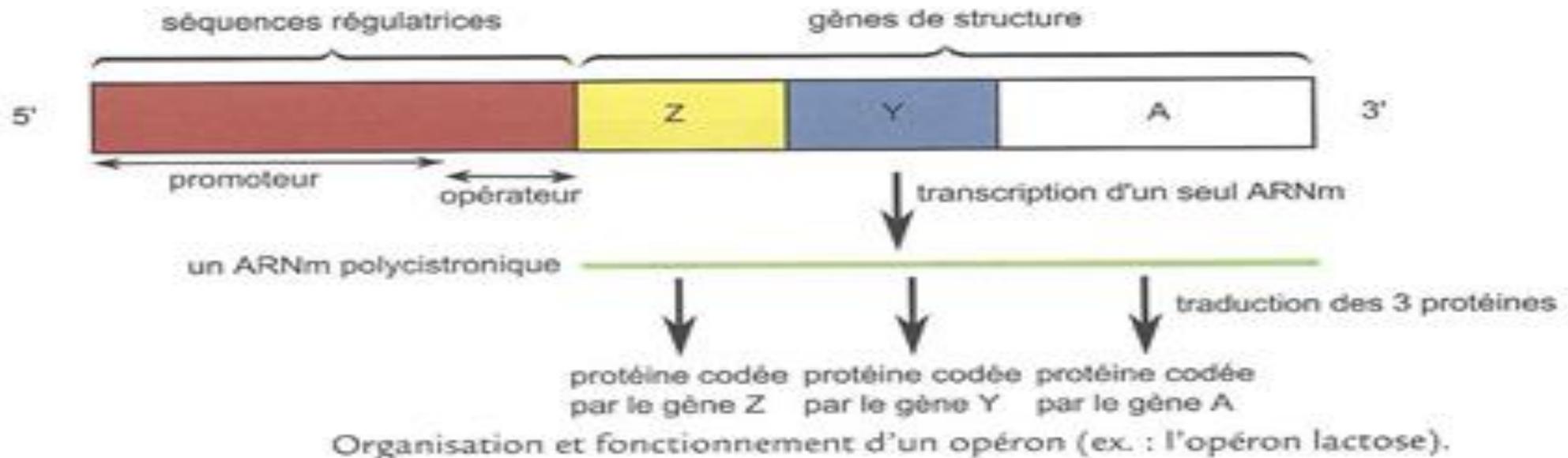


Models of bacterial chromosome organization. Models of nucleoid organization with Ori and Ter represented by red and purple circles. (a) Model of the *E. coli* genome with the four macro-domains Ori, Ter, left, right, represented by circles in red, purple, pink and blue, respectively. (b) Model of the *B. subtilis* genome adapted from ref. 52. (c) 3D models of the *M. pneumoniae* genome conformation.



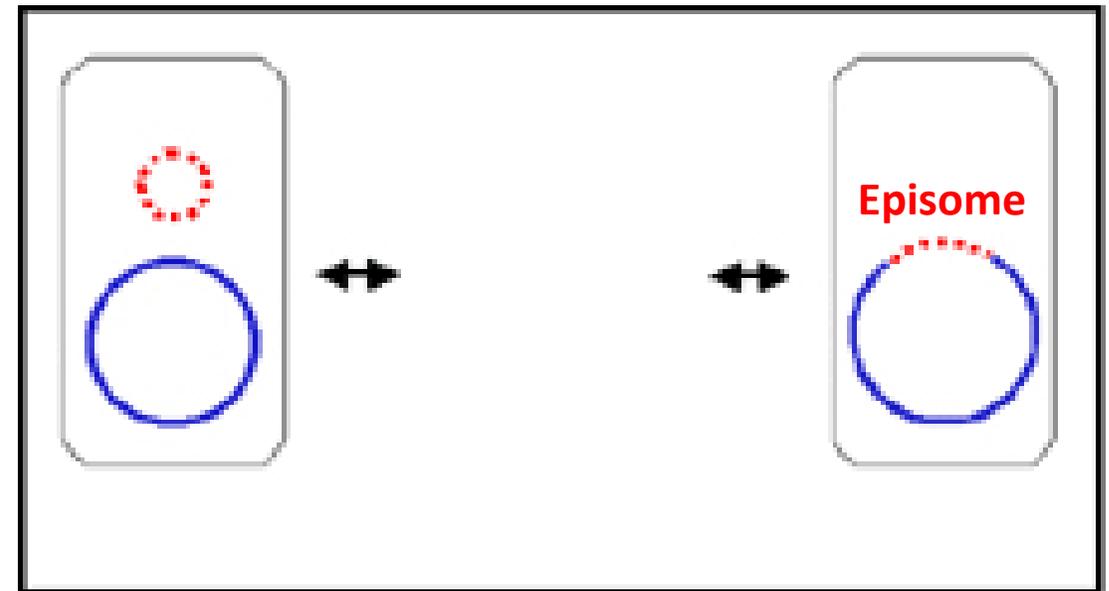
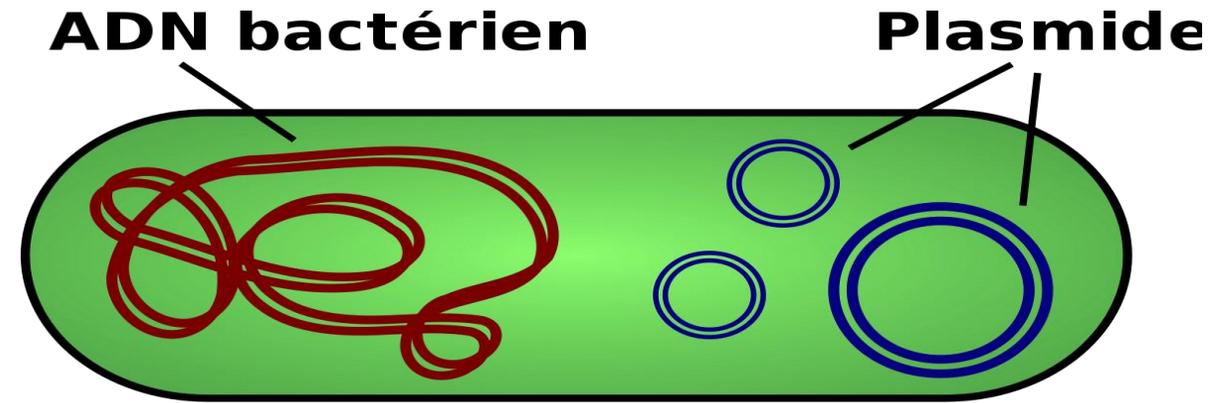
**Association des NAPs avec le chromosome bactérien**

- Chez les **Eubactéries**, l'ADN est **majoritairement codant** et les séquences sont souvent organisées en **opérons** (cas de près de **60 % des gènes chez *E. coli***);
- un **opéron** est un **ensemble de gènes bactériens disposés immédiatement à la suite les uns des autres et qui sont gouvernés par une même séquence régulatrice**. Ces opérons sont donc des **ensembles polycistroniques**, c'est-à-dire **comportant plusieurs séquences codant des protéines (cistrons)**.



## 2) Plasmide

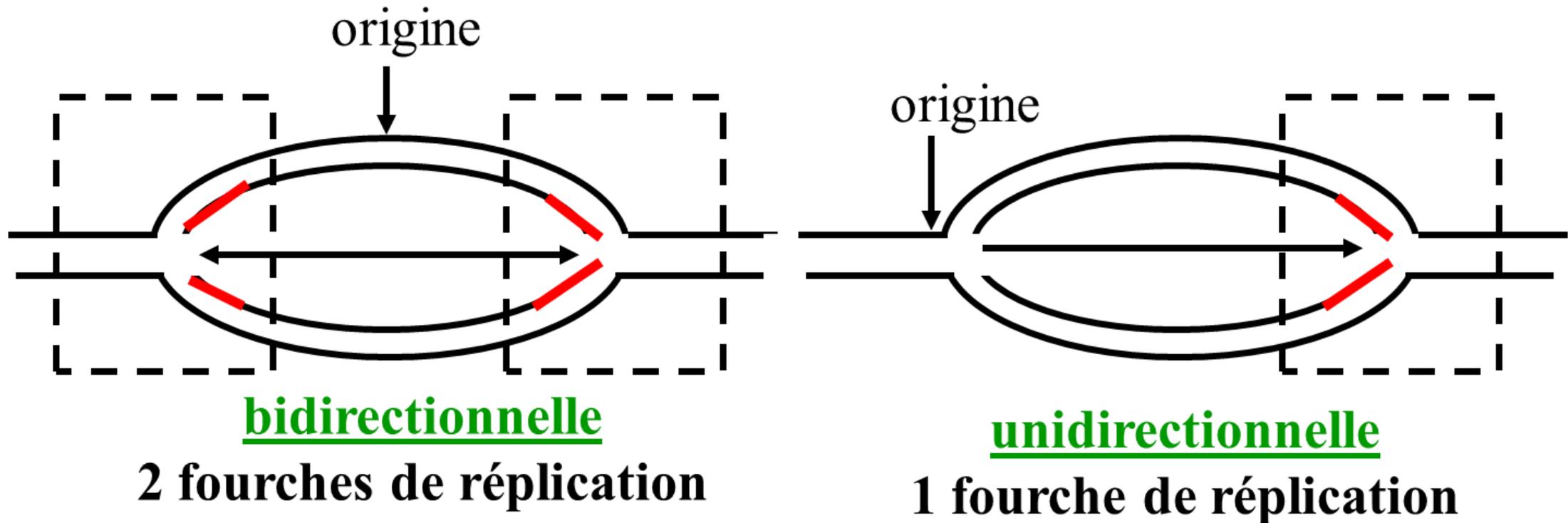
- Ce sont des molécules d'ADN bicaténaire,
- Généralement **circulaires**,
- **Il en existe des linéaires**,
- Parfois ils s'intègrent dans le chromosome et on les appelle des **épisomes**.
- De petite taille (1 kb à 400 kb), 1/100 du chromosome bactérien.
- Ils portent très peu de gènes, moins de 30.



## Réplication

Les plasmides se répliquent indépendamment du chromosome de la bactérie. Ils peuvent se répliquer selon **deux modèles** :

**La réplication de type Thêta  $\theta$** , uni ou bidirectionnelle, à partir d'une origine de réplication en utilisant l'équipement enzymatique de la bactérie hôte.

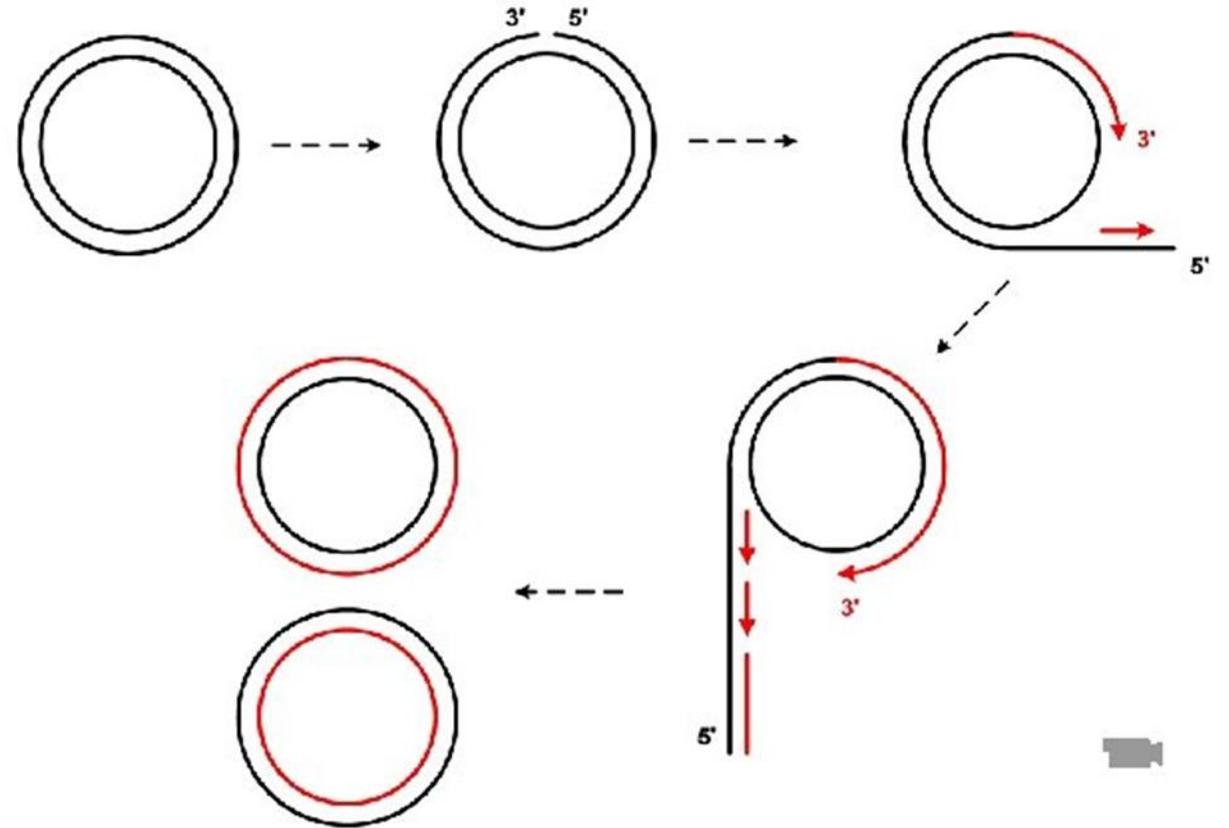


**Une réplication de type « Rolling circle » ou cercle déroulant.**

Un brin est coupé par une enzyme (nucléase).

Ce brin va se dérouler autour de l'autre brin dans le sens 5'P et la bactérie va synthétiser un brin complémentaire simultanément aux deux brins parents.

## Rolling Circle Replication



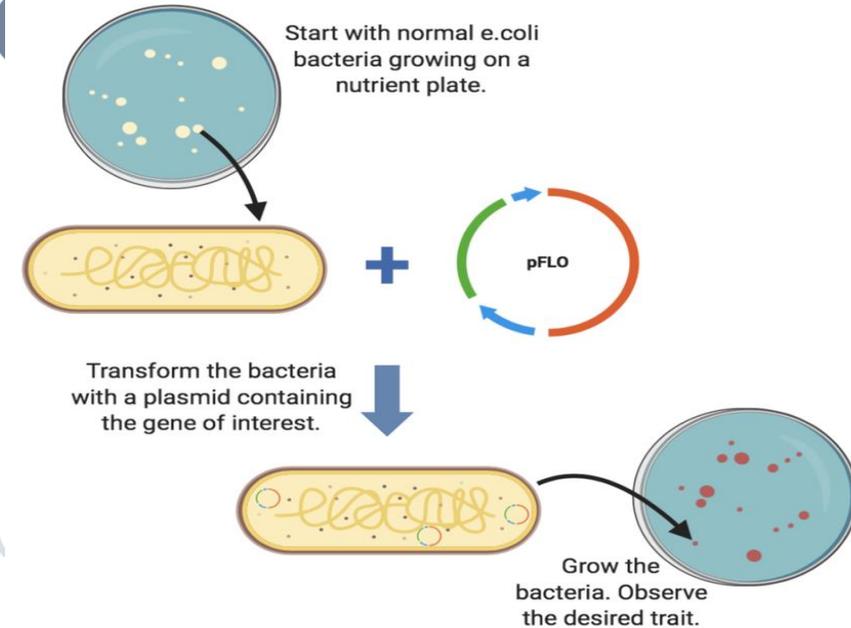
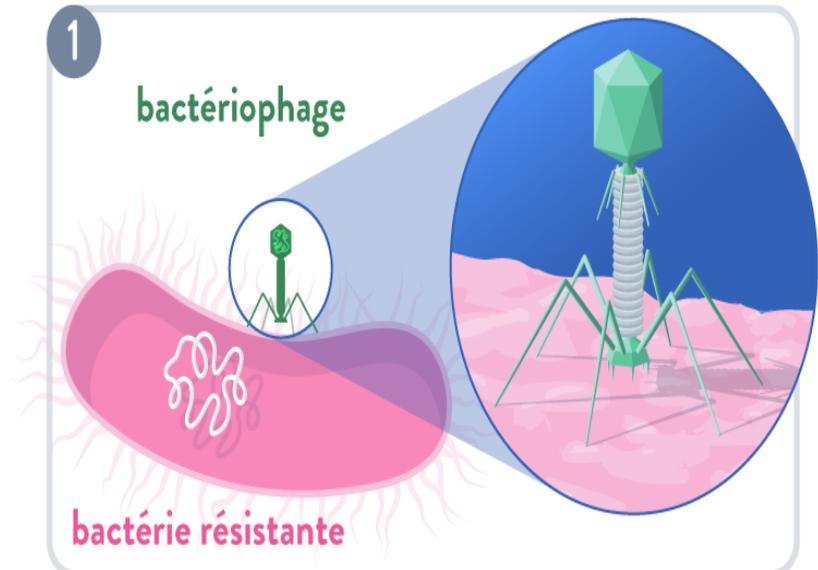
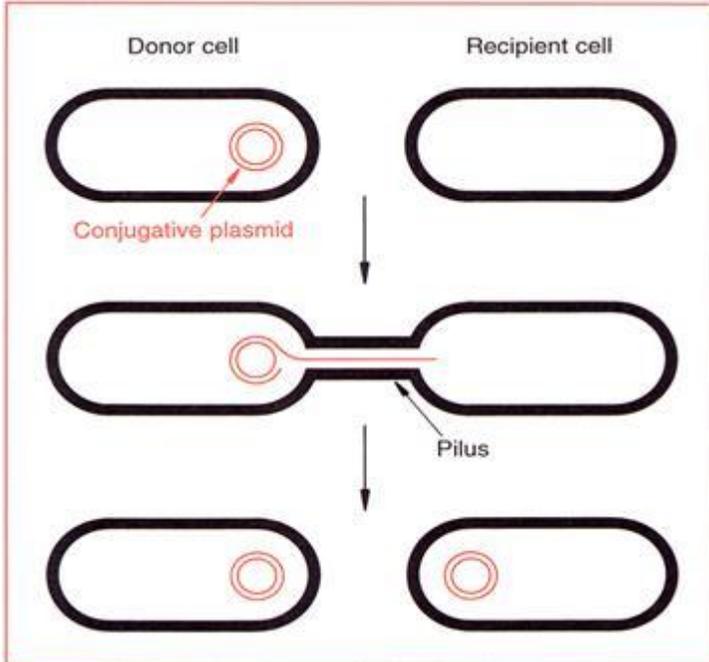
## Principaux types des plasmides

Type	Exemple	Taille approximative (kb)	Hôtes	Phénotypes
<b>Facteur de fertilité</b>	Facteur F	95-100	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Citrobacter</i>	Pilis sexuel, conjugaison
<b>Plasmides R</b>	RP4	54	<i>Pseudomonas</i> et autres bactéries Gram négatives	Résistance à la Amp, Km, Tc
	R1	80	bactéries Gram négatives	Résistance à la Amp, Km, Tc
	R6	98	<i>E. coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i>	S, Cm, Tc,

<b>Plasmide Col</b>	ColE1	9	<i>E. coli</i>	Production de colicine E1
	ColE2		<i>Shigella</i>	colicine E2
	ColDF13		<i>Enterobacter cloace</i>	Cloacine DF13
<b>Plasmide de virulence</b>	Ent (P307)	83	<i>E. coli</i>	Production d'entérotoxine
	Col V-K30	2	<i>E. coli</i>	Résistance aux Mécanismes immunitaires
<b>Plasmide métabolique</b>	CAM	230	<i>Pseudomonas</i>	Dégradation du camphre
	SAL	56	<i>Pseudomonas</i>	Dégradation du salicylate
	TOL	75	<i>Pseudomonas putida</i>	Dégradation du toluène

# Transfert plasmidique

Le transfert d'un plasmide d'une **bactérie donatrice** à une **bactérie réceptrice** peut se faire par **conjugaison, mobilisation, transduction ou transformation.** (Voir Chapitre 04)



## 1-3 Matériel génétique viral

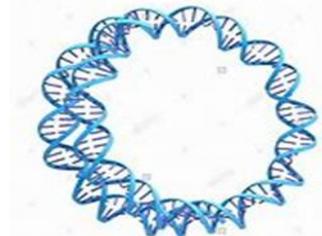
Le mot latin « virus » signifie « poison »; Ils sont constitués d'un acide nucléique, porteur de l'information génétique, et de protéines virales.

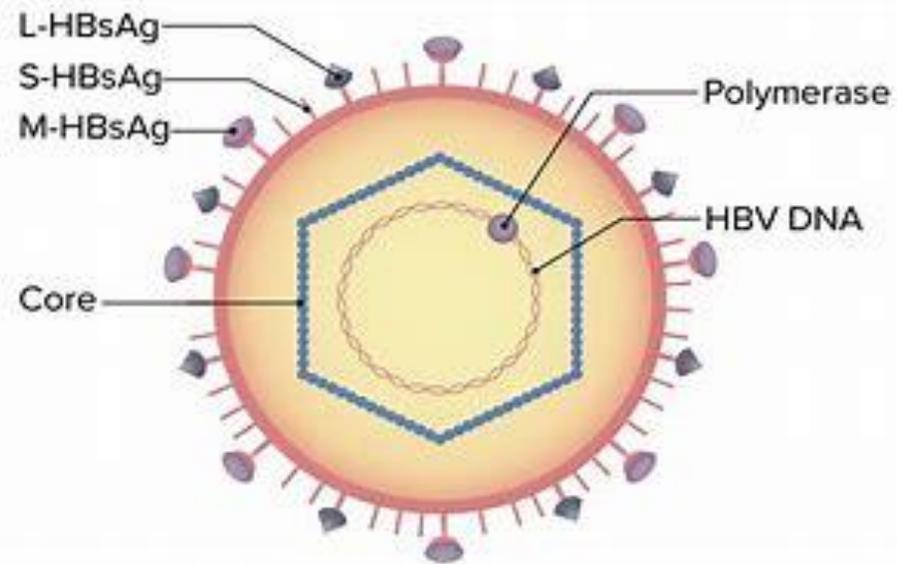
Ils se multiplient obligatoirement en intracellulaire (parasites) et ne sont pas capables, par leurs propres moyens, de produire de l'énergie ou de synthétiser des protéines.

Leurs matériel génétique peut être de l'**ADN** ou de l'**ARN**.

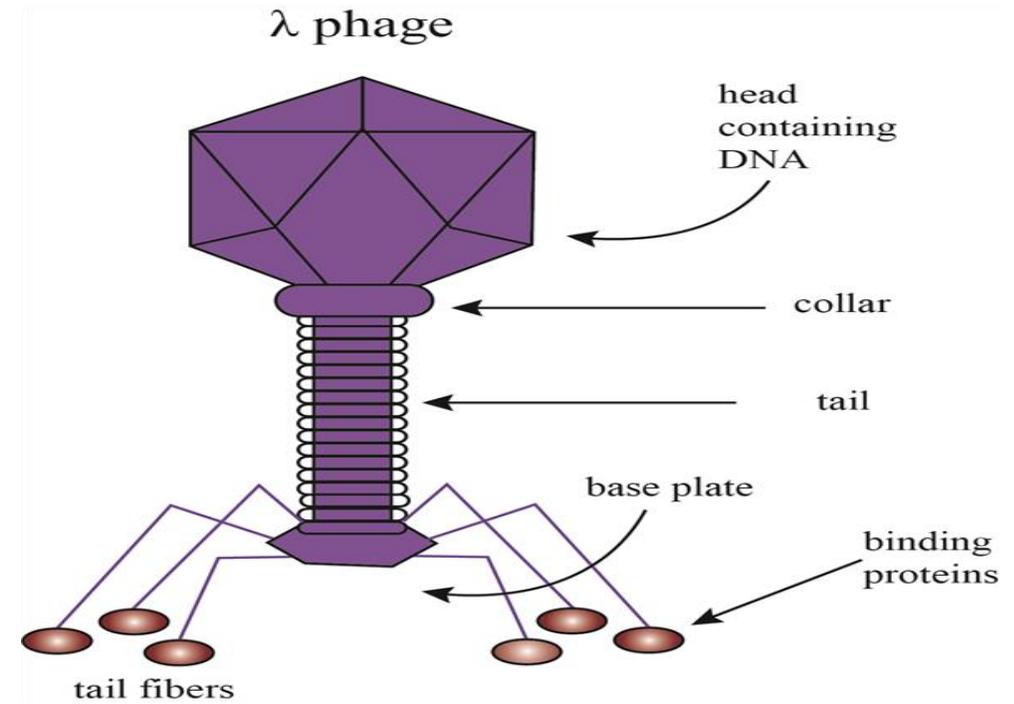
Les virus à ADN sont génétiquement stables et possèdent (comme par exemple les Herpesvirus et le virus de la variole) souvent de grands génomes comprenant une quantité considérable d'informations génétiques.

La majorité des virus à ADN sont à **double brins** (ds, pour double strand) et se présentent sous une forme de filament linéaire avec des extrémités définies, ou sous forme d'anneau (circulaire).

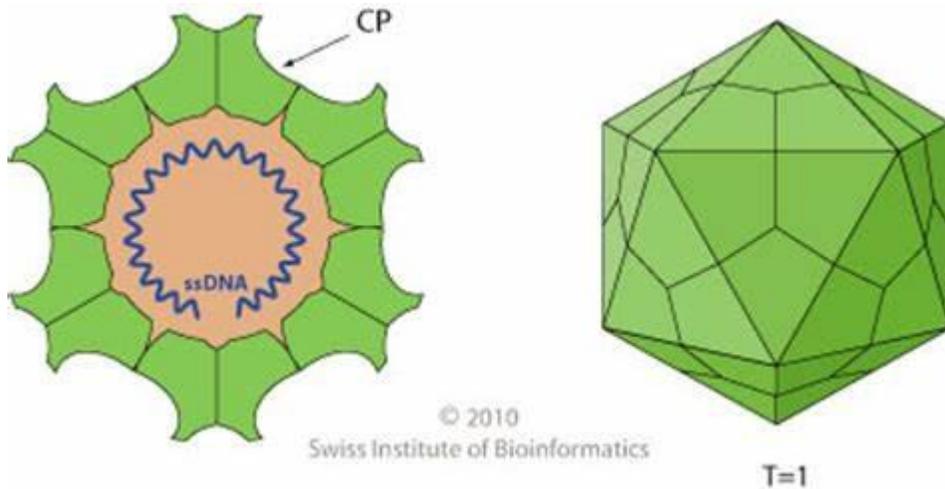




**Exemple 01 Orthohepadnavirus :Virus de l'hépatite B (HBV) (ds DNA)**



**Exemple 02 Bactériophage lamda (virus de bactéries) (ds DNA)**



**Exemple 03 Bocaparvovirus: Bocavirus humain (HBoV) (ss DNA)**

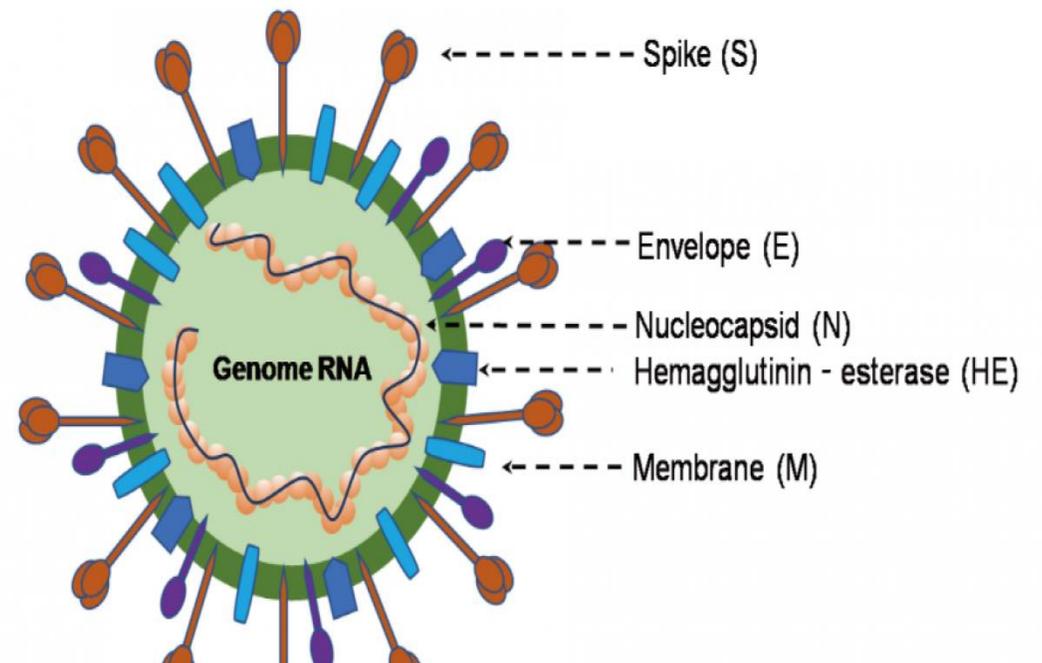
Les virus à ARN possèdent, en règle générale, un génome à **un brin** (ss, pour single strand), sujet à une fréquence de mutation élevée.

Des virus à ARN double brin existent mais restent des exceptions.

Les virus à ARN simple brin sont divisés en deux classes, en fonction de la polarité de leur génome.

Les virus à ARN simple brin positif [virus (+) ssARN] possèdent un génome ARN à polarité positive, contenant les séquences codantes et servant directement d'ARN messenger (ARNm).

**Exemple 04 Betacoronavirus : Coronavirus (SARS-CoV 2) (+)ssARN**



Les virus à ARN simple brin négatif [virus (-) ssARN] portent un ARN non codant, de polarité négative. Ce brin négatif doit d'abord être transcrit en ARNm à brin positif complémentaire, dans la cellule infectée, avant qu'ait lieu une synthèse protéique.

### Exemple 04 Rubulavirus: Virus des oreillons (-) ssARN

