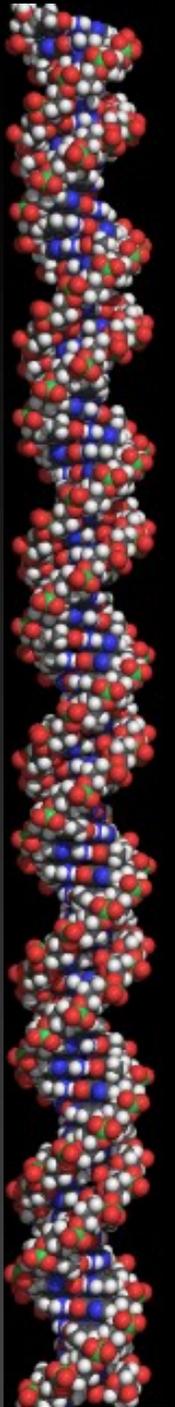


année 2014-2015

réplication du chromosome bactérien
expression et régulation d'un gène bactérien
transferts de gènes

Pr Michel SIMONET



Le chromosome bactérien

**une double hélice d'ADN en forme de cercle fermé (sauf exception),
s'enroulant en une superhélice grâce à des topoisomérases,
associée à des protéines basiques analogues aux histones**

des notions de base...

Bases pyrimidiques

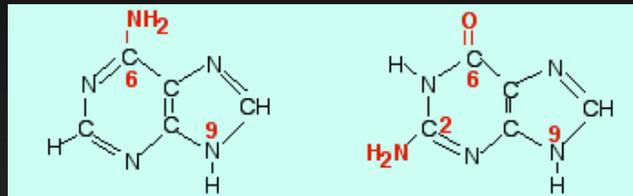


cytosine

uracile

thymine
(uracile méthylée)

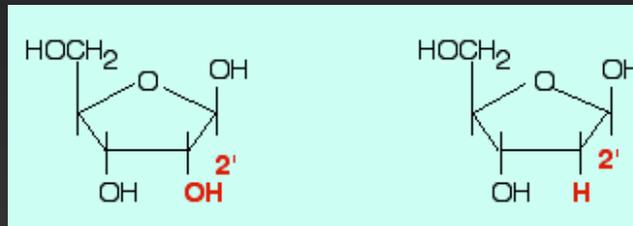
Bases puriques



adénine

guanine

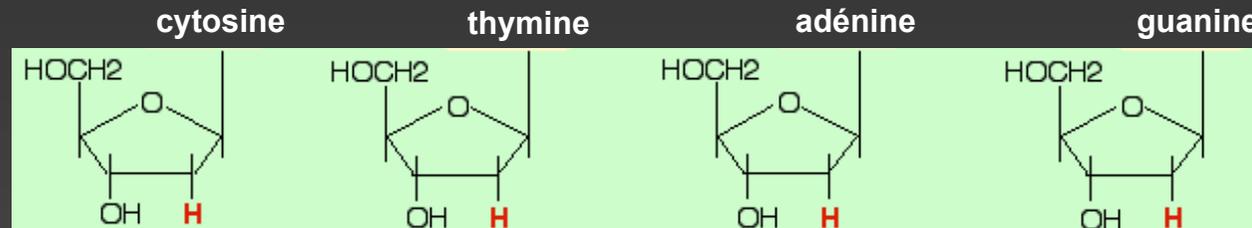
Pentoses



β -D-ribose

β -D-2'-désoxyribose

Désoxy-nucléosides



déoxycytidine

déoxythymidine

déoxyadénosine

déoxyguanosine

des notions de base...

Bases pyrimidiques

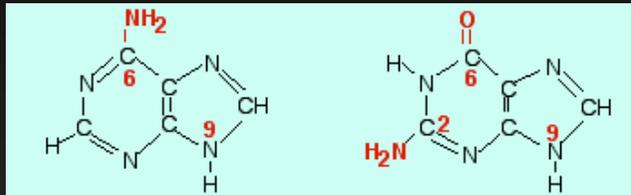


cytosine

uracile

thymine
(uracile méthylée)

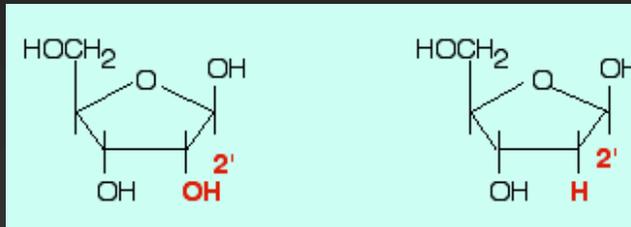
Bases puriques



adénine

guanine

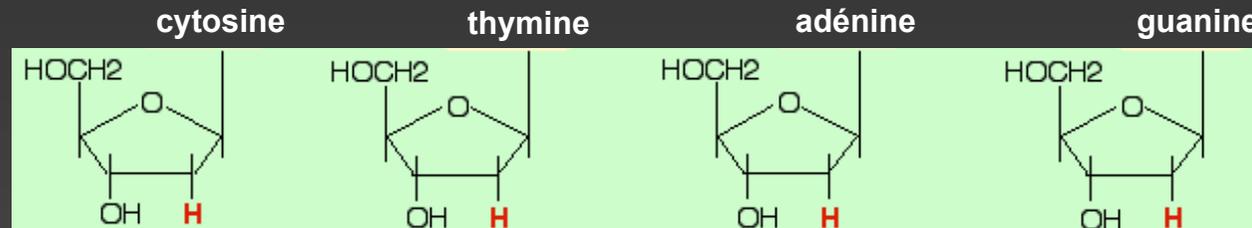
Pentoses



β -D-ribose

β -D-2'-désoxyribose

Désoxy-nucléosides



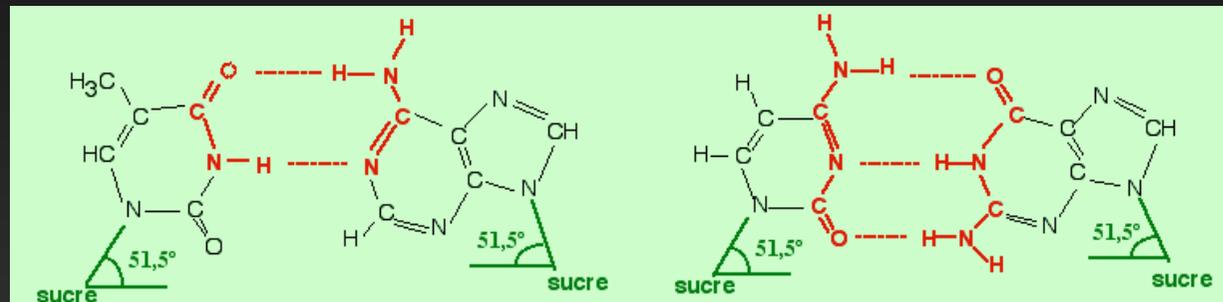
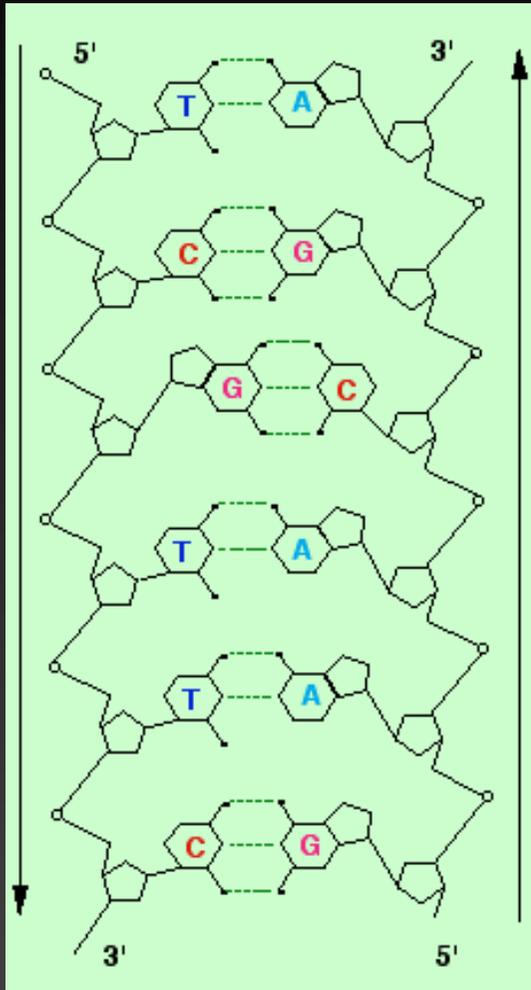
déoxycytidine

déoxythymidine

déoxyadénosine

déoxyguanosine

des notions de base...



thymine

adénine

cytosine

guanine



10.85 Å



10.85 Å

La réplication de l'ADN bactérien

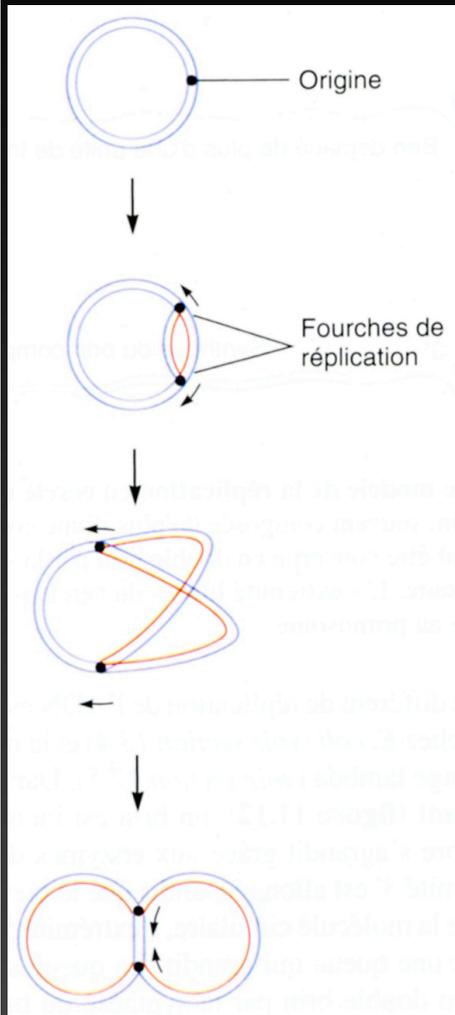
une synthèse bi-directionnelle, à partir d'une origine de réplication (*locus oriC*)

dans la direction 5' vers 3',

précise, par suite de la complémentarité des bases

très rapide (750 à 1000 paires de bases par seconde)

La réplication bi-directionnelle du chromosome



Deux **fourches de réplication** se déplacent à partir du locus *oriC*, formant une **structure de type thêta**, jusqu'à ce qu'elles aient copié tout le réplicon.

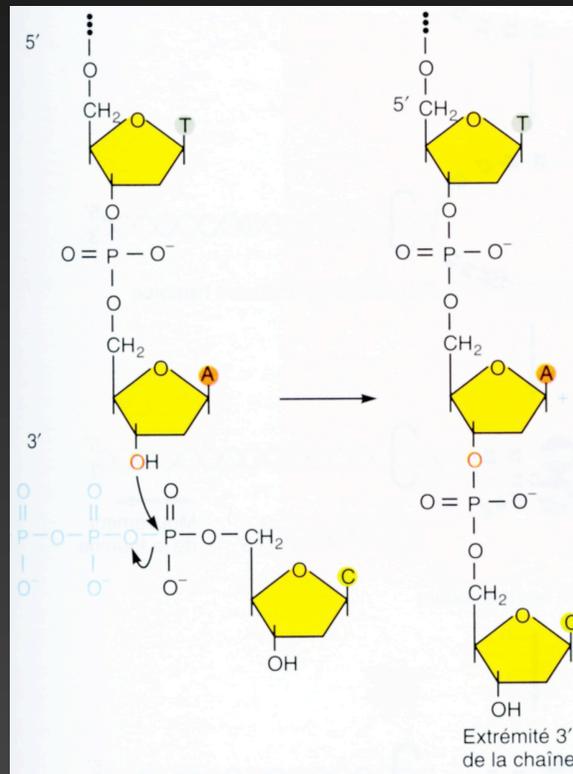
Le chromosome bactérien étant communément unique et circulaire, les fourches de réplication se rencontrent de l'autre côté et les deux chromosomes séparés sont libérés.

Les ADN polymérases

polymérisent des désoyribonucléotides

assurent l'élargissement de l'ADN dans le sens 5' → 3'

nécessitent une matrice et une amorce (comportant une extrémité 3' OH libre)



□ ADN polymérase I (Kornberg, Prix Nobel 1959)
réparation de l'ADN, synthèse d'ADN

□ ADN polymérase II
réparation de l'ADN, synthèse d'ADN

□ ADN polymérase III
synthèse d'ADN

Les ADN polymérases

des enzymes doués également d'une activité exonucléase

3' → 5' ADN polymérase I
dégradation des amorces d'ARN et remplacement par de l'ADN

5' → 3' ADN polymérase I, II et III
correction des erreurs de synthèse = fidélité de la réplication (édition ou *proofreading*)

Les autres enzymes impliqués

les hélicases

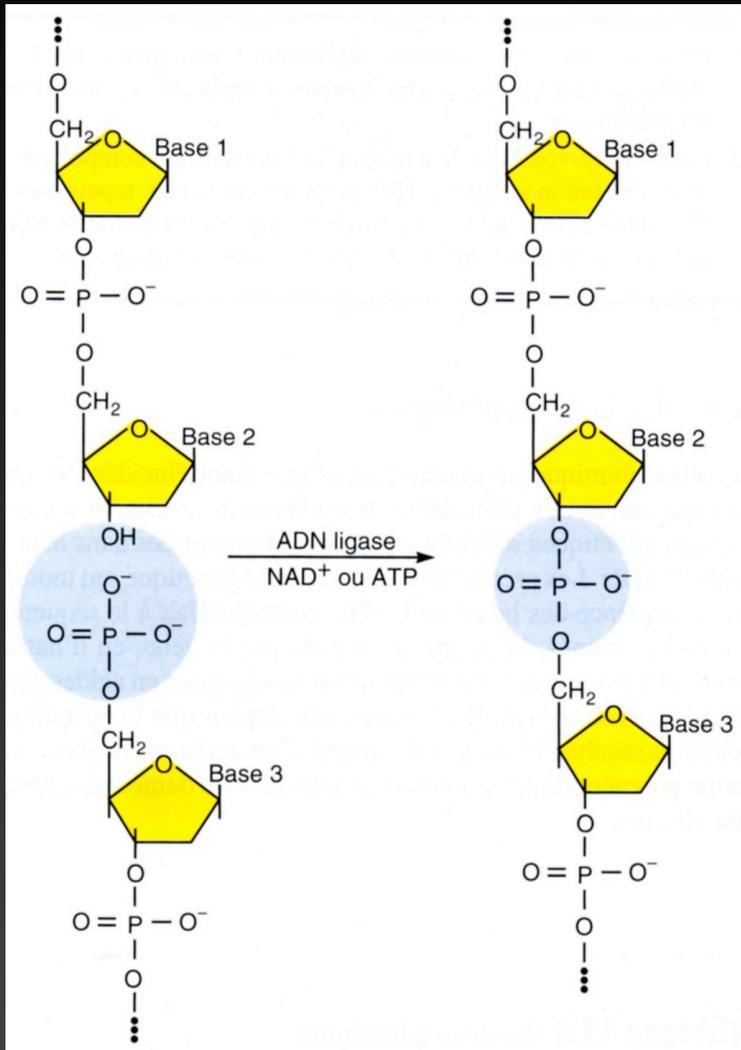
des enzymes qui déroulent (devant la fourche de réplication), en utilisant l'énergie de l'ATP, la double hélice d'ADN et qui séparent les deux brins du duplex

les zones monocaténares ainsi formées sont stabilisées par les protéines SSB (single strand binding) pour éviter leur appariement et les protéger des nucléases

les topoisomérases

des enzymes contrôlant le surenroulement (*supercoiling +/-*) de l'ADN bactérien

Les autres enzymes impliqués

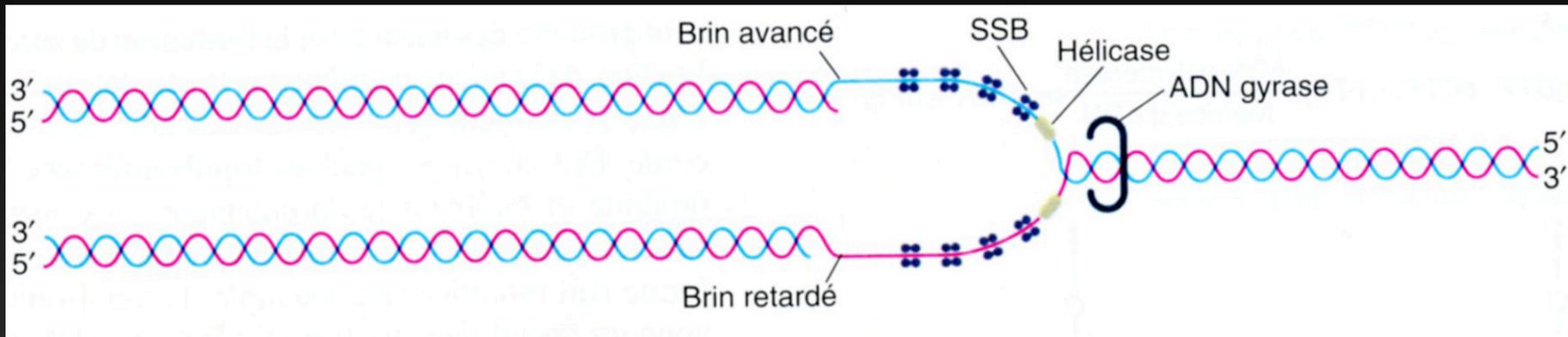


l'ADN ligase

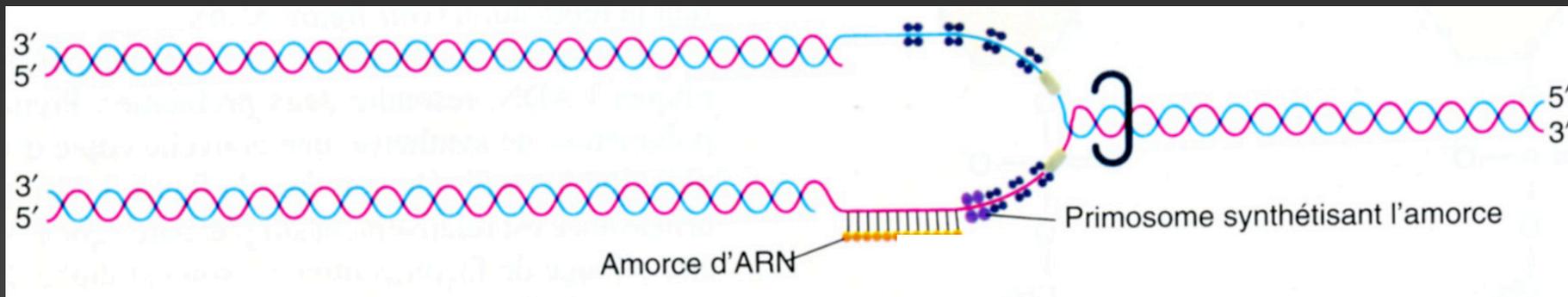
une enzyme formant une liaison phosphodiester entre une extrémité 3' -OH et une extrémité 5' - monophosphate lorsque celles-ci sont juxtaposées, et à condition que le brin d'ADN complémentaire soit intact dans cette région

Les hélicases détordent l'hélice avec l'aide de topoisomérases (DnaB semble l'hélicase la plus active). La séparation des brins monocaténaire est maintenue par des protéines se liant à l'ADN (SSB).

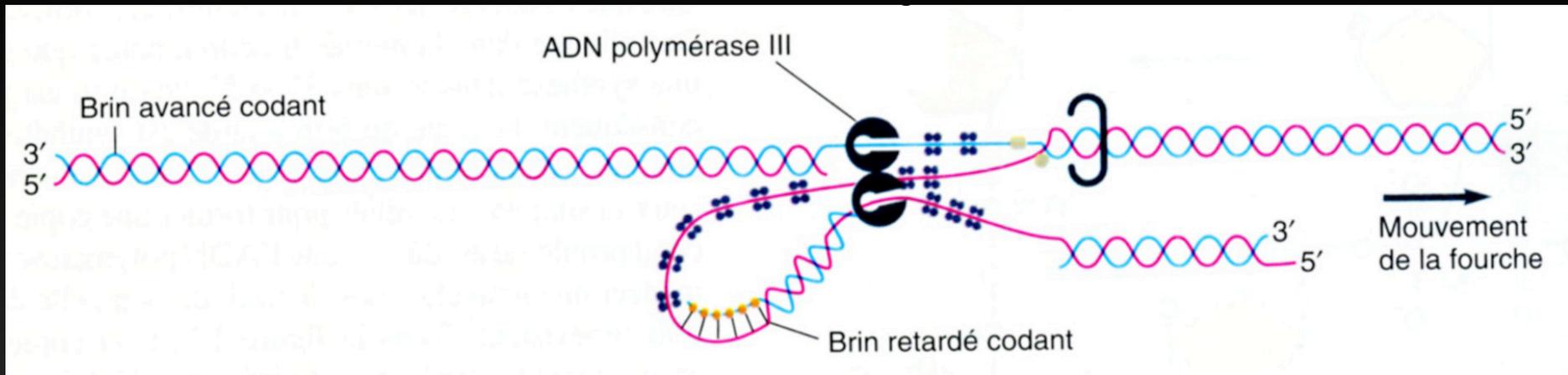
L'une des chaînes (**brin avancé**) est synthétisée en continu par l'ADN polymérase; l'autre chaîne (**brin retardé**) est générée en discontinu et des fragments (dits d'Okazaki, de 1000-2000 pb) sont produits dans la direction 5' → 3'



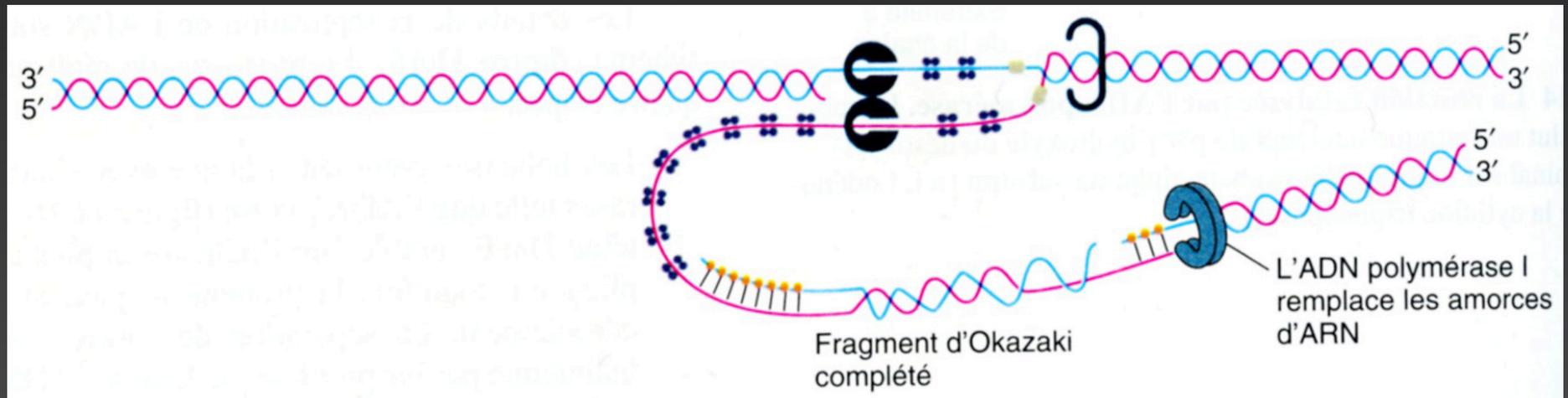
Une ARN polymérase particulière (**primase**) aidée de protéines accessoires (= **primosome**) synthétise une courte amorce (10 nucléotides) d'ARN complémentaire de l'ADN. L'ADN complémentaire de l'amorce est alors synthétisé par l'ADN polymérase (→ fragments d'Okazaki)



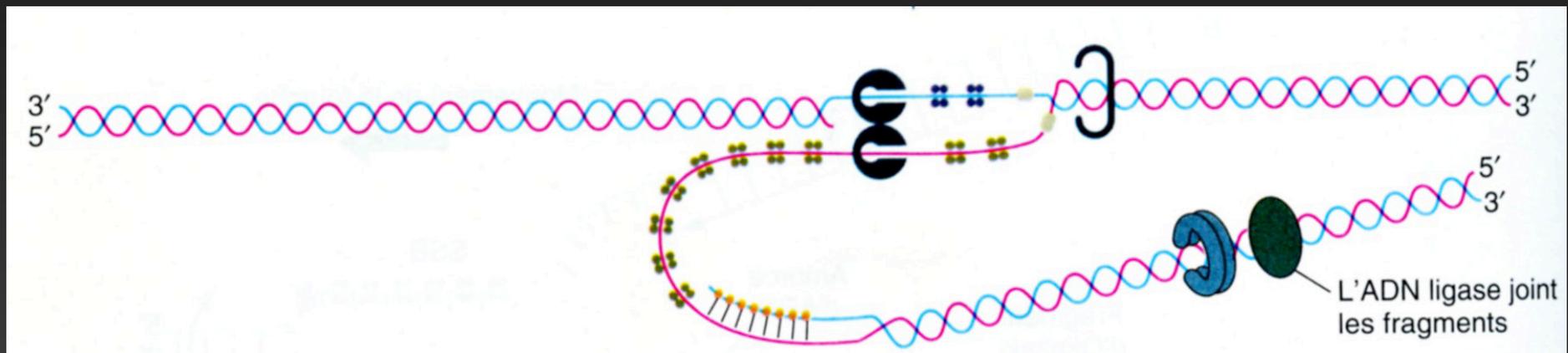
Le réplisome comporte deux complexes d'ADN polymérase III. Une polymérase copie en continu le brin avancé. Le brin retardé forme une boucle autour de l'autre polymérase, de telle sorte que les deux brins puissent être répliqués en même temps.



Dès que la plus grande partie du brin retardé a été répliquée par la formation des fragments d'Okazaki, l'ADN polymérase I (grâce à son activité exonucléase $5' \rightarrow 3'$) élimine chaque amorce (nucléotide par nucléotide) et la brèche résultant de l'élimination de l'ARN est ensuite comblée par le désoxynucléotide complémentaire ad hoc (la polymérase III peut aussi combler les lacunes)

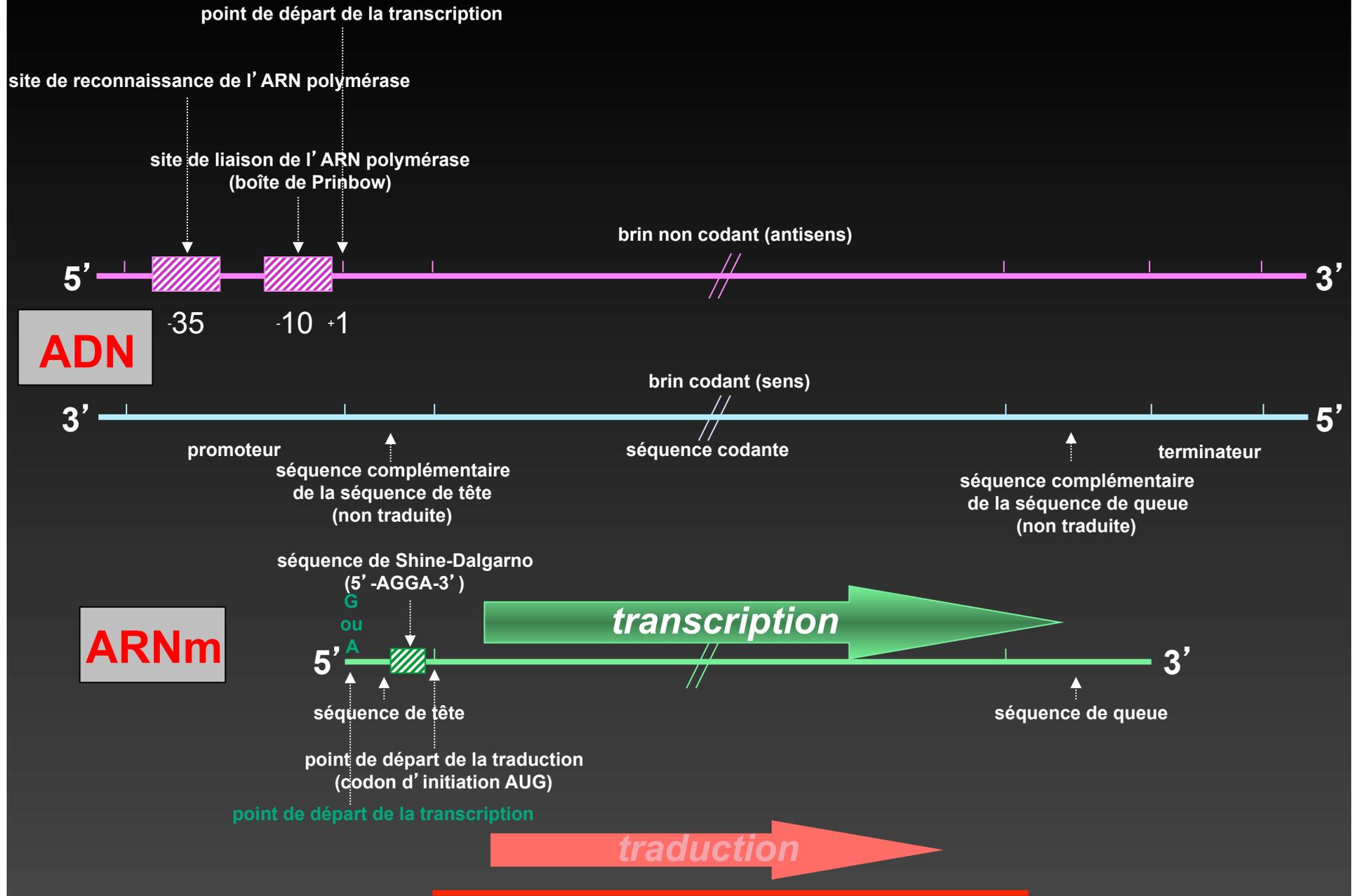


Finalemnt, les fragments d'ADN sont reliés par l'ADN ligase qui forme une liaison phosphodiester entre une extrémité 3'-OH et une extrémité 5'-monophosphate lorsque celles-ci sont juxtaposées, et à condition que le brin d'ADN complémentaire soit intact dans cette région.



Expression et régulation d'un gène bactérien

L'organisation d'un gène de structure bactérien



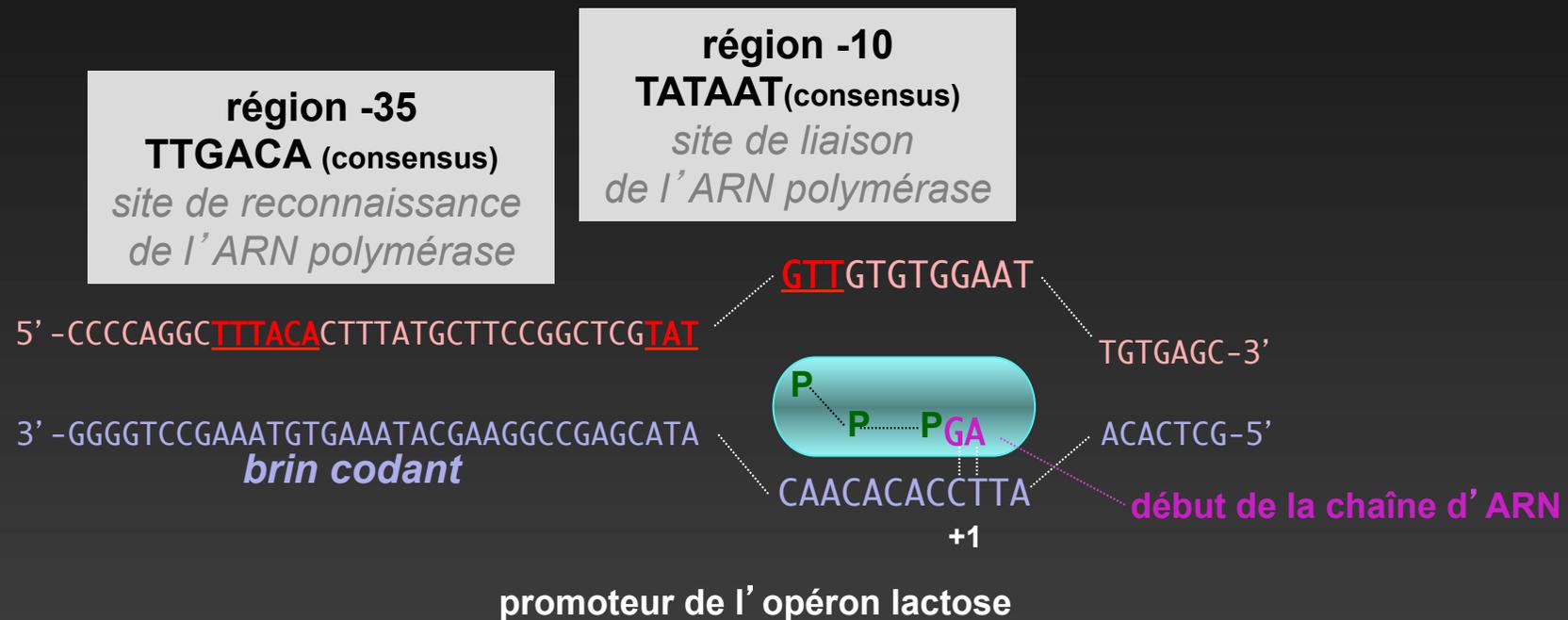
l'ARN polymérase,

un enzyme qui copie la séquence du brin codant, composé des chaînes polypeptidiques α , β , β' , ω , σ

❑ **le noyau (core) de l'enzyme, $\alpha_2 \beta \beta' \omega$ catalyse la synthèse de l'ARN**

❑ **les facteurs σ aident l'enzyme à reconnaître le début des gènes**

qui se fixe, grâce au facteur σ , au promoteur d'un gène



l'ARN polymérase se fixe et ouvre l'hélice d'ADN à hauteur de la boîte Pribnow; ce site de liaison de l'ARN polymérase est situé dans la région -10

les facteurs σ alternatifs (autres que σ_{70})

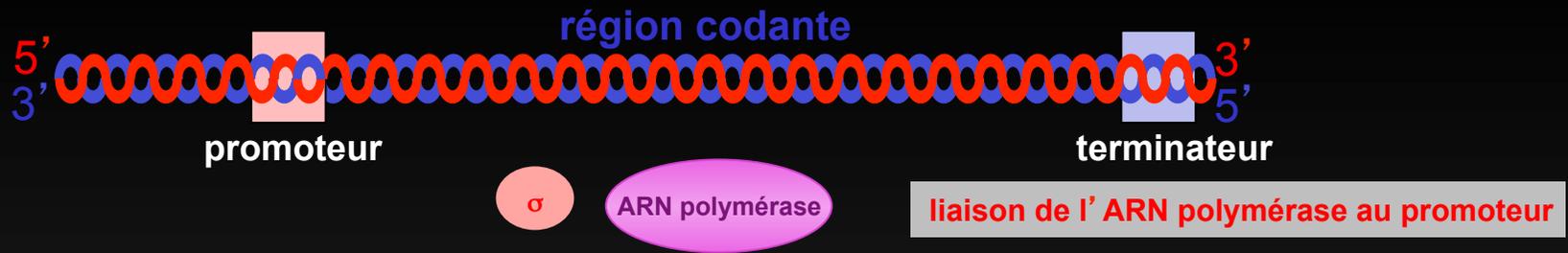
Les facteurs σ alternatifs d' *E. coli*

σ^N	gènes d' assimilation de l' azote
σ^F	gènes de synthèse du flagelle
σ^{19}	gènes de transport du fer
σ^S	gènes de stress
...	

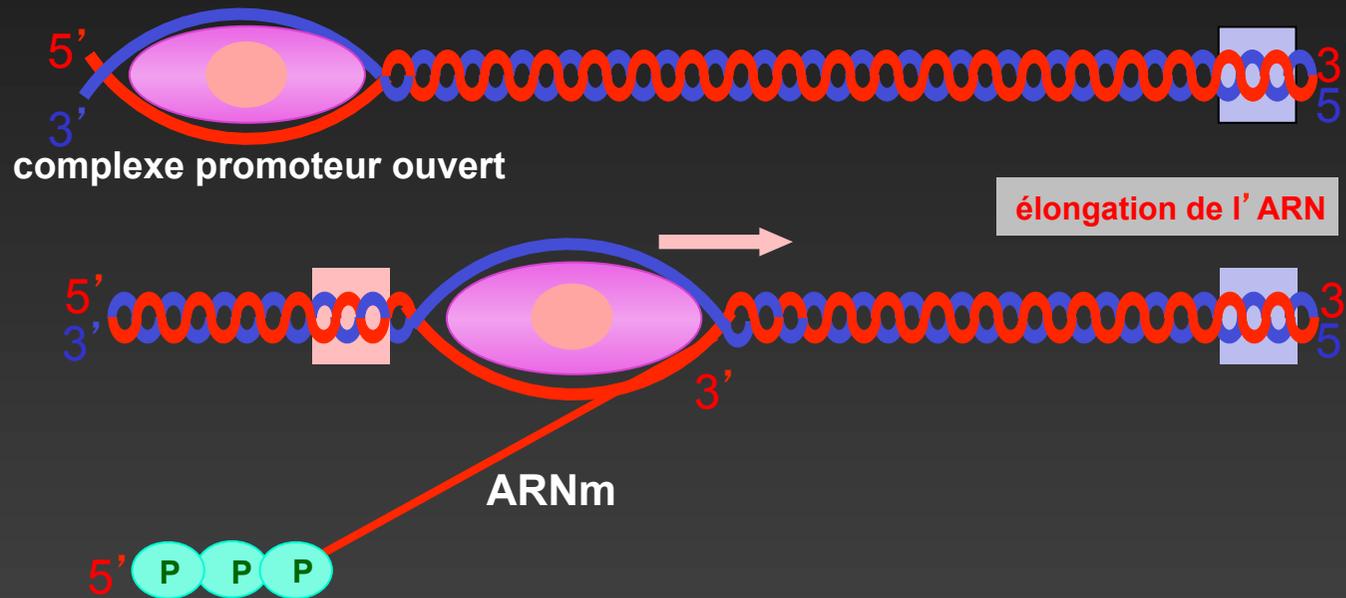
chaque facteur σ alternatif permet au noyau enzymatique de reconnaître un ensemble spécifique de promoteurs et de ne transcrire que les gènes correspondant

- ❑ chez *E. coli*, le facteur σ^{70} dirige l' activité de l' ARN polymérase dans des conditions normales
- ❑ lorsque flagelles et protéines chimiotactiques lui sont nécessaires, *E. coli* produit σ^F
- ❑ si la température devient trop élevée, σ^S est synthétisé et stimule la production de protéines de choc thermique protégeant la bactérie de la destruction

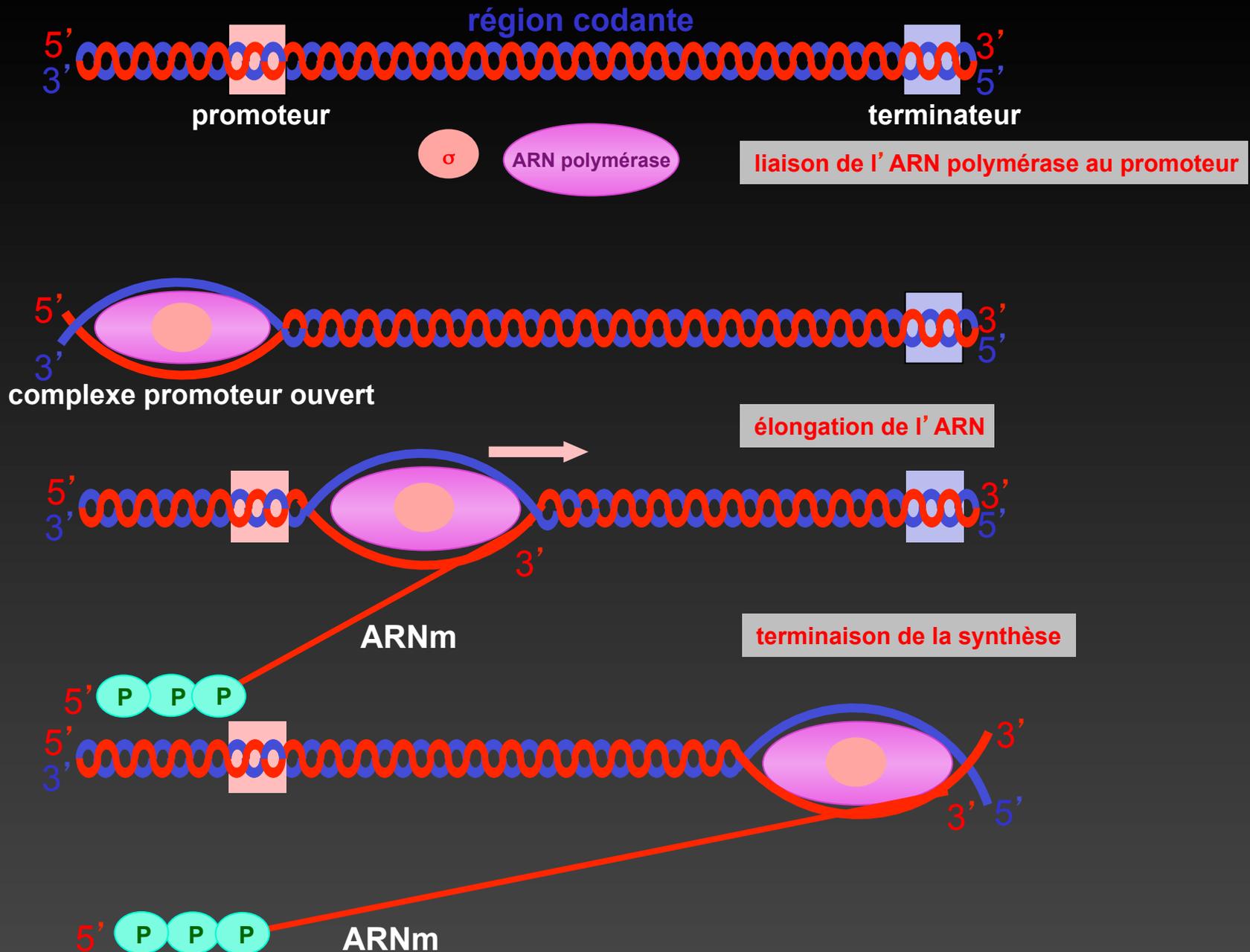
La transcription de l'ARNm à partir de l'ADN



par sa fixation, l'ARN polymérase déroule l'ADN pour former un complexe ouvert qui rend possible une copie du brin codant

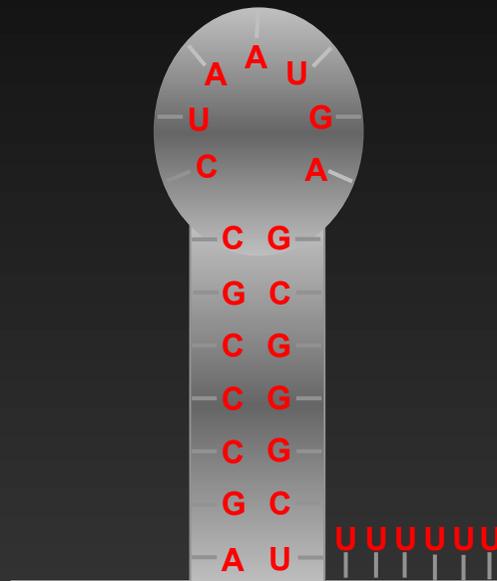


La transcription de l'ARNm à partir de l'ADN



l'ARN polymérase,
un enzyme dont l'activité est bloquée par un terminateur de transcription,
une séquence comprenant des signaux d'arrêt (ou de pause) marquant
la fin d'un gène

terminateur rho-indépendant



exemple de structure en épingle à
cheveux formée par une séquence
terminatrice d'ARNm



dissociation de l'ARN polymérase de l'ARNm

terminateur rho-dépendant

absence de région polyU

absence de structure en boucle

Intervention de la protéine Rho

La régulation transcriptionnelle

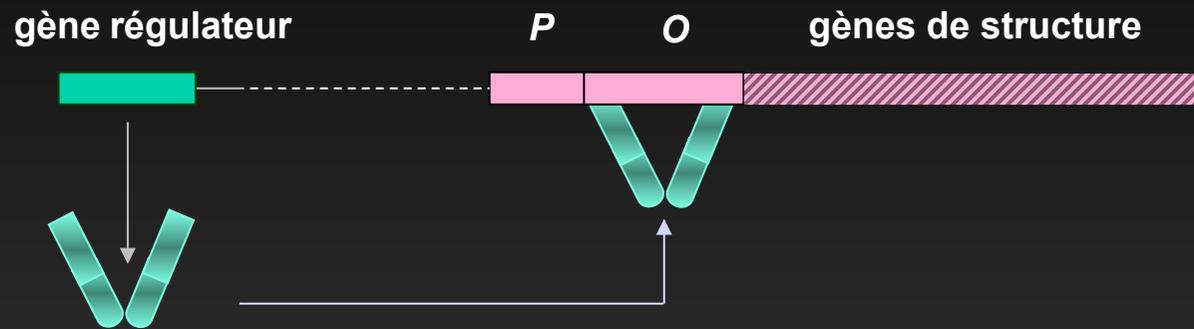
le mécanisme majeur de contrôle de l'expression génique chez les bactéries

*le contrôle négatif
(répression)*

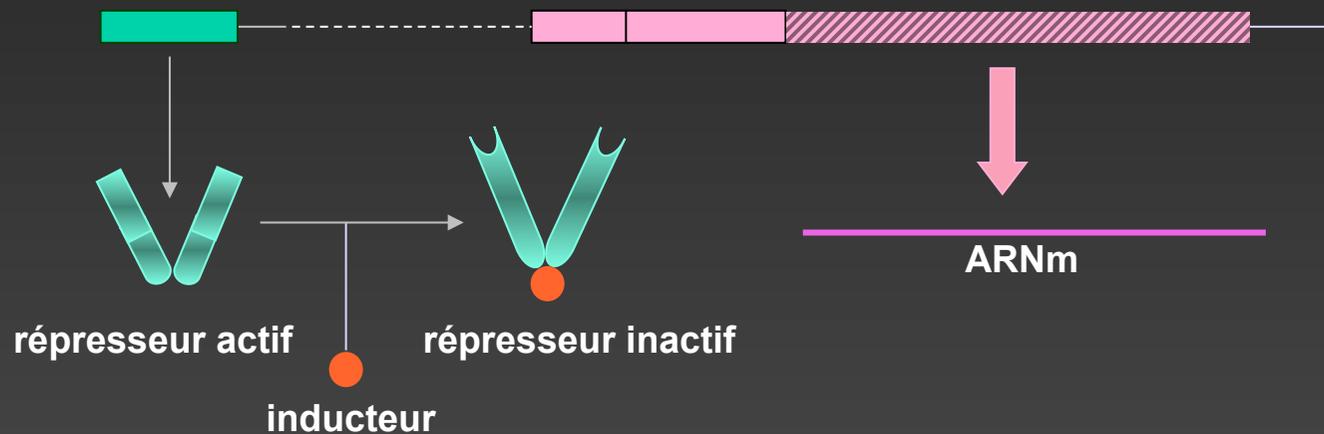
Le gène régulateur synthétise un répresseur actif qui se fixe sur l'opérateur O et empêche la fixation de l'ARN polymérase sur le promoteur P, sauf si l'inducteur I' inactive.

En présence de l'inducteur, le répresseur est inactif et la transcription peut se faire.

● **Gènes non transcrits**



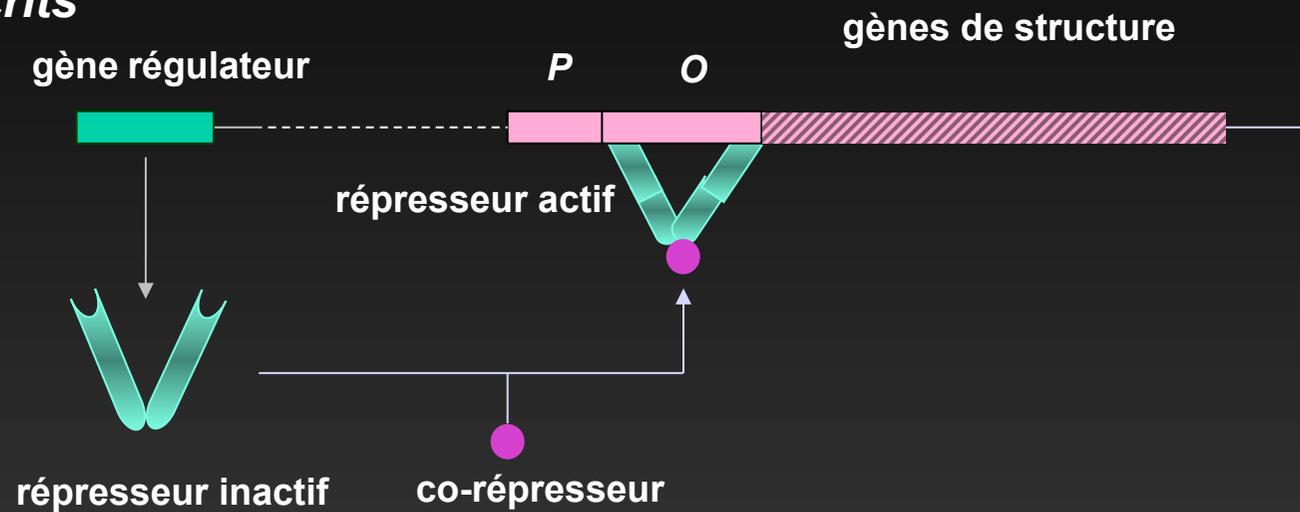
● **Gènes transcrits**



Le gène régulateur synthétise un répresseur protéique inactif qui doit être activé par la fixation du co-répresseur avant de pouvoir se fixer sur l'opérateur O et inhiber la transcription

En l'absence du co-répresseur, le répresseur est inactif et la transcription suit son cours

● **Gènes non transcrits**

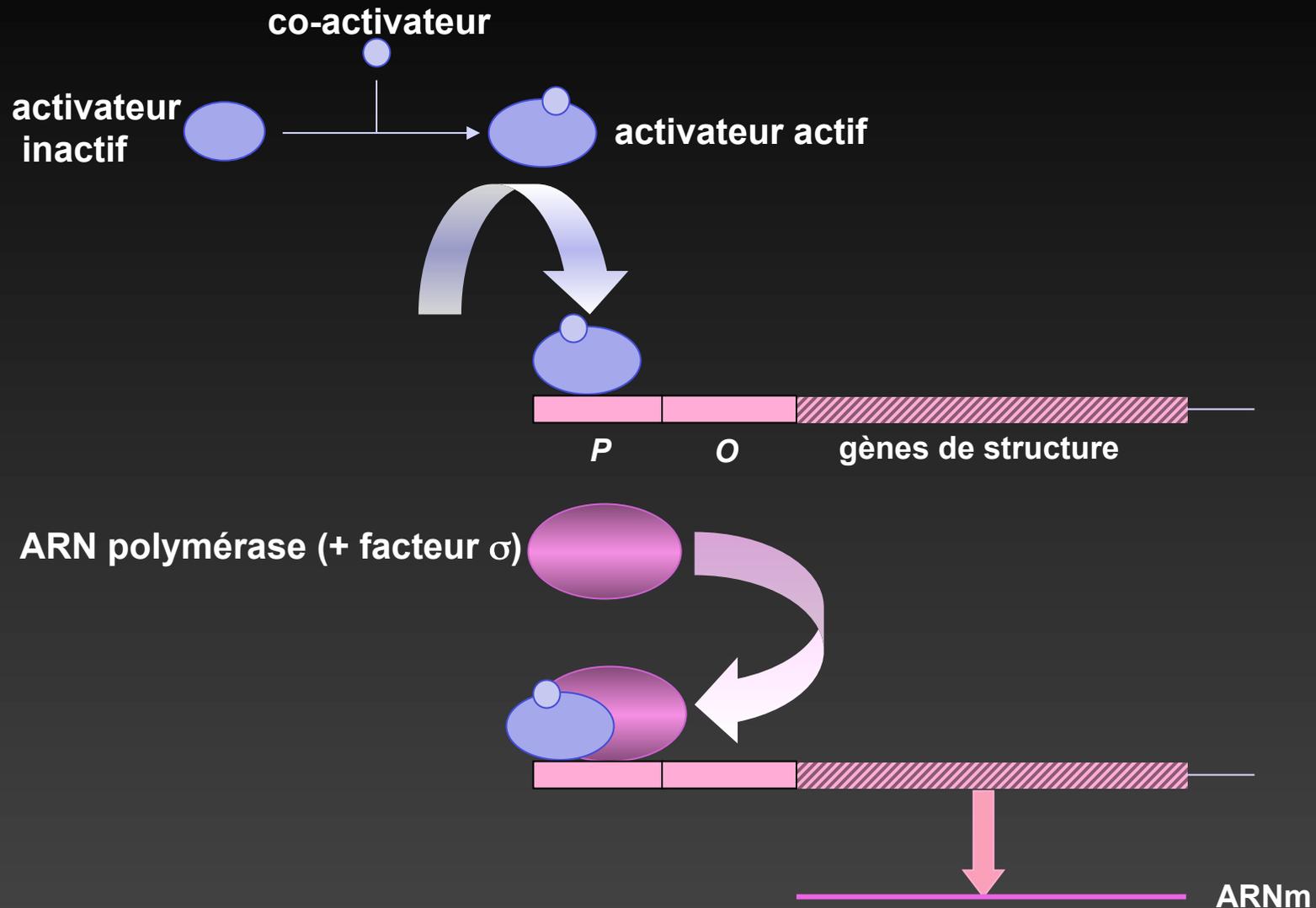


● **Gènes transcrits**



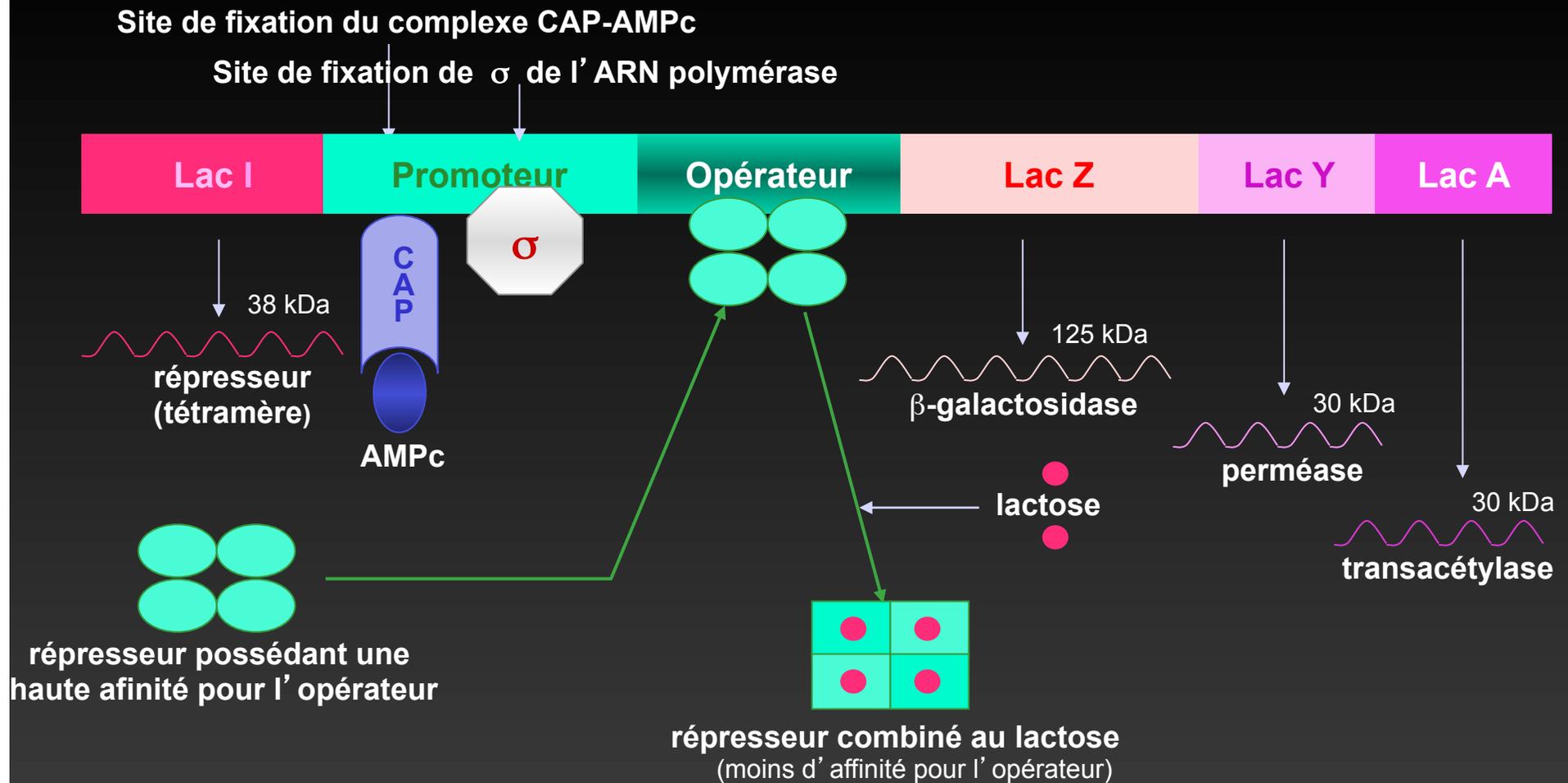
*le contrôle positif
(activation)*

En l'absence ou en présence de faibles quantités de co-activateur, l'activateur reste inactif et ne se fixe pas sur le promoteur. Dans ce cas, l'ARN polymérase ne s'y fixe pas non plus et ne transcrit pas les gènes de l'opéron.

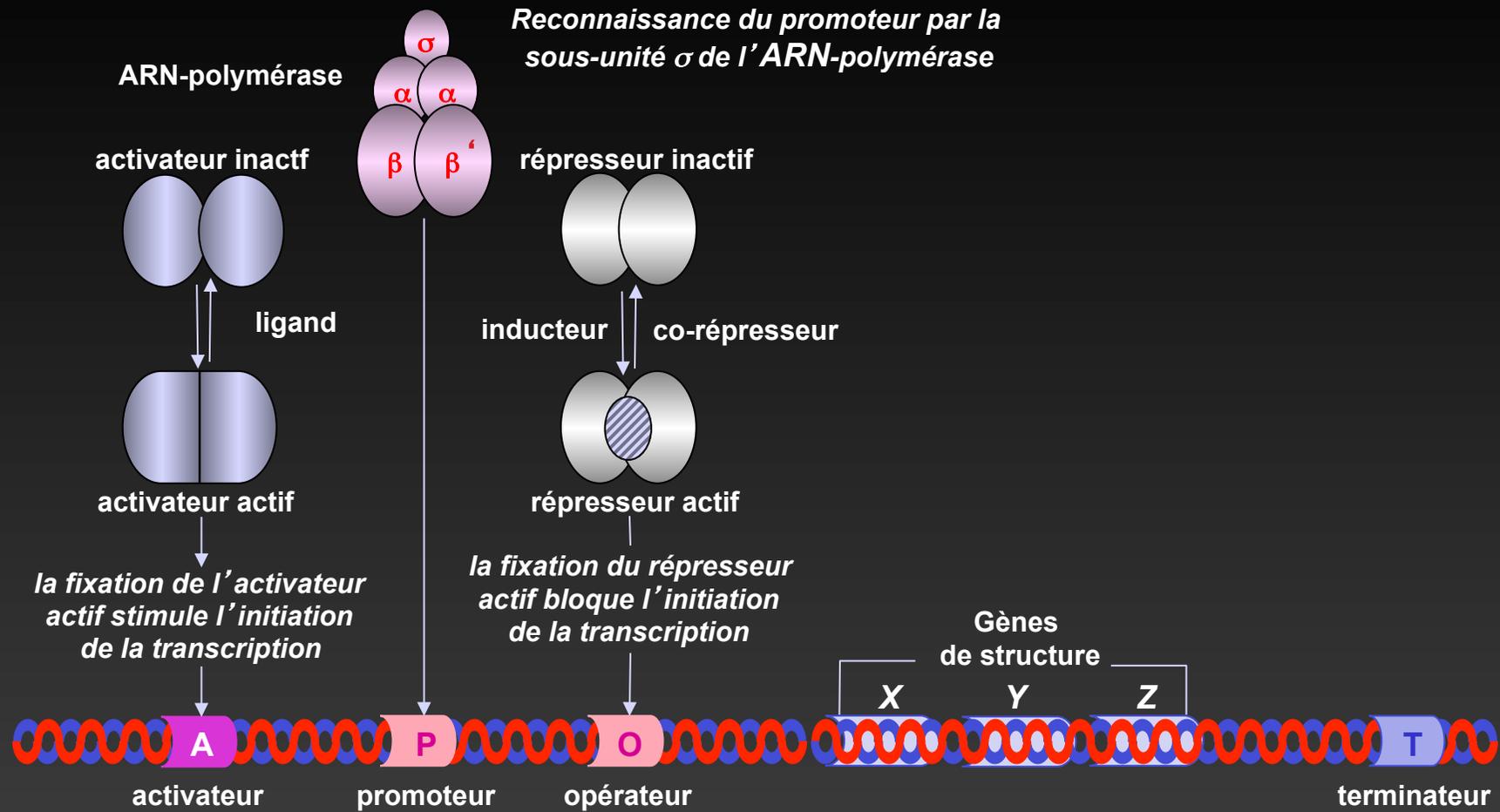


L'opéron lactose, un système génétique sous contrôle positif et négatif

(Lwoff, Jacob et Monod, Prix Nobel de Médecine, 1965)



Le gène *lacI* synthétise en continu, mais à très faible taux une protéine, le répresseur, qui possède une grande affinité pour l'opérateur et donc s'y fixe, bloquant le passage de l'ARN polymérase. Si du lactose est apporté, il s'associe au répresseur, lui faisant perdre son affinité pour l'opérateur : le gène est alors transcrit. Toutefois, pour une transcription efficace, le facteur sigma est solidement fixé au promoteur grâce au concours du complexe activateur CAP-AMPc



L'atténuation transcriptionnelle

ou

la terminaison précoce de la transcription d'un opéron

largement utilisée dans les opérons biosynthétiques

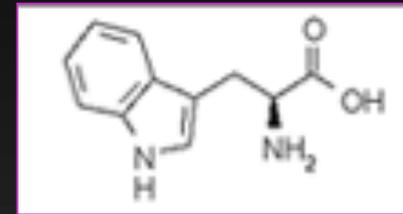
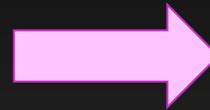
ne nécessitant pas la synthèse d'une protéine régulatrice

La biogenèse du tryptophane

le promoteur - opérateur

le peptide leader et l'atténuateur

l'opéron *trp* (*trpEDCBA*)



l'opéron *trp* est régulé par un répresseur (TrpR) et un atténuateur

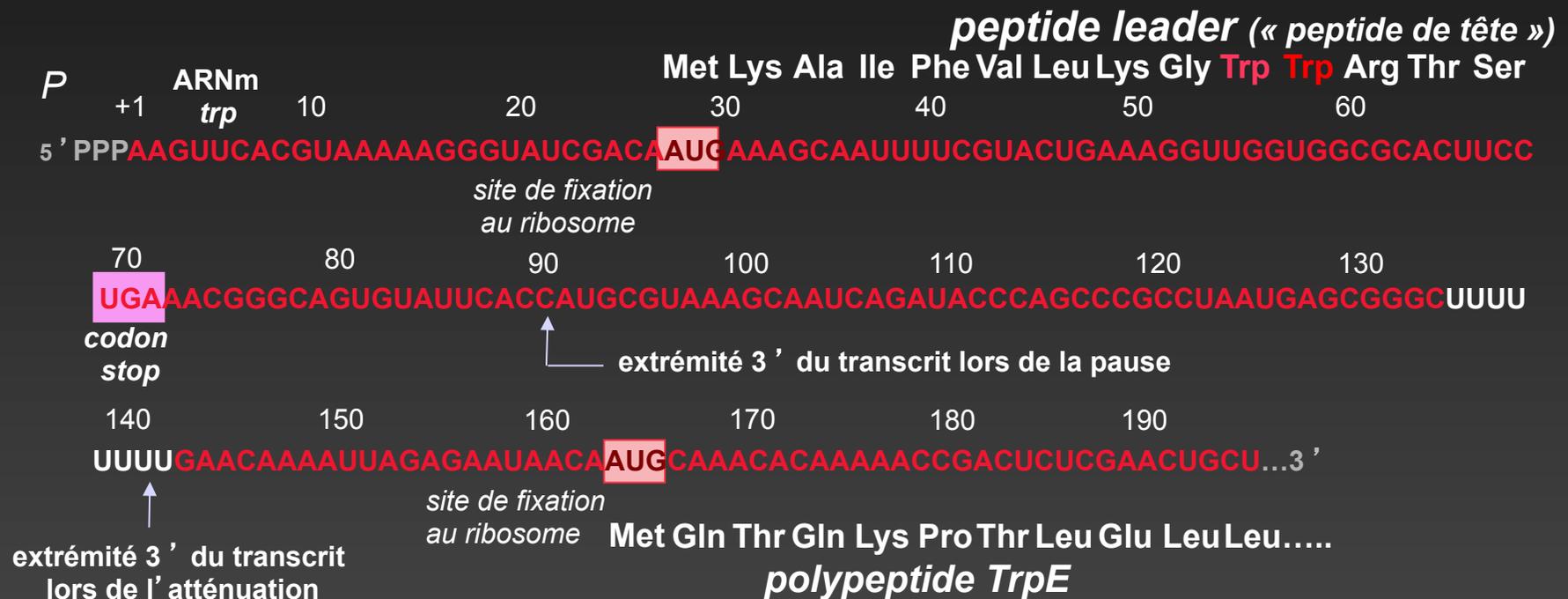
[Try] ↓  « dérégulation » de l'opéron *trp*

[Try] ↓ ↓ ↓  empêchement de la terminaison précoce de la transcription de l'opéron *trp*

Les régions régulatrices de l'opéron *trp*

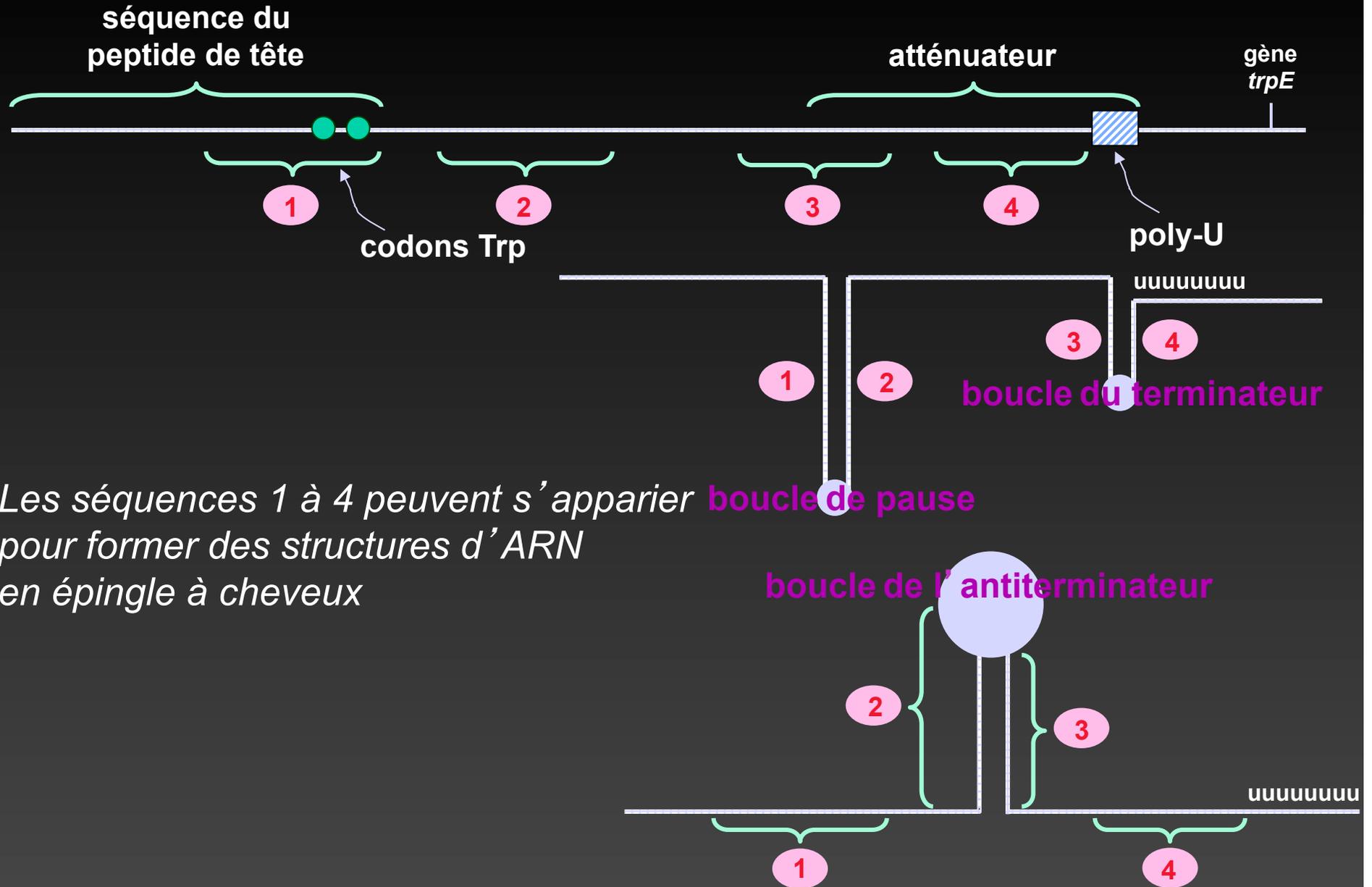
Le point de départ de la transcription est situé à environ 160 pb du début de *trpE* et le transcrit correspondant à cette séquence intermédiaire, la **séquence leader**, contient les principaux éléments spécifiques du contrôle par atténuation

- la séquence du *peptide leader* consiste en 14 codons (dont deux Try en tandem) et comporte un codon d'initiation AUG et le site de fixation du ribosome correspondant, ainsi qu'un codon d'arrêt



☐ quatre segments (1, 2, 3, et 4) qui peuvent s'apparier et conduisent à des structures en épingles à cheveux :

boucles de pause (1:2), du terminateur (3:4), de l'antitermineur (2:3)

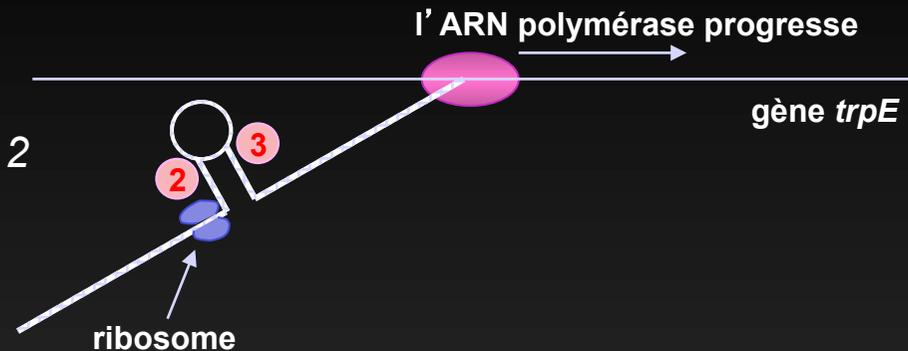


Les séquences 1 à 4 peuvent s'apparier pour former des structures d'ARN en épingle à cheveux

Le contrôle par atténuation de l'opéron *trp*

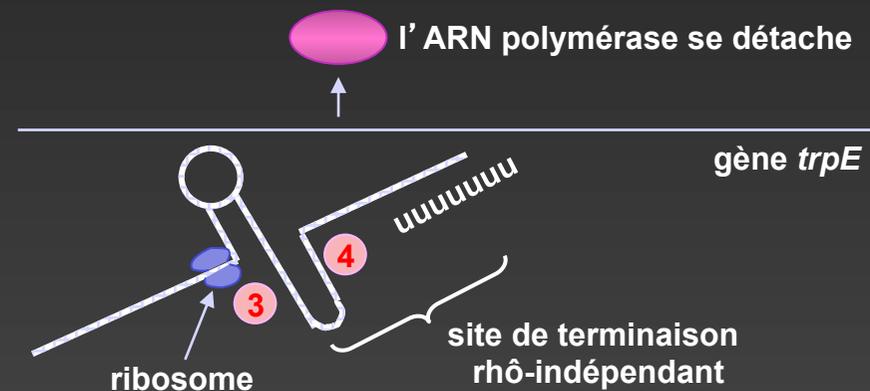
1. Il existe une carence cellulaire de tryptophane

Le ribosome s'arrête aux codons Trp dans la séquence 1 et force la séquence 2 à s'apparier avec la séquence 3. La région 4 reste monocaténaire et le site de terminaison n'est pas formé.



2. Du tryptophane est disponible pour la synthèse de Trp- ARNt

Un ribosome synthétise le peptide de tête, se déplace le long de l'ARNm et s'arrête au codon stop placé entre les segments 1 et 2. Cet arrêt du ribosome masque suffisamment la région 2 et l'empêche de s'apparier avec la région 3. Les segments 3 et 4 s'apparient et l'ARN polymérase s'arrête au niveau de l'atténuateur.



La régulation globale

un contrôle coordonné de l'expression d'un ensemble de gènes (*régulon*)
exercé par une seule protéine régulatrice (activateur ou répresseur)
en réponse à une situation donnée

Les systèmes de régulation à deux composants des systèmes de transduction d'un signal très conservés permettant une adaptation au milieu environnant

□ le capteur du signal, une protéine trans-membranaire

un module d'entrée (N-terminal) percevant le stimulus

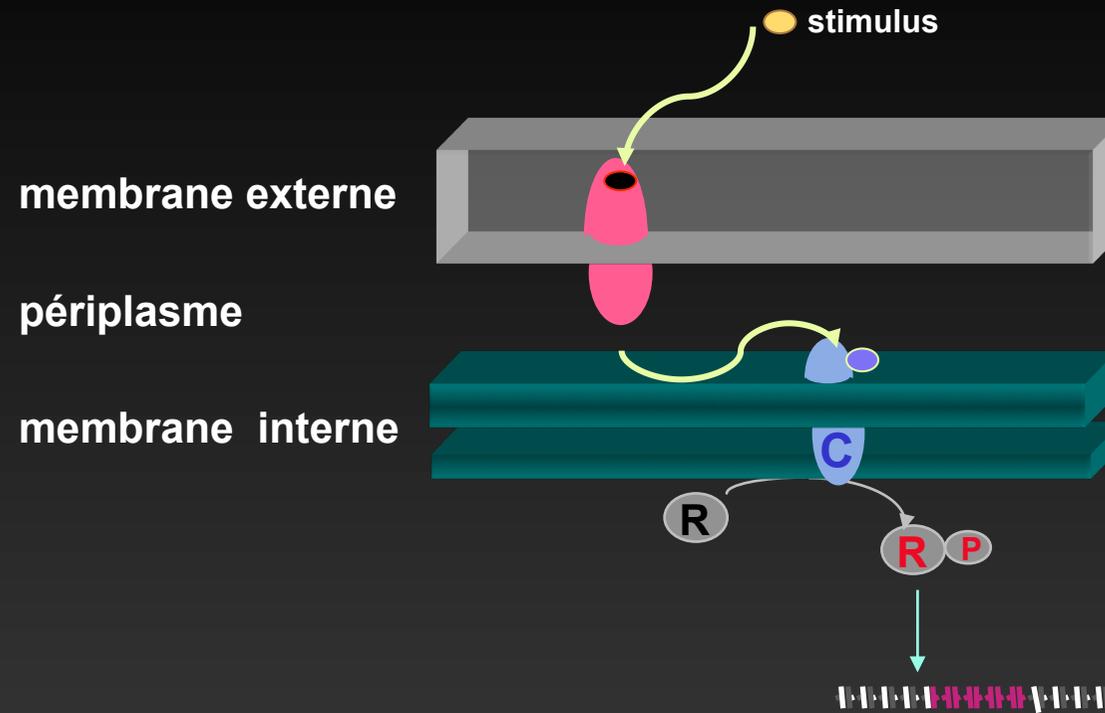
*un module transmetteur (C-terminal) fixant une molécule d'ATP
et catalysant son auto-phosphorylation (activité kinase) sur un résidu His*

□ le régulateur, une protéine cytoplasmique

*un module receveur (N-terminal) recevant le groupement phosphate
transmis par le résidu phospho-His du capteur et le fixant sur un
résidu Asp*

un module de sortie (C-terminal) se fixant à l'ADN grâce à un motif HTH

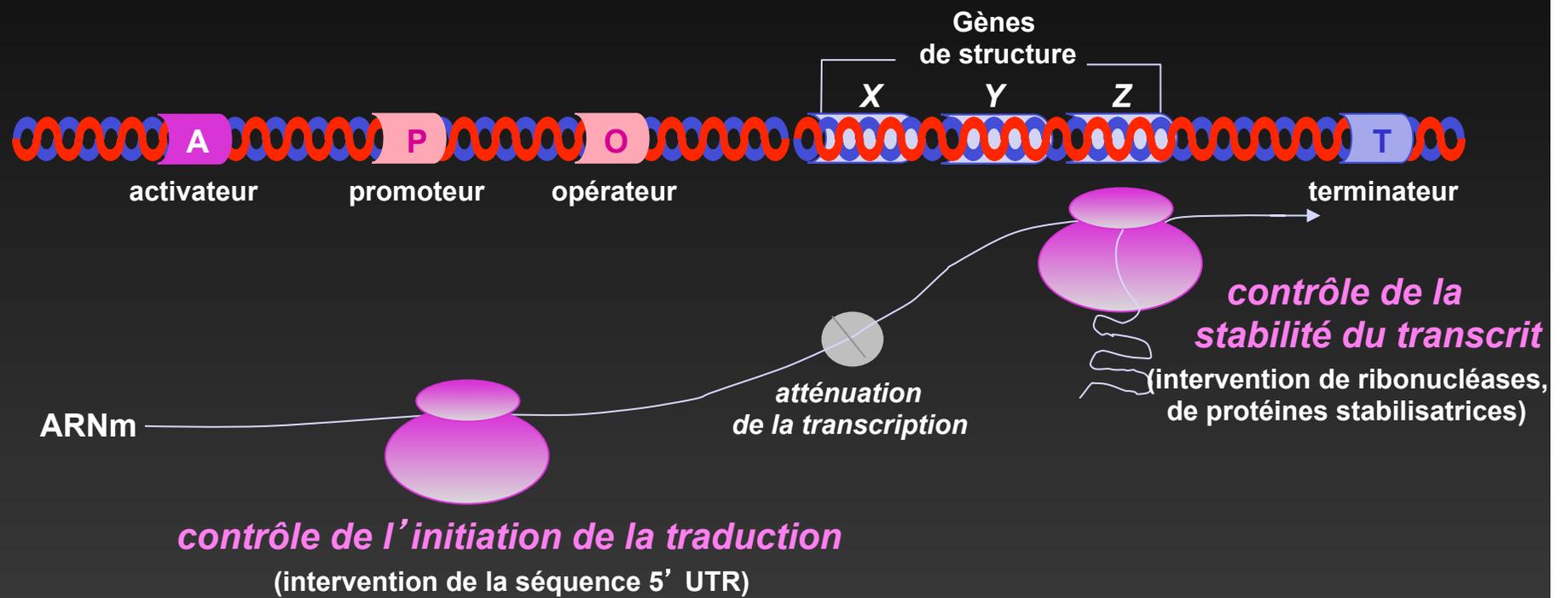
Les systèmes de régulation à deux composants



quelques exemples....

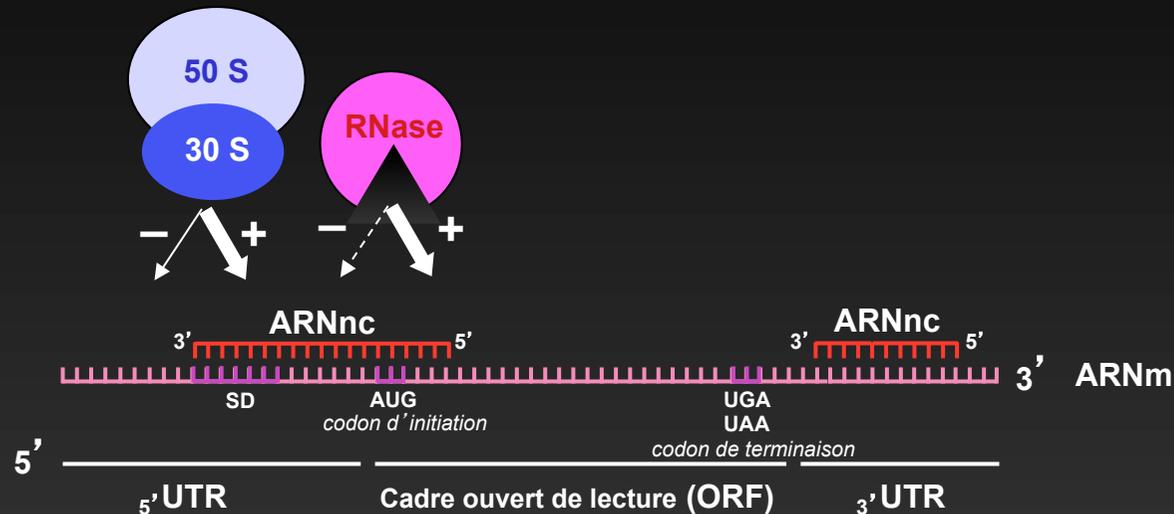
Système	Stimulus
NtrB-NtrA	Carence en azote intracellulaire
EnvZ-OmpR	Pression osmotique élevée
PhoQ-PhoP	Carence en calcium et magnésium

La régulation post-transcriptionnelle



Des petits ARN (55-550 nucléotides), non codant (ARNnc), contrôlent l'expression de gènes

Temporairement assistés par des protéines (RNA chaperones, Hfq) facilitant l'interaction moléculaire, la régulation s'exerce par appariement des ARNnc avec les ARN cibles ou formation de complexes ribonucléoprotéiques



Les ARNm comportent en 5' et 3' des séquences qui ne sont pas traduites (UTR, Untranslated RNA) auxquelles les ARNnc peuvent s'apparier

Les ARN "non codants" (ARNnc) peuvent réprimer ou activer l'initiation de la synthèse protéique en bloquant ou en promouvant la fixation du ribosome sur l'ARN messager (ARNm) par appariement au (ou autour du) codon d'initiation ou de la séquence de Shine Dalgarno (SD)

Ils sont également susceptibles de déstabiliser ou d'empêcher la dégradation d'ARNm cibles en accroissant ou diminuant l'accessibilité de diverses RNAases par induction d'appariements spécifiques avec des ARN cibles

Transferts de gènes chez les bactéries

Le devenir d'un ADN exogène après transfert dans une bactérie réceptrice

Substitution de matériel génétique

L'ADN exogène présente de larges homologies avec une région du génome de la bactérie réceptrice

➡ **recombinaison homologue** (l'ADN exogène doit présenter des séquences nucléotidiques de 25 à 200 pb très similaires à celles de l'ADN « endogène »)

Addition de matériel génétique

L'ADN exogène ne présente aucune homologie (ou une homologie très limitée) avec le génome de la bactérie réceptrice

➡ **absence de recombinaison homologue**

L'ADN exogène s'intègre dans le génome (transposons, bactériophages) ou se réplique de manière autonome (plasmides, bactériophages)

Les transferts de gènes entre souches d'une même espèce ou d'espèces éloignées jouent un rôle essentiel dans l'évolution bactérienne (avantage sélectif)

Ils s'effectuent par transformation, transduction ou conjugaison

La transformation (Griffith, 1928)



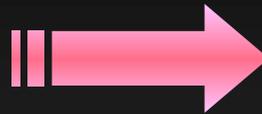
Pneumocoque sauvage (sérotypage 1)
capsulé (S1) et vivant



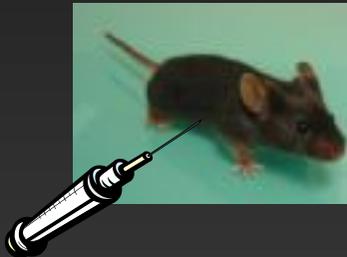
Mort de la souris
Présence de pneumocoque S1 dans la rate



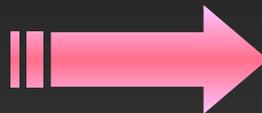
Pneumocoque sauvage (sérotypage 1)
capsulé (S1) et tué par la chaleur



Survie de la souris



Mutant de pneumocoque (type 3)
sans capsule (R3) et vivant



Survie de la souris
Absence de pneumocoque R3 dans la rate



Pneumocoque S1 tué + Mutant R3 vivant



Mort de la souris
Présence de pneumocoque S1 dans la rate

La transformation

=

la capture par une bactérie d'un fragment (parfois de plusieurs kilobases) d'ADN exogène et nu, suivie de l'incorporation de celui-ci dans le chromosome de la cellule réceptrice et de son maintien dans la progénie

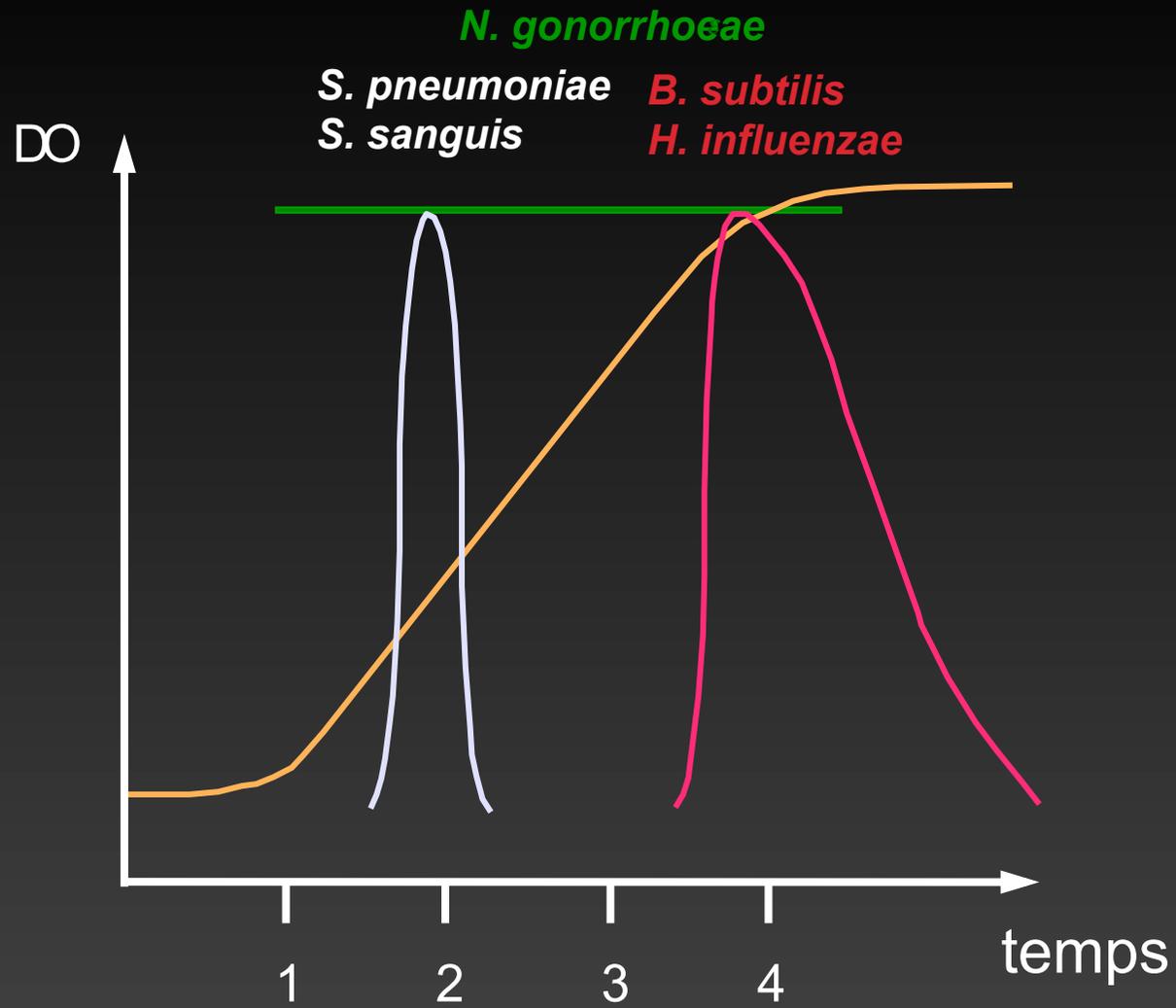
La transformation

un transfert de gènes susceptible d'être réalisé à une fréquence élevée (10^{-3}) si la bactérie réceptrice est très "compétente"

la compétence, un état habituellement transitoire et survenant dans certaines conditions (densité cellulaire, température, concentrations de nutriments,...), au cours duquel des bactéries (*Streptococcus*, *Bacillus*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*.....et d'autres...) sont capables d'acquérir de l'ADN exogène

cet état peut être créé artificiellement par perméabilisation d'une bactérie qui ne possède pas cette aptitude par le chlorure de calcium à froid

La compétence, un état bactérien transitoire



La transformation

un événement réalisé en 3 étapes successives :

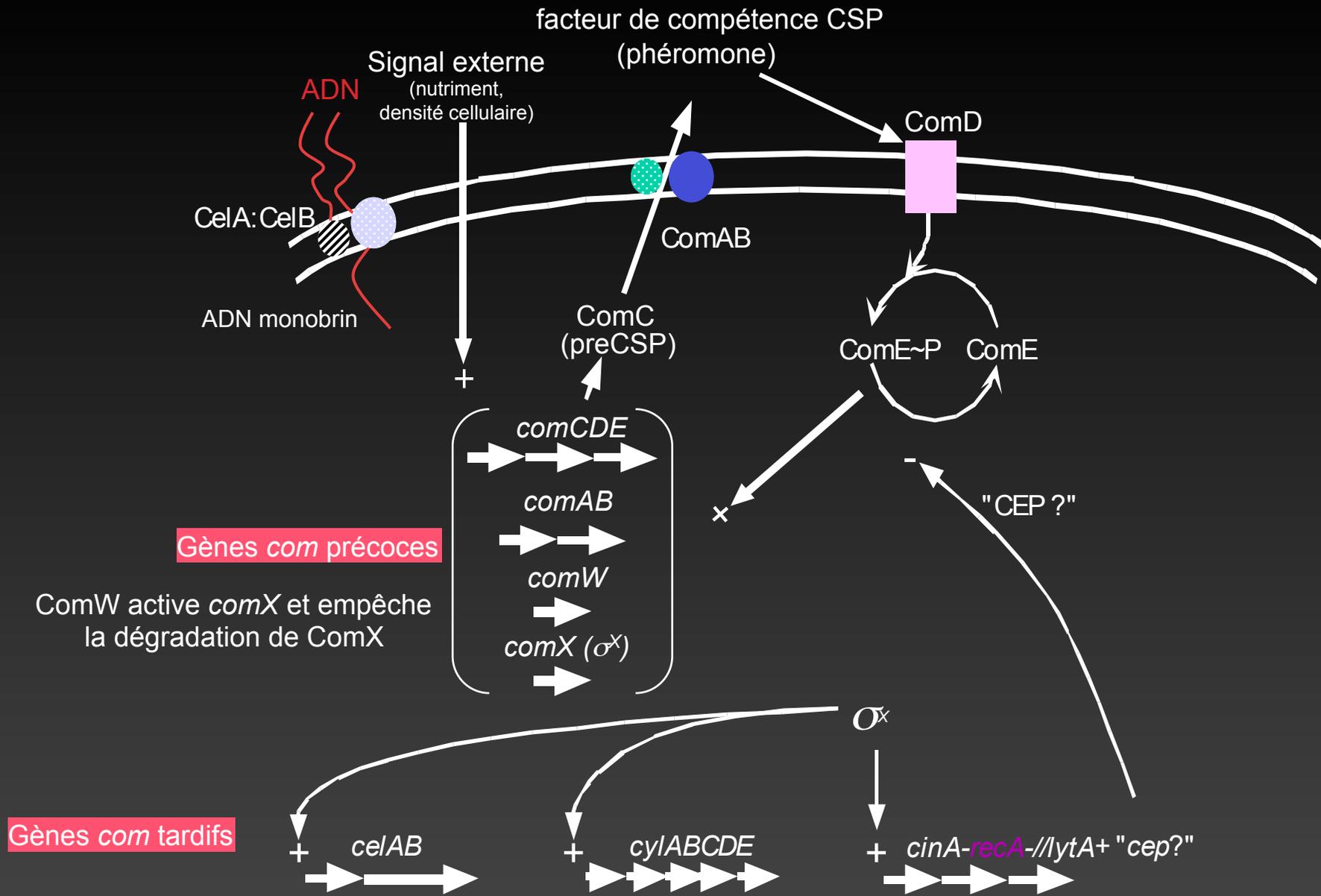
1. La fixation de l'ADN exogène à la surface bactérienne

(certaines espèces compétentes sont très sélectives dans l'ADN qu'elles incorporent)

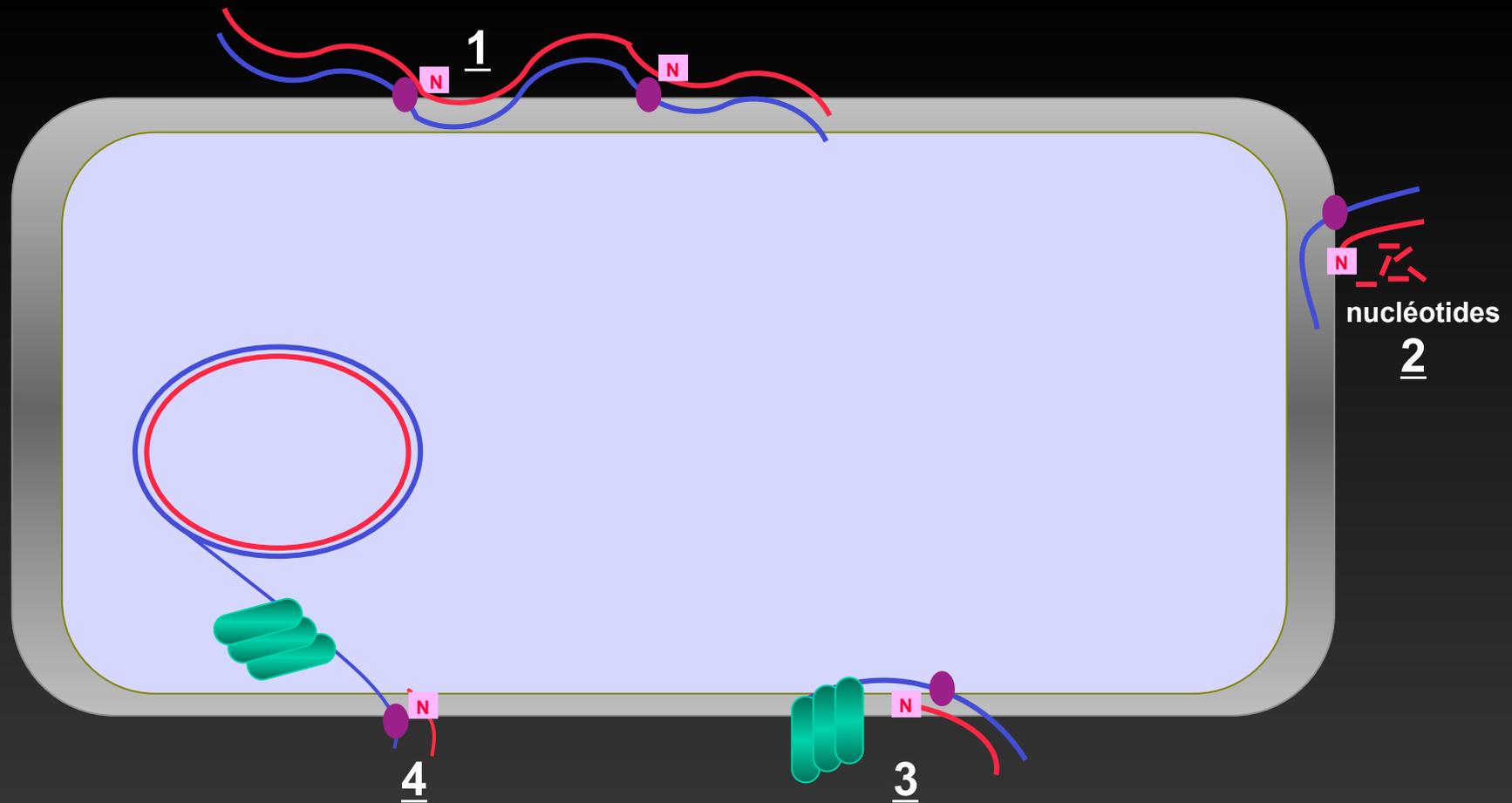
2. La traversée de la membrane cytoplasmique, via un pore, grâce à l'énergie fournie par une ATPase

3. L'intégration de l'ADN exogène (jusqu'à 10 kb) dans le chromosome de la bactérie réceptrice par un mécanisme de recombinaison homologue dépendant de la recombinaison RecA codée par le génome hôte.

Régulation de la compétence chez *Streptococcus pneumoniae*



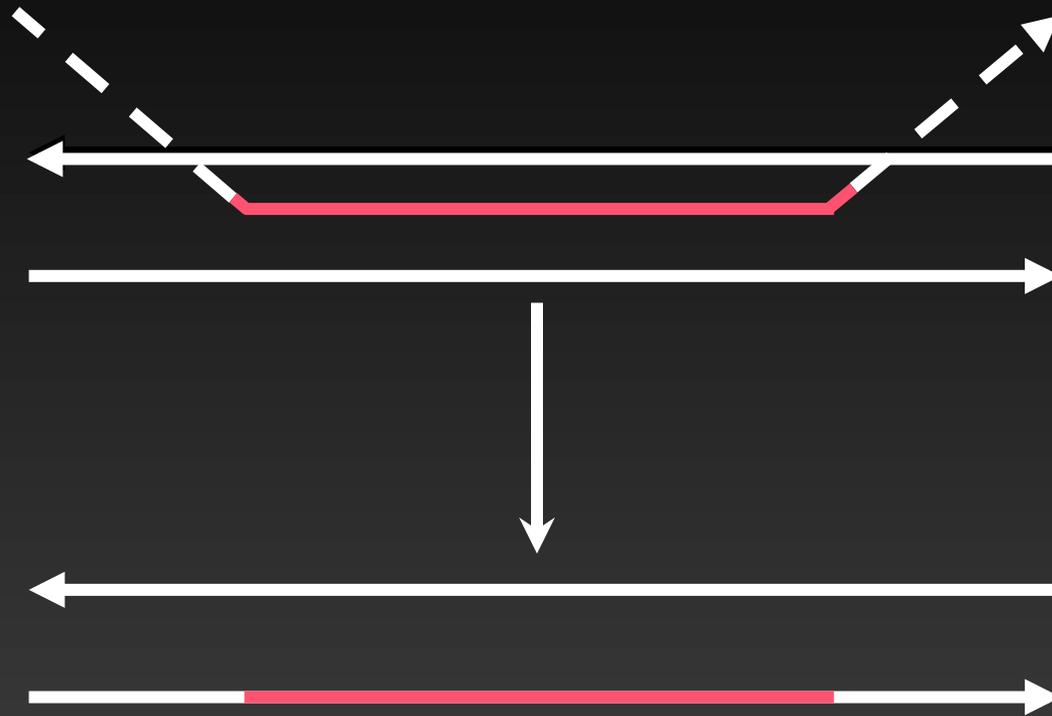
la transformation naturelle, une propriété décrite chez 1% des espèces



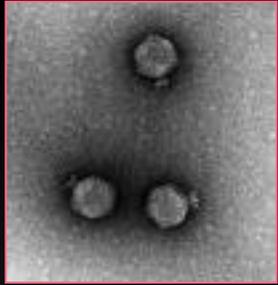
(1) Une longue molécule d'ADN se fixe à la surface grâce à une protéine liant l'ADN et subit une coupure sur l'un de ses deux brins par une nucléase **N**. (2) Un des deux brins est dégradé par la nucléase. (3) Le brin intact s'associe à une protéine spécifique de la compétence. (4) L'ADN simple brin pénètre dans la cellule et est intégré dans le chromosome en lieu et place de la région homologue de l'ADN de l'hôte.

de larges homologies entre l'ADN exogène et endogène sont nécessaires

l'ADN provient de la même espèce ou d'une espèce bactérienne proche



**Remplacement
allélique**



La transduction

=

un transfert de gènes bactériens assurés par les bactériophages des virus ayant un spectre d'hôte étroit (une espèce, voire certaines souches d'une espèce), **sauf exception** (plusieurs espèces)

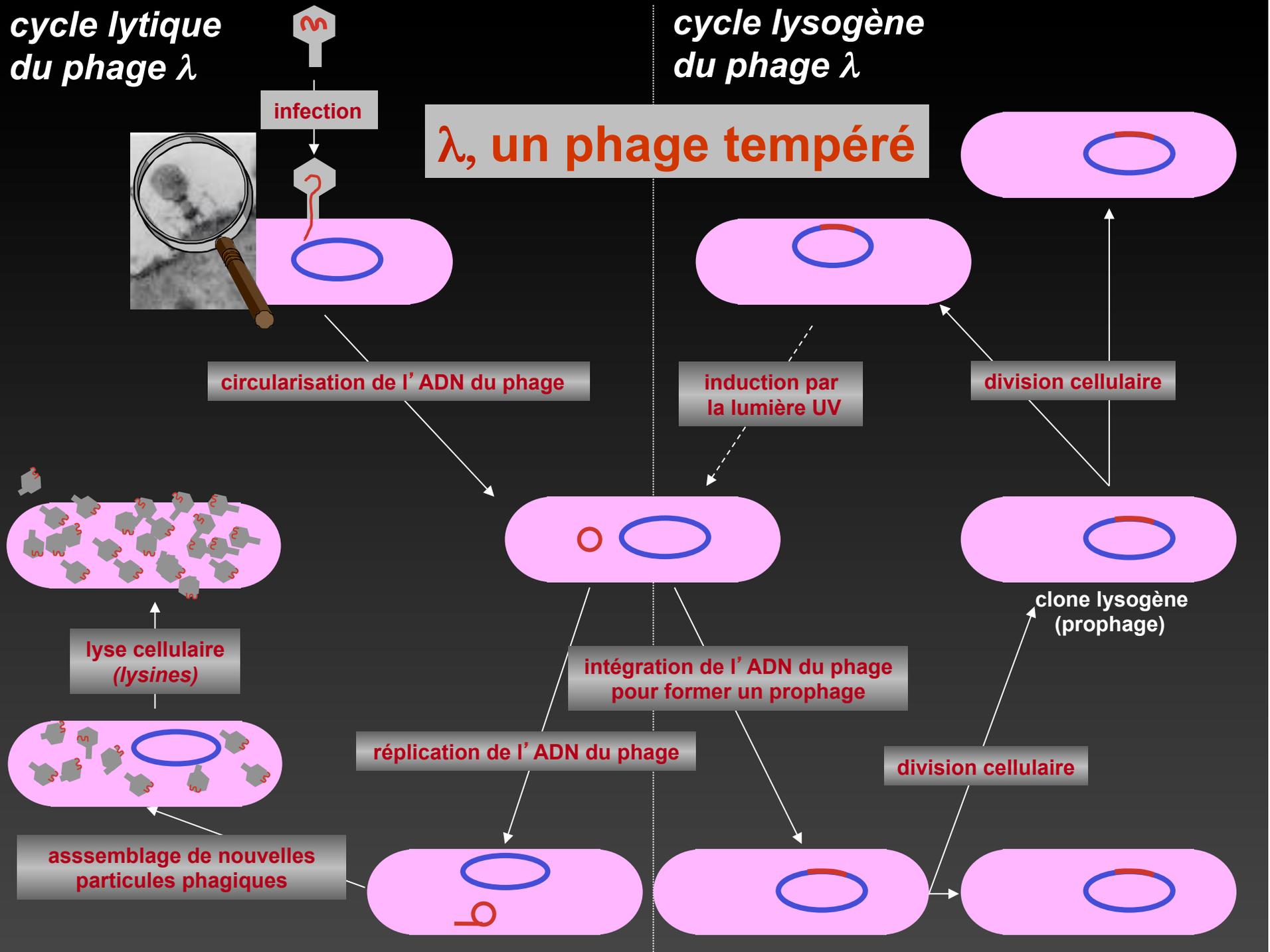
les phages transducteurs, des virus à ADNdb



**cycle lytique
du phage λ**

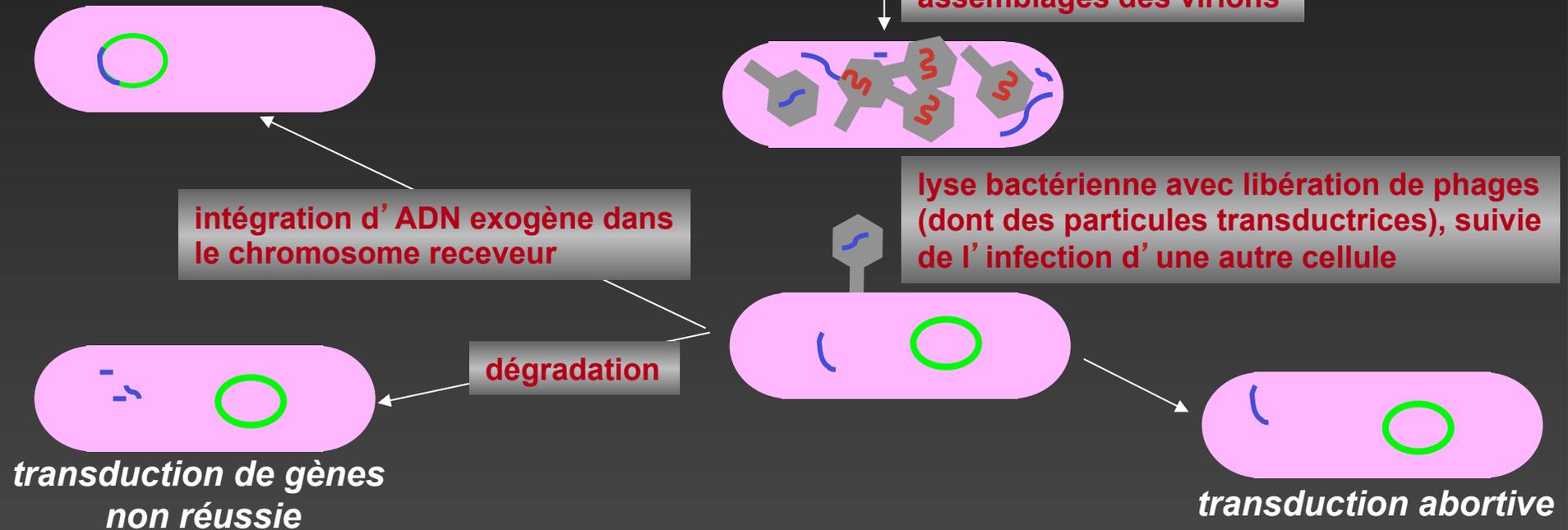
**cycle lysogène
du phage λ**

λ , un phage tempéré



La transduction généralisée (Lederberg & Zinder, 1951)

n'importe quel fragment du génome
bactérien est encapsidé, *par erreur*,
au cours du cycle lytique d'un phage



La transposition

=

**un événement rare (fréquence = 10^{-5} à 10^{-6}),
réalisé en l'absence d'homologie entre les ADN interagissant,
indépendamment de la protéine RecA,
survenant théoriquement n'importe où sur un réplicon,
nécessitant une transposase**

Les éléments transposables

des segments mobiles d'ADN présents sur un réplicon (chromosome, plasmide), qui sont capables de s'insérer ailleurs, sur le même ou sur un autre réplicon

incapables de se répliquer

s'intégrant dans un réplicon par recombinaison illégitime dans des sites privilégiés d'insertion (*la transposase peut recombiner des séquences d'ADN sans homologie*)

possédant des séquences répétées inversées à leurs extrémités et qui, en s'insérant, induisent la duplication d'une courte séquence (5-9bp) de l'ADN receveur (séquence cible)



séquence cible



*coupures décalées (de 5 ou 9 bases, en général)
au niveau de la séquence cible*



mise en place de l'élément transposable



*comblement des lacunes et ligature
(intervention du système de réparation SOS)*



copie de la
séquence cible

élément transposable

copie de la
séquence cible

Séquence d'insertion (IS)

AACGGTCCATGGCCATCCAT
TTGCCAGGTACCGGTTAGGTA

ATGGATGGGCATGGACCGTT
TACCTACCCGGTACCTGGCAA

IR

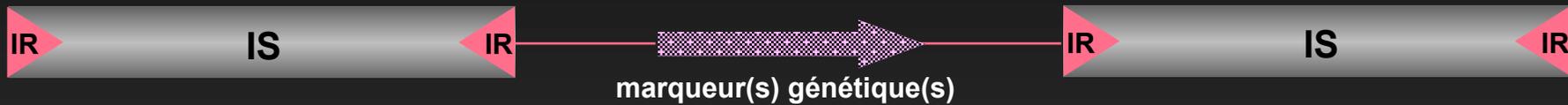
IR

transposase

IS	longueur	IR	cible
IS1	768 pb	23 pb	9-8 pb
IS2	1327 pb	41 pb	5 pb
IS3	1400 pb	38 pb	3-4 pb
IS4	1428 pb	18 pb	11-12 pb

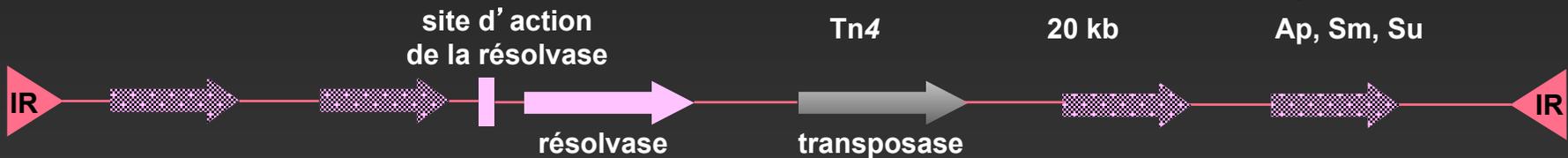
Transposon composite

transposon	longueur	module terminal	marqueur génétique
Tn5	5700 pb	IS50	Km, Sm
Tn9	2500 pb	IS1	Cm
Tn1681	2061 pb	IS1	Entérotoxine



Transposon non composite

transposon	longueur	marqueur génétique
Tn3	5 kb	Ap
Tn4	20 kb	Ap, Sm, Su



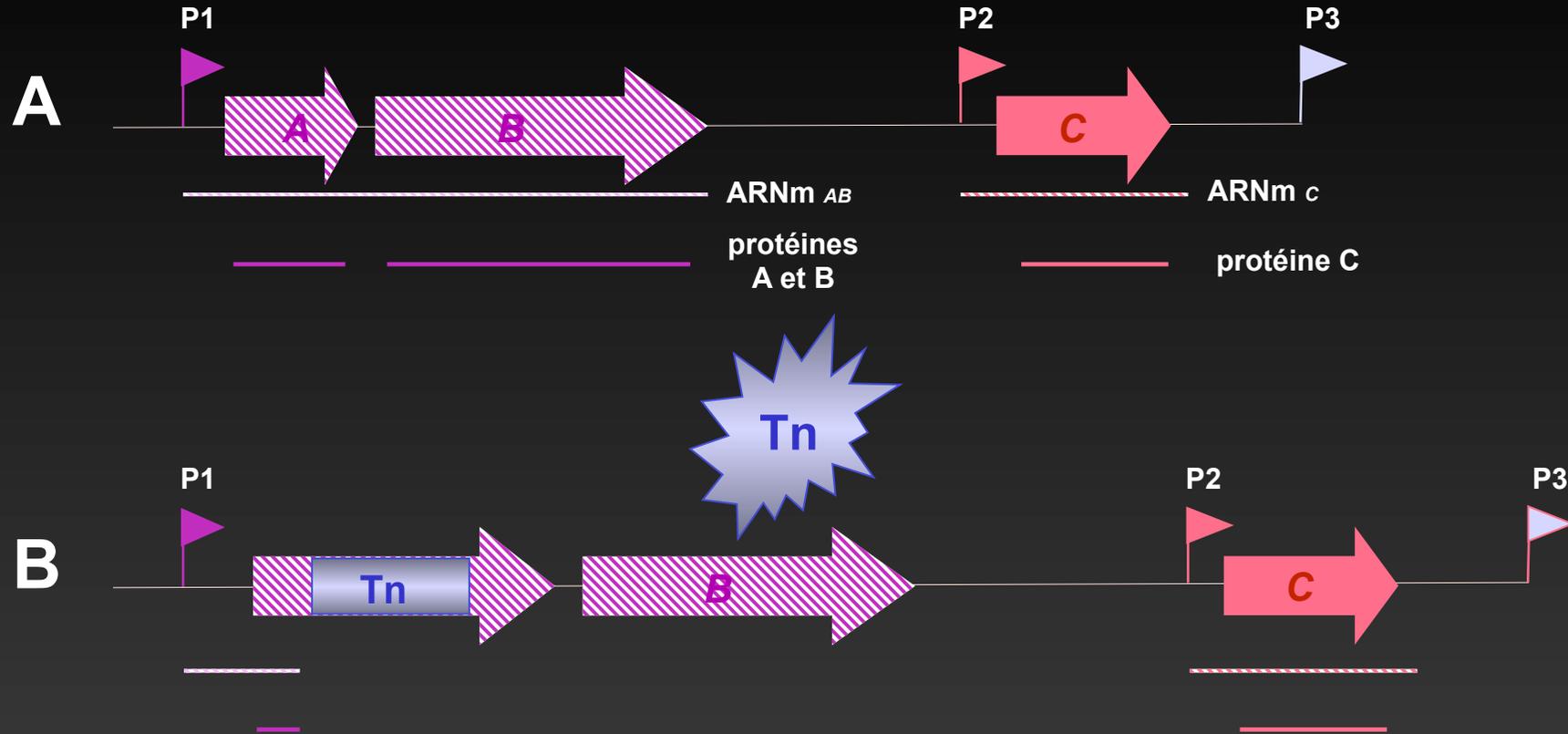
Transposon conjugatif

transposon	longueur	marqueur génétique
Tn916	16 kb	Tc
Tn1545	25 kb	Tc, Em, Km



les conséquences de la transposition

- une modification de l'expression des gènes chez la bactérie-hôte
la plupart du temps, il s'agit d'une **mutation dite polaire** (modification de l'expression des gènes en aval, dépendant du même promoteur)



blocage de la transcription (lié à l'existence de signaux de terminaison aux extrémités des transposons)

ou, au contraire

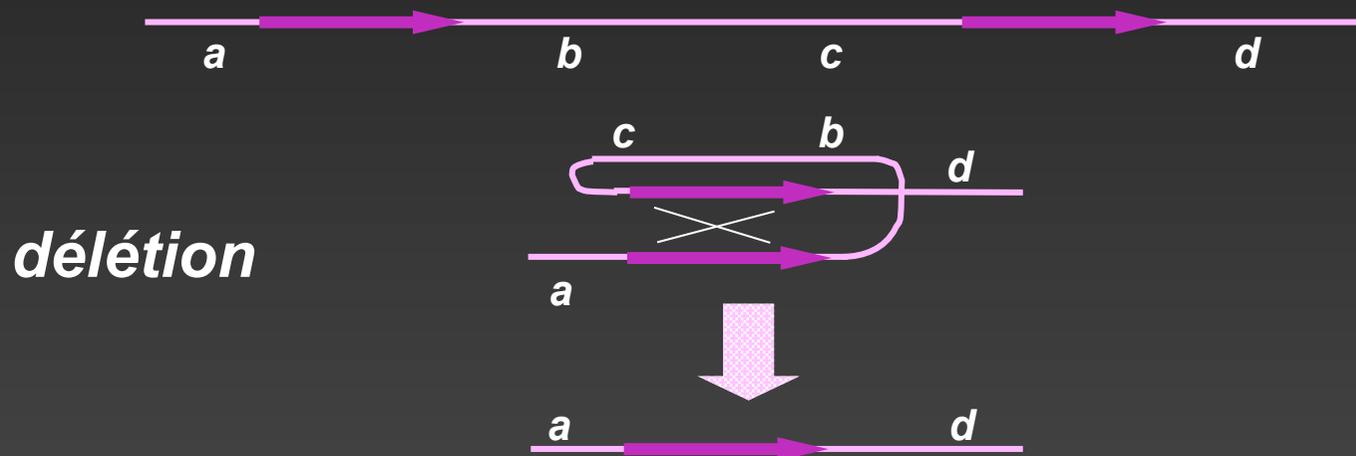
augmentation de la transcription (liée à l'existence d'un promoteur à une des extrémités du transposon et agissant vers l'extérieur du transposon)

les conséquences de la transposition

□ *une modification de l'expression des gènes chez la bactérie-hôte*

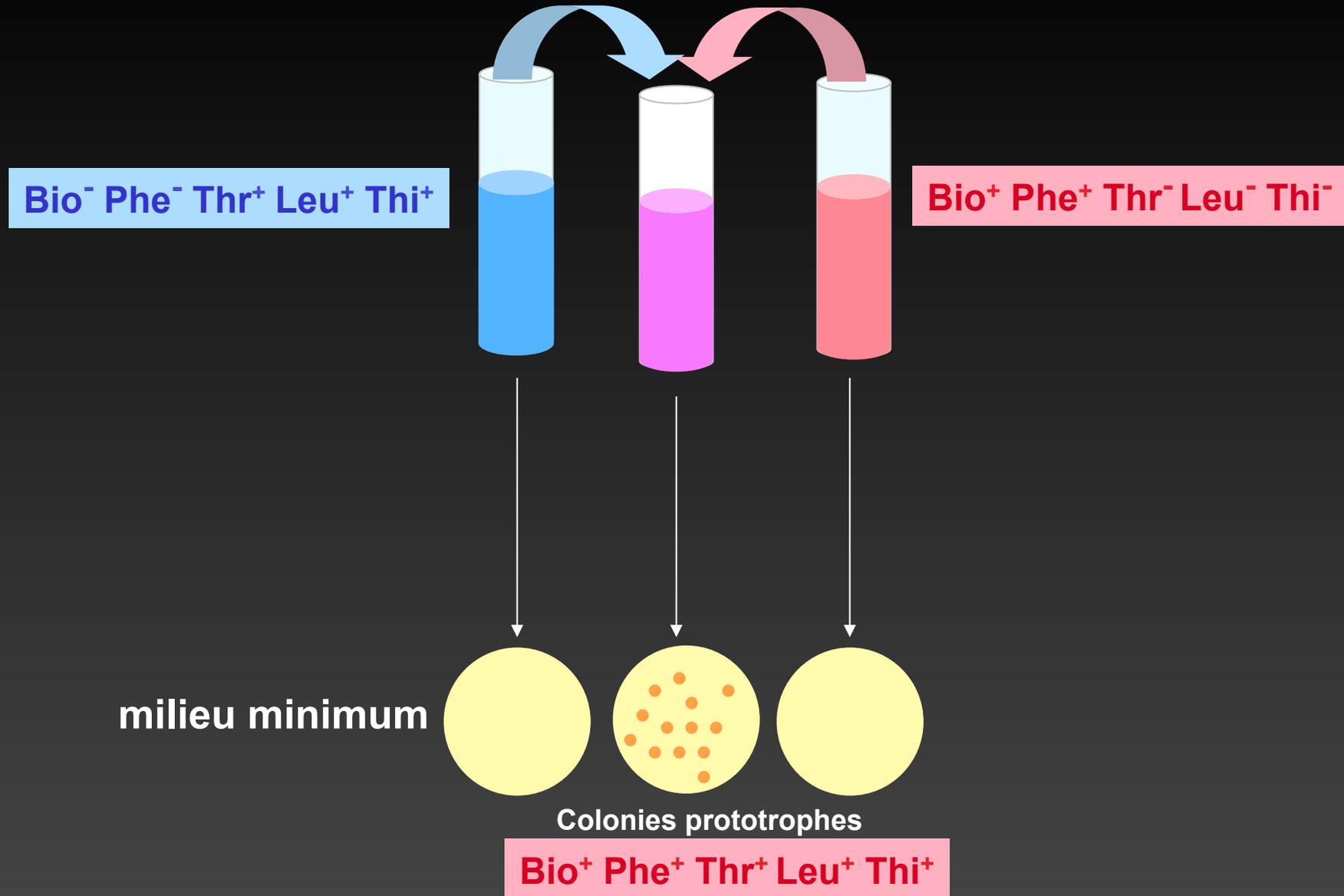
□ **des réarrangements génomiques au hasard (10 - 100kb)**

il s'agit de fusion de réplicons (bactérie Hfr), de délétions, de duplications ou d'inversions de séquences nucléotidiques (liés à des processus de recombinaison homologue consécutifs au haut degré d'homologie des ISs)



La conjugaison

(Lederberg & Tatum, 1946; Davis 1950)

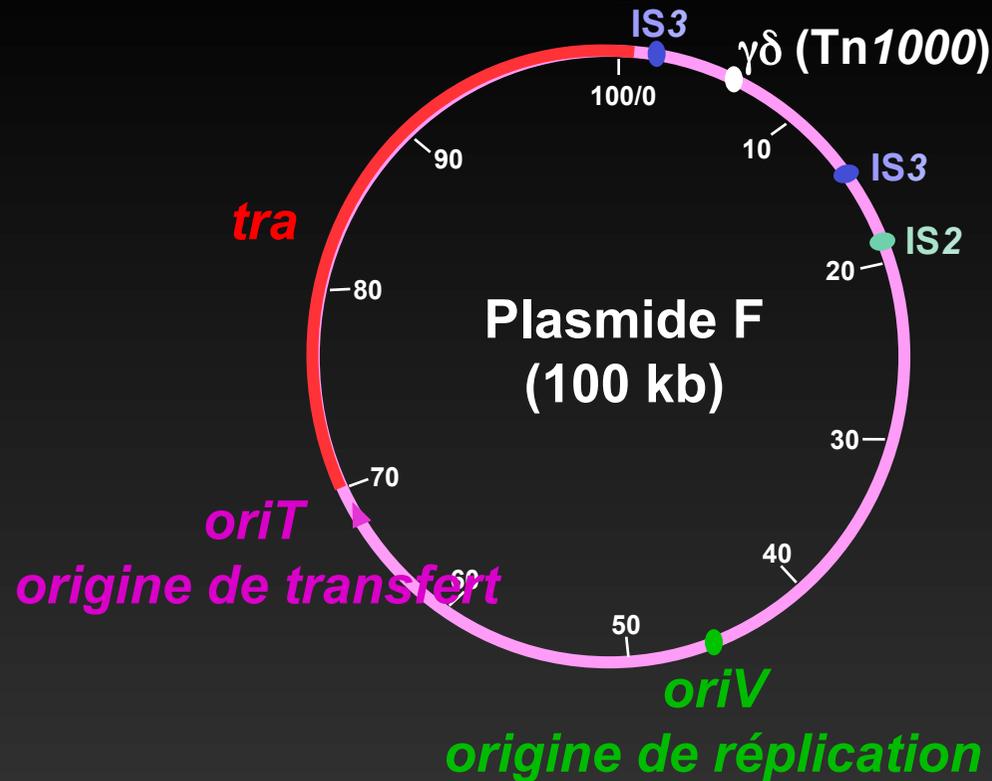


La conjugaison

=

un transfert de gènes qui nécessite un contact intime entre cellules donatrices et réceptrices

Le facteur F (*fertility*), un élément génétique déterminant dans la conjugaison chez *Escherichia coli*

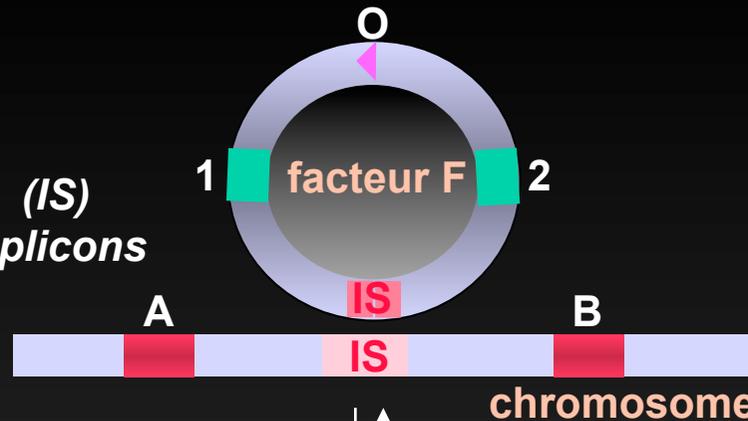


Le plasmide F contient plusieurs séquences d'insertion, IS2 et IS3 et $\gamma\delta$. Les gènes *tra* codent pour des protéines nécessaires à la synthèse du pilus "sexuel" et à la conjugaison, une origine de transfert (*oriT*) et une origine de réplication (*oriV*).

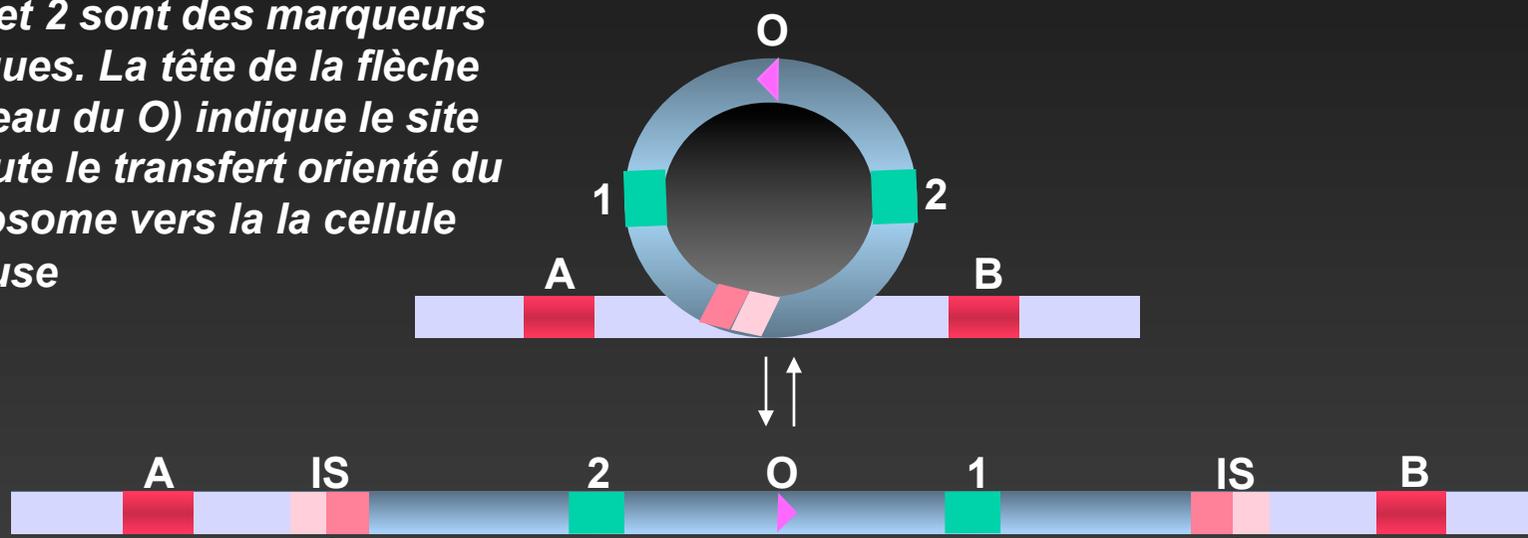
Lors de la conjugaison, *oriT* est à la fois le site du transfert de gènes et d'initiation de la réplication en cercle roulant.

F, un plasmide qui peut exister chez un hôte sous forme libre ou intégrée dans le chromosome (épisome)

Les séquences d'insertion (IS) permettent la fusion des réplicons



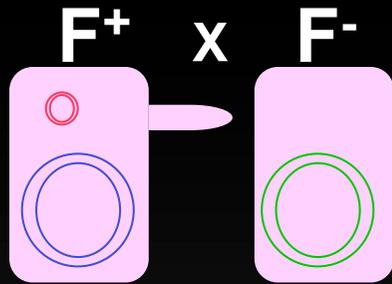
A, B, 1 et 2 sont des marqueurs génétiques. La tête de la flèche (au niveau du O) indique le site où débute le transfert orienté du chromosome vers la cellule receveuse



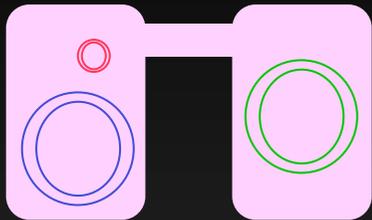
le facteur F intégré reste fonctionnel

souche Hfr
(Haute fréquence de recombinaison)

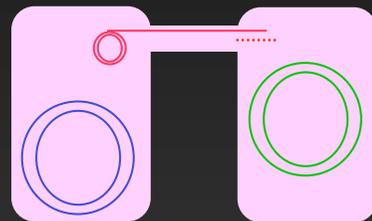
il dirige sa réplication, la synthèse du pilus, son transfert dans la cellule receveuse



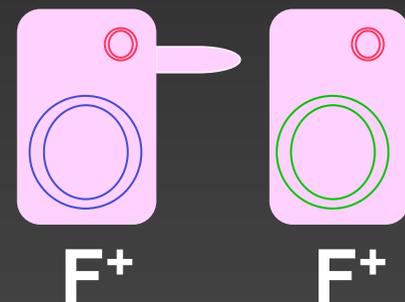
production par la cellule donatrice d'un pilus dont la biogenèse est gouvernée par des gènes de l'opéron tra, assurant un lien avec la cellule réceptrice



formation d'un complexe protéique (codé par d'autres gènes tra du plasmide F) sur l'origine de transfert oriT, puis coupure de l'un des deux brins du plasmide (au niveau de oriT) et déroulement (5' > 3') de la double hélice

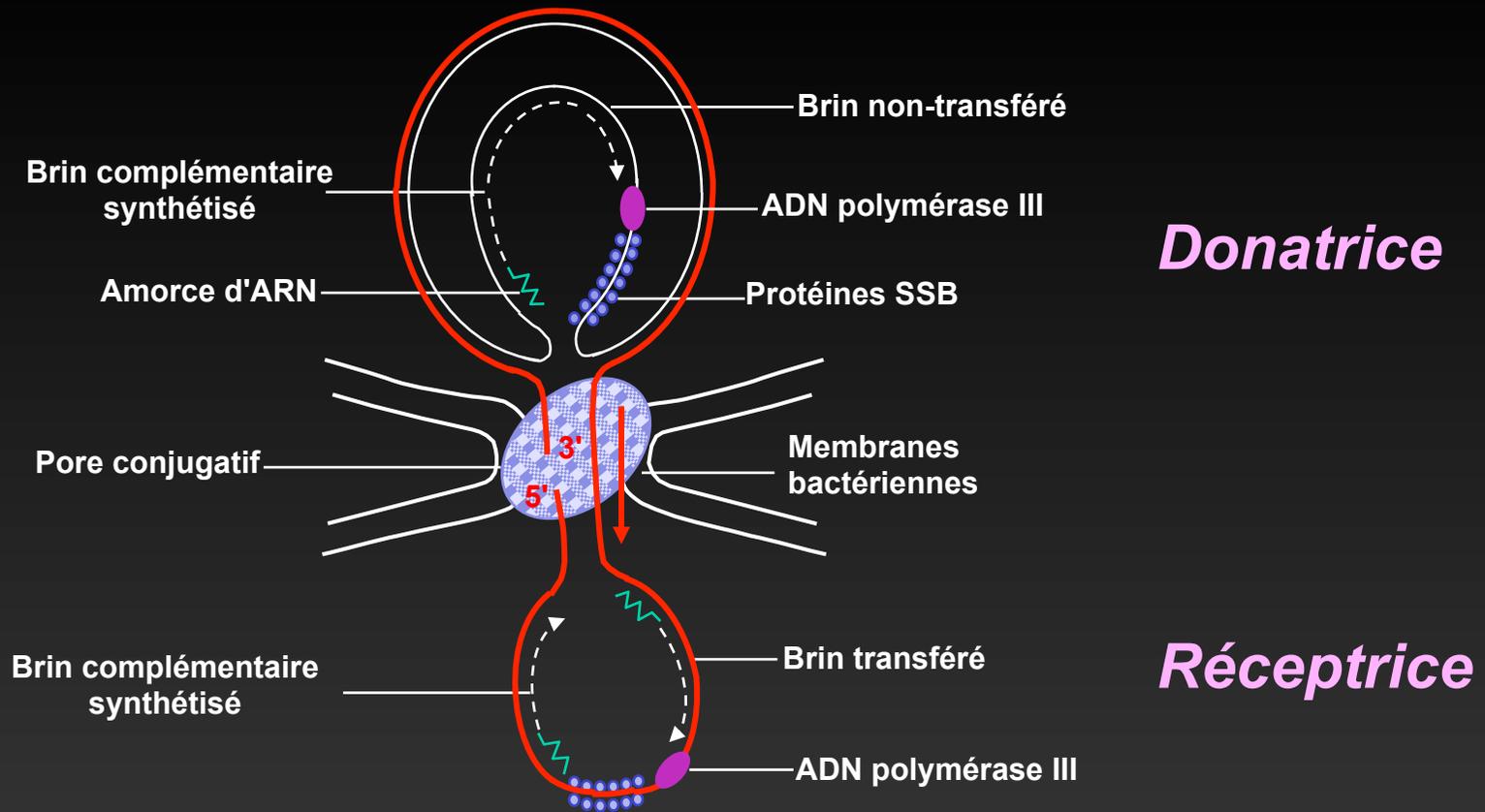


transfert (via un pore créé lors du contact) du brin coupé dans la cellule réceptrice, ligature des deux extrémités du brin transféré, et réplication de la matrice circularisée (oriT sert alors d'origine de réplication)



un transfert à fréquence élevée du facteur F, à basse fréquence de gènes chromosomiques

Modèle du transfert conjugatif du plasmide F



Le transfert spécifique d'un brin du plasmide (ligne rouge) se fait par une coupure à la séquence *oriT*, catalysée par le complexe relaxase-hélicase (TraY-TraI). Le brin est alors transféré selon une polarité 5' vers 3' au travers du pore conjugatif formé par la juxtaposition des membranes des cellules donatrice et réceptrice. L'extrémité 5' du brin transféré reste attachée à la membrane cellulaire. Le brin non transféré est représenté par une ligne blanche. L'ADN hélicase I est liée à la membrane à proximité du pore conjugatif et sa migration le long du brin transféré fournit la force nécessaire à l'entrée de l'ADN dans la réceptrice. Les brins complémentaires (lignes pointillées) sont synthétisés dans la donatrice et la réceptrice par l'ADN polymérase III, respectivement de façon continue et discontinue. Ce modèle stipule que des amorces d'ARN sont nécessaires à la synthèse des brins complémentaires, et que des protéines (SSB) liant l'ADN protègent l'ADN mono-brin. *D'après Willetts et coll. (1994).*



souche Hfr

(Haute fréquence de recombinaison)

le facteur F intégré reste fonctionnel

*il dirige sa répllication, la synthèse du pilus,
son transfert dans la cellule receveuse*

Hfr x F⁻

Le transfert d'ADN débute lorsque le facteur F intégré subit une coupure à son site d'origine du transfert. Tout en se répliquant, le chromosome passe par le pilus réunissant donneur et receveur. Parce que la coupure initiale a lieu dans le plasmide F, seule une partie est transférée au début de la conjugaison.

***un transfert à fréquence élevée de gènes chromosomiques
à basse fréquence du plasmide F***

les plasmides conjugatifs

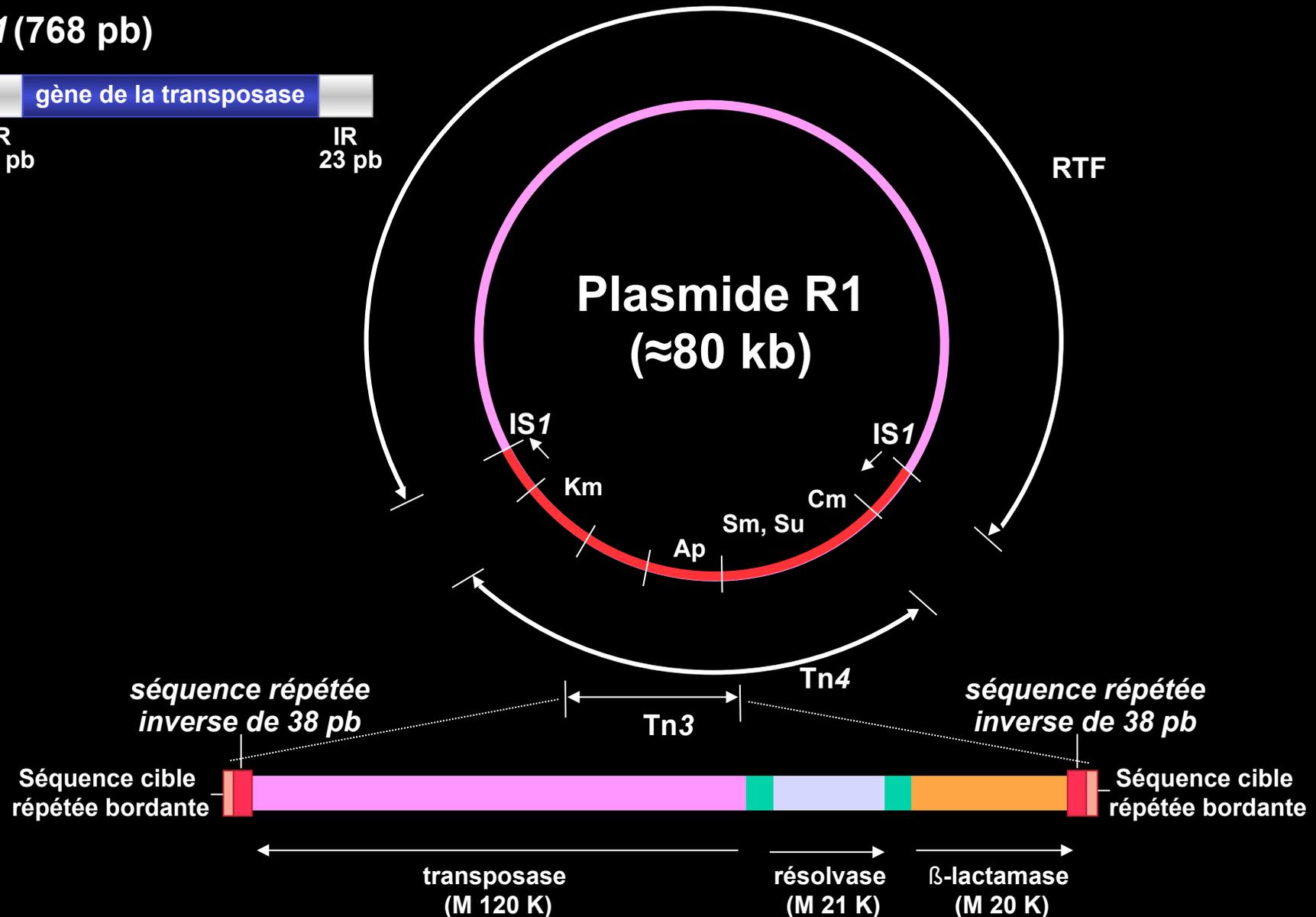
l'auto-transfert du plasmide s'effectue par conjugaison

les gènes *tra* nécessaires à l'auto-transfert sont nombreux (30 pour le plasmide F) et regroupés en un opéron de grande taille (33 kb)

les plasmides non conjugatifs

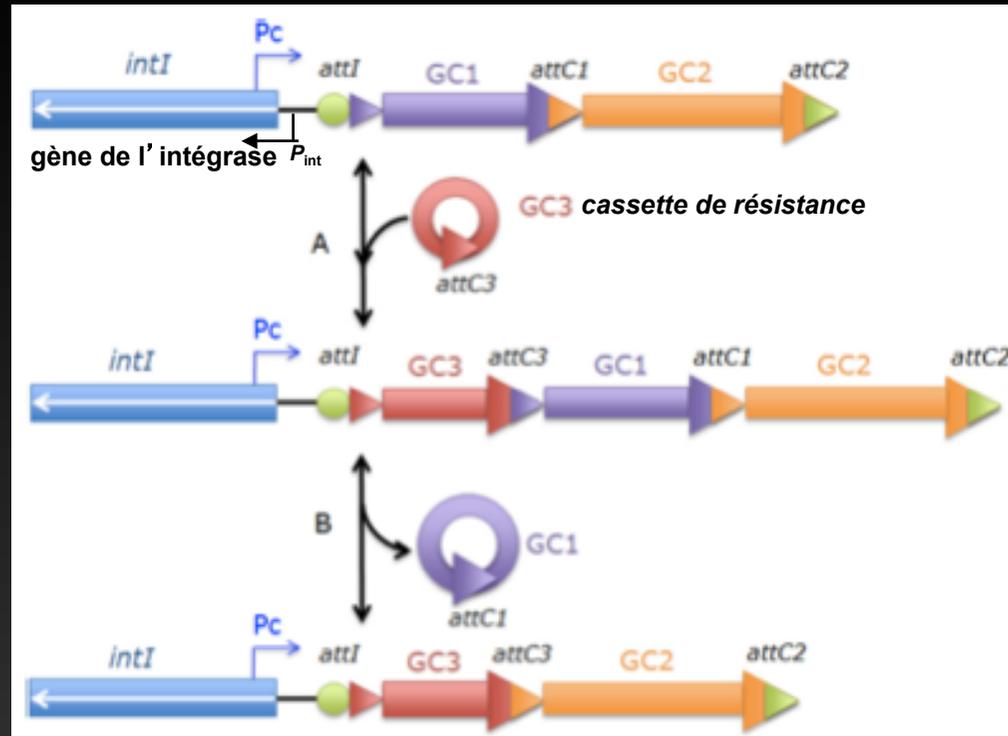
l'auto-transfert est impossible par conjugaison car le plasmide ne possède pas les gènes nécessaires à la conjugaison, mais le transfert est possible par conjugaison s'il coexiste dans la même bactérie un plasmide conjugatif (plasmide « mobilisable »)

IS1 (768 pb)



Le plasmide R1 porte des gènes de résistance à 5 antibiotiques. Ceux-ci sont contenus dans le transposon Tn4 (ce dernier résulte de l'intégration de Tn3 dans Tn21, insertion qui inactive le gène de résistance au mercure de Tn21). Le facteur de transfert de la résistance (RTF) code pour les protéines nécessaires à la réplication et au transfert plasmidique

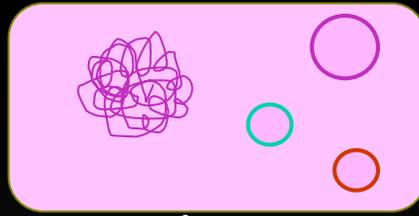
L'intégron, un système de capture & d'expression de gènes de résistance aux antibiotiques



Le produit du gène de l'intégrase catalyse l'intégration (A) au site de recombinaison *attI* et l'excision (B) de la cassette de résistance GC (habituellement dépourvue de promoteur) dans l'intégron.

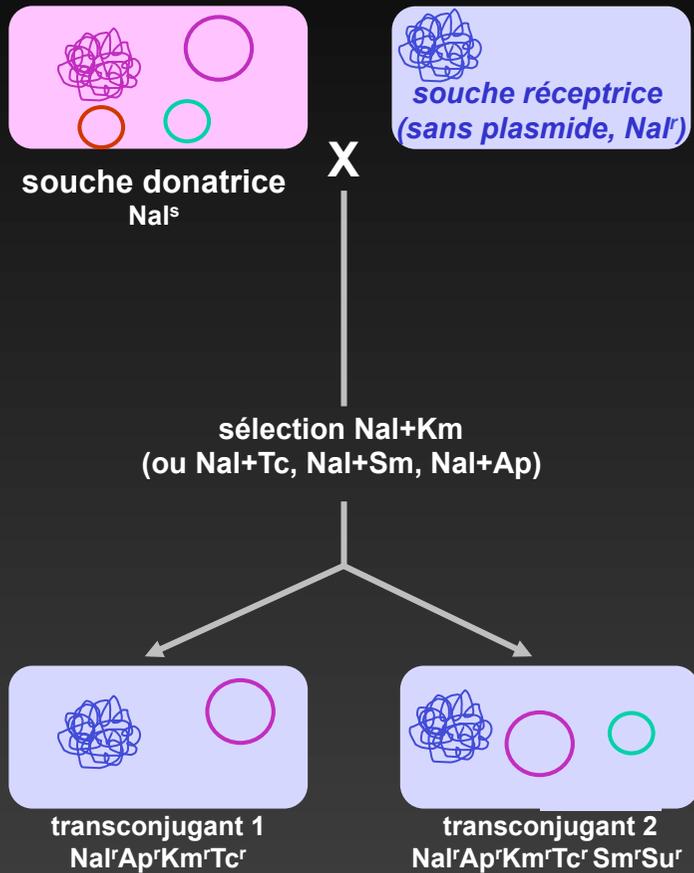
En A, la cassette GC3 circularisée est intégrée sous forme linéaire dans l'intégron par un mécanisme spécifique de recombinaison (différent d'une recombinaison homologue) entre le site *attI* et le site *attC3* de la cassette. Son expression est sous le contrôle du promoteur Pc situé en 5' du gène *intI*.

L'excision d'une cassette survient préférentiellement entre deux sites *attC*. En B, la cassette GC1 est excisée par suite d'une recombinaison entre les sites *attC1* et *attC3*.

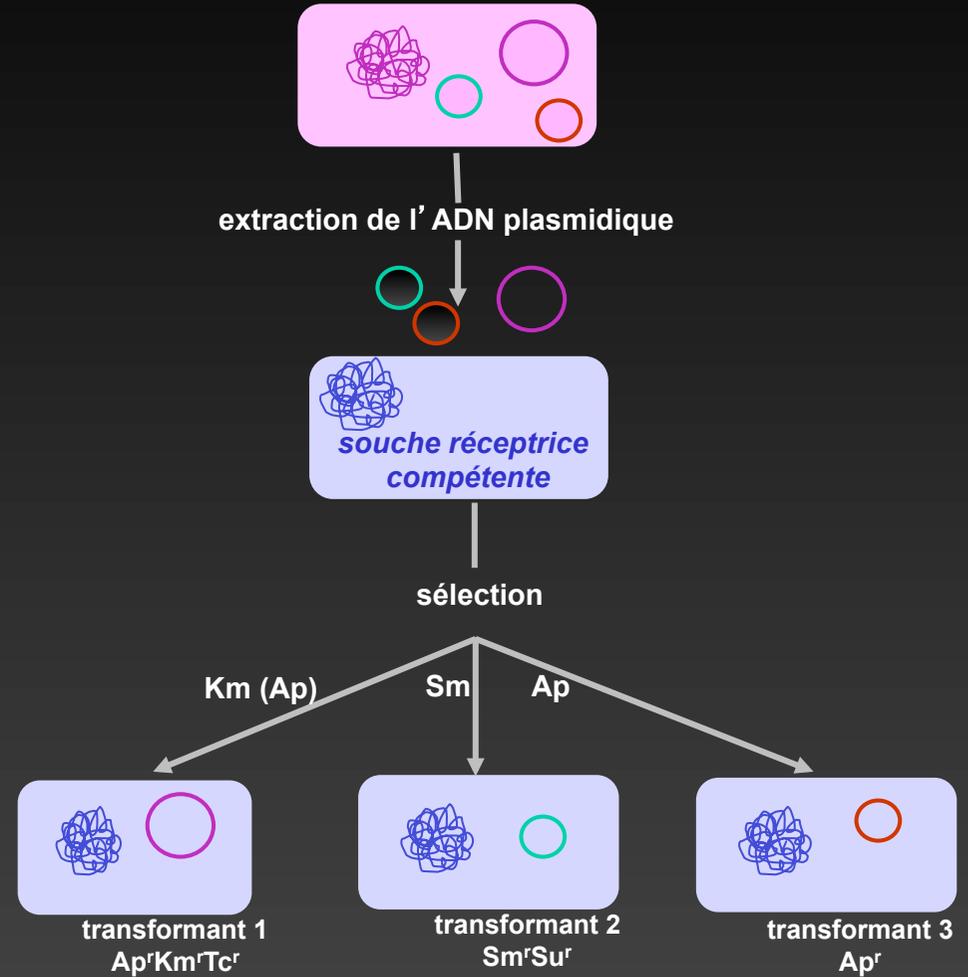


- plasmide conjugatif Ap^rKm^rTc^r (P1)
- plasmide non conjugatif Sm^rSu^r, mobilisable par P1
- plasmide non conjugatif Ap^r, non mobilisable par P1

1. Conjugaison :



2. Transformation :



ne sera jamais transféré au cours de cette conjugaison