

Chapitre I : Classification moderne des micro-organismes

I. Classification des microorganismes

Le botaniste suédois **Carl van Linné (1735)**, élaborait une première classification des organismes vivants en deux règnes Végétal et Animal. En **1857**, **Karl van Nägeli** proposa de classer les bactéries et les champignons dans le règne des végétaux. En **1866**, **E. Haeckel** divise le monde vivant en trois règnes, le règne animal, le règne végétal et le règne des protistes (micro-organismes) qui rassemble les algues, les protozoaires, les champignons et les bactéries. En **1937** et grâce à l'invention du microscope électronique, **Edward Chatton** mis en opposition deux types de cellules, la cellule eucaryote et la cellule procaryote. En **1968**, **R.G.E. Murray**, dans la continuité du travail d'E. Chatton, divise le monde vivant en deux règnes, celui des "Eucaryotae" et celui des "Procaryotae" (ou "Monera"). En **1969**, **Robert H. Whittaker** décrit une classification à cinq règnes. Quatre règnes eucaryotes (Animal, Végétal, Champignons et Protistes). Les procaryotes se regroupent dans le règne des monères. CR, **Woese (1978)** grâce au développement des techniques de biologie moléculaire, il a divisé les organismes vivants en trois domaines. Le domaine des Bacteria ou Eubacteria, le domaine des Archaea et le domaine des Eucarya (animaux, plantes, les mycètes et les protistes).

II. Classification de Bergey (classification des procaryotes)

Dans ces premières éditions, en 1936, la classification de Bergey se basait sur l'étude : morphologies microscopique et macroscopique, mobilité, présence de spores, Gram, température de croissance, type respiratoire, besoins nutritionnels et capacités à utiliser certaines sources de carbone ou d'azote. A cette période, les procaryotes étaient répartis en 4 divisions reconnues sur la base de l'existence ou non de la paroi : les *Gracilicutes*, les *Firmicutes*, les *Tenericutes* et les *Mondosicutes* (Voir tableau classification en 4 divisions).

I. *Gracilicutes* : peau fine (Eubactéries Gram -)

Anoxyphotobacteriae (photosynthèse sans production d'oxygène)

Photobacteriae (cyanobactéries)

Scotobacteriae (pas de photosynthèse)

II. *Firmicutes* : peau dure (Eubactéries, Gram +)

Firmibacteriae (% G+C faible)

Thallobacteriae (% G+C fort, ramifiées)

III. *Tenericutes* : peau tendre (Eubactéries sans paroi, Gram -)

Mollicutes

IV. Mendosicutes : peau défectueuse

Archaeobacteriae (Archaeobacteries, Gram + /-)

Dans l'édition récente, moderne avec l'utilisation de la classification polyphasique : les procaryotes sont divisés en deux domaines *Eubacteria* et *Archaeobacteria* qui comprennent 35 phylums. 30 pour *Eubacteria* et 5 pour *Archaeobacteria* (Tableaux I et II). Cette classification est la plus acceptée par tous les microbiologistes.

Tableau I: Division des procaryotes

Domaines	2	<i>Archaea</i>	<i>Eubacteria</i>
Phylums	35	5	30
Classes	57	9	48
Sous-Classes	6	0	6
Ordres	119	15	104
Sous-ordres	20	0	20
Familles	292	26	266
Genres	2100 environ	108	2000 environ
Espèces	7300 environ	250 environ	7000 environ
Sous-espèces	500 environ	0	500 environ

Tableau II: Les 35 phylums des procaryotes et quelques classes et sous classes

Domaine Archaea	Domaine Eubacteria (I-XIII)	Domaine Eubacteria (XIV-XXII)	Domaine Eubacteria (XXIII-XXX)
AI. Crenarchaeota	BI. Aquificae	BXIV. Firmicutes	BXXIII. Fusobacteria
AII. Euryarchaeota	BII. Thermotogae	CI. Clostridia	BXXIV. Verrucomicrobia
AIII. Korarchaeota	BIII. Thermodesulfobacteria	CII. Negativicutes	BXXV. Gemmatimonadetes
AIV. Nanoarchaeota	BIV. Deinococcus-Thermus	CIII. Bacilli	BXXVI. Lentisphaerae
AV. Thaumarchaeota	BV. Chrysiogenetes	CIV. Thermolithobacteria	BXXVII. Dictyoglomi
	BVI. Chloroflexi	CV. Erysipelotrichi	BXXVIII. Caldiseica
	BVII. Thermomicrobia	BXV. Tenericutes	BXXIX. Elusimicrobia
	BVIII. Nitrospirae	BXVI. Actinobacteria	BXXX. Armatimonadetes
	BIX. Deferribacteres	SCI. Acidimicrobiae	
	BX. Synergistetes	SCII. Rubrobacteridae	
	BXI. Cyanobacteria	SCIII. Coriobacteridae	
	BXII. Chlorobi	SCIV. Actinobacteridae	
	BXIII. Proteobacteria	SCV. Nitrospiridae	
	CI. Alpha-Proteobacteria	BXVII. Planctomycetes	
	CII. Beta-Proteobacteria	BXVIII. Chlamydiae	
	CIII. Gamma-Proteobacteria		
	CIV. Delta-Proteobacteria	BXIX. Spirochaetes	
	CV. Epsilon-Proteobacteria	BXX. Fibrobacteres	
	CVI. Zeta-Proteobacteria	BXXI. Acidobacteria	
		BXXII. Bacteroidetes	
		CI. Bacteroidetes	
		CII. Flavobacteria	
		CIII. Sphingobacteriia	
		CIV. Cytophagia	

Tableau III : Comparaison entre eubactéries et archaebactéries

	"Bacteria"	"Archaea"
Présence d'acide muramique dans la paroi (si la paroi est présente)	Oui	Non
Peptidoglycane	OUI	NON
Lipides membranaires	Acides gras aliphatiques liés au glycérol par des liaisons Ester	Chaînes hydrocarbonées liées au glycérol par des liaisons Ether
Premier acide aminé initiant la synthèse d'une chaîne polypeptidique	N-formylméthionine	Méthionine
Sensibilité aux bêta-lactamines	Variable	Non
Synthèse des protéines inhibée par l'anisomycine	Non	Oui
Synthèse des protéines inhibée par la streptomycine et le chloramphénicol	Oui	Non
Synthèse des protéines inhibée par la toxine diphthérique	Non	Oui
Présence d'introns dans les gènes codant pour les ARNt	Non	Oui
Inhibition de la RNA polymérase DNA dépendante par la rifampicine	Oui	Non

III. Structure cellulaire et évolution

III.1. Cellules eucaryotes

Les cellules eucaryotes sont généralement de taille plus importante et de structure plus complexe que les procaryotes. Les micro-organismes eucaryotes comprennent les algues, les champignons et les protozoaires. Tous les végétaux et animaux multicellulaires sont composés de cellules eucaryotes. Une des principales particularités des cellules eucaryotes est la présence de structures membranaires appelées organelles qui comprennent avant tout le noyau, mais aussi les mitochondries et les chloroplastes (ces derniers n'étant présents que dans les cellules photosynthétiques). Le noyau possède l'information génétique de la cellule (ADN, « le génome ») et se trouve être le siège de la transcription dans les cellules eucaryotes. Les mitochondries et les chloroplastes interviennent de façon spécifique dans la production d'énergie, les premières par la respiration, les secondes par la photosynthèse.

L'ADN eucaryote est présent dans le noyau sous forme de molécules linéaires compactées et organisées en chromosomes. Le nombre de chromosomes varie selon les organismes. Par exemple, la levure de boulanger, *Saccharomyces cerevisiae*, possède 16 chromosomes organisés en 8 paires, alors que les cellules humaines en contiennent 46 (23 paires). Néanmoins, les chromosomes eucaryotes ne sont pas seulement composés d'ADN, ils possèdent aussi des protéines permettant l'enroulement et la compaction de l'ADN, ainsi que d'autres protéines nécessaires à l'expression génétique. Il existe une différence génétique majeure entre les procaryotes et les eucaryotes : ces derniers ont généralement deux copies de chaque gène et sont donc diploïdes. Au cours de la division des cellules eucaryotes, le noyau se divise (après le doublement du nombre de chromosomes) lors d'un processus appelé mitose. Il en résulte deux cellules filles identiques, possédant chacune un noyau avec une copie du génome. Le génome diploïde des cellules eucaryotes, dédoublé au cours du processus de méiose, forme des gamètes haploïdes pour la reproduction sexuée. La fusion de deux gamètes au cours de la formation du zygote rétablit l'état diploïde de la cellule.

III.2. Cellules procaryotes

À la différence des cellules eucaryotes, les cellules procaryotes ont une structure interne plus simple dépourvue d'organelles. Les procaryotes sont composés des Bacteria et des Archaea. Les cellules eucaryotes se caractérisent par une taille plus importante que les cellules procaryotes (10 à 100 µm contre 1 à 10 µm). L'organisation des génomes des cellules procaryotes et eucaryotes est différente. Dans une cellule procaryote, l'ADN se trouve sous la forme d'une grande molécule double brin appelée chromosome bactérien. Le chromosome

est compacté sous une forme visible appelée nucléoïde. L'ADN est circulaire dans la plupart des procaryotes. La majorité d'entre eux n'a qu'un unique chromosome. Et, par conséquent, les procaryotes n'ont qu'une copie unique de chaque gène et sont donc haploïdes. Plusieurs possèdent aussi de petites quantités d'ADN circulaire extra-chromosomique, appelées plasmides. Ces plasmides possèdent généralement des gènes conférant à la cellule procaryote des propriétés spécifiques (telles que des propriétés métaboliques). À la différence, les gènes essentiels à la survie (gènes « de ménage ») sont localisés sur le chromosome.

III.3. Virus

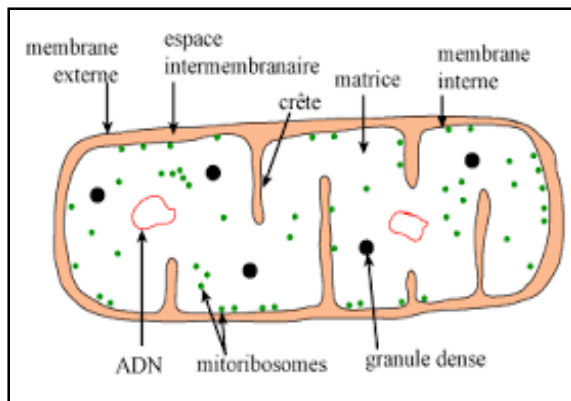
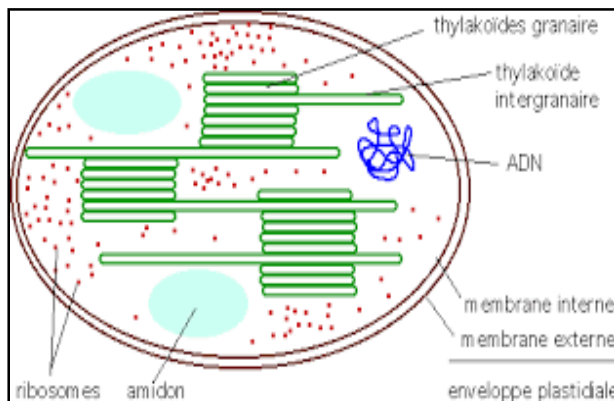
Les virus ne sont pas des cellules, mais constituent une classe majeure de micro-organismes. Ils sont dépourvus de nombreuses caractéristiques propres aux cellules, et en particulier ne sont pas des systèmes dynamiques, à l'opposé des cellules qui peuvent absorber des nutriments et rejeter des déchets. Au contraire, les particules virales sont des structures stables et statiques incapables de modifier ou de remplacer leurs constituants. C'est seulement au cours de l'infection d'une cellule que le virus acquiert la propriété clé d'un être vivant (la reproduction). À la différence des cellules, les virus n'ont pas de capacités métaboliques intrinsèques. Bien qu'ils possèdent leur propre génome, ils n'ont pas de ribosomes et, de ce fait, ils dépendent totalement du mécanisme cellulaire de synthèse protéique de leur hôte.

Les virus infectent tous les types cellulaires, y compris les cellules microbiennes. De nombreux virus provoquent des maladies chez les organismes qu'ils infectent. Les virus sont beaucoup plus petits que les cellules procaryotes, le plus petit étant d'un diamètre de 10 nm.

IV. Origine des mitochondries et chloroplastes

Les chloroplastes sont des organites que l'on trouve dans les cellules végétales chlorophylliennes, permettant la photosynthèse et donc l'autotrophie (production de matière organique à partir de matière minérale)

Les mitochondries sont des organites présents chez les cellules eucaryotes animales, végétales, fongiques et protistes. Elles permettent la respiration aérobie qui fournit l'énergie à la cellule (Fig. 1 et 2).

**Fig. 1 : Structure d'une mitochondrie****Fig. 2 : Structure d'un chloroplaste**

Dès le début du XX^{ème} siècle les chercheurs ont pensé que les plastes et les mitochondries pouvaient provenir de bactéries. Celles-ci auraient été ingérées par des cellules primitives et vivraient à l'intérieur d'elles en symbiose : la mitochondrie dérive d'une bactérie ayant une "respiration" primitive au sulfate et le chloroplaste dérive des cyanobactéries. Cette théorie endosymbiotique de l'origine des plastes et des mitochondries est devenue parfaitement plausible lorsque l'on a découvert (1950-1960) que ces organites contenaient de l'ADN et des ribosomes. Des arguments divers sont mis en évidence en faveur de cette hypothèse :

Arguments structuraux

- € La taille des mitochondries et des chloroplastes est semblable à celle des bactéries ($\approx 1 \mu\text{m}$).
- Les mitochondries et les chloroplastes possèdent deux membranes. L'une d'entre elle pourrait être la membrane de la cellule hôte.
- Les lipides de la membrane interne des chloroplastes et des mitochondries semblent d'origine bactérienne. La cardiolipine est un lipide membranaire trouvé exclusivement dans la membrane interne des mitochondries et la membrane des bactéries. Chez les plantes

supérieures, les deux membranes de l'enveloppe du chloroplaste sont différentes : la membrane interne ainsi que les membranes des thylakoïdes présentent des analogies (composition lipidique) avec les membranes bactériennes.

□ Présence de ribosomes de type bactérien ; Une partie de la synthèse de protéines chloroplastiques s'effectue dans le chloroplaste, grâce à la présence de ribosomes qui présentent des analogies avec les ribosomes bactériens

Arguments fonctionnels

□ Les mitochondries et les chloroplastes se divisent de façon autonome. La division suit un rythme indépendant de la division du noyau : Les mitochondries proviennent toujours de mitochondries préexistantes. Tout plaste provient d'un plaste préexistant. Lorsque des cellules ne possèdent pas de plaste (certaines cellules blanches de feuilles panachées), les cellules filles ne possèdent pas de plaste

□ Les chloroplastes réalisent la photosynthèse comme les cyanobactéries (photosynthèse oxygénique).

Arguments génétiques

□ Présence dans les mitochondries et les chloroplastes d'un génome circulaire, non associé à des histones, non isolé dans un noyau, comme chez les bactéries. Cet ADN code pour une partie des protéines chloroplastiques.

V. Endosymbiose primaire et secondaire

Les endosymbioses ont pu se réaliser à différents moments et de diverses façons, par absorption par une cellule primitive d'une autre cellule (Procaryote ou Eucaryote). On parle alors d'endosymbiose primaire ou secondaire.

V.1. Endosymbiose primaire

Une cellule eucaryote primitive absorbe une α -protéobactérie : la protéobactérie devient une mitochondrie. Il en résulte une cellule eucaryote hétérotrophe. Cette cellule eucaryote hétérotrophe absorbe à son tour une cyanobactérie, organisme photosynthétique contenant un plaste : la cyanobactérie devient un chloroplaste. Il en résulte une cellule eucaryote autotrophe. La membrane interne du chloroplaste est d'origine cyanobactérienne et la membrane externe a pour origine la membrane plasmique de la cellule qui l'a absorbé (Fig. 3).

Exp: Plastides de Rhodophycés et des Chlorophycées

Il est probable que cette endosymbiose ait pu se réaliser de différentes manières. Chez les algues rouges (Rhodophycées), on constate que les thylakoïdes possèdent des pigments accessoires, les phycobilines, ce qui laisse penser que la bactérie symbiotique devait être une cyanobactérie qui possédait ces mêmes pigments. Pour expliquer l'origine des chloroplastes des algues vertes (chlorophycées) et des végétaux supérieurs qui contiennent des chlorophylles a et b et pas de phycobilines, on peut envisager, soit que la cyanobactérie symbiote possédait un équipement pigmentaire différent lors de l'absorption, soit que l'évolution pigmentaire se soit réalisée ultérieurement.

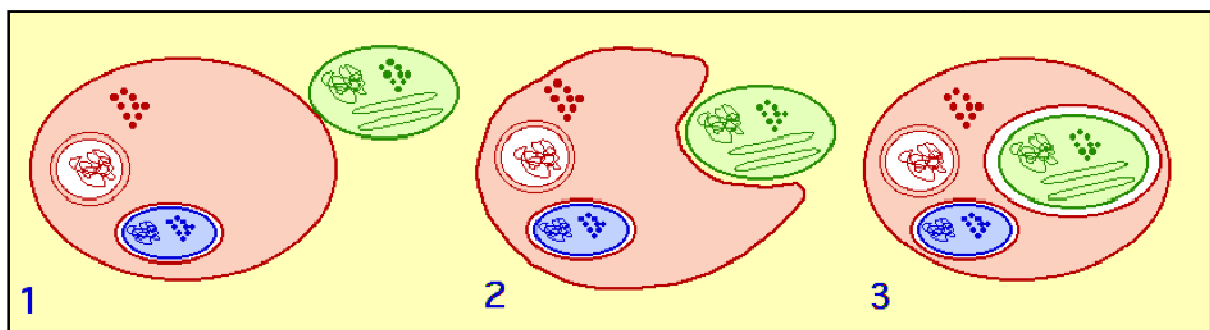


Fig. 3: Endosymbiose primaire : formation de chloroplaste

Réalisation d'une cellule eucaryote autotrophe par absorption d'une bactérie photosynthétique par une cellule eucaryote hétérotrophe. Cette bactérie devient un chloroplaste, ses membranes internes ont une origine bactérienne. La membrane externe de l'enveloppe a pour origine la membrane plasmique de la cellule elle-même.

V.2. Endosymbiose secondaire

Une cellule eucaryote hétérotrophe absorbe une cellule eucaryote autotrophe contenant des chloroplastes : ceux-ci sont alors entourés de quatre membranes (2 membranes du chloroplaste + 1 membrane plasmique + 1 membrane de phagocytose). En général, le noyau et le cytoplasme de la cellule symbiote dégénèrent, le chloroplaste est alors entouré de quatre membranes. Chez *Cryptomonas* (chromophyte, Cryptophycées), on trouve effectivement un reste de noyau entre la deuxième et la troisième membrane ainsi que des restes de cytoplasme contenant des ribosomes.

Exp. Plastes des Cryptophytes et des Chlorarachniophytes)

Une cellule eucaryote hétérotrophe absorbe une cellule de *Rhodophyta* (algues rouges) ou une cellule de *Chlorophyta* (algues vertes). Cette endosymbiose secondaire débouche sur 2 nouveaux groupes d'algues : les Cryptophytes et les Chlorarachniophytes. Ces organismes contiennent des mitochondries et des plastes mais aussi un organe appelé le nucléomorphe, réminiscence du noyau de l'algue. Exemple : *Guillardia theta* (Fig. 4)

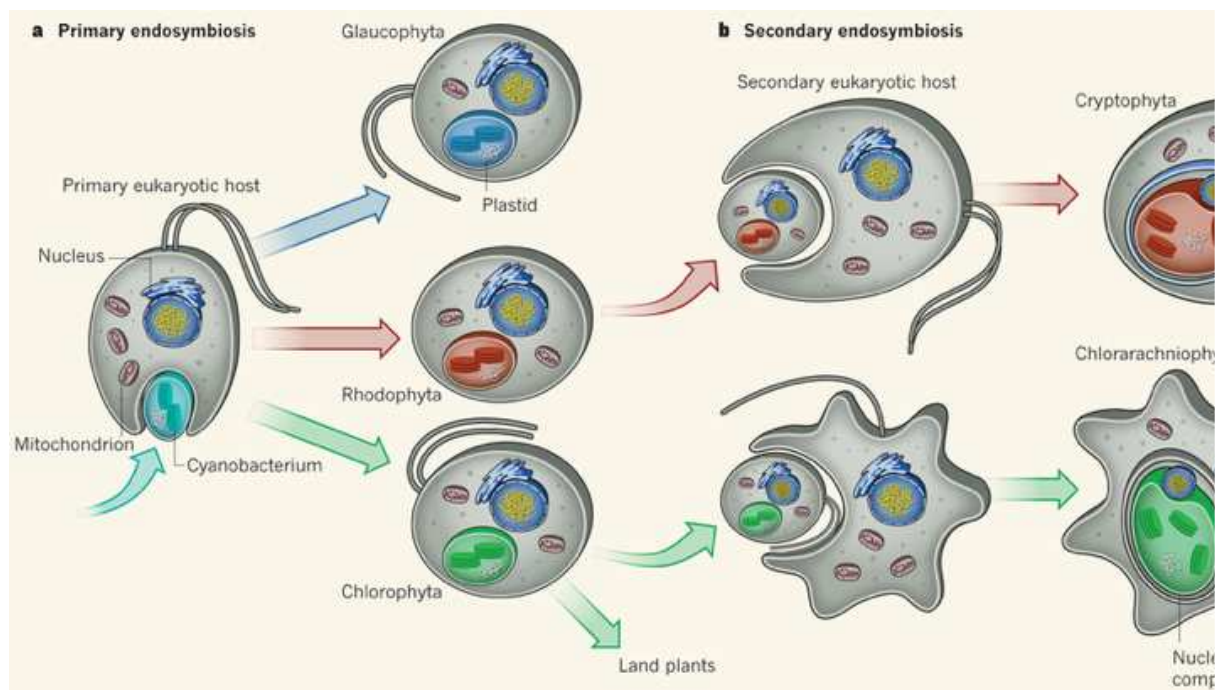


Fig. 4 : Endosymbiose secondaire : cas de Cryptophytes et de Chlorarachniophytes

Le même processus se poursuit, une endosymbiose tertiaire est à l'origine de la photosynthèse chez les dinobiontes (alvéolés) : chromalvéolés et cryptoalvéolés.

Chapitre II : Origine de la vie et l'arbre universel du vivant

L'**évolution** est le processus ayant mené à l'apparition et à la transformation de nouvelles espèces. L'étude de la formation et de l'évolution des organismes vivants se nomme la **phylogénie**.

I. LUCA et les trois domaines du vivant

Les origines de la vie sur terre demeurent incertaines. On ne sait pas dire avec certitude quand la vie est apparue sur terre ni où est comment. Les plus anciens micro-organismes fossiles sont datés d'au moins 3,5 à 3,8 milliards d'années.

La comparaison des trois domaines de la vie (Bacteria, Archaea et Eukarya) a montré des caractères homologues partagés entre les trois domaines (Tableau IV) ce qui suppose des relations de parentés entre ces organismes. Les gènes homologues sont hérités d'ancêtre commun. Selon la théorie qui dit que tous les êtres vivants partagent un ancêtre commun. L'acronyme LUCA (Last Universal Common Ancestor) ou DACU (Dernier Ancêtre Commun Universel) est l'organisme dont sont issus les trois lignées cellulaires, est donc, l'ensemble des espèces vivant actuellement sur terre. Les trois domaines pourraient avoir divergé d'un ancêtre commun ou d'une communauté d'organismes au début de l'apparition de la vie sur la Terre. Ceci implique que : tous les êtres vivants sont apparentés à des degrés plus ou moins variés ; les eucaryotes, les bactéries et les archées en dépit de grandes différences morphologiques et mode de vie, sont cousins. Les différences observées entre organismes actuels reflètent une évolution qui a suivi des chemins différents dans les différentes lignées.

LUCA ne doit pas être confondu avec le premier organisme vivant. LUCA est une entité théorique, un modèle abstrait, permettant de comprendre les phénomènes liés à l'origine de la vie et l'évolution des êtres vivants. Il ne correspond pas à une entité réelle et identifiée mais à un organisme dont certains caractères sont connus grâce à ceux partagés par ses descendants.

Ainsi, la période pré-LUCA doit intégrer des notions de biologie, de physique, de chimie et de mathématique pour comprendre le passage d'un monde pré-biotique à un monde biotique (ce qui revient à comprendre comment la vie est apparue à partir de non vivant : matière organique). Un grand nombre d'hypothèses ont été émises de puis les années 1950 concernant l'émergence de la vie sur terre.

Tableau IV : Les caractéristiques des trois domaines (Bacteria, Archaea et Eukarya).

Propriétés	Bacteria	Eucarya	Archaea
ADN séparé du cytoplasme par une membrane	Non (sauf chez les Planctomycétales)	Oui (membrane nucléaire)	Non
Présence d'organelles intracellulaires	Non	Oui (mitochondries, chloroplastes)	Non
Présence d'une paroi autour des cellules	Oui (sauf rares exceptions), composée de peptidoglycane contenant de l'acide muramique	Chez certains eucaryotes (plantes, champignons, etc), mais ne contient jamais d'acide muramique	Oui (sauf rares exceptions), la composition varie selon les groupes, mais il n'y a jamais d'acide muramique
Types de lipides présents dans la membrane cytoplasmique	Chaînes d'acides gras reliés à un glycérol-3-phosphate par des liaisons ester	Chaînes d'acides gras reliés à un glycérol-3-phosphate par des liaisons ester	Chaînes aliphatiques branchées reliés à un glycérol-1-phosphate par des liaisons ether
Formation de vésicules de gaz	Oui	Non	Oui
ARNt initiateur de la traduction	N-formylméthionine	Méthionine	Méthionine
ARNm polycistroniques	Oui	Non	Oui
Maturation des ARNm (épissage des introns, mise en place d'une coiffe et d'une queue poly-A)	Non	Oui	Non
Type de ribosome	70S	80S	70S
Réaction du facteur d'élongation 2 avec la toxine de la diphtérie	Non	Oui	Oui
Sensibilité du ribosome au chloramphénicol et à la	Oui	Non	Non

kanamycine			
Sensibilité du ribosome à l'anisomycine	Non	Oui	Oui
Nombre de types d'ARN polymérases	1	3	1
Nombre de sous-unités	6	12-14	8-12 (très similaire à celle des eucaryotes)
Sensibilité de l'ARN polymérase à la rifampicine	Oui	Non	Non
Promoteurs de type II pour l'ARN polymérase	Absents	Présents	Présents
Type d'ATPase	A	B	B
Capacité à produire du méthane (méthanogènes)	Non	Non	Oui, dans certaines lignées
Capacité à fixer l'azote	Oui	Non	Oui
Photosynthèse basée sur la chlorophylle	Oui	Oui (via les chloroplastes qui sont des bactéries)	Non
Capacité à réaliser la chimiolithotrophie	Oui	Non	Oui

II. LUCA et la racine l'arbre du vivant

L'existence de trois domaines pose tout naturellement la question des relations de parenté qui les unissent, c'est-à-dire de la position de la racine de l'arbre universel du vivant. alors il existe trois hypothèses possibles sur la nature de LUCA et sur la manière dont s'est faite l'évolution dans chacun des trois domaines (Fig. 5).

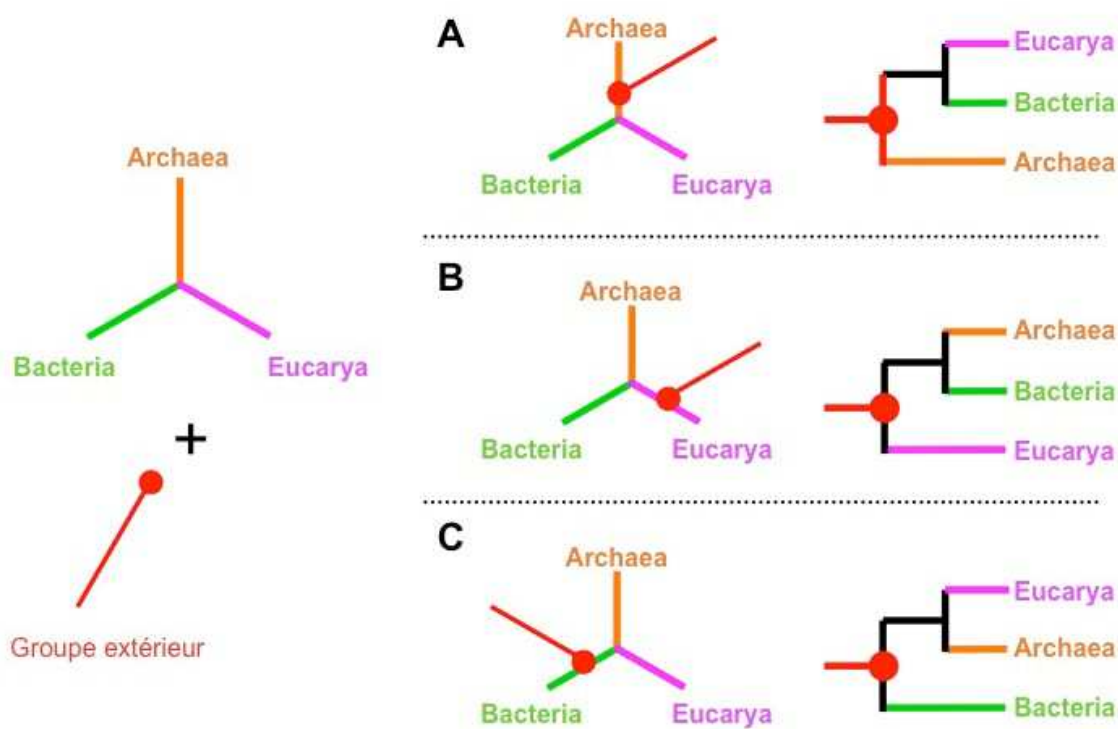


Fig. 5 : Les trois enracinements possibles pour l'arbre universel du vivant. Le rond représente LUCA.

Tous les caractères présents dans les trois domaines sont supposés avoir été présents chez LUCA ; certains auront été perdus secondairement.

- **Hypothèse 1** : La racine est placée dans la branche des Archaea : les Eucarya et les Bacteria sont plus proches parents (Fig. 5A). Il n'est pas possible de dire si les caractères présents chez les eucaryotes et les bactéries, mais absents chez les archées étaient présents chez LUCA et il n'est pas possible de dire si les caractères présents chez les archées mais absents chez les eucaryotes et les bactéries étaient présents chez LUCA.

Cette hypothèse est la plus acceptée par les scientifiques ; en se basant sur le fait que les Archéobactéries colonisent surtout les milieux extrêmes (en particulier les environnements très chauds dont certains auteurs estiment qu'ils correspondaient aux conditions qui prévalaient sur la terre primitive) : le LUCA serait donc procaryote et hyperthermophile.

D'autre part, les Archaeobacteria, qui regroupent principalement les bactéries méthanogènes, représenteraient, selon Woese, le type procaryote ancestral du fait d'un métabolisme compatible avec l'atmosphère de la terre primitive (réduction anaérobie du dioxyde de carbone en méthane).

- **Hypothèse 2** : La racine est placée dans la branche des eucaryotes : les Archaea sont

phylogénétiquement plus proches des Eubacteria que des Eukarya (voir **Fig. 5.B**). Ainsi l'arbre universel du vivant aurait divergé de l'ancêtre commun dans deux directions : une à l'origine des eucaryotes et une deuxième, probablement, à l'origine des Archaea et des Bacteria.

- **Hypothèse 3** : La racine est placée dans la branche des eubactéries : les Archaea sont phylogénétiquement plus proches des Eukarya que des Bacteria (voir **Fig. 5.C**). Ainsi l'arbre universel du vivant aurait divergé de l'ancêtre commun dans deux directions : une à l'origine des Bacteria et une deuxième, probablement, à l'origine des Archaea et des Eukarya.

- **Enfin**, il n'est pas possible de clore cette question sans évoquer un autre scénario, dans lequel LUCA donne naissance aux lignées bactérienne et archée. Les eucaryotes dérivants pour leur part d'une association entre une bactérie et une archée (Fig. 6).

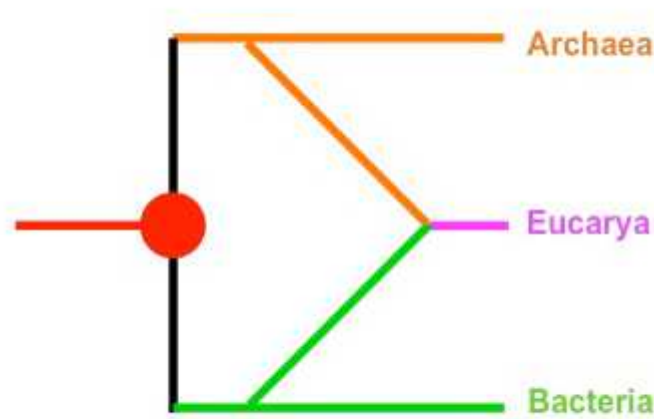


Fig. 6 : Origine chimérique des eucaryotes.

Des résultats de séquençages ainsi que d'autres indices ont permis d'établir que les cellules eucaryotes possèdent des gènes issus de cellules des deux autres domaines (voir Fig. 7). Deux hypothèses alternatives sont présentées :

A. Un scénario en deux étapes. Un eucaryote sans mitochondrie (Archezoan, mito⁻) est formé par la fusion d'une archéobactérie et d'une bactérie Gram négatif, l'acquisition d'une mitochondrie se fait plus tard via l'endosymbiose d'une α -protéobactérie.

B. Hypothèse de l'hydrogène. Ce scénario implique la création simultanée du noyau eucaryote et de la mitochondrie par la fusion d'une archéobactérie méthanogène, qui requiert de l'hydrogène (l'hôte), et d'une α -protéobactérie qui produit de l'hydrogène (l'endosymbiote).

Dans les deux scénarios, l'acquisition d'un chloroplaste se fait via l'endosymbiose d'une cyanobactérie dans une cellule eucaryote contenant des mitochondries.

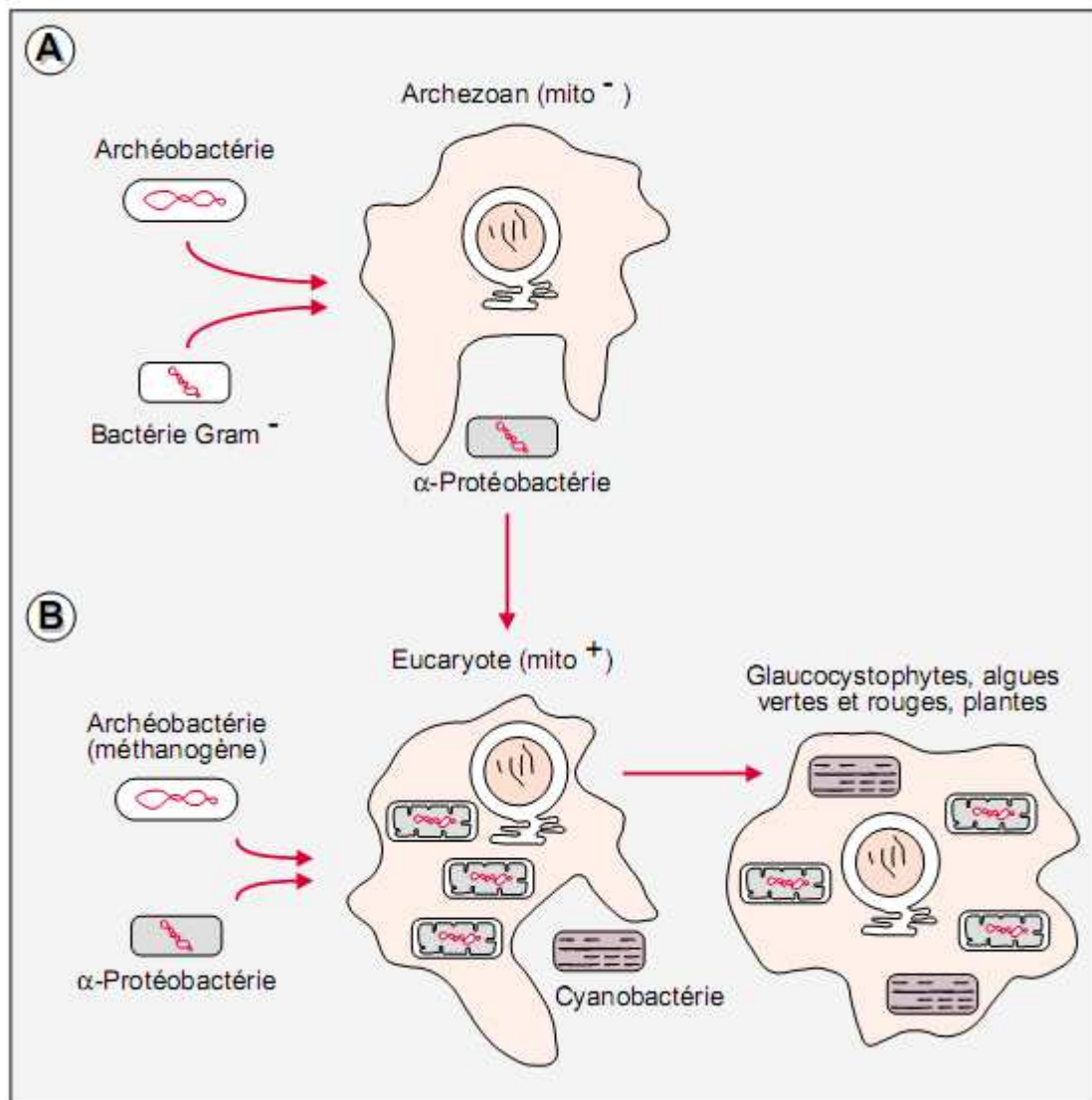


Fig. 7 : Origine de la cellule eucaryote

Chapitre III : Rôle des virus au cours de l'évolution des microorganismes (Virus de procaryotes)

I. Définition

Un virion a 4 caractères essentiels :

1- Le virion possède **un seul type d'acide nucléique** qui peut être soit de l'ADN, soit de l'ARN. Les deux molécules ne coexistent donc pas dans la particule virale, ce qui oppose les virus aux autres formes vivantes connues jusqu'à ce jour. L'acide nucléique viral porte l'intégralité de l'information génétique du virus et constitue ce que l'on appelle le génome viral.

2- Le virion **se reproduit uniquement à partir de son matériel génétique par réplication de son génome**. Il n'existe pas de scissiparité comme chez les bactéries et il n'y a pas de mitose comme dans les cellules eucaryotes.

3- Les virus sont doués d'un **parasitisme intracellulaire obligatoire**. Ils ne peuvent se reproduire qu'au sein d'une cellule hôte vivante. Du fait d'un parasitisme intracellulaire absolu le virus ne possède aucun système enzymatique ou énergétique lui permettant d'assurer sa propre auto-réplication. Il est donc amené à détourner et à utiliser pour sa propre biosynthèse l'ensemble des macromolécules de la cellule qu'il parasite (ribosome, tARN, activité enzymatique, système de régulation). Au cours de l'interaction entre la particule virale et sa cellule hôte, deux éventualités peuvent survenir :

a. La multiplication virale peut aboutir à la mort de la cellule : c'est ce que l'on appelle **la lyse cellulaire**.

b. Le virus interagit avec la cellule résultant en des lésions cellulaires non léthales : c'est ce qu'on appelle la **persistance virale**.

Les virus infectant les procaryotes sont répartis en deux catégories suivant la nature de leur hôte (bactérie ou archéobactérie). Les termes bactériophage et phage ont été initialement utilisés pour nommer les virus de bactéries. En ce qui concerne les archées, le mot archéophage existe mais il est peu usité. En effet, les scientifiques spécialistes du domaine parlent plutôt de virus d'archéobactéries pour souligner les différences existant vis-à-vis des bactériophages.

II. Anatomie générale des particules virales

Toute particule virale est constituée d'au moins **deux éléments constants et obligatoires** :

1- le **génom**, de nature nucléotidique et composé d'acide nucléique (ADN ou ARN) monocaténaire ou bicaténaire. Exp. ADN double brin (phage T4, T7), ADN simple brin (Phi X174, M13), ARN simple brin (MS2), ARN double brin (Phi 6).

2- la **capside**, est une coque de nature protéique qui entoure le génome et est capable d'assurer sa protection et sa survie dans le milieu extérieur.

Les interactions entre acide nucléique et protéine de la capsid sont très étroites. Des structures protéiques se trouvent bien souvent incluses dans cet ensemble, ce sont les **protéines internes**. La structure nucléoprotéique définie par l'acide nucléique et les protéines internes prend le nom de **nucléotide** et l'ensemble nucléotide et capsid constitue une unité fonctionnelle que l'on appelle la **nucléocapsid**. Les virus limités à leur nucléocapsid sont dits des **virus nus**. Dans certaines familles virales, la nucléocapsid est entourée d'une structure périphérique facultative appelée **l'enveloppe**. Cette enveloppe, dont l'existence oppose les **virus enveloppés** aux virus nus, peut être de provenance et de nature diverse. Lorsque l'enveloppe dérive des systèmes membranaires de la cellule hôte, elle peut prendre le nom de **peplos**.

III. Origine des virus

Trois hypothèses sont proposées pour expliquer l'origine des virus. Dans la première de ces hypothèses, les virus seraient apparus avant même les cellules. Dans les deux autres ils sont d'origine cellulaire.

1. **Hypothèse 1** : Les virus sont apparus avant les cellules. Cette hypothèse est abandonnée il était admis que les virus n'avaient pas pu apparaître avant les cellules, puisqu'ils ont précisément besoin de ces dernières pour se reproduire (parasite obligatoire).

2. **Hypothèse 2** : Les virus peuvent correspondre à des anciennes cellules parasites qui auraient évolué vers la forme virale par la perte complète de leur autonomie (perte de ribosomes). Cet organisme aurait co-évolué avec la cellule hôte et n'aurait conservé que sa capacité à se répliquer et le mécanisme de transfert de cellule en cellule. Cette hypothèse est appuyée par l'existence des rickettsies : petites bactéries ayant régressées à un point qu'elles ne peuvent survivre que dans une cellule hôte.

3. **Hypothèse 3** : Les virus peuvent correspondre à des fragments de génomes qui auraient échappé au contrôle de la cellule en devenant infectieux.

La plupart des évolutionnistes spécialistes des origines de la vie pensent à un monde cellulaire à ARN. L'ADN est la molécule support de l'information génétique caractérisant

chaque être vivant sur terre. La complexité de l'ADN rend l'apparition spontanée de cette molécule hautement improbable. Il paraît plus probable que l'ADN soit apparu par l'évolution d'une molécule plus simple (ARN). L'ARN est légèrement plus simple chimiquement parlant. Il est composé des mêmes éléments que l'ADN, sauf que le désoxyribose est remplacé par le ribose et la thymine est remplacée par l'uridine. En effet, l'étape clé de la formation des liaisons peptides est réalisée grâce à l'ARN chez tous les êtres vivants actuels. On ne connaît pas de mécanisme de synthèse protéique uniquement réalisée par l'ADN, ce qui rend l'hypothèse d'un monde à ARN aujourd'hui la faveur des scientifiques.

Si les virus à ARN sont apparus les premiers, quelle est l'origine des virus à ADN ?

III.1. Origine des virus à ADN

Deux hypothèses ont été avancées :

1. Hypothèse 1 : Les virus à ADN descendent des virus à ARN. Cette hypothèse est appuyée avec l'existence des virus utilisant les deux types d'acides nucléiques dans leur cycle de réplication tels que les rétrovirus avec leur cycle ARN-ADN-ARN et les hépadnavirus avec leur cycle ADN-ARN-ADN. L'existence des virus qui passent alternativement d'une forme ARN à une forme ADN et vice versa suggère que les virus avaient joué un rôle important dans la transition ARN en ADN.

2. Hypothèse 2 : Les virus à ADN proviennent des cellules ancestrales à ADN. Cette hypothèse est appuyée surtout après la découverte du mimivirus avec son génome géant (1,2 Mpb) codant plus de 1200 protéines. Des parasites intracellulaires à ADN d'origine cellulaires auraient pu évoluer vers la forme virale en inventant de nouvelles capsides ou en empruntant celles des virus à ARN préexistants.

Si les génomes à ADN sont apparus dans le monde viral. Comment peut-on imaginer le transfert ultérieur de l'ADN des virus aux cellules ?

III.2. Origine des cellules à ADN

Plusieurs scénarios ont été proposés, le plus convaincant est la coexistence dans une même cellule d'un génome à ARN ancestral et d'un plasmide à ADN d'origine viral. Ce dernier, a pris le contrôle de la cellule hôte et a permis la construction d'un chromosome cellulaire à ADN par rétro transcription de l'ancien génome cellulaire à ARN. De cette hypothèse, tous les êtres vivants cellulaires actuels seraient les descendants d'un ou de plusieurs virus à ADN qui auraient pris le contrôle des cellules à ARN (Fig. 8).

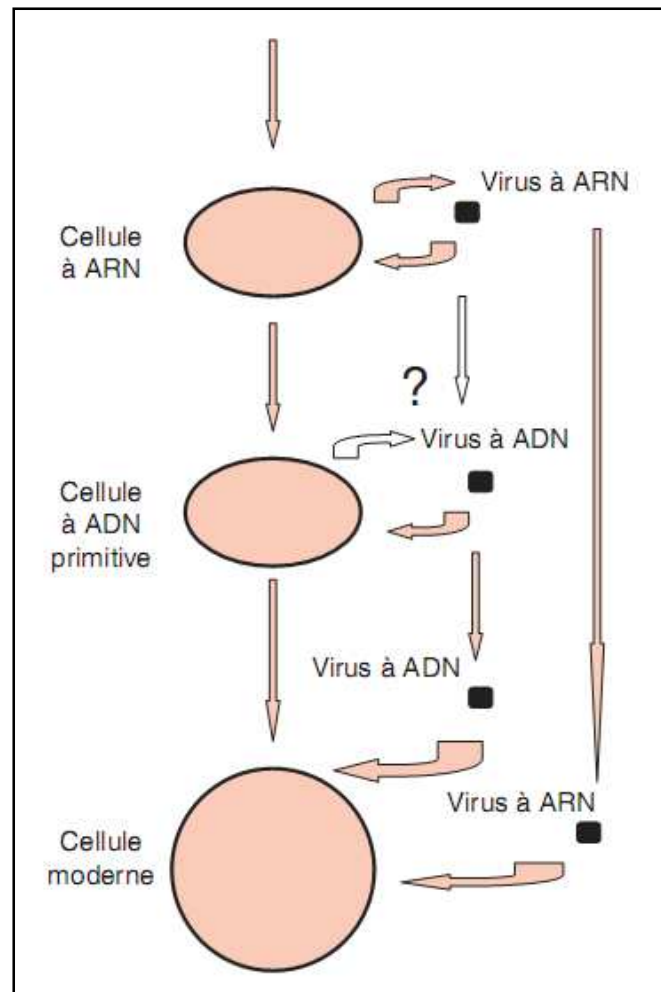


Fig. 8 : Origine des virus et des cellules à ADN

IV. Classification des virus procaryotes

La classification des virus se base sur des critères bien particuliers, à savoir la nature de l'acide nucléique (ADN ou ARN) et sa structure (monocaténaire, bicaténaire, linéaire ou circulaire), la symétrie de la capsid (binaire, cubique ou hélicoïdale), la présence ou l'absence d'enveloppe et le mode de répllication. Sur le seul critère morphologique, quatre grands groupes peuvent être définis (Fig. 9) :

1. Les virus à symétrie binaire (ou virus caudés) : Ils ont comme caractéristique principale de posséder une queue permanente, contractile ou non suivant les cas. Celle-ci possède généralement des organelles de fixation sous forme de fibres ou de crampons terminaux. Leur capsid (ou tête) est à symétrie icosaédrique. Ces virus ne sont pas enveloppés et ont un génome à ADN bicaténaire linéaire. Cette catégorie concentre 96 % des virus de procaryotes, répartis en trois grandes familles : les *Myoviridae*, les *Siphoviridae* et les *Podoviridae*. Ces dernières constituent l'ordre des *Caudovirales*, le seul ordre défini chez les virus de procaryotes.

2. Les virus à symétrie cubique : Ils ont une capsidie icosaédrique mais pas de queue. Certains possèdent une structure lipidique qui est le plus souvent sous forme d'enveloppe mais qui peut aussi être insérée dans le core. Ce groupe qui représente seulement 2 % des virus de procaryotes, correspond cependant à cinq familles : les *Microviridae* (ADN monocaténaire circulaire), les *Corticoviridae* (ADN bicaténaire circulaire), les *Tectiviridae* (ADN bicaténaire linéaire), les *Leviviridae* (ARN monocaténaire linéaire) et les *Cystoviridae* (ARN bicaténaire linéaire).

3. Les virus à symétrie hélicoïdale : Ils ont la forme de filaments de longueur variable qui sont soit flexueux soit rigides. Ils ne représentent que 1,7 % du nombre total de virus de procaryotes et regroupent trois familles : les *Inoviridae*, les *Lipothrixviridae* et les *Rudiviridae*. Les deux dernières regroupent uniquement des virus infectant les archéobactéries. Seules les *Lipothrixviridae* sont enveloppés. Les *Inoviridae* ont un génome à ADN monocaténaire circulaire alors que les *Lipothrixviridae* ainsi que les *Rudiviridae* ont un génome à ADN bicaténaire linéaire.

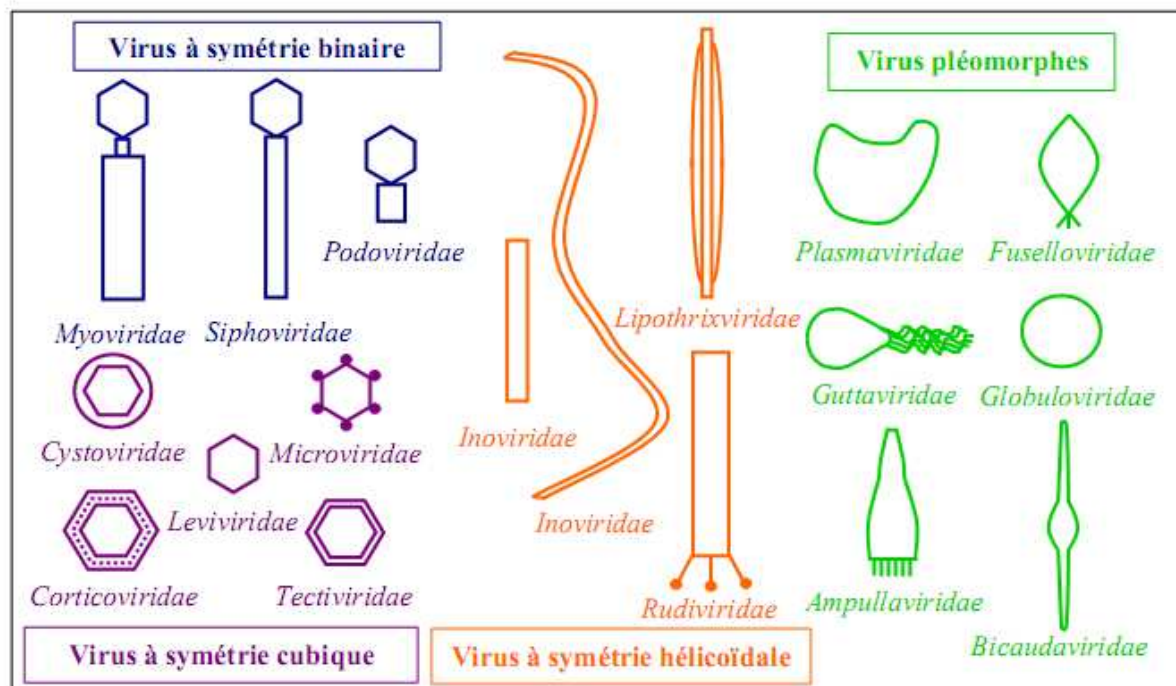


Fig. 9 : Morphologie des différentes familles de virus de procaryotes

4. Les virus dits pléomorphes : Ils ne possèdent pas de capsidie véritable mais une structure de type enveloppe. Cela ne concerne que 0,3 % des virus de procaryotes mais six familles sont concernées : les *Plasmaviridae*, les *Fuselloviridae*, les *Guttaviridae*, les *Globuloviridae*, les *Ampullaviridae* et les *Bicaudaviridae*. Ces cinq dernières regroupent des virus qui

infectent uniquement les archéobactéries. Les *Fuselloviridae* et les *Bicaudaviridae* ont une forme de fuseau alors que les *Guttaviridae* ont une morphologie de goutte d'eau avec une touffe de fins filaments au pôle le plus pointu. Les *Globuloviridae* sont sphériques et les *Ampullaviridae* ont une forme de bouteille.

V. Cycle de vie des bactériophages (bactériophages virulents et tempérés)

Les bactériophages se caractérisent par des cycles de vie en interaction directe avec les bactéries qu'ils infectent. Tous les bactériophages ont une phase d'adsorption à la cellule hôte, puis soit ils pénètrent entièrement dans la cellule, notamment s'ils sont enveloppés (ex : Phi6), soit ils injectent leur génome à travers la membrane bactérienne. Ensuite, selon qu'ils sont virulents ou tempérés, ils entrent dans une phase productive, ou dans une phase de latence (Fig. 10).

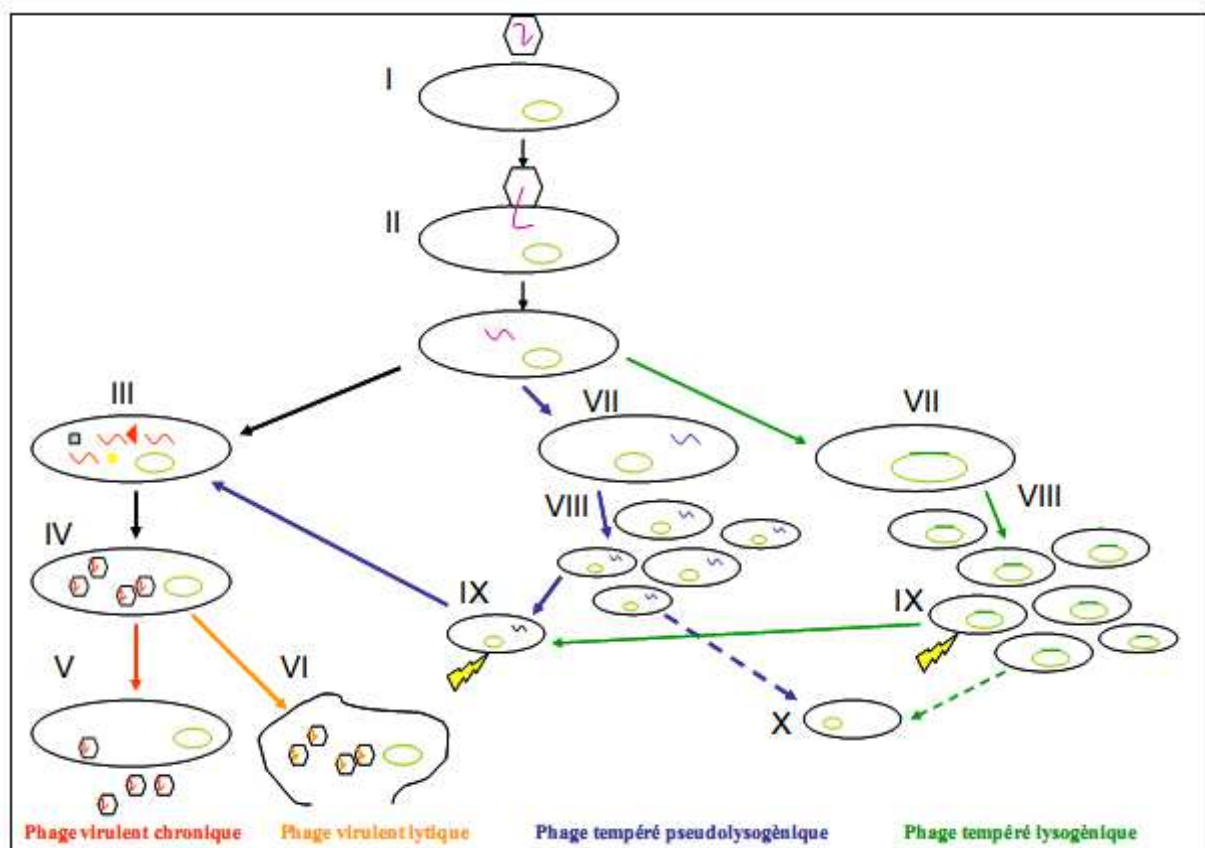


Fig. 10 : Cycles de vie des bactériophages.

I Adsorption ,II Injection du génome ,III Réplication, transcription, traduction virale , IV Assemblage des (pro)virions, V Sortie par bourgeonnement ou extrusion, VI Lyse, VII Génome viral « dormant », VIII Transmission verticale, IX Réactivation du virus (stress environnemental),X Perte du génome viral.

Les génomes des **bactériophages tempérés**, eux, sont intégrés (bactériophages lysogéniques, exp. λ) ou non (bactériophages pseudolysogéniques, exp. P1) au génome bactérien. Ils sont répliqués avec le génome hôte et transmis verticalement aux nouvelles générations bactériennes, ils sont dits « dormants » ou encore « prophages ». Le génome viral peut être perdu au cours d'une division cellulaire. Il peut aussi être réactivé, notamment en cas de stress environnemental (UVs, pauvreté du milieu extérieur) et entrer dans un cycle productif lytique. Les bactériophages tempérés lysogènes ou pseudolysogènes peuvent réprimer l'activation du cycle lytique, et assurer ainsi leur transmission verticale d'une génération bactérienne à l'autre. Ce faisant, ils empêchent les bactériophages tempérés du même type d'infecter la bactérie hôte, et lui apportent donc une certaine immunité contre ces bactériophages apparentés.

VI. Spécificité d'hôte des virus

Les études de la diversité des virus révèlent que la plupart des espèces peuvent être retrouvées dans des biomes différents. Cela suppose soit qu'il existe des hôtes identiques dans les différents biomes, soit que les virus ne sont pas spécifiques d'un hôte et peuvent s'attaquer aux hôtes qu'ils trouvent dans un biome donné, ou encore que ces deux conditions sont réunies. Or, on a longtemps considéré que les bactériophages avaient un spectre d'hôte étroit (une seule espèce bactérienne, ou même un seul sérotype), c'est-à-dire qu'ils n'infectent que des bactéries proches les unes des autres. Cela étant lié au fait que certains bactériophages ne reconnaissent que le récepteur très spécifique de leur hôte, et montrent peu (ou pas) d'affinité pour les récepteurs ayant une structure très légèrement différente. Cette stricte correspondance permet d'ailleurs d'utiliser certains bactériophages pour différencier leurs bactéries hôtes par lysotopie.

Cependant il a été montré que certains phages ont un spectre d'hôte étonnement étendu (plusieurs genres bactériens). Dans certaines conditions il peut y avoir adaptation d'un virus à un nouvel hôte, plus au moins proche de l'hôte ancestral, avec ou sans perte de la capacité de lyser cet hôte ancestral. Cette capacité qui ont les phages à étendre leur spectre d'hôte, n'est pas sans rappeler la capacité des virus à changer d'hôte, ce qui peut être à l'origine de nouvelles maladies virales humaines. Exp. VIH (virus du sida) : l'hôte d'origine est un chimpanzé, Coronavirus (virus du syndrome SRAS : syndrome respiratoire aigu sévère) : l'hôte d'origine est la chauve souris, H1N1 (virus de la grippe A) : peut être d'origine porcine ou aviaire.

VII. Transferts génétiques

Les bactériophages contribuent aux transferts horizontaux de gènes entre espèces bactériennes de façon indirecte (transduction). Lors de la lyse cellulaire, l'ADN génomique de la cellule hôte est morcelée, il arrive que des fragments d'ADN soient encapsidés accidentellement dans la capside virale. On obtient donc un phage recombinant, qui s'il infecte une cellule, il ne créera pas de cycle viral. Ce mécanisme de transduction généralisé permet des échanges génétiques de fragments d'ADN pouvant aller jusqu'à 200kb. Enfin les bactériophages lysogènes peuvent aussi « capturer » dans leur génome des gènes bactériens d'intérêt (résistance aux antibiotiques, gènes de virulence...) qu'ils peuvent par la suite propager au sein des espèces.

VIII. Intérêt d'étude des virus de procaryotes

VIII.1. Pour un enjeu en biodiversité : les bactériophages participent à la diversification des espèces bactériennes par les transferts horizontaux. Exp. Dans l'espèce *E. coli* par exemple, seuls environ 2000 gènes sont conservés entre toutes les souches sur les 4000-5000 gènes constituant leur génome.

VIII.2. Pour un enjeu en biotechnologie moléculaire

VIII.2.1. En utilisant leur cycle lysogène : Le besoin de cloner des fragments d'ADN de plus en plus gros, a amené les scientifiques et les industriels à développer de nouveaux outils. Un des ces derniers, appelé fosmide.

Un fosmide ou cosmide est un vecteur artificiel constitué d'un plasmide hybride contenant la séquence COS du phage λ (lamda) qui infecte *E. coli*. La séquence COS du phage λ est une séquence longue (200 pb) nécessaire pour l'empaquetage *in vitro* du plasmide (porteur d'un insert) dans la tête du phage λ . Un plasmide normal peut porter entre 1 à 20 Kpb alors qu'un cosmide peut apporter jusqu'à 45Kpb d'ADN. Les cosmides peuvent être encapsidés dans la capside du bactériophage de façon à transférer uniquement les gènes d'intérêts dans des cellules bactériennes par transduction. La capside du vecteur peut apporter uniquement le cosmide et non pas le matériel génétique du phage λ . La cellule hôte lysogène va alors assurer la multiplication de son génome mais aussi celle de l'ADN cloné dans le vecteur. Ce système permet donc de générer des banques de clones contenant des inserts de grande taille.

VIII.2.2. En utilisant leur acide nucléique : Etant donné leur relative petite taille, les acides nucléiques phagiques sont souvent utilisés, après digestion par des enzymes de

restriction adéquates, comme marqueurs de haut poids moléculaire. Les exemples les plus connus sont le phage λ et le phage ϕ X 174.

L'acide nucléique des phages peut également être employé comme matrice pour des tests d'activité de certaines enzymes. Par exemple, le phage ϕ X 174, qui possède un ADN simple brin circulaire, est utilisé pour des tests d'activité nickase (clivage d'un brin d'ADN) ou ADN polymérase (copie d'un brin d'ADN à partir d'une matrice simple brin circulaire). Le génome de certains virus de procaryotes peut également être un outil génétique. Le virus SSV1, qui infecte le genre archéen *Sulfolobus*, a servi à l'élaboration d'un vecteur navette entre *Sulfolobus solfataricus* et *Escherichia coli*. Ce dernier, appelé pKMSD48, est inductible aux rayons UV. De plus, il permet la production de particules virales infectieuses et morphologiquement similaires à celles de SSV1. Enfin, il est présent de façon stable dans la cellule sous deux formes : une forme double brin circulaire multicopie (20 à 40) et une forme intégrée au génome de l'hôte grâce à son intégrase. Ses caractéristiques en font le premier système efficace de transformation chez les archées.

VIII.2.3. En utilisant leurs enzymes : A l'heure actuelle, les enzymes issues de virus archéens sont relativement nombreuses. Aucune n'est cependant exploitée par les entreprises de biotechnologie moléculaire car leur activité demeure souvent indéterminée. Elles représentent malgré tout une piste importante pour les années futures, notamment parce qu'elles sont un réservoir potentiel de nouvelles fonctions biologiques pouvant parfois se présenter sous la forme d'enzymes multifonctionnelles, comme c'est le cas chez les plasmides archéens. Les premières enzymes à avoir été exploitées sont les polymérases (ARN polymérases et ADN polymérases). Une des ARN polymérase phagique les plus utilisées est l'ARN polymérase ADN dépendante du coliphage T7. C'est une protéine de 100 kDa qui reconnaît spécifiquement un promoteur de 17 pb. Aucun activateur ou cofacteur n'est requis pour l'initiation, la transcription processive ou la terminaison. Elle est surtout employée pour la synthèse de transcrits (ARNm et ARNi) et de sondes marquées.

En ce qui concerne les ADN polymérases, une des plus employées est celle du phage ϕ 29. Cette enzyme synthétise de l'ADN avec une exceptionnelle processivité doublée d'une extraordinaire activité de déplacement de brin. Ses applications sont diverses : amplification par cercle roulant pour les plasmides et génomes phagiques circulaires, amplification par déplacement multiple pour les ADN rares ou encore amplification de gros fragments par couplage avec d'autres protéines du phage ϕ 29. Les autres catégories d'enzymes phagiques très fréquentes en biologie moléculaire sont les ligases. La plus connue est l'ADN ligase ATP-dépendante du bactériophage T4. Elle lie de façon covalente des molécules d'ADN

double brin ayant soit des extrémités 5' et 3' phosphorylées, soit des extrémités cohésives obtenues grâce à une digestion par des enzymes de restriction. La principale application de cette enzyme réside dans le clonage où elle permet l'insertion d'un fragment d'ADN dans un vecteur. Il existe également des ARN ligases. Ainsi, très récemment, deux ARN ligases thermostables et homologues à la ligase 1 du phage T4 ont été isolées de virus infectant des bactéries des genres *Rhodothermus* et *Thermus*. Ces enzymes sont capables de ligaturer à haute température (optimum aux environs 60°) deux molécules d'ARN ou d'ADN simple brin.

VIII.3. Pour un enjeu en thérapeutique

VIII.3.1. En tant qu'« antibiotiques » : Les endolysines sont des enzymes codées par les bactériophages qui détruisent le peptidoglycane des bactéries lors de la phase terminale du cycle viral. Etant donné leur spécificité et leur grande activité, elles peuvent notamment être utilisées comme agent thérapeutique.

VIII.3.2. Pour la synthèse d'anticorps spécifiques : La technique du « phage display » correspond à une expression de protéines (y compris des anticorps) ou de peptides grâce à un bactériophage filamenteux. Les séquences d'ADN codant pour ces molécules sont intégrées dans le génome du virus de façon à ce que les protéines ou les peptides présentés à la surface du bactériophage soient fusionnés avec des molécules capsidiales du phage. Dans le cas du [bactériophage M13](#), l'ADN codant pour la protéine ou le peptide d'intérêt est [lié](#) au gène pIII ou pVIII, qui codent respectivement pour les protéines de [capside](#). Des [sites multiples de clonage](#) sont parfois utilisés de sorte que le gène soit au moins une fois transcrit correctement. L'hybride d'ADN constitué par le gène du phage et le gène d'intérêt est inséré dans [Escherichia coli](#), de façon que le phage modifié soit produit par la bactérie (Fig. 11). Les phages recombinants sont sélectionnés pour leur capacité de liaison à une cible (Fig. 12). Après de nombreux lavages, les phages fixés sont élués puis isolés et amplifiés par infection de bactéries. Les phages amplifiés sont sélectionnés à nouveau sur la même cible. Après 3 à 4 tours de sélection-amplification, les phages sélectionnés sont analysés et testés pour l'activité recherchée.

VIII.3.3. En tant que vecteurs pour la thérapie génique : La thérapie génique consiste principalement à injecter un gène « correcteur » dans une cellule pour remplacer le gène défectueux. Dans ce domaine, les virus sont les vecteurs les plus fréquemment utilisés.

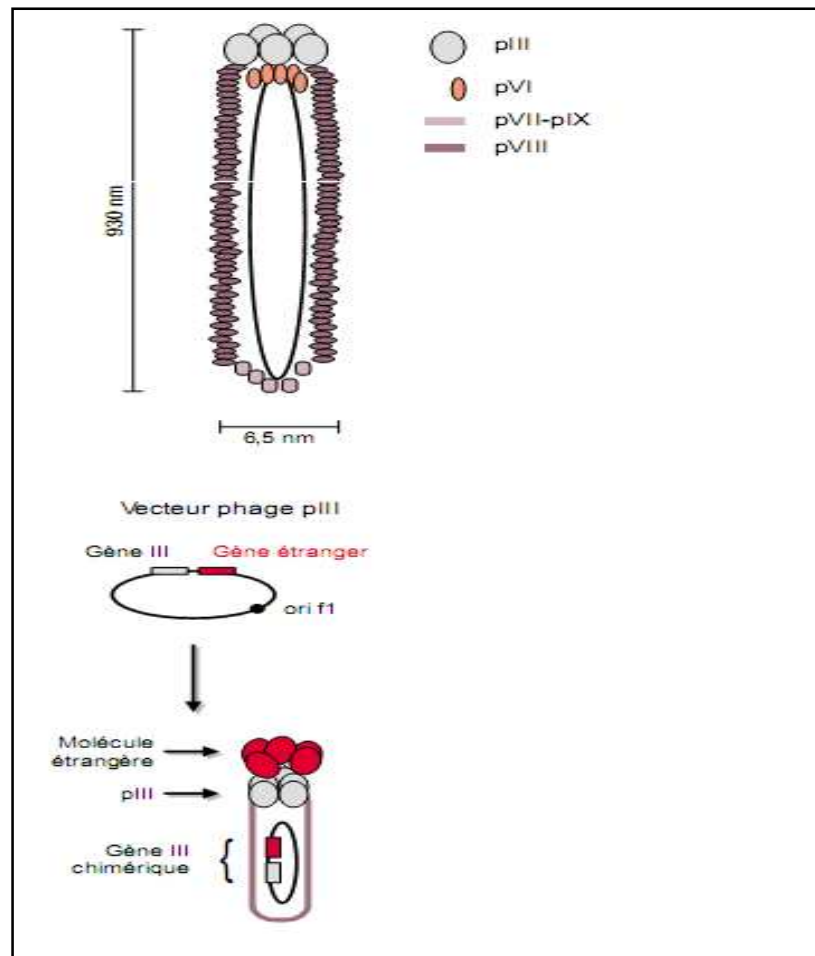


Fig. 11 : Représentation schématique du bactériophage filamentueux

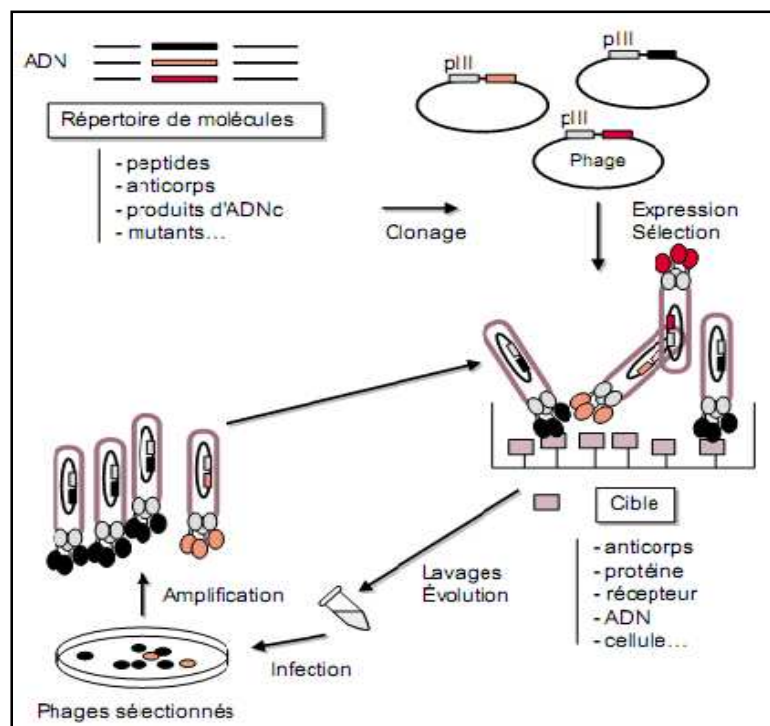


Fig. 12 : Sélection d'un répertoire de molécules exprimées à la surface du phage filamenteux pour leur liaison à une cible.

Chapitre V : Interaction entre les microorganismes et l'environnement

Les changements des conditions de l'environnement conduisent à des réactions ou à des comportements inhabituels dans une communauté microbienne, on parle de **stress cellulaire**. Le **stress cellulaire** est défini comme tout changement dans l'expression du génome ou dans le protéome, qui imposent un taux de croissance réduit.

Les principaux facteurs provoquant le stress cellulaire et limitant l'activité biologiques des microorganismes sont :

1. Le déficit hydrique qui provoque la salinité et l'osmolarité ;
2. Variation de la température et pH ;
3. Variation de gradient d'O₂ ;
4. Carences en éléments nutritionnels.
5. Présence d'antibiotiques ou de toxines,...etc.

Face au stress, chaque espèce bactérienne possède ses propres voies de réponses. Les différentes réponses à l'échelle cellulaire les plus courantes chez les bactéries sont :

1. Fuir le stress (bactéries mobiles);
2. Former des spores de résistances (bactéries sporulantes) ;
3. Produire des facteurs de virulences telles que des toxines (cas des bactéries pathogènes lors de l'attaque invasive)
4. Se développer sous forme de biofilms ;
5. Tolérer le stress (réparation des dommages intracellulaires et adaptation physiologique et moléculaire).

Ces différentes réponses sont coordonnées par un processus de régulation appelé « Quorum Sensing ».

Pour qu'une bactérie réponde aux variations de l'environnement, il faut qu'elle reçoive un signal. Ces signaux sont des molécules qui diffèrent d'une bactérie à une autre. Ces molécules sont spécifiquement reconnues par des récepteurs spécifiques. Ces derniers sont exprimés soit à la face externe ou bien interne de la membrane périplasmique. Généralement

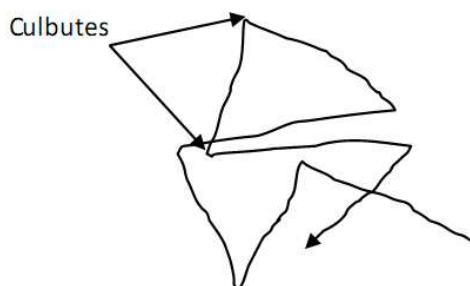
les molécules qui se fixent sur la surface sont des molécules hydrosolubles, et celles qui se fixent à l'intérieur sont lipophiles. Lorsque le complexe est formé (molécule /récepteur) l'activité biologique des microorganismes sera modifiée. La transduction du signal est l'étape commune pour toutes les réponses, elle désigne le mécanisme par lequel une cellule bactérienne répond à l'information qu'elle reçoit par des molécules spécifiques, ces dernières déclenchent une cascade de signaux secondaires internes à la cellule ou externe (action sur d'autres cellules).

V.1. Différentes réponses au stress cellulaire

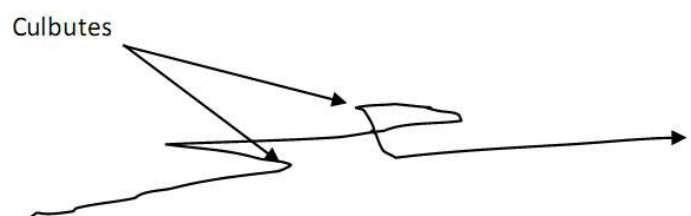
V.1.1. Chimiotactisme et mobilité

Le **chimiotactisme** se définit par l'effet d'attraction ou de répulsion qu'exerce une substance chimique sur une cellule vivante. Selon l'effet produit, on parle de chimiotactisme positif (attraction) ou négatif (répulsion). Le phénomène de **chimiotactisme** est détecté chez les bactéries mobiles, donc c'est la propriété de certains microorganismes d'être attirés ou repoussés par des substances chimiques. Ce sont généralement les bacilles qui possèdent une mobilité.

Les bactéries ont une nage aléatoire ce qui ne permet pas vraiment une orientation efficace de la bactérie; elle n'avance pas beaucoup. Les bactéries vont être sensibles aux gradients chimiques (variations de certains composés). Certaines substances attirent les bactéries mobiles, d'autres les repoussent. Selon la composition du milieu de culture, on distingue 2 types de trajectoires :



Les mouvements sont aléatoires. Il y a de nombreuses culbutes. Aucune direction claire ne se dégage, en absence de gradient, le milieu de culture est dit **neutre**.



Les **distances sont plus longues**, il y a moins de **culbutes**. Une **direction claire** apparaît en fonction d'un **gradient de substances attractives ou répulsives**.

La bactérie est capable de moduler la fréquence de ses changements de directions ; c'est à dire que quand elle se déplace vers des substances attractives, elle va changer moins vite de direction (sauf si elle se retrouve à contre sens (sens des aiguilles d'une montre)).

Exemple : *E. coli* se trouve dans un milieu hydrique, pauvre déficient en nutriments ou en présence de toxines ou antibiotiques, deux types de mouvements sont distingués :

- Une rotation dans le sens inverse aux aiguilles d'une montre c à d arrange les flagelles dans un seul faisceau synchrone : la natation « run »
- Une rotation dans le sens des aiguilles d'une montre, les flagelles se désolidarisent (dissocient) les uns des autres, la bactérie tourne dans tous les sens mais ne peut pas se déplacer « tumble »

Donc les *E. coli* sont capables de diriger leur mouvement afin de trouver les lieux favorables ou s'enfuir d'une substance indésirable

• Le mécanisme moléculaire

En situation normale les protéines « FLI » qui activent l'inversion du sens de rotation des flagelles, sont stimulées par des molécules phosphorylées. Lorsque la concentration en chimio-attracteurs augmente, ces derniers se lient à leurs récepteurs qui sont alors méthylés. Cette méthylation inhibe la cascade de phosphorylation habituelle et empêche ainsi l'activation de FLI. La bactérie ne change donc pas le sens de sa nage. Il y a au niveau de la bactérie des chimiorécepteurs qui sont des molécules (jusqu'à 8 000 par cellules). Ces molécules sont aussi appelées MCP « Methyl accepting Chemotaxis Protein ». Lorsque les chimiorécepteurs reconnaissent les chimioeffecteurs, les récepteurs sont méthylés. Un chimiorécepteur est spécifique d'une ou deux molécules. Les protéines CheA et CheW se fixent au récepteur (Fig. 13).

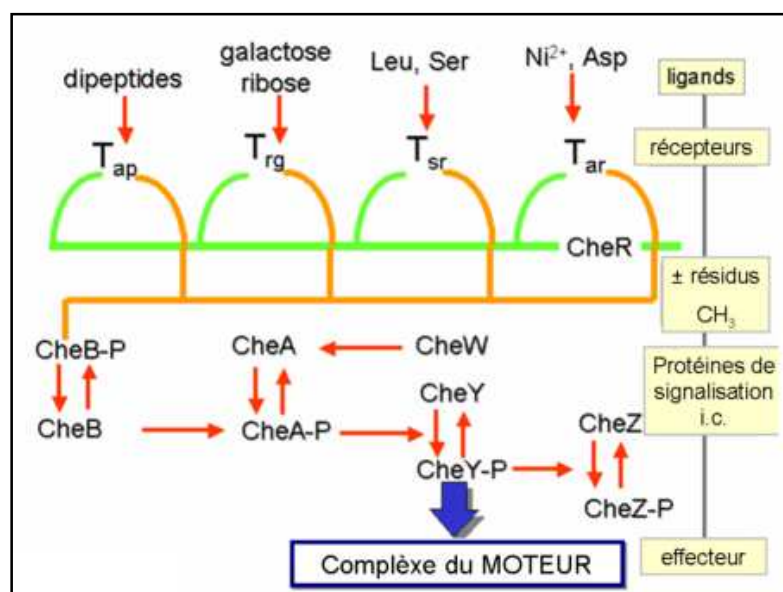


Fig. 13 : Voie de signalisation de *E. coli* (chimiotaxie).

L'activation du récepteur par un stimulus externe résulte l'auto-phosphorylation de l'histidine kinase (CheA). Puis, CheA transfère un groupe phosphoryl aux CheB et CheY. Une fois activée par CheA, CheB agit comme une méthyle estérase et enlève des groupes méthyles des résidus glutamates de la partie cytoplasmique du récepteur. Elle a un effet antagoniste par rapport à la méthyle transférase CheR qui méthyle les mêmes résidus de glutamates. CheY, en interagissant avec la protéine commutateur flagellaire, la protéine FliM, induit le changement du sens de rotation des flagelles du sens inverse des aiguilles d'une montre au sens des aiguilles d'une montre et ainsi induit le « tumbling ». La modification de l'état de rotation d'un seul flagelle peut perturber le faisceau entier et provoquer le « tumbling ».

V.1.2. Sporulation

Les spores bactériennes sont très différentes des spores de champignons :

- elles se forment à l'intérieur des cellules bactériennes, d'où le nom d'endospores,
- elles apparaissent lorsque la bactérie se trouve en conditions défavorables,
- ce ne sont pas des formes de dissémination mais des formes de résistance.

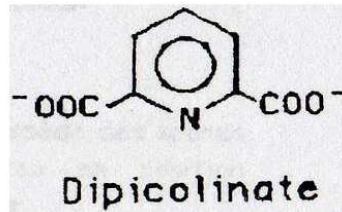
Il ne se forme qu'une seule spore par cellule végétative (centrale, terminale ou sub-terminale). Lorsque les conditions redeviennent favorables, la spore peut germer et donner une nouvelle cellule végétative. 3 genres bactériens sont caractérisés par des endospores : *Bacillus*, *Clostridium* et *Sporosarcina* (Bact G+).

V.1.2.1. Les différentes phases de sporulation

La sporulation intervient lorsque les conditions deviennent défavorables à la croissance (carence en nutriments, en sels minéraux, manque d'eau). Les bactéries sporulantes entrent alors dans le stade 1.

- **Stade 1** : l'ADN s'est dupliqué et se condense en formant un filament axial.
- **Stade 2** : il y a formation d'un septum qui individualise deux compartiments de tailles inégales. Le filament axial d'ADN s'est fragmenté pour donner 2 molécules.
- **Stade 3** : la membrane de la grosse cellule englobe la petite cellule qui est finalement endocytée. La petite cellule est appelée préspore, elle est entourée d'une double membrane. L'ensemble est le sporange. A ce niveau, le processus de sporulation est devenu irréversible. Les stades 4, 5 et 6 correspondent à la maturation de la spore :
- **Stade 4** : la cellule mère produit des composants proches du peptidoglycane qui viennent s'accumuler entre les 2 membranes pour former le cortex. Chez certaines espèces, une autre couche protéique plus externe est synthétisée, c'est l'exosporium (structure facultative).

- **Stade 5** : la formation du cortex et de l'exosporium se poursuit. On observe également l'accumulation d'acide dipicolinique (DPA) et de calcium dans le cytoplasme. Cette accumulation s'accompagne d'une déshydratation de la spore, et de la production de SASPs (Small Acid Soluble spore Proteins).



- **Stade 6** : la maturation de la spore s'achève par la synthèse de nouvelles enveloppes protéiques : les tuniques qui s'insèrent entre le cortex et l'exosporium. Les tuniques sont composées de protéines riches en cystéines (=> possibilité de formation de ponts di-sulfures qui stabilisent les structures).

- **Stade 7** : la cellule mère (ou sporange) est lysée sous l'effet des enzymes lytiques (Cle : Cortex lytic enzyme). Elle libère la spore mûre (Fig. 14).

L'ensemble du phénomène dure environ 7 à 10 heures (Fig. 15).

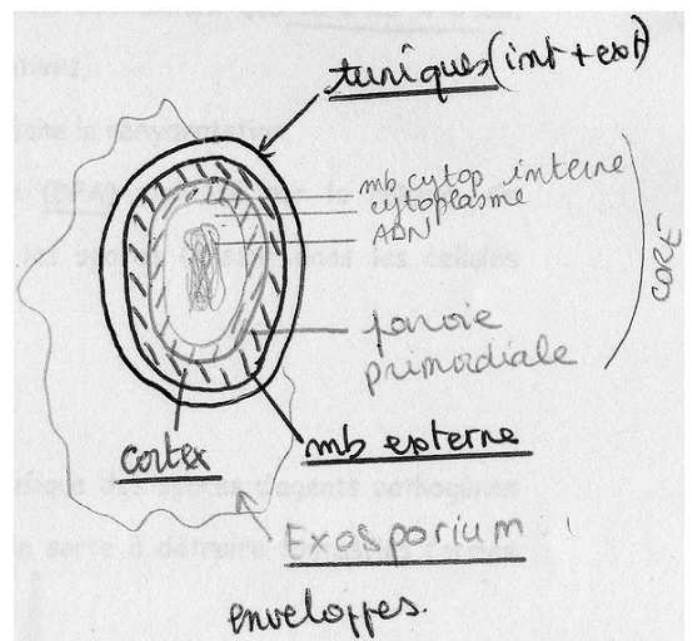
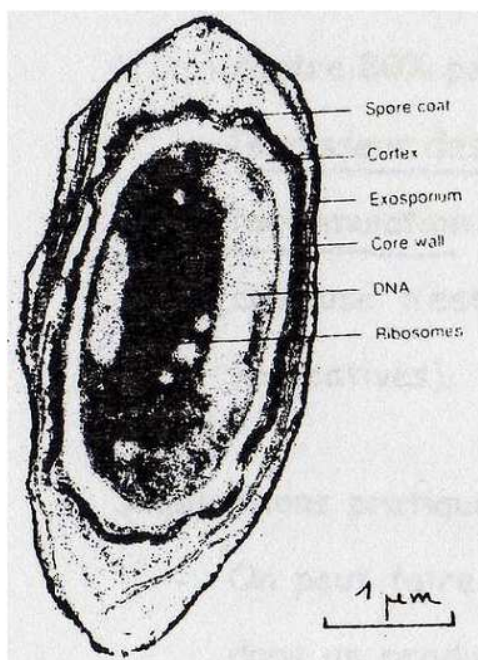


Fig. 14 : Spore bactérienne

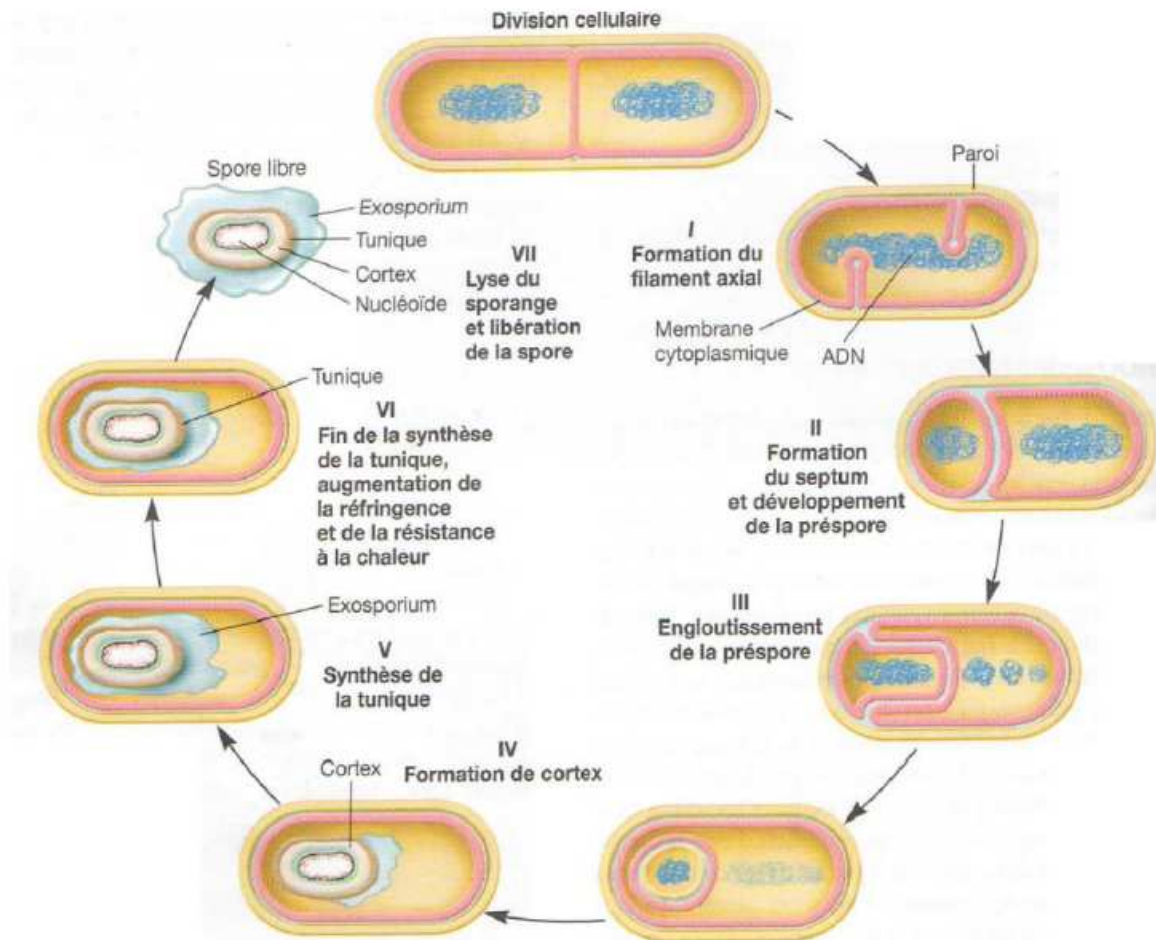


Fig. 15 : Cycle sporal

V.1.2.2. Germination des spores

Lorsque la spore est placée dans des conditions favorables de croissance, elle subit une série de transformations progressives et devient une nouvelle cellule végétative. Ce processus comprend 3 étapes : l'activation, l'initiation et l'émergence.

V. 1.2. 2. 1 Activation

Pour pouvoir germer, la spore doit être activée par un agent capable de lyse des enveloppes sporale. Cet agent peut être de nature ou chimiques (acides), enzymatique (lysozyme), mécaniques (phénomène d'abrasion, choc), physiques (choc thermique : procédé de tyndallisation par exp.).

V.1.2. 2. 2. Initiation

L'initiation n'intervient qu'en conditions favorables : forte teneur en eau, milieu riche contenant des métabolites effecteurs (adénine, adénosine, Mg^{2+}). Ces éléments pénètrent à travers les enveloppes endommagées et déclenchent un processus autolytique avec

dégradation du peptidoglycane du cortex et libération de l'acide dipicolinique. Alors la spore se gonfle d'eau et perd ses caractéristiques.

V.1.2. 2. 3. Emergence

Après sa réhydratation, la spore donne une nouvelle cellule végétative qui entre en phase active de biosynthèses : la synthèse de l'ADN reprend, la cellule double son volume, elle devient à nouveau capable de se multiplier.

V.1.2.3. Propriétés de la spore

1. Thermorésistance : la spore résiste à des températures allant de 70 à 80°C/ 10 min
2. Résistance aux agents physiques et chimiques (UV, X, antiseptiques, ANB,...).
3. Résiste à la dessiccation
4. Synthèse d'antibiotiques : certaines bactéries synthétisent des ANB au début de la phase de sporulation.

V.1.3. Production des facteurs de virulence

V.1.3.1. Phénomène d'adhésion : est dépendant, selon les germes, des pilis ou fimbriae (Exp. Enterobactéries hémagglutinantes), des adhésines codées par les plasmides (Exp. *E. coli* entéropathogènes) ou le glycocalix (longues fibres polysaccharidiques). Ces éléments de fixation permettent aux germes d'éviter l'expulsion par des phénomènes mécaniques tels que le flux urinaires, la toux, ou les mouvements péristaltiques de l'intestin.

V.1.3.2. La capsule : protège les micro-organismes contre les UV, dessiccation, les agents physiques et chimiques. Elle s'oppose à la phagocytose en diminuant l'adhésion des macrophages. Elle exerce un chimiotactisme négatif sur les leucocytes. Les cellules phagocytaires ne disposent pas des enzymes nécessaires à leur digestion. Les mycobactéries responsables de la tuberculose, par exemple, après avoir été phagocytées par des macrophages, sont transportées par ceux ci jusqu'au sang où elles peuvent se multiplier.

V.1.4. Biofilm

Les biofilms bactériens sont des agrégats de cellules bactériennes attachés à une surface et enrobés d'une matrice polymérique. Les bactéries peuvent aussi bien adhérer à une surface biotique (Exp. cellules de la muqueuse) qu'à une surface abiotique (Exp. plaques, équipements,...etc.).

Les biofilms résistent aux bactériophages, aux amibes, aux biocides (antibiotiques et désinfectants) et à la dessiccation. Ils permettent également aux bactéries pathogènes de résister aux réponses immunitaires de l'hôte. De plus, les bactéries d'un biofilm sont

généralement moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants que ces mêmes bactéries sous forme planctonique.

La formation d'un biofilm se fait en plusieurs étapes selon un modèle bien établi (Fig. 16). Les bactéries s'adhèrent rapidement à une surface biotique ou abiotique.

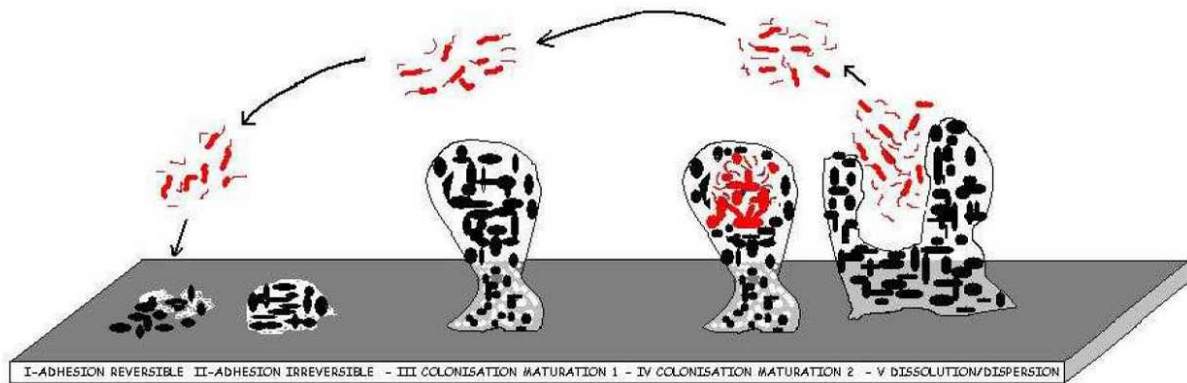


Fig. 16 : Etapes de formation de biofilms

Cette étape requiert généralement la présence de molécules ou de structures particulières à la surface de la bactérie (Exp. fimbriae, flagelle) puis l'adhésion devient lente à la suite des interactions physicochimiques des forces d'attraction (Vander waals) et de répulsion (électrostatique et acido basique). Puis les cellules bactériennes vont s'agglutiner, se multiplier et former des microcolonies (colonisation et maturation). Lors de l'étape de maturation du biofilm, les bactéries synthétisent des polysides entrant dans la composition des polymères exocellulaires (EPS) du biofilm et d'autres constituants de la matrice polymérique. Cette dernière peut être constituée de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensioactifs, de lipides, de glycolipides et de cations. L'étape finale de la formation d'un biofilm est le détachement et la dispersion de cellules bactériennes. Ces cellules ont la capacité d'adhérer à de nouvelles surfaces et de reformer un biofilm. Le détachement et la dispersion de cellules bactériennes d'un biofilm jouent un rôle important dans la transmission de bactéries de réservoirs environnementaux à un hôte (animal ou humain), dans la transmission entre les hôtes et dans la propagation de l'infection chez un hôte.

V.2. Quorum Sensing

Le quorum Sensing (QS) est un mécanisme de signalisation intercellulaire. Il permet aux bactéries de communiquer entre elles via des petites molécules médiatrices dites signal ou

auto-inducteurs qui sont produites en phase de croissance bactérienne. Il permet aux bactéries de coordonner leurs réponses et d'agir comme un organisme pluricellulaire.

Les auto-inducteurs sont de petites molécules diffusables induisant en fonction de leur concentration qui reflète la concentration bactérienne l'expression de certains gènes. Chez les bactéries à Gram+, l'auto-inducteur est un dérivé de petits peptides. Chez les bactéries à Gram-, la majorité des molécules signal sont des N-acyl L-homoserine lactone ou homoserine lactone (HSL).

Le QS repose sur la densité de cellules bactérienne présente dans la colonie et sur la quantité de molécules signales présente dans l'environnement proche de ces bactéries. La quantité de molécules signal est directement liée au nombre de cellules bactériennes dans la colonie. Lorsque la densité bactérienne de la colonie augmente, la concentration de molécules signal augmente jusqu'à atteindre un certain seuil ou quorum, à partir duquel l'activité bactérienne en question est activée ou bien réprimée selon le cas. Lorsque les molécules signal sont en quantité suffisante, elles se lient à leur récepteur protéique intracellulaire et l'ensemble se comporte en facteur transcription, en se fixant à l'ADN pour réguler les gènes ciblés (Fig. 17).

Le QS coordonne et synchronise l'expression d'une multitude d'activités bactériennes au sein de la communauté comme par exemple : Processus génétiques fondamentaux : conjugaison et réplication, synthèse d'exo-enzymes, production de facteurs de virulence, production de biofilms, production d'antibiotiques et l'expression de facteurs de résistance aux antibiotiques, sporulation et bioluminescence.

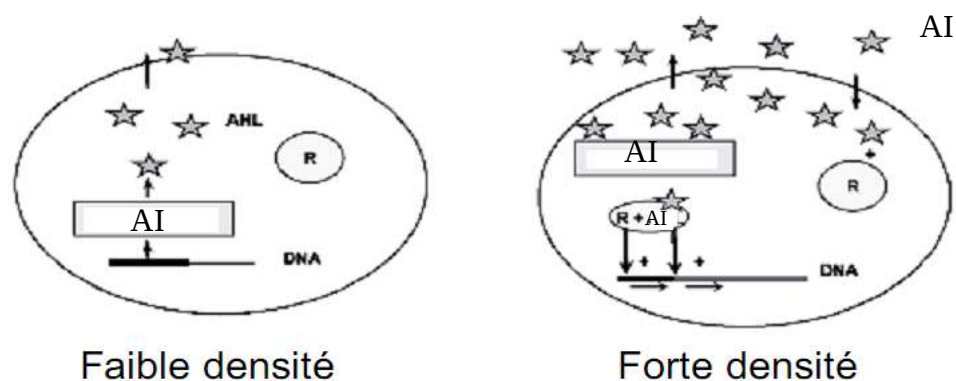


Fig.17 : Schéma général du mécanisme commun du QS.