

Université Constantine 1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire

Cours de biotechnologie

L3 BMC

Par : Dr. DALICHAOUCHE Imane

CHAPITRE I. Définition et histoire des biotechnologies

I. Définitions des biotechnologies

- Ensemble des méthodes ou techniques utilisant des éléments du vivant (organismes, cellules, éléments subcellulaires ou moléculaires) pour rechercher, produire ou modifier des éléments ou organismes d'origine végétale ou animale (ou non).
- Les biotechnologies concernent donc des procédures qui peuvent contribuer au développement de nouveaux produits ou de services et des produits déterminés.
- Elles regroupent les méthodes traditionnelles (fabrication du pain, de la bière, du vinaigre, etc.) et les biotechnologies modernes fondées sur la génétique moléculaire et le génie génétique.

II. Histoire des biotechnologies

1. Biotechnologies anciennes ou de premières générations

La biotechnologie est un processus multidisciplinaire mis en place par l'humanité, de manière empirique, depuis plus de 5 000 ans. Dès le début de la domestication des plantes et des animaux, période correspondante à l'apparition de l'agriculture et de l'élevage; l'homme s'est intéressé à la transformation des produits de sa production « agricole » en transformant:

- Le lait en lait caillé en l'exposant aux bactéries.
- La farine en pain en ajoutant de la levure.

Les transformations, par fermentation, constituent les prémices de la biotechnologie au sens large. Les applications liées à la fermentation ont évoluées progressivement au gré des découvertes de concepts biologiques et de la maîtrise de nouvelles techniques.

2. Biotechnologie de seconde génération

L'évolution de la biotechnologie et l'élargissement de ces champs d'application sont fortement liés.

- D'une part à la découverte et la compréhension de nouveaux concepts biologiques et surtout ceux de biologie moléculaire à savoir, l'ADN, le gène et leur fonctionnement.
- Et, d'autre part avec le perfectionnement des procédés techniques qui sont de plus en plus informatisés (numérisés).

Dans le domaine de la biotechnologie, la production en masse des produits de qualité est possible grâce à 3 outils de base:

- La maîtrise des techniques de culture cellulaire (humaine, animal, végétal et microorganismes), qui permet de maintenir longtemps des cultures cellulaires de caractéristiques constantes.
- Le génie génétique qui permet de modifier de façon contrôlée le génome d'un organisme.
- L'informatique sans laquelle il est impossible de traiter et d'exploiter l'information génétique.

CHAPITRE II. Domaines d applications des biotechnologies

Principales applications de la biotechnologie utilisant le code des couleurs

DOMAINES	APPLICATIONS
Biotechnologie rouge / Médecine	-Production de vaccins et d'antibiotiques -Techniques de diagnostic moléculaire -Industrie pharmaceutique et cosmétique
Biotechnologie verte / Agriculture	-Production de variétés végétales modifiées -Production de races animales modifiées -Production de biofertilisants et de biopesticides -Agroalimentaire
Biotechnologie Jaune / Environnement	-Entretien de la biodiversité -Dépollution
Biotechnologie blanche / Industrie	-Procédés industriels (conception et production de nouveaux matériaux à usage quotidien comme les matières plastiques, textiles ...) non polluants. -Développement de nouvelles sources d'énergie durables comme les biocarburants.
Biotechnologie bleue / Mer	-Exploitation des ressources maritimes pour créer de nouveaux produits. -Production de biomatériaux et agents pharmacologiques régénératifs.

1. LES BIOTECHNOLOGIES ROUGES (Médecine, santé humaine, médecine vétérinaire, cosmétologie, diagnostic, nouveaux procédés thérapeutiques moléculaires ou cellulaires):

La biotechnologie rouge rassemble toutes les utilisations de la biotechnologie liées à la médecine. La biotechnologie rouge comprend la production de vaccins et d'antibiotiques, le développement de nouveaux médicaments, les techniques de diagnostic moléculaire, les thérapies de régénération et le développement du génie génétique pour guérir les maladies par la manipulation génétique.

Certains exemples pertinents de biotechnologie rouge sont la thérapie cellulaire et

la médecine régénérative, la thérapie génique et les médicaments à base de molécules biologiques telles que les anticorps thérapeutiques.

2. LES BIOTECHNOLOGIES BLANCHES (Industrielles)

La biotechnologie blanche comprend toutes les utilisations de la biotechnologie liées aux procédés industriels - c'est pourquoi elle s'appelle aussi «biotechnologie industrielle». La biotechnologie blanche accorde une attention particulière à la conception de processus et de produits à faible consommation de ressources, ce qui les rend plus écoénergétiques et moins polluants que ceux traditionnels.

On trouve de nombreux exemples de biotechnologie blanche, comme l'utilisation de microorganismes dans la production de produits chimiques, la conception et la production de nouveaux matériaux à usage quotidien (matières plastiques, textiles ...) et le développement de nouvelles sources d'énergie durables comme les biocarburants.

2.1 Les biotechnologies dans les pays industrialisés

Globalement les Etats-Unis et l'Union Européenne sont très proches en nombre d'entreprises de biotechnologie. Les sociétés Américaines disposent de moyens financiers plus étendus.

En Europe 61% des entreprises de biotechnologies travaillent en priorité pour la santé, 32% pour l'agriculture, l'agroalimentaire et 7% pour l'environnement.

L'Europe se distingue des Etats-Unis par la faiblesse des recherches sur les OGM.

2.2 Les biotechnologies dans les pays en voies de développement

Potentiellement les traitements issus des biotechnologies pourraient être mieux adaptés aux contraintes des pays en développement caractérisés souvent par l'absence de la chaîne de froid, par la mauvaise hygiène et une faiblesse de revenus.

-Les objectifs de l'Organisation mondiale de la Santé:

-La réalisation de diagnostic précoce et précis pour les maladies infectieuses.

-La création et la production locale de vaccins contre les principales maladies infectieuses.

-La réalisation de formes adaptées pour les médicaments et les vaccins.

3. LES BIOTECHNOLOGIES VERTES

La biotechnologie verte est axée sur l'agriculture en tant que domaine de travail. Les approches biotechnologiques vertes et les applications comprennent la création de nouvelles variétés végétales d'intérêt agricole, la production de biofertilisants et de biopesticides, en utilisant des cultures *in vitro* et des plantes de clonage. *La première approche est celle qui doit être développée et susciter le plus d'intérêt et la controverse sociale.* La production de variétés végétales modifiées est basée presque exclusivement sur la transgénèse, ou l'introduction de gènes d'intérêt d'une autre variété ou d'un organisme dans la plante.

L'utilisation de plantes transgéniques vise à développer des variétés ayant des propriétés nutritionnelles améliorées (par exemple, une teneur plus élevée en vitamines).

4. LES BIOTECHNOLOGIES BLEU (la mer)

La biotechnologie bleue repose sur l'exploitation des ressources maritimes pour créer des produits et des applications d'intérêt industriel. Compte tenu du fait que la mer présente la plus grande biodiversité, il existe potentiellement une vaste gamme de secteurs pour bénéficier de l'utilisation de ce type de biotechnologie. De nombreux produits et applications de la biotechnologie bleue sont encore objet d'étude et de recherche, bien que certains d'entre eux soient réellement utilisés quotidiennement.

Des molécules enzymatiquement actives utiles dans le diagnostic et la recherche ont également été isolées des organismes marins.

5. LES BIOTECHNOLOGIES JAUNE (l'environnement)

Les biotechnologies jaunes se rapportent aux biotechnologies utilisées dans la protection de l'environnement. Il s'agit d'utiliser les avancées biotechnologiques et microbiologiques afin de protéger et assainir l'environnement. Lier la biotechnologie à l'écologie permet de développer des procédés plus propres pour participer à l'équilibre

de la planète.

CHAPITRE III. Les techniques de base en biotechnologie

1. La fermentation

C est un phénomène naturel, se produisant lors de la décomposition de la matière organique par les microorganismes, substrats glucidiques notamment, sans utilisation d'oxygène. Au cours de cette dégradation il y a production d'acide, d'alcool ou de gaz. Ce sont des molécules d'intérêts, qui présentent un bénéfice pour l'homme.

-Les conditions de la fermentation :

➤ Les conditions chimiques englobent :

La source de carbone (sucres, déchets agroalimentaires, résidus industriels, ect...). Les ingrédients (source d'azote, de phosphate et autres éléments en trace) et les facteurs de croissance.

➤ Les conditions physiques sont :

La température, l'agitation, l'aération, la pression, le pH, la configuration géométrique...

➤ Les microorganismes sont :

Des êtres microscopiques, innombrables et peuplant notre environnement. Ce vaste monde microbien ou Protiste est divisé en deux groupes : -les Procaryotes qui sont des êtres primitifs avec les bactéries et les algues bleues -et les Eucaryotes unicellulaire (inferieurs) qui sont des êtres plus évolués exp (les levures).

LES CHAMPS D'APPLICATION DES PRODUITS DE LA FERMENTATION

- Dans les industries alimentaires.
- Dans les applications médicales et pharmaceutiques.
- Dans les industries du plastique.

- Dans les industries minières.

2. La génétique

La génétique a considérablement évolué, c'est une branche qui regroupe plusieurs disciplines liées à l'ADN et qui concourent à la compréhension de l'expression des caractères héréditaires et à leurs régulations. La connaissance de la nature chimique de l'ADN puis son organisation spatiale élucidée par Watson et Crick en 1953 ont ouvert de nouvelles perspectives d'études très fines sur l'ADN qui s'inscrivent dans le domaine de la biologie moléculaire.

3. Culture cellulaire

La **culture cellulaire** est un procédé qui permet aux cellules de se reproduire en dehors de leur milieu de vie naturel ou de l'organisme dont elles proviennent. Les scientifiques ont mis au point le procédé de culture cellulaire pour cultiver des micro-organismes en dehors de leur milieu d'origine. Plusieurs types de cellules peuvent être cultivés : des micro-organismes unicellulaires (bactéries, levures, etc.) et des cellules provenant d'organismes pluricellulaires (végétaux et animaux). En les cultivant en laboratoire, on peut contrôler leur croissance et obtenir de grandes quantités de micro-organismes ou de substances utiles.

Il existe plusieurs applications à la culture cellulaire, entre autres :

- permettre aux chercheurs de mieux comprendre le fonctionnement des cellules;
- permettre de tester des médicaments, des produits de beauté ou encore de vérifier la toxicité de certains produits chimiques et ainsi éviter des tests sur les animaux;
- permettre la production de certains vaccins dont les virus se développent à l'intérieur des cellules;
- permettre de produire des tissus tels que de la nouvelle peau pour les grands brûlés.

4. Transgénèse et génie génétique

C'est le transfert artificiel par un vecteur d'un organisme à un autre (l'hôte) d'une

autre espèce, avec la possibilité de réplication et d'expression. Il ya donc manipulation directe comparable à de la chirurgie sur l'ADN des micro-organismes, végétal ou animal. Le génie génétique désigne toutes les techniques et procédés qui se rapporte aux travaux de recombinaison de l'ADN dans le domaine médical, de la recherche pharmaceutique, l'agriculture, l'agroalimentaire et l'environnement.

Il est devenu envisageable de réaliser des microorganismes, des plantes ou animaux transgéniques en introduisant chez ces êtres vivants une séquence d'ADN étranger appelée **transgène dans une cellule somatique ou gamète qui** après fécondation, produirait un organisme transgénique pouvant synthétiser, par exemple, des protéines non synthétisée chez l'organisme normale de la même espèce.

3.1 Techniques de géni génétique

A-Le clonage moléculaire

Depuis plus de vingt ans, le clonage, ou la reproduction exacte de gènes particuliers et de types individuels de cellules, est une technique employée en biotechnologie afin de produire des médicaments et des vaccins pour traiter les crises cardiaques, des maladies du rein, le diabète, divers cancers, l'hépatite, la sclérose en plaques, la fibrose kystique et d'autres maladies.

- ▶ Au moins deux molécules d'ADN importantes sont nécessaires avant que le clonage commence. Tout d'abord, et surtout, vous avez besoin du fragment d'ADN que vous allez cloner, autrement connu comme l'insert.

En utilisant le clonage moléculaire, nous pouvons en apprendre davantage sur la fonction d'un gène particulier.

- ▶ Deuxièmement, vous avez besoin d'un vecteur. Un vecteur est l'ADN du plasmide utilisé comme un outil en biologie moléculaire pour faire plus de copies ou de produire une protéine à partir d'un certain gène. Les plasmides sont un exemple d'un vecteur, et sont circulaires, extra chromosomique, l'ADN qui est répliqué par des bactéries.
- ▶ Un plasmide possède typiquement un site de clonage multiple ou MCS, cette région contient des sites de reconnaissance pour des endonucléases de restriction différentes aussi connu que les enzymes de restriction.
- ▶ Différents inserts peuvent être incorporés dans le plasmide par une technique appelée ligation.

- ▶ Le plasmide a un gène antibiotique. Si les bactéries intègrent le plasmide, il va survivre dans des milieux qui contiennent l'antibiotique. Ceci permet la sélection des bactéries qui ont été transformées avec succès.
- ▶ L'insert et le vecteur sont clonés dans un organisme de la cellule hôte, le plus couramment utilisé dans le clonage moléculaire est E. coli. E. coli se développe rapidement, est largement disponible et a de nombreux différents vecteurs de clonage produits dans le commerce. Eucaryotes, comme, levure peuvent également être utilisés comme organisme hôte de vecteurs.
- ▶ Sélection des bactéries dans un milieu contenant un antibiotique.

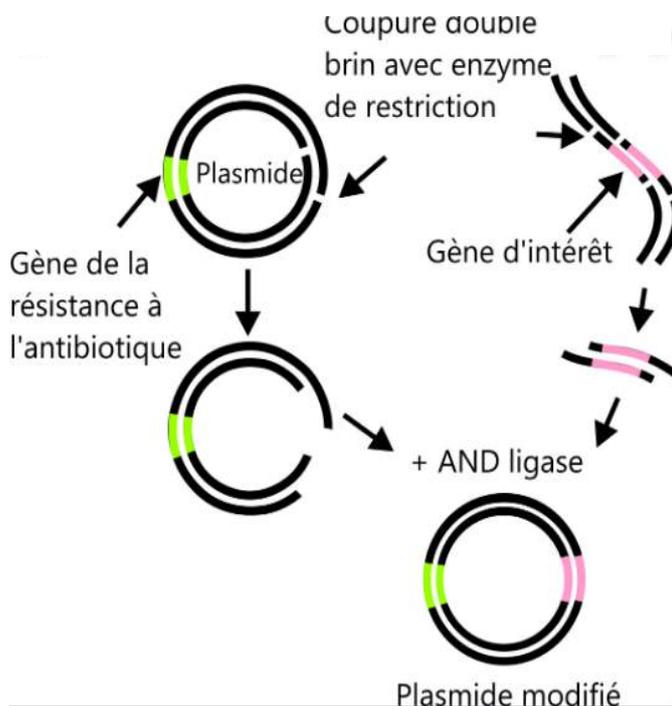


Figure 1. Clonage moléculaire

B- La PCR

La PCR (Polymerase Chain Reaction), permet de multiplier, en une heure seulement et spécifiquement, un million de fois une région de l'ADN correspondant à quelques milliers de bases ou moins. Le principe de cette technique d'amplification génique in vitro. Utilise des enzymes particulières issues de bactéries vivant dans des eaux chaudes. Ces enzymes, des ADN polymérase, sont stables à haute température et restent actives pendant le déroulement de la PCR.

- ▶ Ainsi, à l'ADN total sont ajoutées, en plus de la polymérase, deux amorces qui sont

deux très courts fragments d'ADN synthétisés chimiquement et choisis pour encadrer le fragment que l'on souhaite amplifier. L'un des fragments est complémentaire d'une séquence présente sur l'un des brins, le second est complémentaire d'une séquence présente sur l'autre brin.

- ▶ L'ensemble est chauffé à 95 °C, pour provoquer la séparation des deux brins de l'ADN, puis partiellement refroidi. Les amorces s'associent aux régions de l'ADN qui leur sont complémentaires. La polymérase peut dès lors synthétiser deux brins d'ADN complémentaires. Cette opération, répétée 30-40 fois en une heure, permet ainsi une amplification exponentielle spécifique de la séquence d'ADN choisie.
- ▶ La séquence ainsi amplifiée peut être directement visualisée(**séquençage pour l'identification de mutation par expl**) mais également clonée pour être conservée, étudiée et utilisée pour les applications du génie génétique.

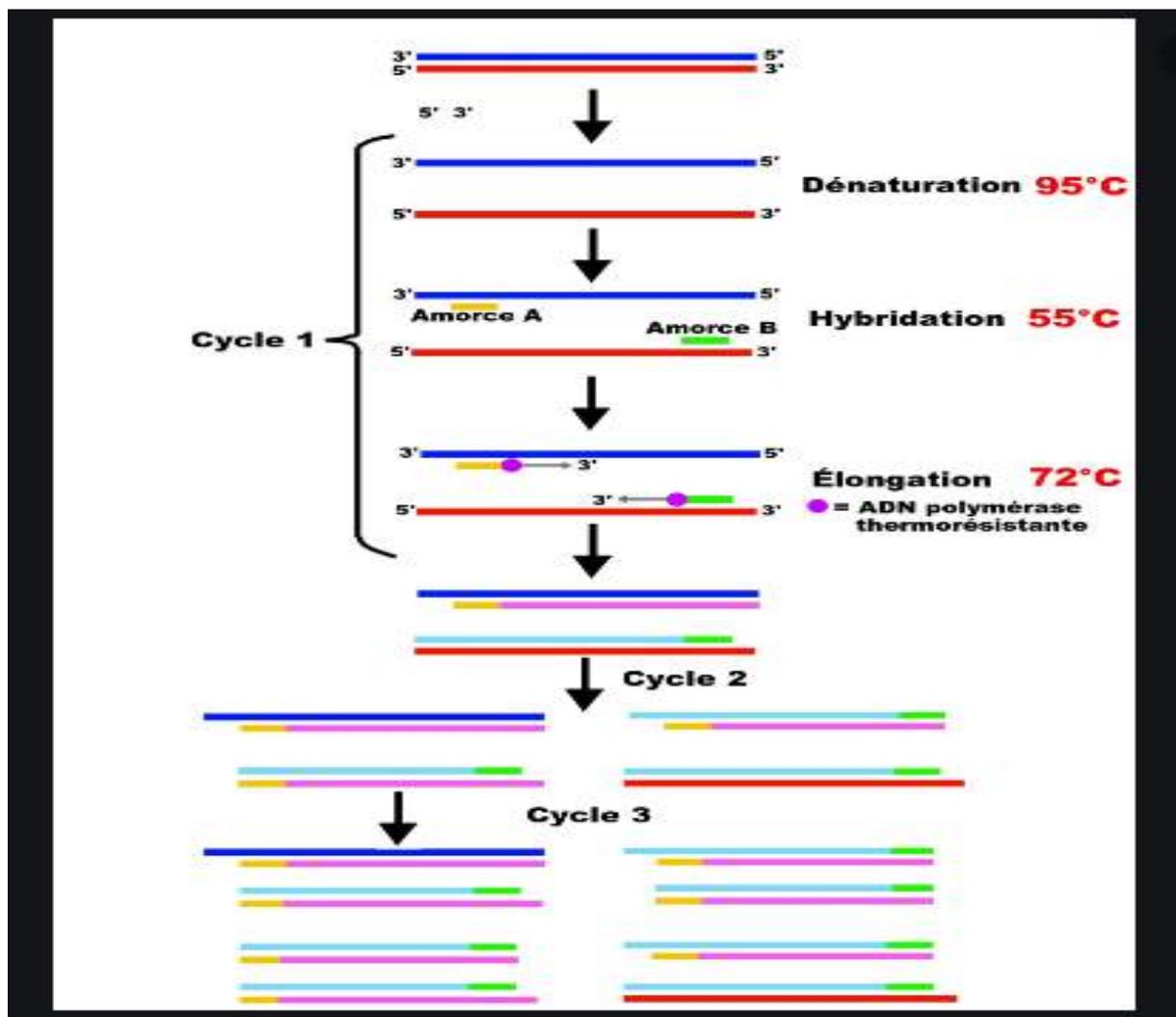


Figure 2. Etapes de la PCR

C-Le génie Enzymatique

Les enzymes sont des catalyseurs des réactions métaboliques spécifiques des organismes vivants. Elles possèdent deux propriétés importantes que sont : leur spécificité et leur régulation. De manière générale les enzymes sont peu stables et solubles en phase aqueuse. Leurs utilisation, en dehors de l'organisme vivant, à des fins industrielles comme c'est le cas en biotechnologie, est très difficile en raison de leur instabilité et la perte de l'activité catalytique d'où l'intérêt de leur immobilisation.

○ L'enzyme

- Toutes les enzymes sont des protéines.
- Les enzymes sont des « bio » catalyseurs de réactions ;
- Une enzyme donnée est spécifique d'une réaction, c'est-à-dire qu'elle catalyse toujours la même transformation, se produisant sur les mêmes corps chimiques initiaux ;
- Les enzymes sont synthétisées par des êtres vivants. Cette synthèse est déterminée génétiquement : sa conservation dans le génome est favorisée par le besoin qu'éprouve cet être vivant de faire cette réaction.

○ Définition de La catalyse :

Un catalyseur agit à de très faibles concentrations, il augmente la vitesse des réactions chimiques, sans en modifier le résultat. Dans le cas de l'enzyme, à la fin de la réaction la structure de l'enzyme se retrouve inchangée et peut reprendre à nouveau une nouvelle catalyse.

À l'état naturel, les enzymes présentes chez les êtres vivants, ne sont pas toujours adaptées aux contraintes des processus industriels. Les gènes d'un organisme contiennent l'information nécessaire à la fabrication des enzymes par ses cellules. Une mutation d'un gène peut aboutir à une modification de l'activité de l'enzyme correspondante. L'évolution dirigée permet de modifier une enzyme par mutation jusqu'à ce qu'apparaisse une variante possédant les

qualités souhaitées.

- ▶ De nombreux micro organismes peuvent être utilisés, après modification génétique, pour produire une grande quantité d enzymes.
- ▶ L avenir des enzymes dépendra de
 - L efficacité
 - La stabilité
 - La durée de vie

D-Le génie microbiologique

1-Généralités sur les microorganismes

Les microorganismes se répartissent dans quatre catégories d êtres vivants:

- **Algues**
- **Champignons**
- **Protozoaires**
- **Bactéries**

L'unité de structure des êtres vivants est la cellule. Les micro organismes possèdent deux types d organisation cellulaire radicalement différent.

- ▶ La plus complexe est la cellule **Eucaryote**. C'est une cellule *a vrai noyau*. Elle forme l unité de structure des plantes et des animaux: algues, protozoaires, champignons (levures, moisissures).

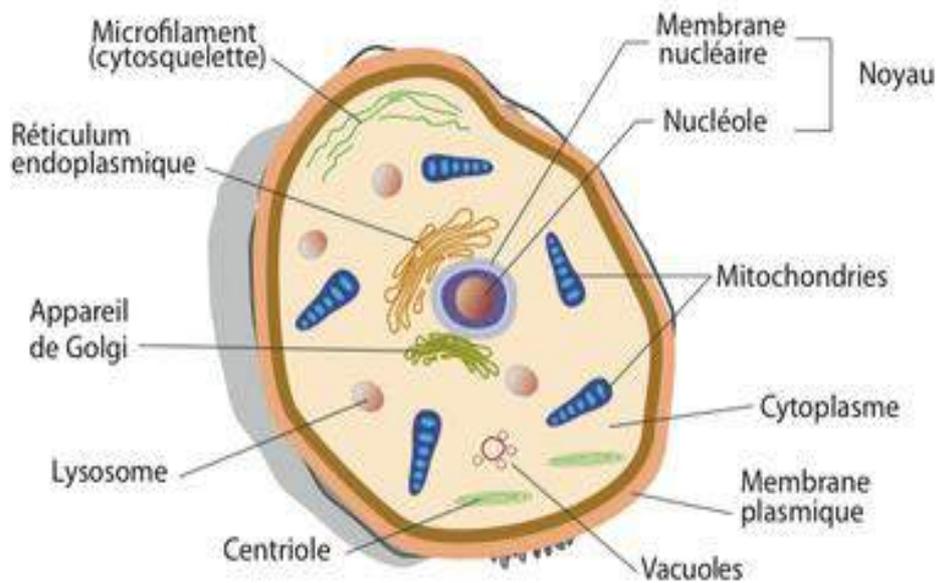


Figure 3. Ultrastructure d'une cellule eucaryote

- ▶ La moins complexe, d'organisation rudimentaire (simple) est la cellule **Procaryote**, elle forme l'unité de structure des bactéries.

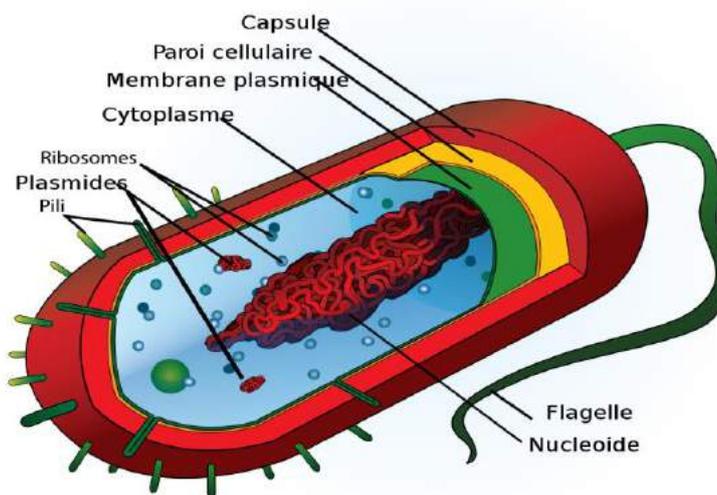


Figure 4. Ultrastructure d'une cellule procaryote.

2-Différence entre les cellules eucaryotes et procaryotes

CARACTÉRISTIQUE	PROCARYOTES	EUCARYOTES
ORGANISME	Bactéries	Protistes, champignons, plantes, animaux
PRÉSENCE D'UN NOYAU	Non	Oui
TAILLE DES CELLULES	Généralement plus petites que les eucaryotes (entre 1 et 10 μm)	Généralement plus grandes que les procaryotes (entre 5 et 100 μm)
ADN	Généralement un seul chromosome, de forme circulaire	Généralement plus d'un chromosome, linéaire
LOCALISATION DE L'ADN	Peu organisé (absence de noyau)	Associé aux histones (chromatine) dans le noyau
ORGANITES	Absents (ou peu)	Présents (mitochondries, appareil de Golgi, réticulum endoplasmique, etc.)
ARN ET PROTÉINES	Transcription de l'ADN et traduction simultanées et au même endroit	Transcription de l'ADN et traduction séparées dans le temps et l'espace
INTRONS	Peu ou pas	Présents
ORGANISATION CELLULAIRE	Surtout unicellulaire Différenciation simple (spores, par exemple)	Surtout pluricellulaire Différenciation cellulaire complexe

- ▶ Grace au génie génétique de nombreuses réalisations révolutionnaire en divers domaines, médical, industriel, agricole, sont en cours. Tel que la possibilité de transplanter et d'intégrer dans un micro-organisme à l'aide des vecteurs plasmidiques ou bactériophage des gènes tout à fait étrangers à l'espèce, codant en particulier la synthèse protéique animale ou humaine.
- ▶ On peut ainsi faire fabriquer à des bactéries des molécules biologiques humaines précieuses telles que la somatostatine (hormone du cerveau) ou l'insuline...

Le patrimoine génétique des bactéries est plastique et varie au cours du temps. En plus des mutations spontanées, qui permettent aux bactéries de s'adapter sous la pression de sélection de leur environnement, il existe des mécanismes d'adaptation beaucoup plus efficace fondés sur l'acquisition de matériel étranger. C'est le transfert génétique.

Les principaux transferts génétiques utilisent soit des fragments d'ADN libres, soit des plasmides, les bactériophages...

Ces vecteurs naturels d'information génétique représentent actuellement des outils précieux utilisés en biologie moléculaire.

3-Le transfert de plasmide



Figure 5. Plasmide bactérienne

Un plasmide désigne en microbiologie ou en biologie moléculaire, une molécule d'ADN distincte de l'ADN chromosomique, capable de réplication autonome.

Les plasmides sont donc de l'ADN indépendant, extra-chromosomique, capable d'autoréplication et de ségrégation lors des divisions cellulaires successives.

Une cellule bactérienne peut contenir une copie, pour les grands plasmides, ou des centaines pour des plasmides de petites tailles. Plusieurs plasmides différents peuvent coexister dans une même cellule sous condition de leur compatibilité mutuelle. Certains sont capables de s'intégrer aux chromosomes, ils sont appelés épisomes.

Les différents types de plasmides:

1. Plasmides de résistance (aux antibiotiques).
2. Plasmides métabolique (nutrition, dégradation des molécules).
3. Plasmides de virulence (pouvoir pathogène).
4. Plasmides bactériocines (codent pour des molécules toxiques pour les bactéries concurrentes).
 - ▶ Les plasmides peuvent être transférer d'une bactérie donatrice a une autre réceptrice, souvent par conjugaison, parfois par transduction.

Par ce transfert plasmidiques, la bactérie acquiert des propriétés nouvelles codées par des déterminants supplémentaires du plasmide, qu'elle ne possède pas dans son génome, qui seront transmises à la descendance.

L'importance de ce transfert, bien que rare est:

-plusieurs caractères nouveaux sont acquis par la bactérie (expl: résistance aux antibiotiques).

-Alors que d'autres types de transfert ont lieu à l'intérieur d'une même espèce. Les transferts plasmidiques peuvent avoir lieu entre espèces différentes.

Les bactéries se multiplient par fission binaire (processus où une cellule mère donne **deux** cellules filles. Une croissance par fission binaire entraîne, donc, le doublement de la population à chaque génération), de manière asexuée. Une cellule mère va donner deux

cellules filles génétiquement identiques, ainsi le brassage génétique est pratiquement inexistant. Pour pallier à cela, il existe 3 mécanismes majeurs de transfert horizontal de gènes :

- ▶ **La conjugaison** : transfert d'ADN d'une bactérie à une autre par contact direct (soit entre deux bactéries de la même espèce ou d'espèces différentes).
- ▶ **La transformation** : incorporation d'ADN nu de l'environnement directement dans la bactérie
- ▶ **La transduction** : transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un phage.

3.1 La conjugaison

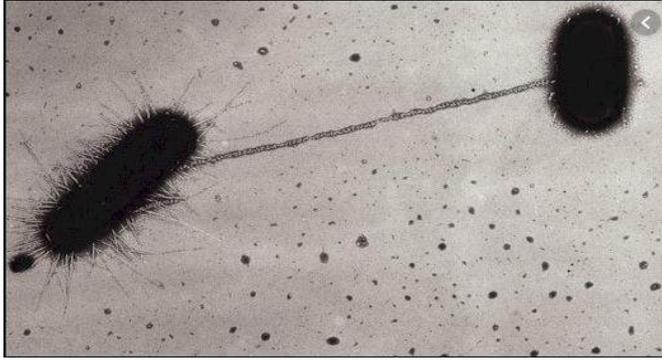
Les étapes :

- ▶ Le transfert entre les organismes donneur et receveur de plasmide se fait en quatre grandes étapes :
- ▶ Reconnaissance entre donneur (F+) et accepteur (F-) grâce au pilus.
- ▶ Transfert d'un des deux brins du plasmide.
- ▶ Synthèse du brin complémentaire chez le receveur.
- ▶ Recircularisation de l'ADN plasmidique chez le receveur : le double brin d'ADN se referme en cercle. Cette phase achève la réplication de l'ADN.

La reconnaissance

Se fait par l'intermédiaire du pilus. Le pilus est une structure protéique qui sert de lien entre le donneur et le récepteur. Il est synthétisé par le donneur en utilisant le code génétique présent sur le plasmide. Il est constitué de filaments protéiques (polymère de piline) et a la forme d'un tube.

Le pilus est essentiel pour l'initiation de l'agrégation donneur-récepteur. En effet, il y a une interaction entre le pilus et certaines protéines (protéine OMPA) présentes sur l'extérieur de la membrane de la bactérie receveuse. Il s'agit de la phase de reconnaissance.



- ❑ Une fois en place, le pilus sert à rapprocher les deux bactéries et à les amener au contact. Ce rapprochement se fait par dépolymérisation du milieu du pilus, raccourcissant ainsi le pont entre les deux bactéries et tirant les deux cellules l'une vers l'autre.
- ❑ Une fois ce contact réalisé, il y a réorganisation du pilus qui se transforme en pore de sécrétion. Le reste du pilus sert à perforer la membrane du receveur afin de faire passer le plasmide.

Le transfert

- ❑ Une fois que l'agrégat des deux bactéries est stabilisé, il y a transfert d'un des deux brins de l'ADN du plasmide. Un ensemble de protéines va se former pour aider à ce processus : c'est le **relaxome**. Le relaxosome contient les protéines nécessaires à la coupure de l'ADN, au désenroulement du brin (grâce à des hélicases) et au déplacement du brin vers le pore de sécrétion. Il y a donc coupure simple brin du plasmide
- ❑ En même temps, du côté de la bactérie donneuse, le brin complémentaire est resynthétisé afin de garder un plasmide double brin.

La synthèse du brin complémentaire et recircularisation de l'ADN.

Une fois introduite dans la bactérie receveuse, l'ADN simple brin, très fragile, est stabilisé par des protéines (SSB). Il y a alors synthèse du brin complémentaire, afin de former un nouveau plasmide double brin. Cette synthèse se fait de façon discontinue. Des protéines primases synthétisent des amorces à partir desquelles les ADN polymérases pourront démarrer leur synthèse.

La recircularisation du nouveau plasmide se fait grâce à une protéine (relaxase) qui va permettre la jonction des deux bouts.

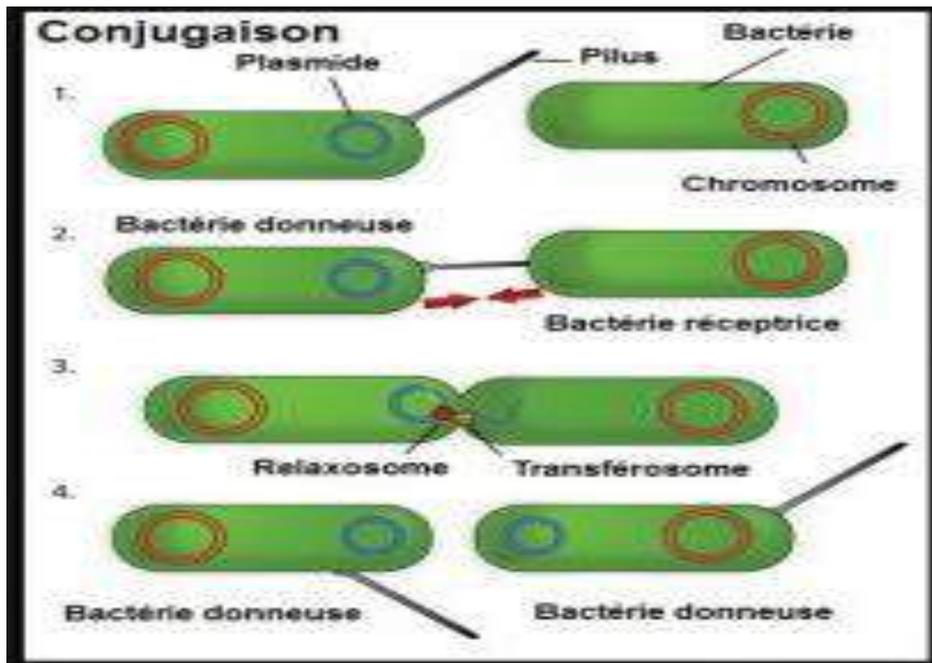


Figure 6. Transfert de plasmides par conjugaison.

3.2 La transformation

- ▶ La transformation est le transfert passif «d'ADN nu» d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice, dite en état de compétence. Le transfert, qui est partiel et limité à quelques espèces bactériennes, entraîne l'acquisition par la bactérie réceptrice de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles.
- ▶ **Caractères de la transformation.** La transformation *naturelle* ou physiologique exige *l'état de compétence* qui n'apparaît qu'à certains stades de la division cellulaire et seulement chez une fraction de la population bactérienne.
- ▶ La transformation *artificielle* est précédée du traitement chimique ou enzymatique de la paroi bactérienne (destruction) avant sa mise en contact avec l'ADN.
- ▶ À la différence du mécanisme de conjugaison bactérienne, où les deux bactéries restent vivantes, celui de transformation bactérienne s'effectue à partir de matériel génétique issu d'une bactérie morte, que la receveuse capte.

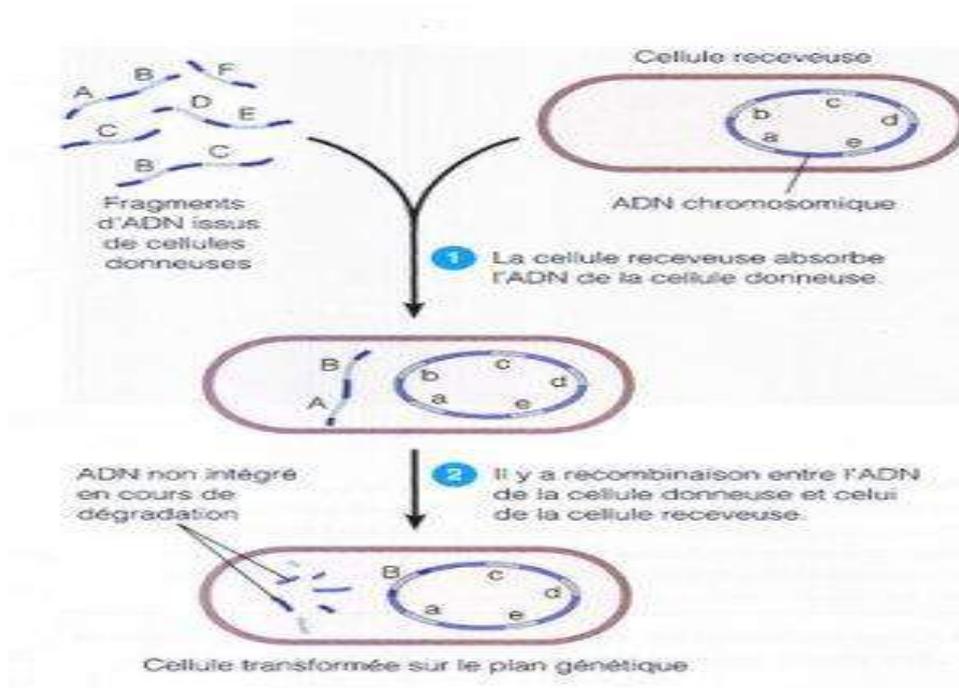


Figure.7 La transformation bactérienne.

3.3 La transduction

- ▶ La transduction est le transfert d'ADN bactérien par l'intermédiaire de bactériophages (ou phages). Ceux-ci sont des virus de bactéries, qui existent sous la forme virulente ou tempérée.

-Les phages virulents se multiplient dans la bactérie (ou mieux sont répliqués par la bactérie) et la lysent.

-Les phages tempérés s'intègrent dans le chromosome bactérien sans induire la réplication et sont répliqués en même temps que lui. Le bactériophage est alors appelé prophage et la bactérie qui en est porteuse, une bactérie lysogène.

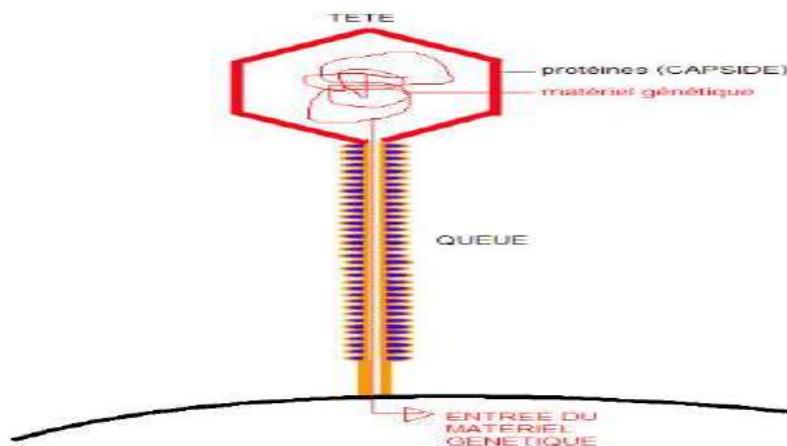


Figure.8 Schéma d'un phage.

- ▶ Dans une population de bactéries lysogènes, un prophage se libère de temps à autre du chromosome bactérien, devient virulent, se multiplie, provoque la lyse de la bactérie et peut infecter de nouvelles bactéries. Si, au cours de sa libération, le prophage emporte avec lui plusieurs gènes bactériens, il peut y avoir transfert par le bactériophage de gènes bactériens d'une bactérie (lysogène) à une autre (lysogène). C'est la transduction.
- ▶ L'ensemble de ces 3 étapes est appelé cycle de lyse. L'ensemble des phages capables de faire ce cycle et uniquement ce cycle sont appelés phages virulents ou lytiques.
- ▶ **Phages tempérés** = après leur entrée dans la bactérie ils font un choix :

-Lyse.

-Intégration du génome du phage dans le génome bactérien. Dans ce cas la bactérie est appelée bactérie lysogène. Elle devient non-permissible. On dit qu'elle est **immune**, protégée de la lyse. Cette immunité est due à une protéine codée par le phage intégré, la **protéine C1 ou répresseur**. Une bactérie lysogène après sa réplication donnera deux bactéries lysogènes.

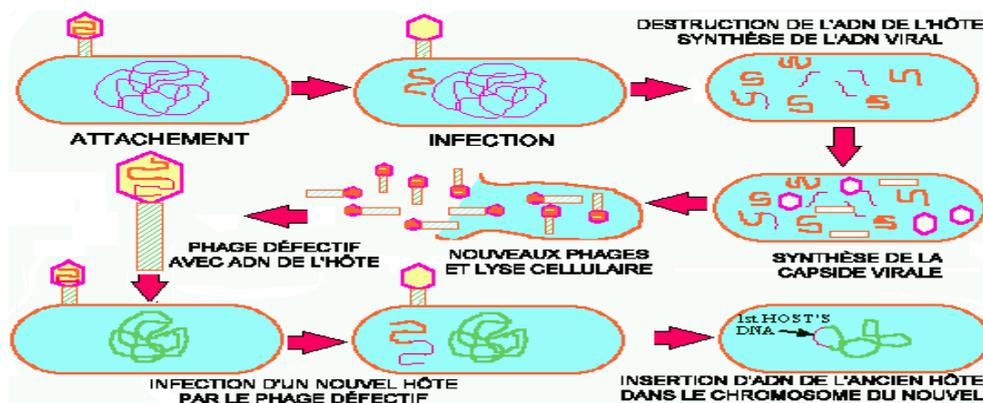


Figure 9. La transduction bactérienne.