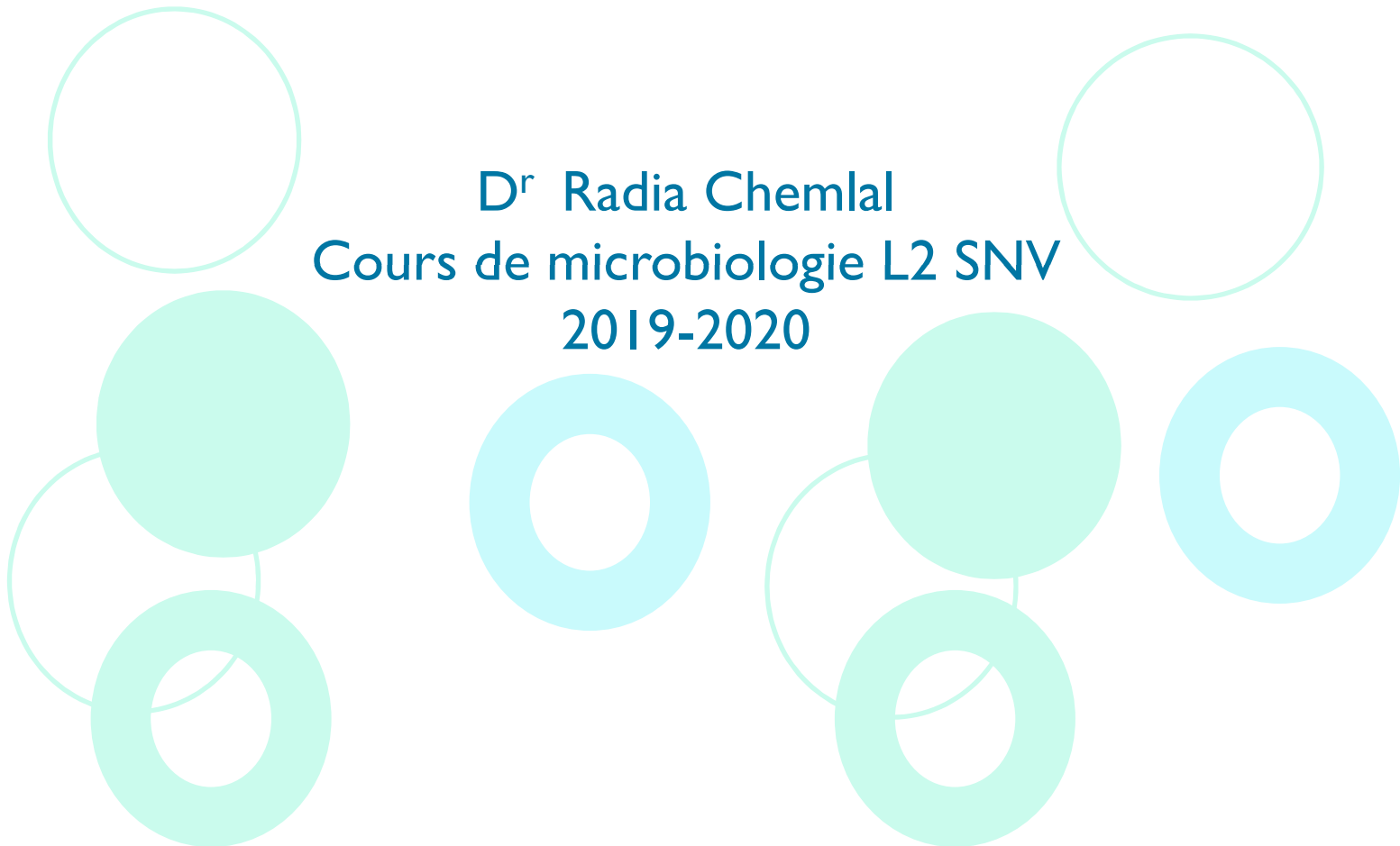


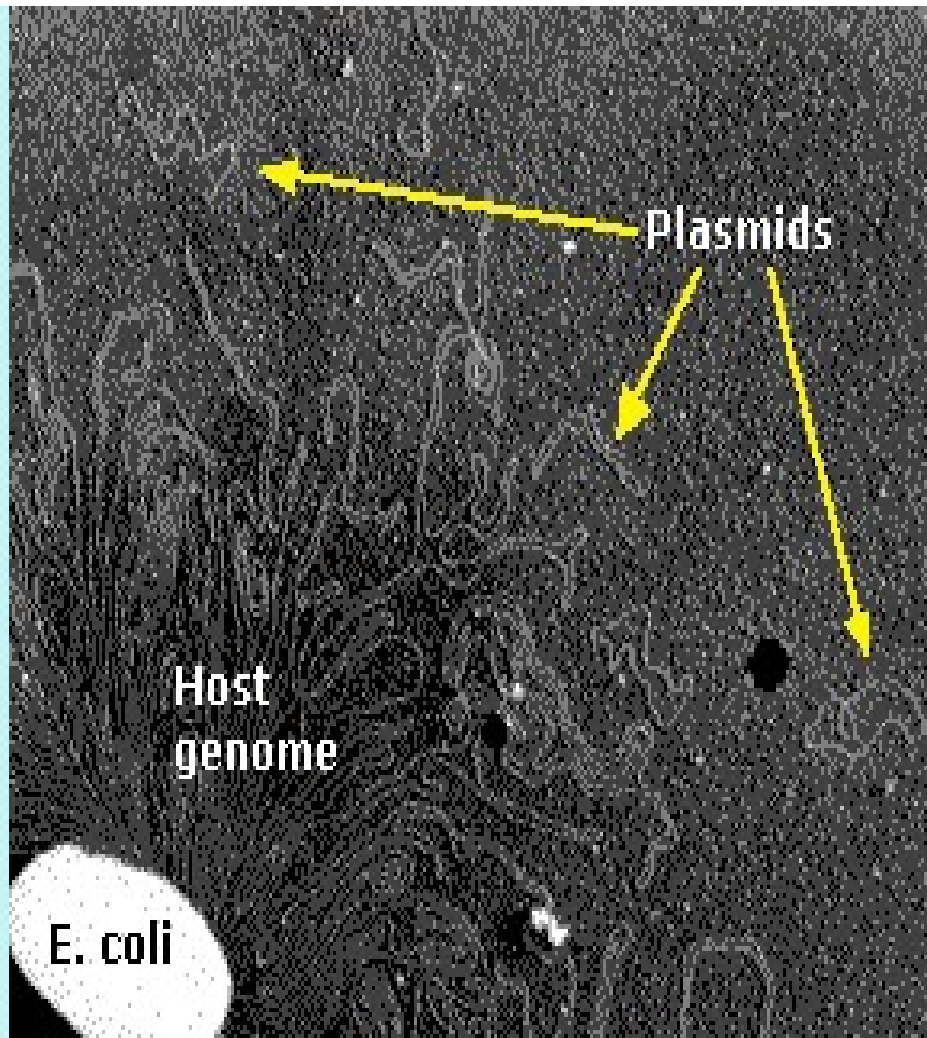
# Plasmides

D<sup>r</sup> Radia Chemlal  
Cours de microbiologie L2 SNV  
2019-2020



# Plasmides

- Ce sont des molécules **circulaires** constituées **d'ADN bicaténaire**;
- éléments génétiques **extrachromosomiques**;
- représente au moins **5 %** de la taille de chromosome;
- sont présents chez la plupart de procaryotes et chez quelques eucaryotes;



Micrographie électronique d' *E. Coli* (l'ADN et les plasmides). (Gracieuseté de Huntington Potter et David Dressler, Harvard Medical School.)

<https://www.biology-pages.info/P/plasmids.png>

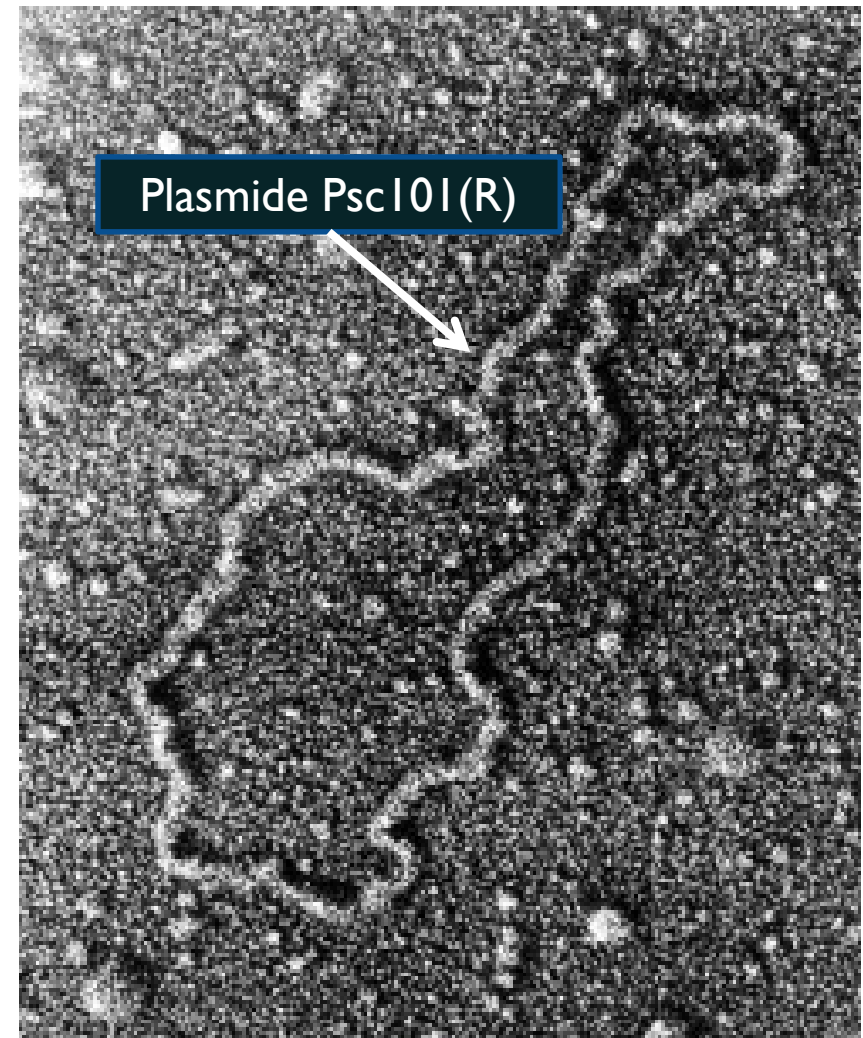
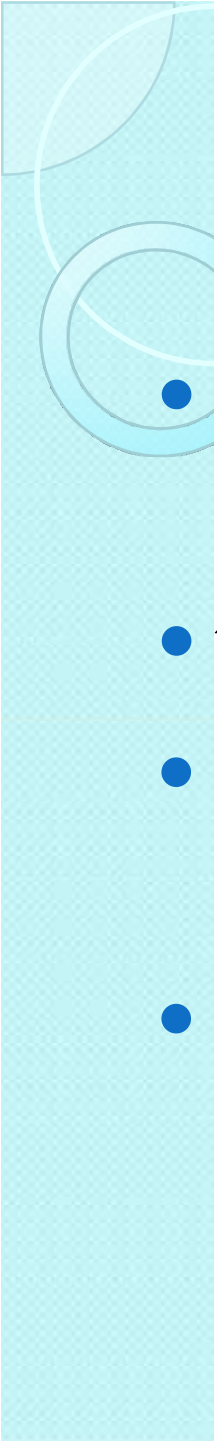


Image au microscope électronique du plasmide Psc101.

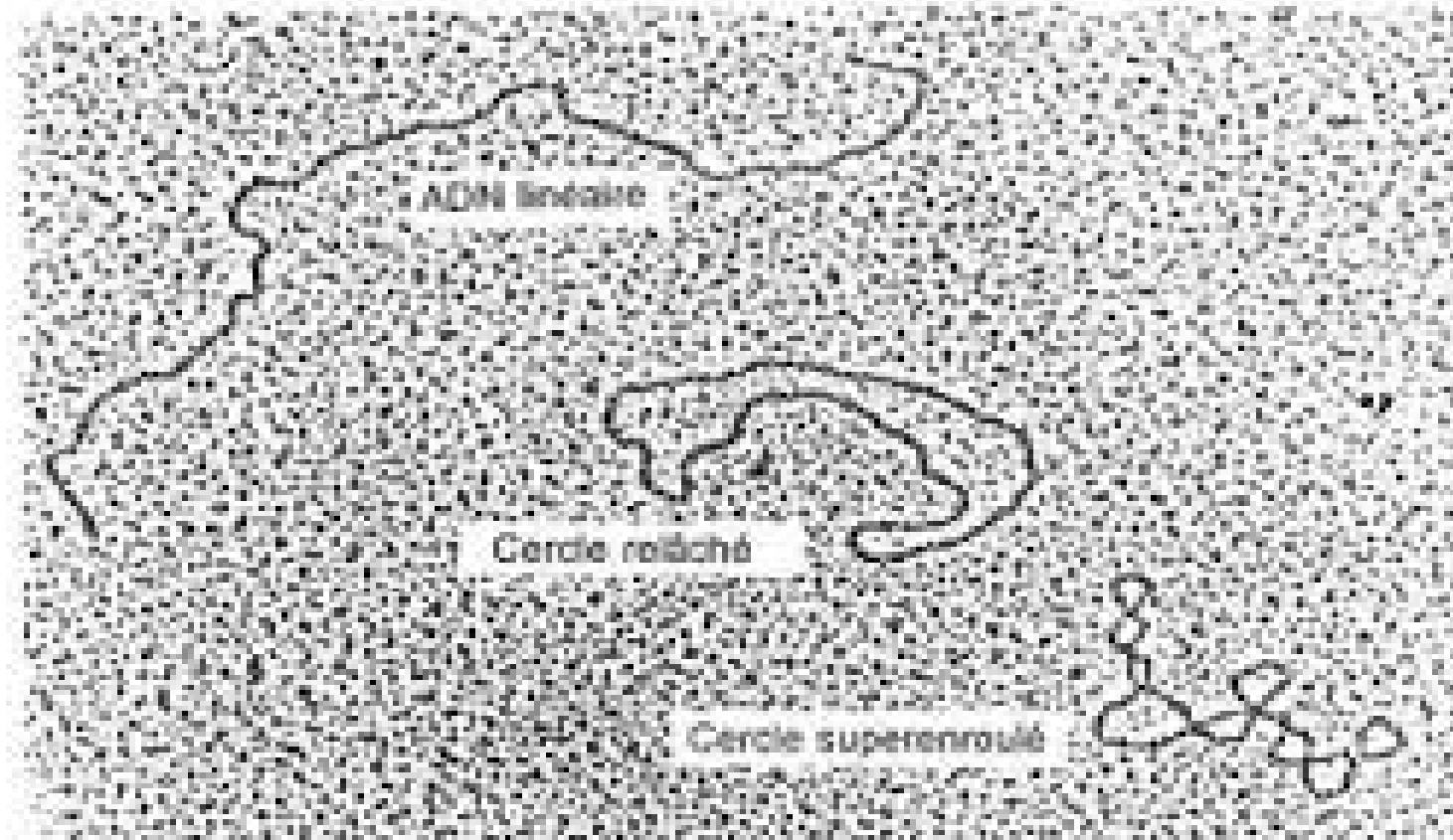
<https://www.whatisbiotechnology.org/assets/images/science/pages/plasmid.jpg>

- capables de s'auto-répliquer de façon autonome, ce sont des **réplicons** car ils possèdent leur propre **origine de répliation**;
- la taille des plasmides naturels varie de 1 kilobase à plus de 1 mégabase;

- 
- La plupart de l'ADN plasmidique est dans la configuration superenroulée;
  - transmises à la descendance;
  - sont transférables entre les bactéries par conjugaison;
  - non indispensable à la croissance.

Comme pour l'ADN chromosomique, on trouve les trois formes d'ADN plasmidiques:

- ADN linéaire.
- ADN circulaire relâché.
- ADN circulaire torsadé.




L'ADN superenroulé a une structure torsadée compacte comparée à une forme circulaire non-superenroulée ou linéaire.

<http://www2.agroparistech.fr/IMG/pdf/GenetiqueMoleculaire-IA-Polycopie-2007.pdf>



# Historique

- 
- **En 1952, LEDERBERG** proposa d'appeler les **plasmides** pour marquer le caractère extrachromosomique. Cette appellation était réservée aux facteurs sexuels F que **LEDERBERG** avait découverts.
  - A la suite **Hayes (1953)** a mis en évidence que le facteur F pouvait s'intégrer au chromosome.
  - Au cours de la même période, **JACOB et WOLLMAN** ont noté des similitudes entre le facteur F, le phage  $\lambda$  et le facteur colicinogène Col EI et ils ont suggéré le mot épisode pour désigner tout élément génétique capable de se répliquer dans l'un des deux états: attaché au chromosome de la bactérie ou libre dans le cytoplasme.

**C'est en 1959**, qu'on a compris le rôle des plasmides. A cette époque, des recherches effectuées au Japon sur des malades atteints de diarrhée provoquée par *Shigella dysenteriae*, insensible à tous les ATB.

En effet, la bactérie responsable porte des gènes **résistants** à plusieurs antibiotiques. En plus, ces gènes peuvent assurer leur propre **transfert** à d'autres bactéries intestinales par **conjugaison**, comme le facteur F. Les facteurs s'appellent des **facteurs de résistances R**.

Par la suite, d'autres facteurs ont été découverts chez staphylocoques responsables de la synthèse de la pénicillinase qui rend les bactéries résistantes. Mais à l'inverse des éléments précédents ils sont transférés par le biais d'un bactériophage (par transduction).



# Les propriétés ou activités biologiques

- **Production de substances à rôle pathogène;**
- **Production de bactériocine;**
- **Résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds;**
- **Caractères métaboliques;**
- **Transposons.**

# ***Production de substances à rôle pathogène***

Il existe 3 groupes d'*Escherichia coli* responsables de diarrhées:

- *Escherichia coli* entérotoxique;
- *Escherichia coli* entéro-invasive;
- *Escherichia coli* entéro-pathogène.

Le pouvoir pathogène de chacune de ces catégories de germes est sous la dépendance de déterminants plasmidiques (synthèse d'entérotoxine et de facteur de colonisation et d'adhérence aux entérocytes).

# ***Production de bactériocine***

La bactériocine est une protéine à un effet bactéricide, synthétisée par certaines bactéries  $G^+$  et  $G^-$ . Ce sont des protéines dont l'absorption est conditionnée par la présence d'un récepteur spécifique.

Les **colicines** sont les mieux connues et s'apparentent aux ATBs par leur pouvoir bactéricide puissant mais s'en différencient par leur nature protéique, leur mode d'action et leur transmission héréditaire.

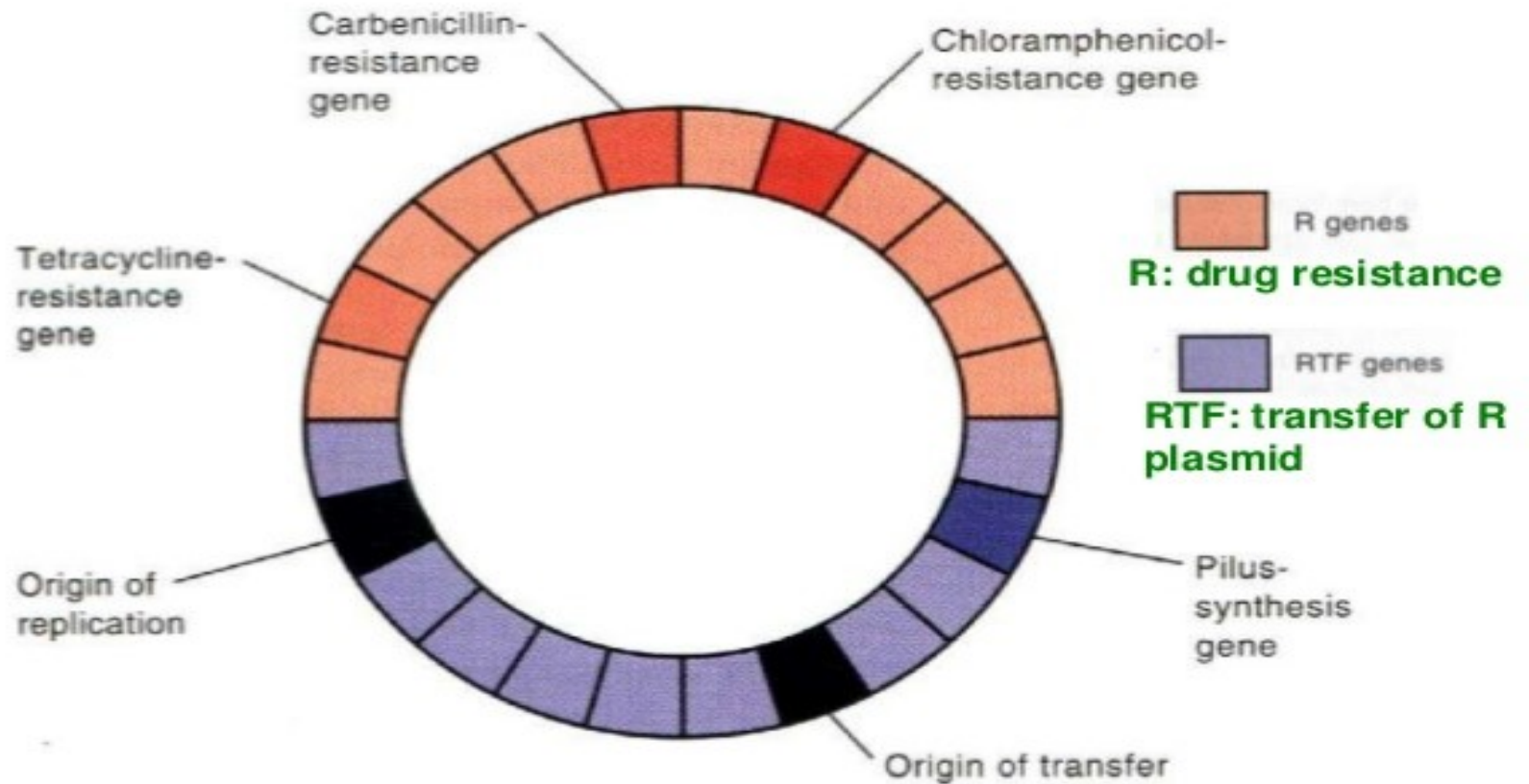


# ***Résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds***

On estime que la résistance plasmidique intervient dans plus de 90% des cas observés en clinique, les 10% restant étant dus à la résistance chromosomique. Les gènes de résistances sont situés sur les plasmides R.

La résistance plasmidique est observée pour les métaux lourds (composés mercuriels, sels de cadmium, plomb), cas des staphylocoques et les bacilles G<sup>-</sup>.

# R plasmid



<https://borzuya.org/wp-content/uploads/2017/11/R-plasmid.png>

# *Caractères métaboliques*

Un grand nombre de caractères biochimiques et de fonction physiologique chez les bactéries sont d'origine plasmidique:

## *Entérobactériaceae:*

- *Utilisation du citrate de sodium;*
- *Production  $H_2S$ ;*
- *Hydrolyse de l'urée avec *Escherichia coli*;*
- *Dégradation du lactose;*
- *Fixation de l'azote.*



## **Pseudomonas:**

- Dégradation des produits chimiques: (octane, camphre, naphthaline, salicylate).

## **Staphylocoques:**

***Production de pigment;***

***Coagulases;***

***Hémolysine;***

***Fibrinolysine.***



# *Transposons*

Certains plasmides peuvent s'intégrer au chromosome au niveau des sites spécifiques et complémentaires qu'on appelle éléments d'insertion.

Les transposons sont des séquences d'ADN capables de migrer dans le génome lorsqu'ils trouvent les séquences complémentaires et ils sont formés d'une série de gènes portant un élément d'insertion à chaque extrémité.

Les transposons possèdent des gènes codant pour un large éventail de caractères de résistance aux ATB.



# La réplication des plasmides

Les plasmides contiennent une origine de réplication qui est définie comme étant la plus petite séquence d'ADN susceptible d'amorcer un cycle de réplication indépendamment du chromosome bactérien, tout en utilisant la machinerie enzymatique de la cellule hôte qui ne sont pas les mêmes selon les plasmides.

Exp :

Chez *Escherichia coli*, la plupart des plasmides utilisent l'ADN polymérase III pour l'extension de la chaîne d'ADN, tandis que certains, comme le plasmide Col EI, utilisent l'ADN polymérase I.

La fonction **des gènes** portés par le plasmide concernent principalement le **contrôle** du processus **d'initiation de la réplication** et **la répartition** entre les cellules filles des **plasmides répliqués**.

Certains plasmides sont présents dans la cellule avec un faible nombre (1 à 3 copies) d'autres peuvent être présent à plus de 100 copies.

Deux grands types de répllication rencontrés chez les plasmides:

- Répllication théta,
- Répllication en cercle roulant.



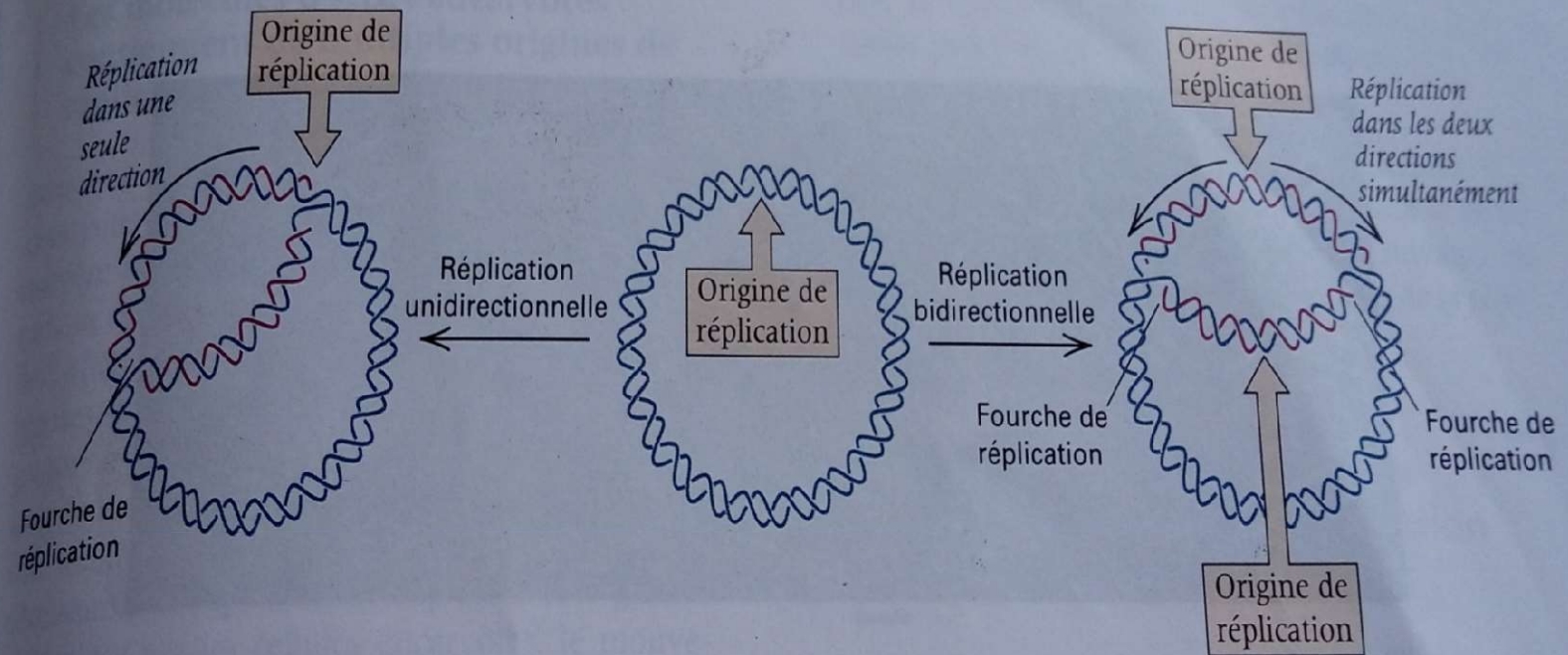
- **Réplication théta:**

La plupart des **plasmides des bactéries Gram-** ont une réplication **théta bidirectionnelle** contrairement au **plasmide ColEI** d' *E.coli* où la réplication **théta est unidirectionnelle**.

- **Réplication en cercle roulant:**

La majorité des **plasmides des bactéries Gram+** se répliquent par **le mécanisme du cercle roulant**. Ce mécanisme conduit à un intermédiaire simple brin.

- La plupart **des plasmides linéaire** se répliquent en utilisant un mécanisme impliquant **une amorce de nature protéique à l'extrémité 5'** de chaque brin et qui est utilisé dans l'initiation de la synthèse de l'ADN.



**Figure 6.12** Distinction entre réplication unidirectionnelle et bidirectionnelle de l'ADN. Dans la réplication unidirectionnelle, il n'y a qu'une seule fourche de réplication; la réplication bidirectionnelle nécessite deux fourches de

réplication. Les flèches courbées indiquent la direction du mouvement des fourches. Le plus souvent l'ADN se réplique bidirectionnellement.

Hartl et Jones (2003)

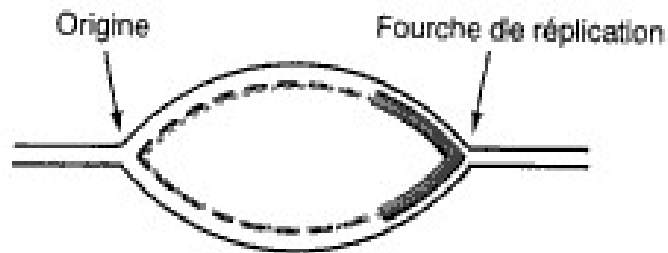


Schéma unidirectionnel

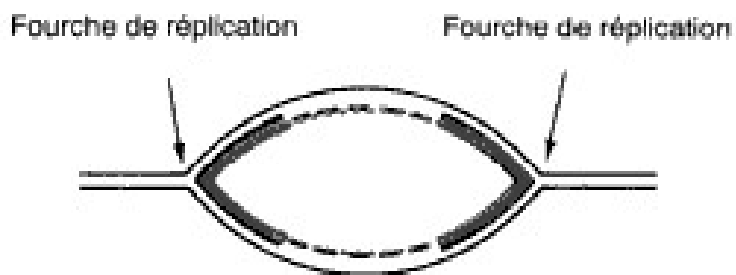


Schéma bidirectionnel

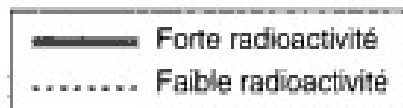
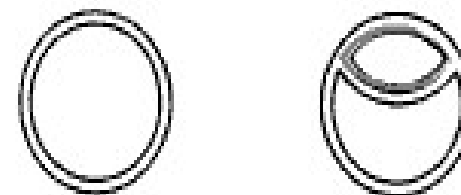


Figure II.41 – Marquage différentiel par la thymidine tritiée de l'ADN en duplication de *E. coli* montrant les deux types de résultats selon l'hypothèse unidirectionnelle ou bidirectionnelle de la réplication.

Résultats de l'autoradiographie



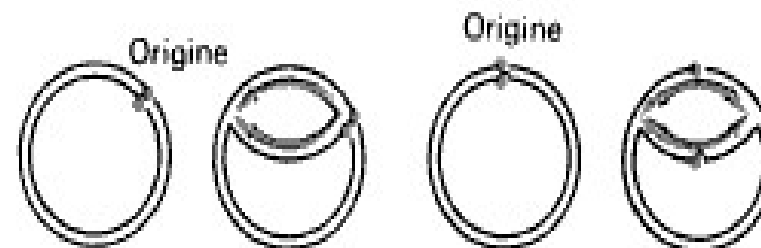
Etat normal

Réplication



Modèle unidirectionnel

Modèle bidirectionnel



Etat normal

Réplication

Etat normal

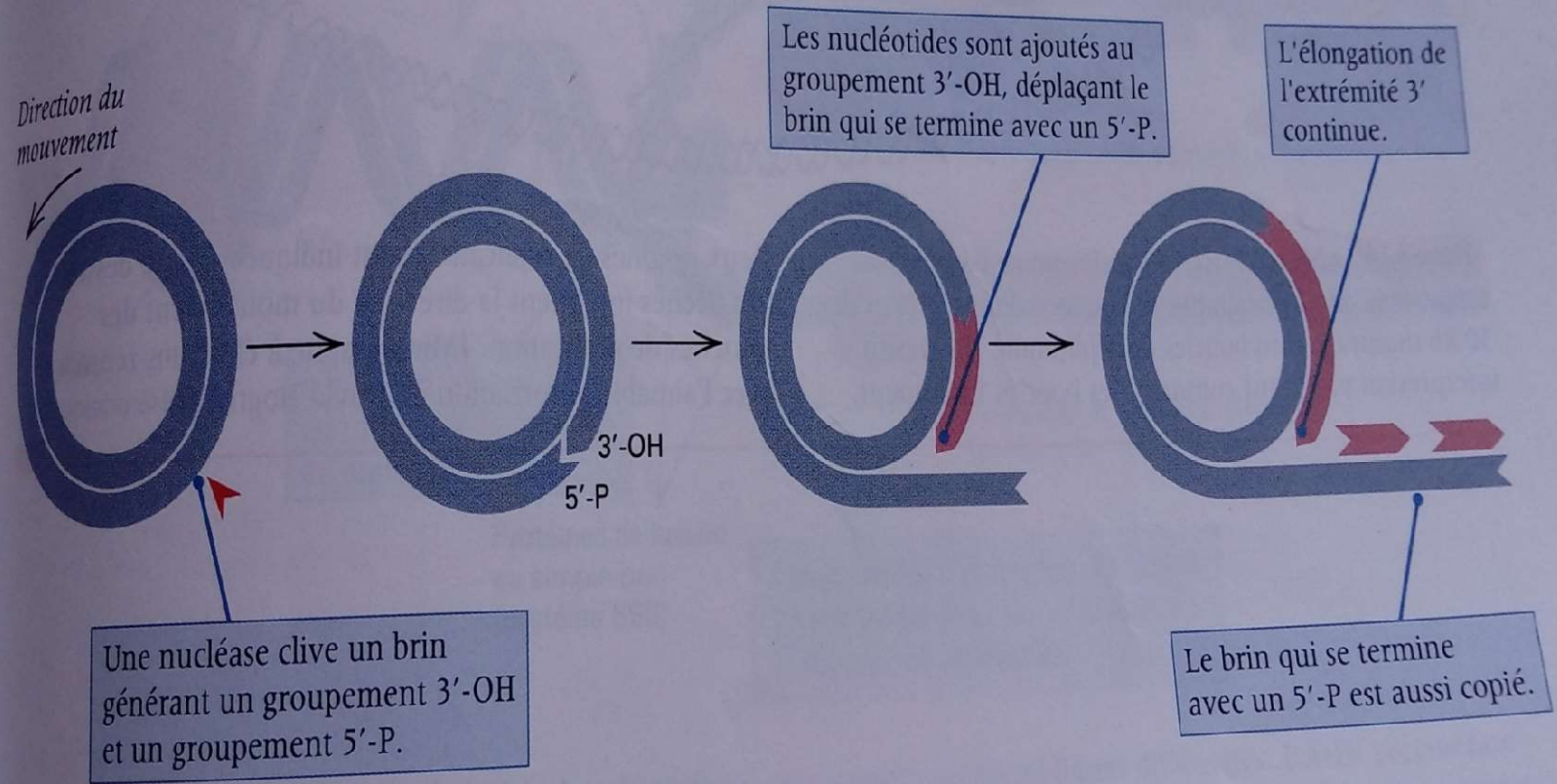
Réplication

Figure II.40 – Les deux hypothèses possibles de la réplication, à partir des résultats de l'autoradiographie.

Meyer et al (2004)

## *La réplication en cercle roulant*

- La réplication débute par un clivage d'une liaison sucre phosphate du cercle double brin.
- Cette coupure produit 2 extrémité chimiquement distinctes: une extrémité 3' et une extrémité 5'. L'ADN est synthétisé par polymérisation à l'extrémité 3' et le déplacement simultané de l'extrémité 5' du cercle. Au fur et à mesure que la réplication se produit le long du cercle, l'extrémité s'étend, une chaîne complémentaire est synthétisée, ce qui produit une queue d'ADN double brin.




**Figure 6.13** Réplication en cercle roulant. L'ADN nouvellement synthétisé est en rouge. Le brin déplacé formant la « queue » est répliqué en fragments courts.

Hartl et Jones (2003)

# REGULATION DE LA REPLICATION

L'origine de réplication c'est une séquence spécifique de bases au niveau de laquelle se trouve le "site de départ" pour chaque cycle de réplication.

la réplication d'un plasmide et sa régulation pourraient se dérouler selon le schéma suivants:

- 
- Gène régulateur est composé d'un :
  - **Gène Cop** qui **contrôle** le gène de réplication en codant la **protéine répresseur** et qui **contrôle le nombre de copies**.
  - **Gène Rep** contrôle l'initiation en codant **la protéine initiateur**.
  - Promoteur (origine de la réplication).

Dans un premier temps, la réplication est déclenchée par l'initiateur.

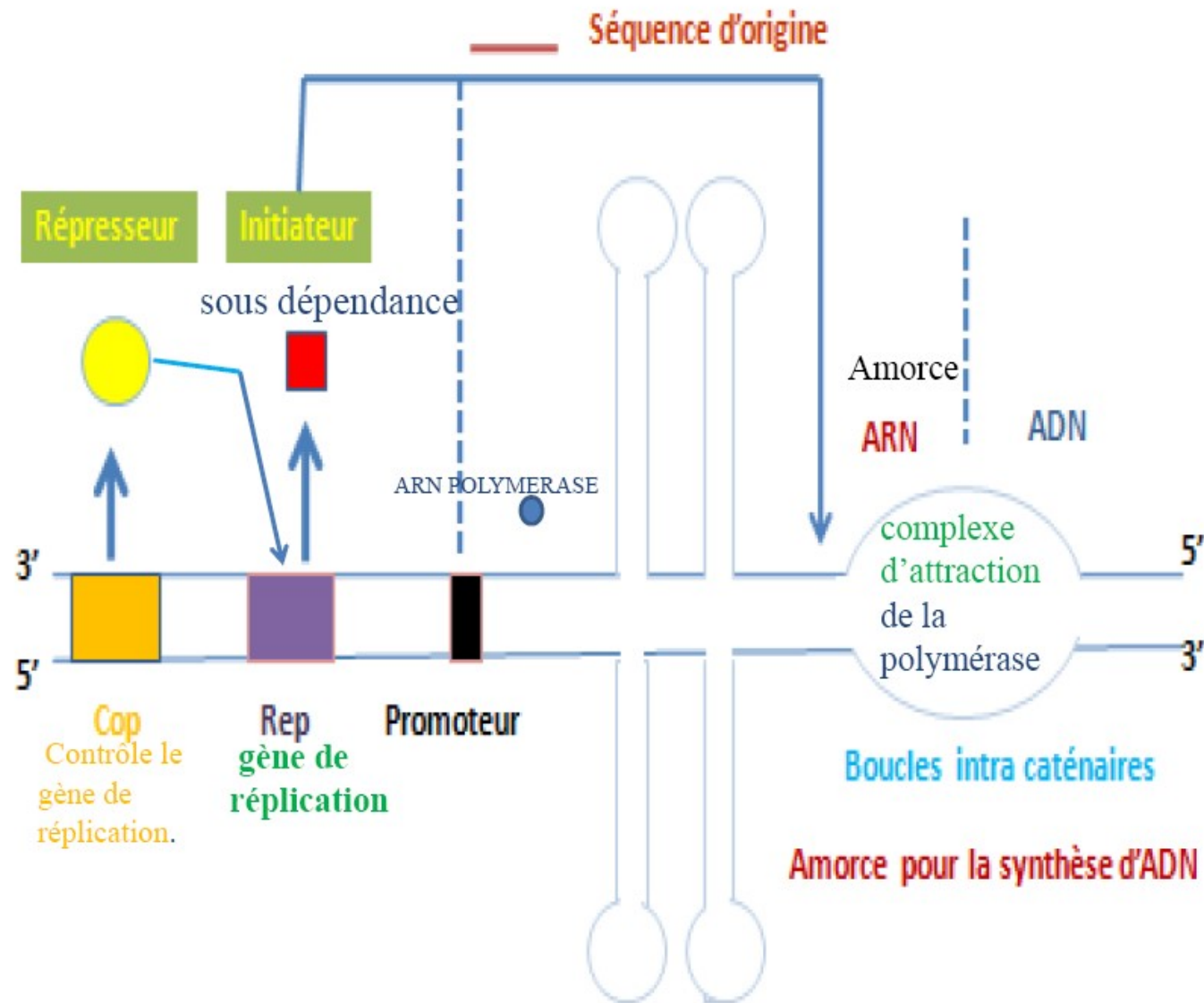
Dans un second temps, l'ARN polymérase traverse la séquence origine au niveau du site promoteur pour synthèse de l'ARN amorce.

Cette ARN formé va assurer deux rôle:

Le premier rôle, elle dissocie les deux brins d'ADN qui constitue des boucles;

Le second rôle, elle sert d'amorce à la synthèse de l'ADN.

La boucle reconnues par l'initiateur constitue un complexe d'attraction pour l'ADN polymérase de la cellule hôte, ce qui conduit a la synthèse de l'ADN plasmidique .



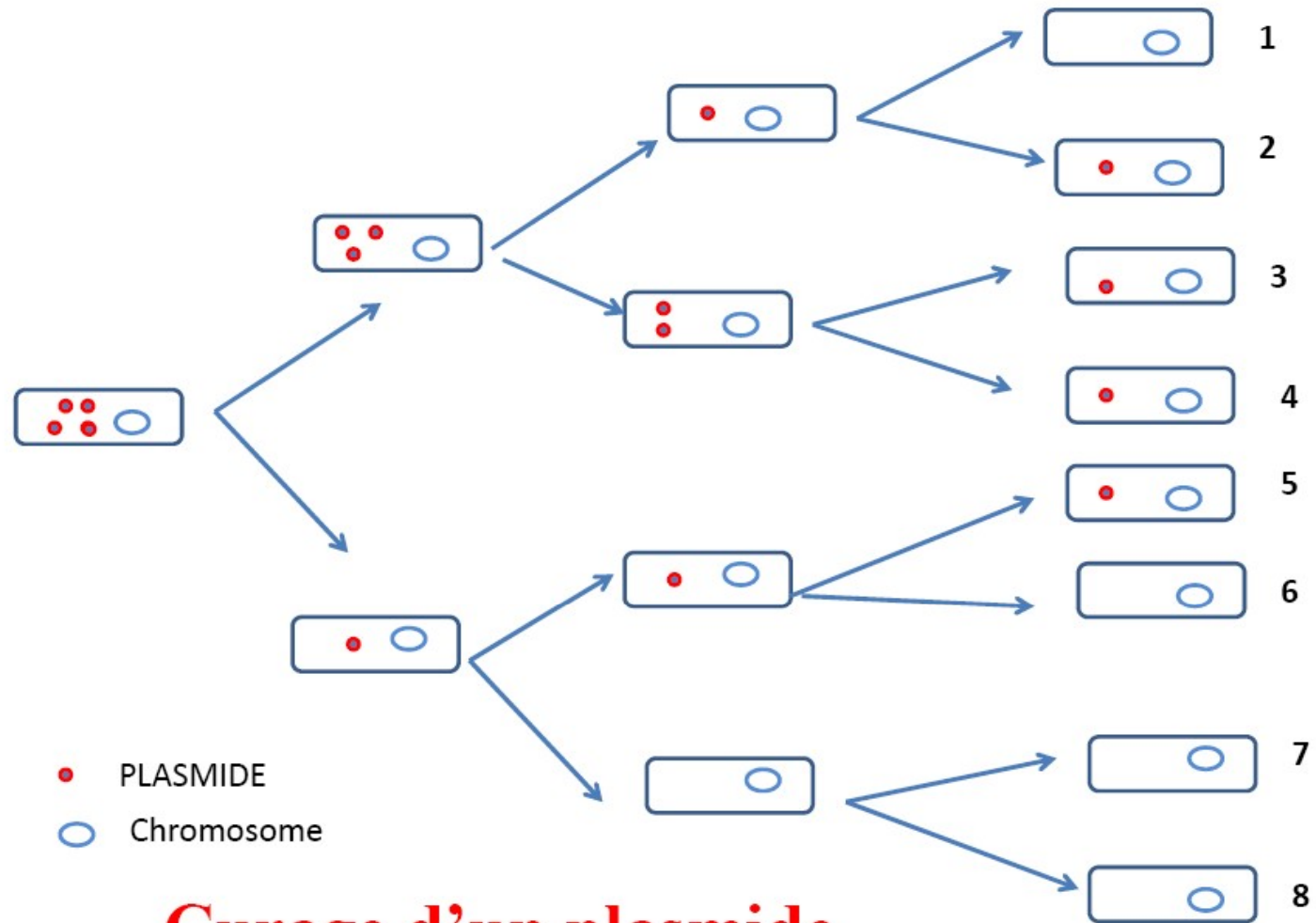
## La régulation de la réplication d'un plasmide

# Le curage des plasmides

C'est **l'inhibition de la réplication** des plasmides sans que celle du chromosome ne soit affectée. Le plasmide se trouve dilué au point de disparaître après un certain nombre de division.

- L'élimination des plasmides se fait par l'utilisation des agents mutagènes tels que:

- ✓ L'orange d'acridine;
- ✓ le bromure d'ethidium;
- ✓ ATB;
- ✓ Température.



## Curage d'un plasmide

Les cellules (1,6,7et 8) sont des cellules curées.

# Groupes d'incompatibilité

Les plasmides qui partagent des exigences commune pour leur réplication ne peuvent coexisté d'une façon stable au sein d'un même lignée cellulaire (plasmides incompatibles).

En revanche, les plasmides non apparentés peuvent se maintenir ensemble dans une cellule: Ils sont qualifiés de compatibles.

Le caractère compatible et incompatible permet de classer les plasmides en groupes.



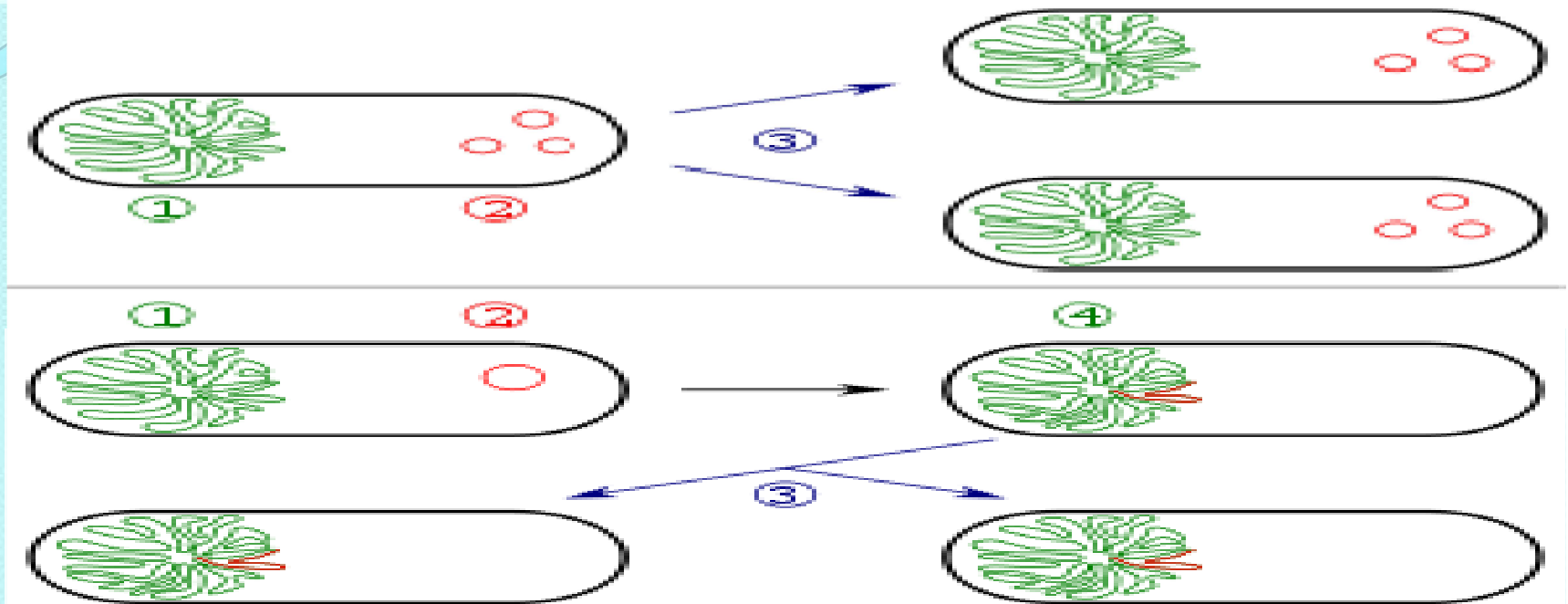
# Transfert ou mécanisme d'acquisition d'un plasmide par une bactérie

Il existe 4 mécanismes de transfert des plasmides, on cite:

- **Par division cellulaire;**
- **Par conjugaison;**
- **Par transduction;**
- **Par transformation.**

## Division cellulaire:

Les plasmides sont transmis verticalement aux cellules filles en nombre égale au moment de la division cellulaire.



Comparaison de plasmides non-intégrants (*en haut*) et d'épisomes (*en bas*).

1. ADN chromosomique.

2. Plasmides.

3. Division cellulaire.

4. ADN chromosomique avec plasmides intégrés.

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Plasmide>

## Conjugaison:

Transmis aussi horizontalement c'est à dire de cellule à cellule, présentes dans le même milieu et appartenant ou non à la même espèce.

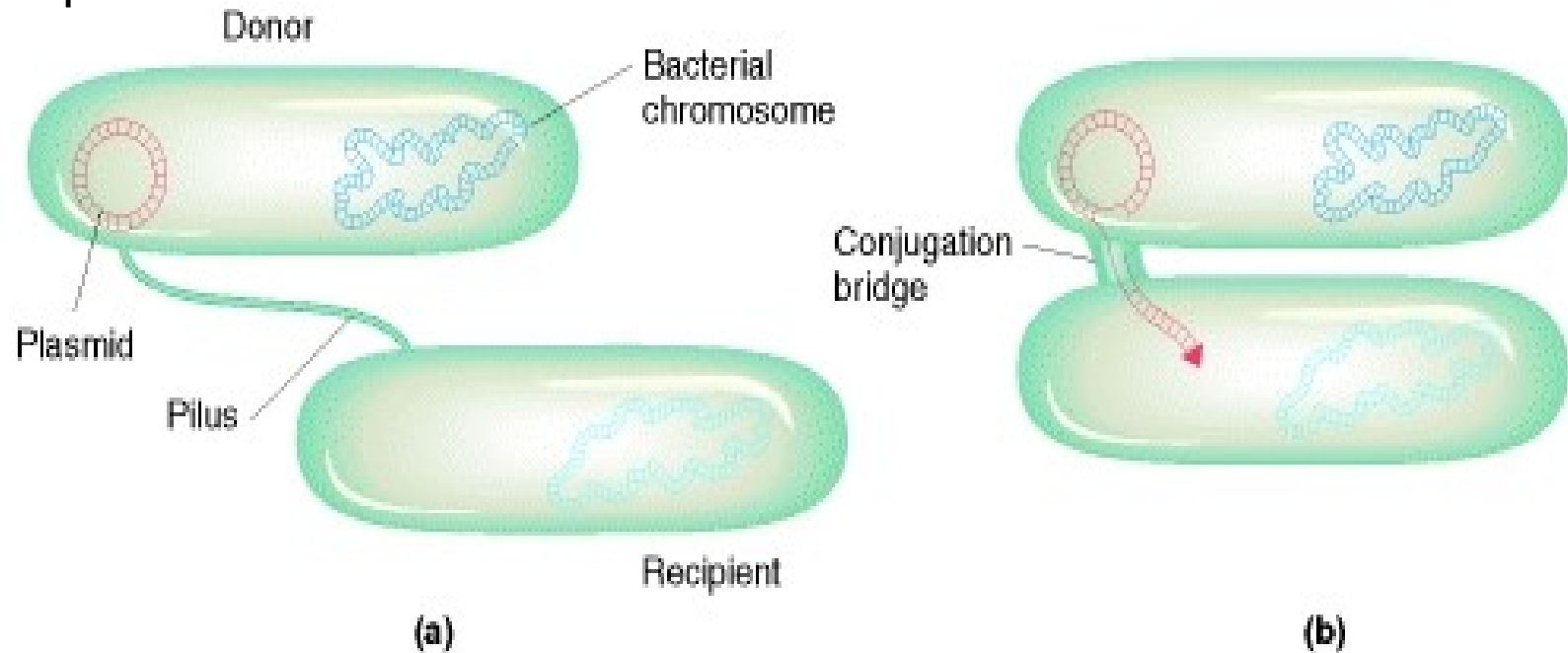


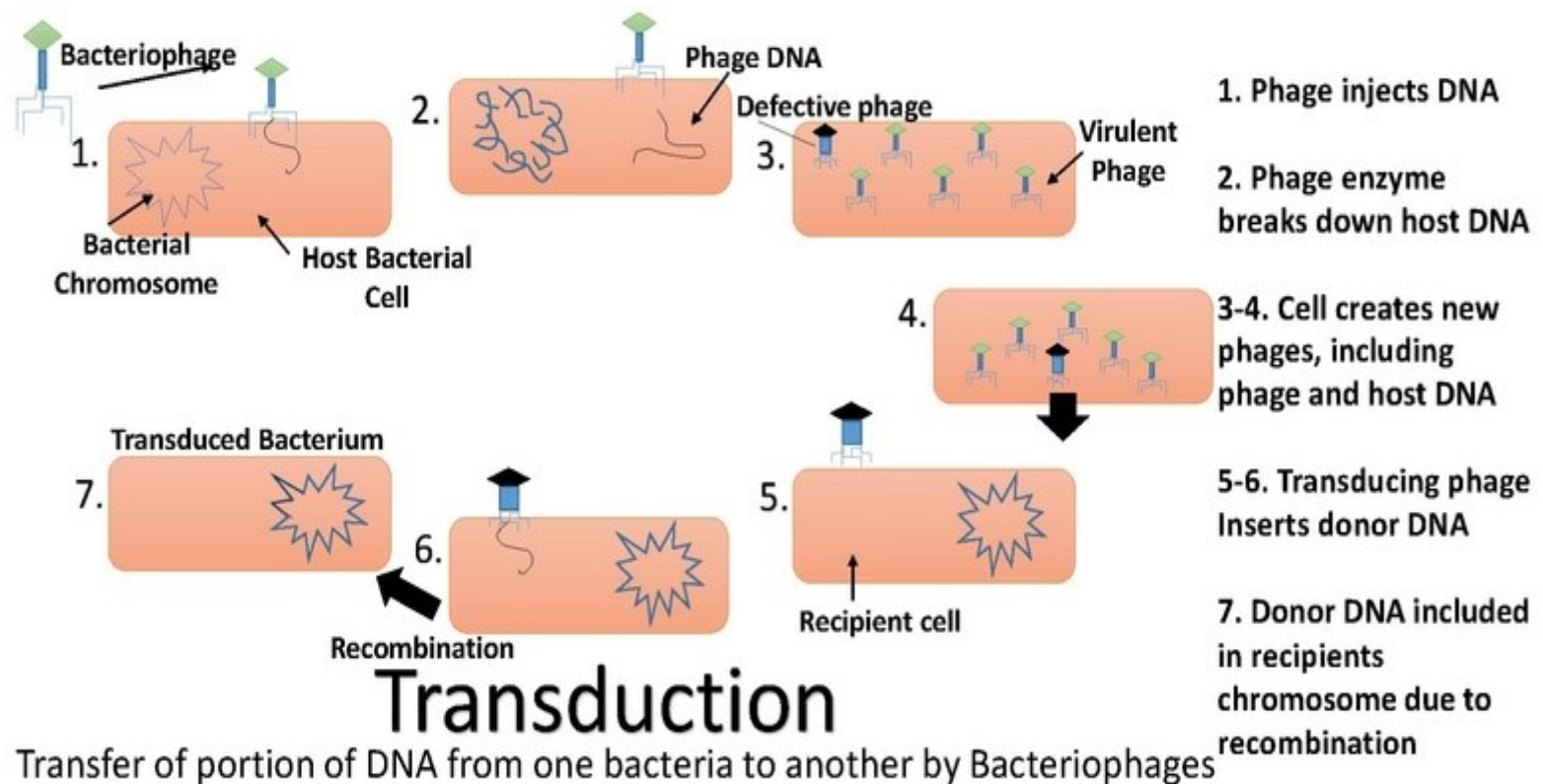
Image obtenue de Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, et al.  
An Introduction to Genetic Analysis. 7th edition

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21942/#A1314>

[http://www.perrin33.com/microbiologie/genetique/conjugaison\\_2.php](http://www.perrin33.com/microbiologie/genetique/conjugaison_2.php)

# Transduction:

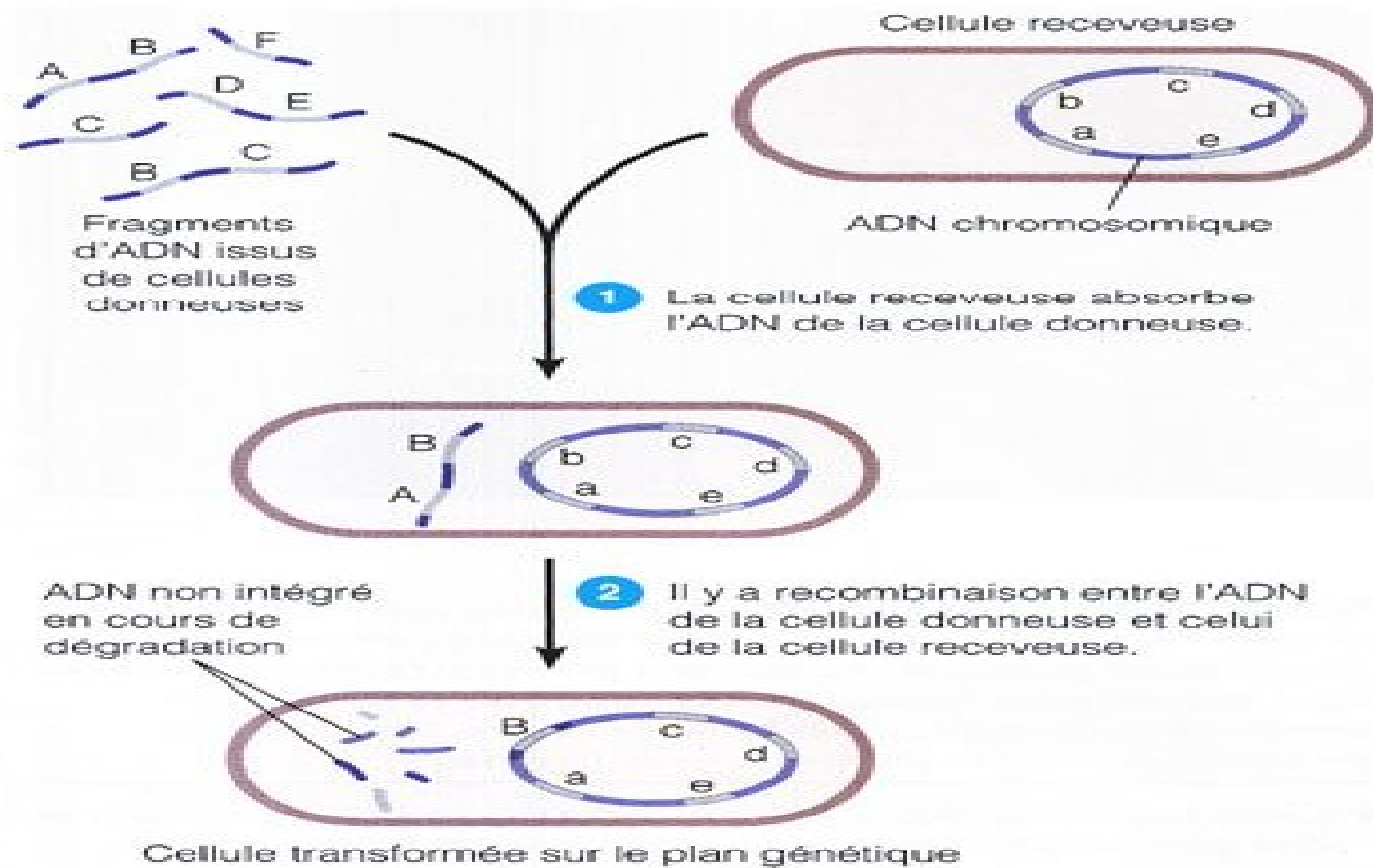
Transfert du plasmide d'une bactérie à l'autre par l'intermédiaire d'un bactériophage.



[https://en.wikipedia.org/wiki/File:Transduction\\_image.pdf](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Transduction_image.pdf)

# Transformation:

Intégration dans une bactérie vivante d'un plasmide présent dans le milieu provenant d'une bactérie morte de même espèce ou d'espèce différente.



# Références

- D.L. Hartl et E.W. Jones (2003). Génétique : les grands principes - Cours et exercices corrigés. 3<sup>ème</sup> édition DUNOD.
- A.Meyer, J. Deiana, A. Bernard (2004). Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2<sup>ème</sup> édition BIOSCIENCES ET TECHNIQUES, DOIN EDITEUR.
- A.Meyer, J. Deiana, H. Leclerc (1984). Cours de microbiologie générale. DOIN EDITEUR- PARIS.
- L.M. Prescott, J.P. Harley, D. Klein (2003). Microbiologie. 2<sup>ème</sup> édition française. De boeck.
- Polycopé de microbiologie du pallier L2 SNV (FSB-USTHB).



**Merci pour votre attention**