

Génétique Procaryote :

Introduction, généralités.

L'arbre phylogénétique des procaryotes donne deux groupes :

- Les eubactéries ou bactéries vraies.
- Les archéobactéries, qui vivent en conditions extrêmes.

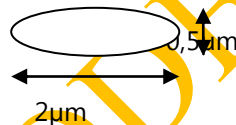
On va surtout s'intéresser aux eubactéries et en particulier, à *Escherichia coli* (Gram -, entérobactérie vivant dans notre intestin).

L'intérêt de la génétique procaryote : actuellement, on a identifié moins de 1% des bactéries vivantes, il y aurait 5.10^{30} bactéries au total. Dans les océans, il y a 10^6 bactéries par mL d'eau de mer. On ne sait cultiver qu'un petit nombre de ces bactéries, on ne sait donc pas identifier les autres.

Les bactéries sont :

- responsables de maladies,
- utilisées en biotechnologie,
- des organismes « simples », faciles à étudier.

I\ Le cycle cellulaire de *E. coli*.



La dimension d'*E. coli* varie en fonction du milieu de culture : si le milieu est riche, la bactérie sera plus grosse.

E. coli se multiplie par scissiparité.

T est le temps de génération (au mieux, 20 minutes).

Pour se multiplier pendant la période T, la longueur va être multipliée par 2 et le diamètre va varier. A la fin de cette période (T), on obtient deux cellules filles par division qui ont la longueur initiale.

Dans la bactérie, l'ADN met 40 minutes pour se répliquer : c'est la période C (constante). Il faut 20 minutes entre la fin de la réplication et la division : c'est la période D (constante).

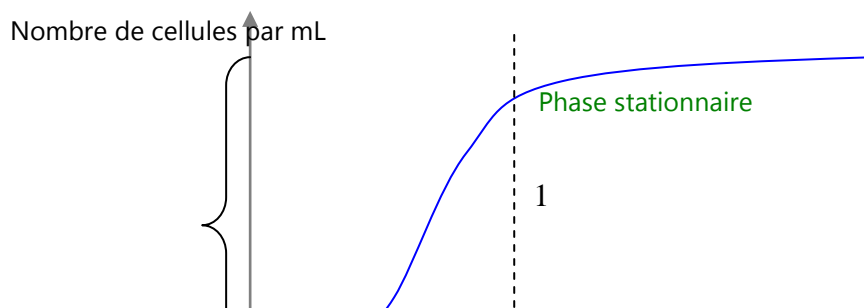
Comment T=20 minutes est possible alors que 40minutes+20minutes=60minutes=constante?

Concept : $I = C + D$; I est le temps nécessaire à la cellule pour se préparer à une nouvelle initiation de réplication. En général, $I = T$. La division cellulaire est instantanée (pas de temps de mitose).

→ Dans la cellule mère, il y a plusieurs cycles de réplication en même temps, donc la période I d'un cycle peut avoir lieu dans une bactérie arrière-grand-mère.

Une bactérie peut croître en milieu liquide ou en milieu solide. Les bactéries sont conservées en laboratoire dans des congélateurs à -70°C et à 15% de glycérol pour éviter l'éclatement.

Pour faire pousser, on prend un peu de culture en réserve que l'on met dans un milieu de culture à 37°C et on agite → Mesure de culture.



Echelle $\frac{1}{2}$ log



- La phase de latence.

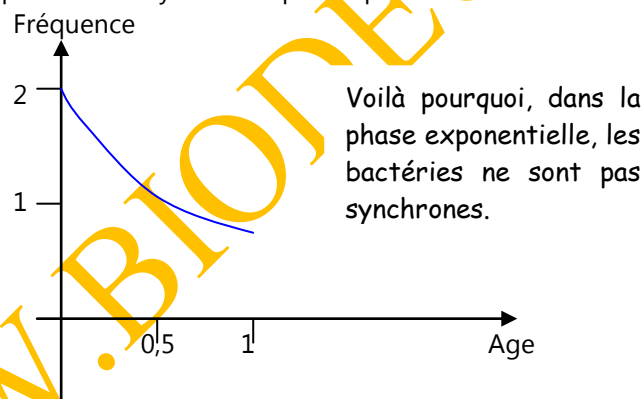
Cette phase correspond au temps nécessaire à la bactérie pour s'adapter à son nouveau milieu pour pouvoir se diviser activement.

- La phase exponentielle.

Toutes les bactéries poussent avec le même T mais toutes les bactéries ne sont pas synchronisées. En anglais, on dit « steady state » (état d'équilibre). Quelque soit le moment de la phase exponentielle, pour tous les paramètres, la concentration ne variera pas : on a un équilibre entre les voies de synthèse et de dégradation. En steady state, on dit que les bactéries sont « physiologiques ». On travaille toujours avec ce type de bactéries.

- La phase stationnaire.

Les bactéries ne poussent plus car il n'y a plus rien à « manger » → ce sont elles que l'on stocke. Ce sont les facteurs environnement et trophique qui limitent la croissance d'une culture de bactéries. Une bactérie se prépare à la phase stationnaire car elle a des capteurs : elle accumule du stock, elle se fait une membrane plus épaisse et ne synthétise que les protéines réellement utiles.



Pour construire une courbe de croissance bactérienne, on mesure le nombre de cellules par mL par spectrométrie car il existe une relation entre DO et nombre de cellules par mL.

→ $DO = 1 \Leftrightarrow 4 \cdot 10^8$ cellules/mL.

Pour savoir si les bactéries sont mortes ou vivantes, on étale l'échantillon sur un milieu de croissance à différentes dilutions. On fait ensuite la DO des seules bactéries qui ont poussé.

Pour un diamètre de 1mm, on a 10^7 cellules par colonie, soit, 23 générations.

$$N = N_0 \times 2^{t/T} \text{ et } N = d^2 \times 10^7$$

N est le nombre de bactéries, N_0 est le nombre initial de bactéries, d est le diamètre.

II\ Le génome bactérien.

A\ Le génome chromosomique.

L'ADN de *E. coli* est formé d'ADN double brin circulaire, d'une origine C, d'un terminus C et fonctionne en réplication en mode θ bidirectionnelle : l'initiation commence en ori C, il y a ensuite séparation des deux brins et allongement du brin complémentaire par une polymérase.

L'ADN a été séquencé dans la souche sauvage de référence MG16SS et pèse 4936kpb. On peut connaître le nombre de plages ouvertes de lecture (ORF) afin de connaître le nombre de gènes (à peu près 5000 gènes).

Remarque : informations au www.pasteur.fr/bio/colibri.html ou htm.

Sur une population bactérienne, il y a toujours moins de 0,1% de particules sans ADN, donc, la partition du chromosome entre les deux cellules filles est régulée.

Le génome minimal est le nombre minimal de gènes nécessaires à la vie (250 gènes pour *E. coli*). Les gènes nécessaires à la vie sont toujours très conservés. Pour *E. coli*, 100 gènes servent à la traduction et 28 ont un rôle inconnu.

B\ Le génome extra chromosomique : plasmide, virus et transposons (Elts genetic Mobils).