

Sous la direction de

Luciano Paolozzi

Jean-Claude Liébart

Microbiologie

**Biologie des procaryotes
et de leurs virus**

2^e ÉDITION

DUNOD

Illustration de couverture :
Filaments de la Cyanobactérie *Anabaena PCC7120* en croissance en absence d'azote combiné. Des hétérocystes, cellules non divisionnelles spécialisées dans l'assimilation de l'azote gazeux, se différencient à intervalles réguliers le long des filaments.
© Amel Latifi.

| | |
|--|--|
| <p>Le pictogramme qui figure ci-contre mérite une explication. Son objet est d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, particulièrement dans le domaine de l'édition technique et universitaire, le développement massif du photocopillage.</p> <p>Le Code de la propriété intellectuelle du 1^{er} juillet 1992 interdit en effet expressément la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Or, cette pratique s'est généralisée dans les établissements</p> | <p>d'enseignement supérieur, provoquant une baisse brutale des achats de livres et de revues, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.</p> <p>Nous rappelons donc que toute reproduction, partielle ou totale, de la présente publication est interdite sans autorisation de l'auteur, de son éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).</p> |
|--|--|



© Dunod, 2015, 2021
11, rue Paul Bert, 92240 Malakoff
www.dunod.com

ISBN 978-2-10-082168-6

Le Code de la propriété intellectuelle n'autorisant, aux termes de l'article L. 122-5, 2° et 3° a), d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (art. L. 122-4).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles L. 335-2 et suivants du Code de la propriété intellectuelle.

LISTE DES AUTEURS



Ouvrage sous la direction de :

Luciano PAOLOZZI, professeur de première classe de génétique, université de Rome. Il a enseigné la microbiologie générale, la génétique et biologie moléculaire des micro-organismes (chapitres 1, 5, 7, 8, 12, 14, 16, 17, 19, 20 et 21).

Jean-Claude LIÉBART, ancien professeur (UPMC, Paris). Enseignait la génétique bactérienne et la microbiologie (chapitres 4, 9, 10, 11, 14, 16, 18, 19 et 20).

Avec les contributions par ordre alphabétique de :

Pascale BAUDA, professeure à l'université de Lorraine, Metz (chapitre 2).

Josselin BODILIS, maître de conférences à l'université de Rouen (chapitres 3, 6 et 20).

Olivier DUSSURGET, professeur à l'université de Paris (chapitre 17).

Patrick FORTERRE, professeur à l'Institut Pasteur, professeur émérite à l'université Paris-Sud et membre de l'Institut Universitaire de France (chapitre 3).

Claude GUTIERREZ, professeur à l'université Paul Sabatier, Toulouse III (chapitre 13).

Amel LATIFI, professeure à l'université Aix-Marseille (chapitres 15 et 20).

Georges ONA-NGUEMA, maître de conférences à Sorbonne Université, Paris (chapitre 2).

Céline ROOSE-AMSALEG, ingénieure de recherche à l'université Rennes 1 (chapitre 2).

PRÉFACE



On avait à juste titre salué en 2015 la première édition de *Microbiologie : biologie des procaryotes et de leurs virus* comme l'ouvrage francophone de référence de la microbiologie en ce début de siècle. J'avais dans la préface de cet ouvrage insisté sur la véritable renaissance que nous offrait alors cette discipline fondatrice de la biologie moléculaire après quelques décennies d'effacement derrière des disciplines reines en émergence comme la biologie cellulaire, la biologie du développement, les neurosciences et dans des domaines plus proches de la pathologie, la biologie du vieillissement et du cancer. Même l'immunologie semblait prendre ses distances... Les étudiants s'en écartaient comme d'une discipline sans avenir, à commencer par le leur, les agences de financement faisaient la moue et il fallait souvent montrer les dents au sein des commissions pour « sauver les projets de microbiologie ».

Pourquoi cette renaissance ? Peut-on d'ailleurs expliquer une renaissance ? On peut en tout cas tenter d'en identifier des ressorts. Le premier est l'extrême diversité du monde microbien qui par son antériorité sur le monde eucaryote et la variété des environnements qu'il a colonisés a développé des fonctions et des systèmes de régulation et d'organisation que « la nature proluxe en diversité, mais pingre en innovation » comme l'écrivait Charles Darwin, a volontiers « recyclé ». Pour reprendre l'adage de Jacques Monod : « ce qui est vrai pour *Escherichia coli* l'est aussi pour l'éléphant ». Et même lorsque ce n'est pas vrai, l'étude de la biologie fondamentale des bactéries nous fournit des outils exceptionnels pour l'analyse des organismes eucaryotes. 2020 a vu l'attribution du prix Nobel de Chimie à Emmanuelle Charpentier et Jennifer Dubnau, au-delà de la découverte de CRISPR-Cas, pour l'utilisation de ce système d'immunité aux bactériophages comme outil d'édition des génomes procaryotes ET eucaryotes. Une brillante suite à la découverte dans les années 1970 chez les bactéries des enzymes de restriction qui ont ouvert la voie du clonage et dans les années 1980 des ADN polymérases des archéobactéries thermophiles qui ont permis l'invention de la PCR.

Le second ressort de la microbiologie est moins sa perpétuelle actualité que l'on tendait à oublier que la redécouverte de cette actualité. Actualité médicale marquée par l'émergence de l'antibiorésistance qui menace de perte les antibiotiques, par l'émergence de nouvelles maladies infectieuses comme la pandémie de Covid-19 qui en cette année 2020 menace non seulement la santé mais aussi l'économie et l'ordre social de la planète. « Il y aura toujours des maladies infectieuses, c'est un fait fatal » annonçait Charles Nicolle dans les années 1930 dans le « Destin des maladies infectieuses ». Dans ce contexte, la génomique a fait une entrée fracassante en épidémiologie, permettant avec un haut degré de certitude, le suivi de clones microbiens et leur évolution, sans parler de l'introduction en routine du diagnostic moléculaire par PCR et de l'identification de pathogènes inconnus par séquençage profond comme réalisé pour SARS-CoV-2. Microbiologie aussi marquée ces dix dernières années par l'explosion de la métagénomique comme méthode d'analyse exhaustive des microbiotes humains et animaux, les positionnant comme déterminants

Microbiologie

de la santé et de la maladie et introduisant une nouvelle dimension dans l'étude du dialogue moléculaire microbe-hôtes, passant de l'interaction d'un pathogène unique à l'interaction d'un écosystème bactérien sain ou dysbiotique avec cellules et tissus de l'hôte. Une microbiologie cellulaire de la symbiose est née. Enfin gageons que les préoccupations environnementales vont accentuer l'intérêt de l'étude des microbes comme marqueurs de santé environnementale, qu'il s'agisse de la flore, des sols ou des environnements océaniques. N'oublions pas que les microbes représentent 95 % de la biodiversité et 55 % de la biomasse terrestre...

Un ouvrage de microbiologie moderne se doit de nous offrir les outils et les concepts de l'analyse des sujets qui reflètent la dynamique de cette discipline.

C'est exactement ce que propose la seconde édition de *Microbiologie : biologie des procaryotes et de leurs virus*. Cette édition a atteint à cette occasion sa maturité et confirme sa place unique dans la discipline.

Le texte actuel, outre les corrections d'usage, a vu sa présentation allégée par l'introduction de coupures et sous-titres et a surtout bénéficié d'une véritable actualisation de pratiquement tous ses chapitres.

Les aspects suscitant un renouveau d'intérêt pour la microbiologie, tels ceux présentés ci-dessus, ont été introduits ou enrichis. Un texte sur le microbiote a été inséré dans le chapitre 17. Un texte sur l'épidémiologie, absente de la première édition, a été introduit et enrichi par la description de la pandémie de Covid-19. Un chapitre entièrement nouveau sur les Systèmes complexes en Microbiologie est présenté en fin d'ouvrage, annonçant les orientations futures de la Microbiologie. D'autres avancées importantes, en particulier l'utilisation du système CRISP-Cas, et les processus de contrôle de qualité des protéines, absentes dans la première édition, ont été traitées sous forme de compléments Web, afin de ne pas alourdir le volume.

Enfin l'iconographie a été très soignée par rapport à la première édition, en modifiant certaines figures et en ajoutant de nouvelles.

Il convient donc de féliciter Luciano Paolozzi, Jean-Claude Liébart et les auteurs associés à cette seconde édition pour cet ouvrage extraordinaire au sein duquel étudiants, chercheurs, enseignants en microbiologie trouveront toutes les informations pertinentes de leur discipline dans un format d'abord facile mais de contenu riche, illustré, actualisé et de hauts standards scientifiques.

Philippe J. SANSONETTI

Professeur émérite au Collège de France

Chaire de Microbiologie et Maladies Infectieuses (2008-2017)

Professeur émérite à l'Institut Pasteur

Membre de l'Académie des sciences

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|-------|
| Liste des auteurs | V |
| Préface | VII |
| Avant-propos de la 2 ^e édition | XXI |
| Avant-propos | XXIII |
| Liste des relecteurs | XXIX |
| Remerciements | XXXI |

PARTIE I

LES PROCARYOTES DIVERSITÉ ET RÔLES

| | |
|--|----|
| Chapitre 1. Structures cellulaires | 3 |
| 1.1 Caractères généraux et diversifications cellulaires | 4 |
| 1.2 Morphologies, dimensions ; leurs contrôles | 5 |
| 1.2.1 Morphologies | 5 |
| 1.2.2 Dimensions | 6 |
| 1.2.3 Adaptabilité morphologique à l'environnement | 7 |
| 1.3 Structures et organisation cellulaires | 7 |
| 1.3.1 L'enveloppe, interface de la cellule avec son environnement | 8 |
| 1.3.2 Structures péri- et trans-enveloppes | 16 |
| 1.3.3 Éléments du cytoplasme | 20 |
| 1.4 Transport et assemblage des protéines | 26 |
| 1.4.1 Systèmes de transport Sec-indépendants (fig. 1.13) | 26 |
| 1.4.2 Systèmes de transport Sec-dépendants (fig. 1.14) | 28 |
| 1.4.3 Systèmes de transport chez les Bactéries à Gram ⁺ | 29 |
| Chapitre 2. Métabolisme et écologie des procaryotes | 31 |
| 2.1 Métabolisme énergétique | 32 |
| 2.1.1 Chimio-organotrophie | 33 |
| 2.1.2 Chimio-lithotrophie | 37 |
| 2.1.3 Phototrophie | 37 |

Table des matières

| | | |
|--------------------|---|-----------|
| 2.2 | Biosynthèses | 37 |
| 2.2.1 | Utilisation du CO ₂ – autotrophie | 37 |
| 2.2.2 | Utilisation de composés réduits (C1, C2 ou plus) – hétérotrophie, méthylothrophie | 38 |
| 2.3 | Écologie microbienne | 38 |
| 2.3.1 | Interactions organismes-biotope | 39 |
| 2.3.2 | Interactions biotiques | 39 |
| 2.3.3 | Cycles biogéochimiques | 41 |
| 2.4 | Métabolisme et écologie des Archées | 45 |
| 2.4.1 | Métabolisme énergétique et autotrophie | 45 |
| 2.4.2 | Archées et cycle de l'azote | 47 |
| 2.5 | Procaryotes extrêmophiles | 47 |
| 2.5.1 | Halophiles extrêmes | 48 |
| 2.5.2 | Thermophiles et hyperthermophiles | 49 |
| 2.5.3 | Acidophiles et alcalinophiles extrêmes | 50 |
| 2.5.4 | Psychrophiles | 51 |
| 2.5.5 | Barophiles | 51 |
| 2.5.6 | Résistance aux radiations | 52 |
| Chapitre 3. | Taxonomie, phylogénie, évolution | 53 |
| 3.1 | Origine de la vie – Premières étapes de l'évolution du vivant | 53 |
| 3.1.1 | Premières traces fossiles d'êtres vivants et Terre primitive | 53 |
| 3.1.2 | Ordre d'apparition des macromolécules informationnelles | 56 |
| 3.1.3 | Premiers virus et rôle possible dans l'évolution des génomes | 57 |
| 3.1.4 | La forme cellulaire aux origines de la vie ? | 58 |
| 3.2 | Classifications des organismes vivants | 59 |
| 3.2.1 | Classification phénotypique | 59 |
| 3.2.2 | Classification et phylogénie moléculaire | 60 |
| 3.3 | Arbre universel du vivant | 63 |
| 3.3.1 | Premiers arbres universels phénotypiques | 63 |
| 3.3.2 | Travaux de Carl Woese : du phénotype au génotype | 64 |
| 3.3.3 | Grands phylums des trois domaines | 66 |
| 3.3.4 | Arbre universel et relation procaryote/eucaryote | 67 |
| 3.3.5 | Place des virus dans l'arbre universel | 69 |
| 3.3.6 | Arbres ou réseaux | 70 |
| 3.3.7 | Description des grands phylums procaryotes | 71 |
| 3.4 | Identification des espèces procaryotes | 72 |
| 3.4.1 | Notion d'espèce chez les procaryotes | 72 |
| 3.4.2 | Identification phénotypique | 74 |
| 3.4.3 | Identification moléculaire | 75 |

| | | |
|--------------------|--|------------|
| 3.4.4 | Spectrométrie de masse, méthode alternative | 77 |
| 3.4.5 | Rangs taxonomiques intraspécifiques d'intérêt | 77 |
| 3.5 | Nomenclature chez les procaryotes | 79 |
| 3.5.1 | Généralités | 79 |
| 3.5.2 | Validation d'une nouvelle espèce procaryote | 79 |
| Chapitre 4. | Croissance et homéostasie | 81 |
| 4.1 | « Courbe de croissance » | 81 |
| 4.1.1 | Un outil d'étude indispensable | 82 |
| 4.1.2 | Conditions expérimentales | 82 |
| 4.2 | Phases de la courbe de croissance | 84 |
| 4.2.1 | Phase exponentielle | 85 |
| 4.2.2 | Autres phases | 85 |
| 4.2.3 | Phase stationnaire et états de stress chez les Bactéries à Gram ⁺ | 87 |
| 4.3 | Facteurs influant sur la croissance | 88 |
| 4.3.1 | Facteurs physico-chimiques | 88 |
| 4.3.2 | Facteurs biochimiques | 89 |
| 4.4 | Homéostasie cellulaire – Application aux procaryotes | 91 |
| 4.4.1 | Rôle de l'homéostasie dans les états de stress | 92 |
| 4.4.2 | Adaptations aux conditions extrêmes | 94 |
| Chapitre 5. | Reproduction | 95 |
| 5.1 | Modèles de cytokinèse | 96 |
| 5.2 | Division symétrique | 97 |
| 5.2.1 | Aperçu global | 97 |
| 5.2.2 | Rôle central de FtsZ | 99 |
| 5.2.3 | De l'anneau Z à l'anneau septal | 101 |
| 5.2.4 | Assemblage du divisome | 103 |
| 5.2.5 | Systèmes <i>in vitro</i> pour l'étude de la division | 109 |
| 5.3 | Division asymétrique | 110 |
| 5.4 | Autres systèmes FtsZ-dépendants | 111 |
| 5.4.1 | Cyanobactéries : division par scissions multiples | 111 |
| 5.4.2 | Streptomycètes : croissance sans division | 112 |
| 5.4.3 | Division par gemmation | 113 |
| 5.4.4 | <i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> : divisions multiples | 113 |
| 5.4.5 | De l'endospore à la progéniture intracellulaire | 114 |
| 5.5 | Systèmes de division FtsZ-indépendants | 115 |
| 5.6 | Division chez les Archées | 116 |

**LE GÉNOME : STRUCTURE
ET REPRODUCTION**

| | |
|---|-----|
| Chapitre 6. Génomique et métagénomique | 119 |
| 6.1 Séquençage complet d'un génome procaryote | 119 |
| 6.1.1 Clonage et séquençage par la technologie Sanger | 120 |
| 6.1.2 Nouvelles techniques de séquençage à haut débit | 121 |
| 6.1.3 Assemblage des génomes | 124 |
| 6.1.4 Stratégies de séquençage d'un génome procaryote | 126 |
| 6.2 Annotation des génomes | 126 |
| 6.2.1 Recherche des cadres de lecture | 127 |
| 6.2.2 Biais dans la composition nucléotidique et l'usage des codons | 127 |
| 6.2.3 Recherche des fonctions codées par les gènes | 129 |
| 6.2.4 Recherche des gènes orthologues | 129 |
| 6.2.5 Polymorphisme génique (SNP) | 130 |
| 6.2.6 Synthénie | 130 |
| 6.2.7 ARN non traduits et ADN non codant | 130 |
| 6.3 Comparaison et diversité des génomes procaryotes | 131 |
| 6.3.1 Diversité de taille et nombre de gènes | 131 |
| 6.3.2 Diversité fonctionnelle | 132 |
| 6.3.3 Génomes des organites eucaryotes d'origine procaryote | 132 |
| 6.4 Génomique fonctionnelle | 133 |
| 6.4.1 Transcriptomique | 133 |
| 6.4.2 Protéomique | 136 |
| 6.4.3 Métabolomique et autres « -omiques » | 136 |
| 6.5 Métagénomique | 137 |
| Chapitre 7. Génomes procaryotes | 139 |
| 7.1 Nucléoïde | 139 |
| 7.1.1 Structure physique | 140 |
| 7.1.2 Géométries et ploidies des génomes | 148 |
| 7.1.3 Organisation fine | 150 |
| 7.2 Éléments génétiques accessoires (EGA) | 155 |
| 7.2.1 Plasmides | 155 |
| 7.2.2 Éléments génétiques mobiles (EGM) | 158 |
| 7.2.3 Îles et îlots génomiques | 160 |
| 7.2.4 Éléments intégratifs conjugatifs (ICE) | 161 |
| 7.2.5 Shufflons | 161 |
| 7.2.6 Hérité infectieuse intracellulaire | 161 |

| | | |
|--------------------|---|------------|
| 7.2.7 | Intégrons | 162 |
| 7.2.8 | Les séquences CRISPR | 162 |
| 7.3 | Génomés des Archées : similitudes et originalités | 163 |
| 7.3.1 | Structuration du nucléoïde | 163 |
| 7.3.2 | Organisation génétique | 164 |
| Chapitre 8. | Reproduction et ségrégation des chromosomes | 165 |
| 8.1 | Caractéristiques générales | 165 |
| 8.1.1 | Aspects principaux du processus de réplication | 166 |
| 8.1.2 | Notion de réplichore | 167 |
| 8.2 | Enzymes de la réplication | 167 |
| 8.2.1 | Hélicases | 167 |
| 8.2.2 | Protéines de maintien des ADN simple-brin (Ssb) | 168 |
| 8.2.3 | Primases | 169 |
| 8.2.4 | ADN polymérases | 169 |
| 8.3 | Initiation de la réplication | 172 |
| 8.3.1 | Origine de réplication, <i>ori</i> | 172 |
| 8.3.2 | Protéine initiatrice DnaA | 173 |
| 8.3.3 | Initiation à <i>ori</i> – Les amorces ARN | 175 |
| 8.4 | Élongation | 175 |
| 8.4.1 | Synthèse d'ADN à partir des amorces ARN | 175 |
| 8.4.2 | Processivité de l'ADN polymérase Pol III | 176 |
| 8.4.3 | Terminaison de la réplication | 177 |
| 8.5 | Contrôle des fréquences d'initiation | 178 |
| 8.5.1 | Système modèle <i>E. coli</i> | 178 |
| 8.5.2 | Régulation de l'initiation chez d'autres Bactéries | 179 |
| 8.6 | Aspects mécaniques de la réplication | 179 |
| 8.6.1 | Modèle trombone : coordination de synthèse dans un réplichore | 179 |
| 8.6.2 | Configuration des réplisomes au cours de la réplication | 180 |
| 8.7 | Ségrégation des chromosomes | 181 |
| 8.7.1 | Migration des origines | 181 |
| 8.7.2 | Migration de la masse du chromosome | 181 |
| 8.7.3 | Ségrégation des chromosomes | 182 |
| 8.8 | Réplication des chromosomes linéaires | 182 |
| 8.8.1 | Protection des extrémités | 182 |
| 8.8.2 | Stratégies de réplication | 182 |
| 8.9 | Réplication des éléments génétiques accessoires | 183 |
| 8.9.1 | Réplication de type θ de plasmides circulaires | 184 |
| 8.9.2 | Réplication de type déplacement de chaîne : le plasmide RSF1010 | 185 |

Table des matières

| | | |
|--------------------|--|------------|
| 8.9.3 | Réplication mixte θ et cercle roulant | 185 |
| 8.9.4 | Autres modes de réplication | 186 |
| 8.10 | Réplication chez les Archées – Particularités | 186 |
| Chapitre 9. | Recombinaison génétique | 189 |
| 9.1 | Recombinaison homologue – Les modèles | 189 |
| 9.2 | Recombinaison homologue chez les procaryotes | 193 |
| 9.2.1 | Modèle <i>E. coli</i> – Approche génétique | 193 |
| 9.2.2 | Voie <i>recA</i> | 194 |
| 9.2.3 | Voies de recombinaison homologue alternatives | 196 |
| 9.3 | Recombinaison non homologue | 197 |
| 9.3.1 | Recombinaison site-spécifique | 197 |
| 9.3.2 | Transposition et transposases | 200 |
| 9.3.4 | Jonction d'extrémités d'ADN non homologues (NHEJ) | 204 |
| 9.4 | Recombinaison chez les Archées – Particularités | 205 |

PARTIE III

DIVERSIFICATION ET STABILITÉ DES GÉNOMES

| | | |
|---------------------|--|------------|
| Chapitre 10. | Nature des mutations | 209 |
| 10.1 | Dénombrement et identification des mutants | 209 |
| 10.2 | Mutations spontanées : genèse et nature | 210 |
| 10.2.1 | Erreurs d'appariements par insertion de tautomères des bases | 211 |
| 10.2.2 | Rôle mutagène des ADN polymérases | 213 |
| 10.2.3 | Autres processus physiologiques à risque mutagénique | 214 |
| 10.3 | Agents mutagènes | 214 |
| 10.3.1 | Mutagènes endocellulaires | 215 |
| 10.3.2 | Agents mutagènes exogènes | 216 |
| 10.4 | Contrôle du taux de mutation spontanée | 218 |
| 10.5 | Gènes mutateurs, adaptabilité et sélection | 219 |
| 10.5.1 | Variants mutateurs : un avantage adaptatif ? | 220 |
| 10.5.2 | Mutation, sélection et adaptation | 221 |
| 10.6 | Mutagenèse adaptative | 226 |
| 10.6.1 | Genèse de mutants dans des conditions de sélection non létales | 227 |
| 10.6.2 | Modèles explicatifs du phénomène de réversion adaptative | 227 |
| Chapitre 11. | Systèmes de réparation | 228 |
| 11.1 | Induction de la réparation – Le système SOS | 228 |

| | | |
|---|--|-----|
| 11.2 | Réparation par excision de base (BER) | 229 |
| 11.2.1 | Glycosylases procaryotes | 229 |
| 11.2.2 | Cibles du système BER | 231 |
| 11.3 | Réparation par excision de nucléotide (NER) | 233 |
| 11.3.1 | Approche génétique de l'étude de la sensibilité d' <i>E. coli</i> aux UV | 233 |
| 11.3.2 | Analyse biochimique de la réaction d'excision | 234 |
| 11.3.3 | Mécanisme d'excision des lésions chez <i>E. coli</i> | 235 |
| 11.3.4 | Couplage transcription-excision chez <i>E. coli</i> | 236 |
| 11.4 | Réparation des mésappariements (MMR) | 237 |
| 11.4.1 | Sélection de mutants affectés dans le processus MMR | 237 |
| 11.4.2 | Rôle des séquences GATC dans la reconnaissance de la lésion | 238 |
| 11.4.3 | Protéines en jeu dans le MMR et leur rôle | 238 |
| 11.4.4 | Reconnaissance et traitement des mésappariements | 240 |
| 11.4.5 | Organismes dépourvus de MutH | 242 |
| 11.5 | Déblocage des fourches de réplication | 242 |
| 11.5.1 | Rôle de la recombinaison – Les protéines Rep et PriA | 243 |
| 11.5.2 | Cas particulier de fourches bloquées au terminus | 245 |
| 11.6 | Systèmes de réparation chez les Archées | 246 |
| Chapitre 12. Systèmes de transfert génétique | | 248 |
| 12.1 | Transformation | 249 |
| 12.1.1 | État de compétence | 250 |
| 12.1.2 | Machinerie de capture de l'ADN | 251 |
| 12.1.3 | Liaison de l'ADN à la cellule, sa fragmentation et son transport | 252 |
| 12.1.4 | Destin de l'ADN transformant internalisé | 253 |
| 12.2 | Conjugaison – Le modèle <i>E. coli</i> | 254 |
| 12.2.1 | Découverte | 254 |
| 12.2.2 | Épisome autotransférable F | 256 |
| 12.2.3 | Transfert linéaire des gènes chromosomiques | 258 |
| 12.2.4 | Machinerie de conjugaison | 259 |
| 12.3 | Transduction | 263 |
| 12.4 | Agents de transfert génique (GTA) | 264 |
| 12.5 | TGH chez les Archées | 264 |
| 12.6 | Barrières au TGH et leur esquiv | 265 |
| 12.6.1 | Systèmes de restriction-modification de l'ADN | 265 |
| 12.6.2 | La barrière de la recombinaison | 268 |
| 12.6.3 | Contrôle par H-NS de l'expression d'ADN xénogénique | 269 |
| 12.6.4 | Le système CRISPR : une immunité héréditaire contre un ADN étranger | 269 |
| 12.6.5 | Stratégies antibarrières | 271 |

STRATÉGIES D'ADAPTATION

| | |
|---|-----|
| Chapitre 13. Expression génique, mécanismes et régulations | 275 |
| 13.1 Transcription | 276 |
| 13.1.2 Reconnaissance du promoteur | 277 |
| 13.1.3 Élongation de la transcription | 279 |
| 13.1.4 Terminaison de la transcription | 279 |
| 13.2 Traduction | 280 |
| 13.2.1 Ribosomes | 281 |
| 13.2.2 ARN de transfert et aminoacyl-ARNt synthétases | 281 |
| 13.2.3 Démarrage de la traduction | 282 |
| 13.2.4 Élongation de la traduction | 283 |
| 13.2.5 Code génétique | 285 |
| 13.2.6 Terminaison de la traduction | 286 |
| 13.2.7 Traduction et physiologie | 286 |
| 13.3 Stratégies de régulation de l'expression génique | 287 |
| 13.3.1 Régulations du démarrage de la transcription | 287 |
| 13.3.2 Régulateurs locaux et régulateurs globaux ; régulon et stimulon | 294 |
| 13.3.3 Un cas de régulation globale : alarmones et réponse stringente | 295 |
| 13.3.4 Régulation de l'élongation de la transcription | 297 |
| 13.3.5 Régulation de la traduction | 300 |
| 13.3.6 Quand les ARN se font régulateurs de l'expression génique | 301 |
| 13.4 Expression génique et régulation chez les Archées | 304 |
| 13.4.1 Une machinerie de transcription de type eucaryote | 304 |
| 13.4.2 Différents niveaux de régulation de la transcription | 305 |
| Chapitre 14. Réponses globales à l'environnement | 307 |
| 14.1 Détection et signalisation de l'environnement | 307 |
| 14.2 Adaptation à un hôte : la pathogénicité | 309 |
| 14.2.1 Identification, origine et évolution des facteurs de pathogénicité | 309 |
| 14.2.2 Invasion de la cellule hôte : avantages pour le pathogène | 312 |
| 14.2.3 Signalisation environnementale : le cas de <i>Salmonella</i> | 312 |
| 14.2.4 Évitement du système immunitaire : <i>Listeria monocytogenes</i> | 315 |
| 14.3 Adaptation à un stress nutritionnel : la compétence | 316 |
| 14.3.1 Compétence bactérienne | 317 |
| 14.3.2 Rôles nutritionnels | 318 |
| 14.4 Mobilité, chimiotaxie attractive ou répulsive | 320 |
| 14.4.1 Nage (<i>swimming</i>) | 321 |
| 14.4.2 Essaimage (<i>swarming</i>) | 326 |
| 14.4.3 Glissement (<i>gliding</i>) – Rétraction (<i>twitching</i>) | 327 |

| | |
|---|-----|
| Chapitre 15. Différenciation | 329 |
| 15.1 Différenciation et reproduction : <i>Caulobacter crescentus</i> | 329 |
| 15.1.1 Régulation du processus de différenciation | 330 |
| 15.1.2 Signaux extracellulaires | 333 |
| 15.2 Diazotrophie et différenciation : <i>Anabaena</i> PCC 7120 | 334 |
| 15.2.1 Structure des hétérocystes | 334 |
| 15.2.2 Régulation de la différenciation des hétérocystes | 335 |
| 15.2.3 Signaux de la différenciation | 337 |
| 15.3 Différenciation et colonisation : <i>Streptomyces</i> | 337 |
| 15.3.1 Cycle cellulaire de <i>Streptomyces coelicolor</i> | 338 |
| 15.3.2 Régulation de la différenciation | 339 |
| 15.3.3 Signaux de la différenciation | 341 |
| 15.4 Différenciation et sociabilisation : <i>Myxococcus xanthus</i> | 341 |
| 15.4.1 Principales étapes du cycle de développement | 341 |
| 15.4.2 Régulation du processus de différenciation | 342 |
| 15.5 Différenciation et survie : <i>Bacillus subtilis</i> | 344 |
| 15.5.1 Principales étapes du cycle de sporulation | 344 |
| 15.5.2 Régulation du processus de différenciation | 345 |
| 15.5.3 Signaux extracellulaires | 347 |
| 15.6 Hétérogénéité au sein des populations : la bimodalité | 348 |

PARTIE V

**INTERACTIONS DES PROCARYOTES
AVEC LA BIOSPHÈRE**

| | |
|---|-----|
| Chapitre 16. Virus des procaryotes | 351 |
| 16.1 La virosphère et sa diversité | 352 |
| 16.2 Morphologie et structure des virus procaryotes | 353 |
| 16.2.1 Capsides icosaédriques simples et à géométrie complexe | 355 |
| 16.2.2 Capsides à géométrie hélicoïdale | 355 |
| 16.2.3 Capsides à enveloppe | 356 |
| 16.2.4 Formation et assemblage des capsides | 357 |
| 16.3 Diversité, organisation et architecture des génomes | 358 |
| 16.4 Principe de classification des virus | 360 |
| 16.5 Méthodes d'études | 361 |
| 16.5.1 Isolement, purification et quantification | 361 |
| 16.5.2 Culture : le cycle unique de production | 362 |

Table des matières

| | | |
|---------------------|--|-----|
| 16.6 | Phases du développement viral | 363 |
| 16.6.1 | Adsorption du virion et spécificité des récepteurs bactériens | 363 |
| 16.6.2 | Transfert du génome viral dans la cellule hôte | 364 |
| 16.6.3 | Production de nouveaux virions | 367 |
| 16.6.4 | Coévolution de l'infectiosité virale et de la défense de l'hôte | 371 |
| 16.7 | Quelques systèmes modèles de bactériophages | 371 |
| 16.7.1 | Bactériophages à ADN double-brin de la série T | 371 |
| 16.7.2 | Bactériophages à ADN simple-brin | 374 |
| 16.7.3 | Bactériophages à ARN simple-brin | 377 |
| 16.7.4 | Bactériophages à ARN double-brin | 378 |
| 16.7.5 | Les bactériophages tempérés – La lysogénie | 379 |
| 16.8 | Les archéovirus | 383 |
| 16.8.1 | Modes d'identification - Diversité d'hôtes et de morphotypes | 384 |
| 16.8.2 | Les limites de l'approche <i>in vivo</i> | 385 |
| 16.8.3 | Quelques systèmes modèles | 385 |
| 16.8.4 | Autres systèmes récemment identifiés | 387 |
| Chapitre 17. | Interactions hôtes/Bactéries | 388 |
| 17.1 | Types d'interactions hôtes/Bactéries | 388 |
| 17.2 | Interactions hôtes-bactéries non pathogènes | 389 |
| 17.2.1 | Le microbiote intestinal de l'Homme | 390 |
| 17.2.2 | Dysbioses et maladies | 391 |
| 17.3 | Interactions hôtes-bactéries pathogènes | 393 |
| 17.3.1 | Infection bactérienne et virulence | 398 |
| 17.3.2 | Principales maladies infectieuses d'origine bactérienne chez l'Homme | 399 |
| 17.4 | Pathogénèse infectieuse | 400 |
| 17.4.2 | Colonisation | 401 |
| 17.4.3 | Adhérence | 403 |
| 17.4.4 | Invasion | 404 |
| 17.4.5 | Résistance aux défenses de l'hôte | 407 |
| 17.4.6 | Toxines | 409 |
| 17.5 | Perspectives | 411 |
| Chapitre 18. | Dialogues et coopérations intercellulaires | 412 |
| 18.1 | Quorum sensing, une communication intra- ou inter-spécifique | 412 |
| 18.1.1 | QS chez les Bactéries à Gram ⁻ | 413 |
| 18.1.2 | QS chez les Bactéries à Gram ⁺ | 416 |
| 18.1.3 | Interactions inter-espèces | 418 |
| 18.1.4 | Maintien et évolution des systèmes de régulation QS-dépendants | 419 |
| 18.1.5 | Lutte antimicrobienne : le quorum quenching | 420 |

| | | |
|---------------------|--|-----|
| 18.2 | Les biofilms, des communautés bactériennes | 420 |
| 18.2.1 | Morphologie – composition – structuration | 420 |
| 18.2.2 | Physiologie cellulaire : réponse globale et/ou individuelle ? | 422 |
| 18.2.3 | Biofilms artificiels mono-spécifiques – Le modèle <i>P. aeruginosa</i> | 423 |
| 18.2.4 | Interactions dans les biofilms naturels multi-spécifiques | 425 |
| 18.2.5 | Conséquences et espoirs sanitaires associés aux biofilms | 426 |
| 18.3 | Vie sociale chez les Archées | 427 |
| 18.3.1 | Des processus de quorum sensing probables | 427 |
| 18.3.2 | Implication d'Archées dans des biofilms | 428 |
| Chapitre 19. | Lutte anti-microbienne : Antibiothérapie – Épidémiologie | 429 |
| 19.1 | Du concept d'antibiose à l'utilisation des antibiotiques | 430 |
| 19.1.1 | Métabolites secondaires comme sources d'antibiotiques | 431 |
| 19.1.2 | Nature chimique, classification et mode d'action | 432 |
| 19.2 | Biologie de production des antibiotiques | 436 |
| 19.2.1 | Organismes producteurs – Physiologie de production | 436 |
| 19.2.2 | Rôles biologiques des antibiotiques | 437 |
| 19.3 | Résistance aux antibiotiques | 437 |
| 19.3.1 | Acquisition de la résistance | 437 |
| 19.3.2 | Épidémiologie de la résistance | 439 |
| 19.4 | Recherche et production de nouveaux antibiotiques | 440 |
| 19.4.1 | Stratégies de criblage | 440 |
| 19.4.2 | Amélioration de souches productrices pré-identifiées | 441 |
| 19.4.3 | Approche génomique | 443 |
| 19.4.4 | Structure cristallographique et design moléculaire | 443 |
| 19.5 | Épidémiologie des maladies infectieuses | 444 |
| 19.5.1 | La population face à l'infection | 445 |
| 19.5.2 | Un exemple de pandémie : la Covid-19 | 449 |
| 19.5.3 | Analyses statistiques et modèles mathématiques | 451 |

 PARTIE VI

 DES PERSPECTIVES
 EN GUISE DE CONCLUSION

| | | |
|---------------------|--|-----|
| Chapitre 20. | Bio- et nano-technologies | 455 |
| 20.1 | Principes généraux | 456 |
| 20.2 | Biotechnologies blanches | 457 |
| 20.2.1 | Biocarburants | 458 |
| 20.2.2 | Biomédicaments obtenus par génie génétique | 459 |

Table des matières

| | | |
|----------------------------------|---|-----|
| 20.3 | Biotechnologies jaunes | 459 |
| 20.3.1 | Contaminants environnementaux | 459 |
| 20.3.2 | Atténuation naturelle d'une pollution environnementale | 460 |
| 20.3.3 | Utilisation de micro-organismes pour détecter et traiter des pollutions | 461 |
| 20.4 | Biotechnologies rouges | 464 |
| 20.4.2 | Production d'anticorps par des procaryotes | 465 |
| 20.4.3 | Élimination spécifique d'une bactérie au sein d'un biofilm | 465 |
| 20.4.4 | Affinité des bactéries pour les tumeurs | 465 |
| 20.5 | Biotechnologies vertes | 466 |
| 20.6 | Nanobiotechnologies | 467 |
| 20.6.1 | La couche S | 467 |
| 20.6.2 | Les magnétosomes | 467 |
| 20.7 | Les bactériophages dans les bio- et nanotechnologies | 468 |
| 20.8 | Biologie synthétique : organismes vivants artificiels | 469 |
| 20.8.1 | Applications | 469 |
| 20.8.2 | Problèmes éthiques | 470 |
| Chapitre 21. | Microbiologie systémique : présent et futur | 471 |
| 21.1 | L'organisme vivant : un système complexe | 471 |
| 21.2 | Complexité et émergence | 472 |
| 21.3 | La biologie systémique | 473 |
| 21.3.1 | Modélisation mathématique des systèmes biologiques | 474 |
| 21.3.2 | Réseaux biologiques | 475 |
| 21.4 | L'approche systémique en microbiologie | 476 |
| 21.4.1 | Des modèles classiques de régulation revisités | 476 |
| 21.4.2 | Réseaux d'interactions protéine-protéine (IPP) | 478 |
| 21.4.3 | Le virtuel : une base pour déchiffrer le réel | 479 |
| Notes | | 483 |
| Bibliographie | | 487 |
| Liste des compléments Web | | 495 |
| Index général | | 499 |
| Index des organismes | | 509 |

AVANT-PROPOS DE LA 2^e ÉDITION



À l'issue de la révision de cette édition, nous nous devons d'évoquer le souvenir de notre collègue Jean-Claude Liébart, décédé à la suite d'une brève maladie. Il nous laisse, avec ses écrits, une partie de son savoir profond, son amour pour les Sciences et son dévouement à l'enseignement.

J'ai côtoyé Jean-Claude des bancs de la Faculté des Sciences de Paris, à Jussieu, quai Saint Bernard, à la « paillasse » de l'Institut Pasteur, en passant par nos années de thésards à la Faculté d'Orsay, où Françoise Joset a aussi fait partie de l'équipe, puis au cours de nombreuses années de collaboration scientifique. Au « labo », les moments de pause qui accompagnaient les « manips » étaient entremêlés de discussions, rires consécutifs à l'humour étonnant de Jean-Claude, controverses, exaltations, frustrations, espoirs. C'était le riche rituel de nos longues journées de travail, en général accompagnées de l'écoute de musique classique.

Les avancées de la recherche scientifique, même dans un intervalle court comme les cinq années qui séparent les deux éditions de ce manuel, sont importantes mais pas au point de conduire à une modification profonde d'un ouvrage de nature didactique de ce niveau. Dans cette édition, toutefois, outre les corrections ayant échappé à la première édition, et l'amélioration de la présentation du texte et de son iconographie, nous avons prêté beaucoup d'attention à actualiser, dans la mesure du possible, le contenu de l'ouvrage. Cette actualisation concerne tous les chapitres, mais est particulièrement évidente dans la partie VI, avec l'insertion d'un nouveau chapitre introduisant la « **Microbiologie systémique** ». L'étudiant y est conduit à aborder la compréhension du monde vivant dans sa complexité, une approche en plein développement qui met en jeu multidisciplinarité et utilisation des approches « omiques » et de bioinformatique. C'est dans cette optique qu'est présentée une brève synthèse du rôle et de l'état des connaissances concernant le **microbiote humain**. D'autres avancées importantes, en particulier l'utilisation du système **CRISPR-Cas**, et les processus du **contrôle de qualité des protéines** (absents dans la première édition), ont été traitées sous forme de compléments Web, pour ne pas alourdir le volume. Des concepts d'**épidémiologie** des maladies infectieuses ont été introduits, en illustrant ce texte avec l'exemple de la pandémie de Covid-19 : son développement, en cours pendant la rédaction, a contribué à présenter une approche critique des données disponibles, nécessairement limitées et évolutives.

L'enthousiasme qui a accompagné la réalisation de la première édition s'est de nouveau manifesté chez tous les Auteurs, qui ont soigné ce nouveau texte.

Luciano PAOLOZZI

Partie I

Les Procaryotes Diversité et rôles

Les procaryotes, Bactéries et Archées, et leur virus sont les formes de vie prédominantes sur notre planète. Cinq millions de quadrillions (5×10^{30} , soit un poids de 50×10^{24} tonnes) de Bactéries, et une quantité aussi impressionnante d'Archées et de virus, c'est le nombre estimé de ces organismes, grandeur qui échappe à notre imagination, même en comparant aux 7,7 milliards (données de janvier 2020) d'êtres humains, aux 10^{23} grains de sables du Sahara ou aux 10^{24} étoiles de l'univers. Sur notre planète, les procaryotes règnent donc sans partage, par leur nombre et leur masse, mais surtout par leur extraordinaire capacité de colonisation, c'est-à-dire d'adaptation à des conditions physico-chimiques invivables pour tout être vivant plus complexe. Ils sont présents dans tous les sols et tous les milieux aquatiques, sous toutes les latitudes, et même sur ou dans d'autres organismes.

Diversifiés sont donc leurs styles de vie et leur physiologie, leur morphologie et leurs structures cellulaires (Chap. 1). Il en est de même de leurs capacités nutritionnelles. Aucune source de molécules carbonées organiques ou minérales naturelles, et de nombreuses molécules artificielles, qui ne puissent potentiellement être exploitées avec grande efficacité par au moins une espèce. La moitié du carbone organique présent sur Terre et près de 90 % de l'azote et du phosphore organiques seraient contenus dans des cellules procaryotes (Chap. 2). Ils sont les principaux agents de recyclage de la matière organique morte, et sont par conséquent au centre de toutes les réactions biogéochimiques qui perpétuent le monde vivant. Les dizaines de milliers d'espèces de Bactéries et d'Archées, et leurs nombreuses sous-espèces (souches), constituent un réservoir énorme de biodiversité, très sous-exploré. À ce jour, 11 000 espèces de Bactéries et 5 000 espèces d'Archées ont été identifiées mais leur nombre (objet d'intenses controverses) est estimé à plusieurs millions. Les études comparatives de leurs caractères ont abouti à définir des relations phylogénétiques et évolutives entre ces organismes, et une classification (Chap. 3). Les capacités de croissance et les modes de division n'ont pu être étudiés que chez un (très) petit nombre d'espèces, voire de souches dans les conditions de laboratoire, c'est-à-dire totalement artificielles et largement simplifiées par rapport aux habitats naturels (Chap. 4 ; 5). La validité universelle des données obtenues, même confirmées par leur cohérence et leur généralisation à travers d'autres espèces, peut donc être questionnée. La diversité de leur style de vie est liée à leur énorme diversité génétique (Partie II de ce manuel).

STRUCTURES CELLULAIRES

1

CHAPITRE

La diversité des procaryotes est connue depuis longtemps : ainsi en 1683, Anthony van Leeuwenhoek, dans une lettre adressée à l'Académie Royale de Londres décrivant l'invention du microscope, en illustre les observations que celui-ci permettait en montrant des formes de vie précédemment inconnues, les « animalcules ». Le microscope de van Leeuwenhoek ouvrait une fenêtre sur le monde « caché » d'organismes vivants invisibles à l'œil nu. Les dessins qui accompagnaient la lettre, qui paraissent aujourd'hui rudimentaires, permettent de reconnaître des organismes très différents, dont certains sont identifiables à des procaryotes. Ce document, plutôt méconnu à son époque, eut le grand mérite, outre l'invention du microscope elle-même, de conduire de nombreux naturalistes à la « chasse » aux micro-organismes. La richesse du monde qu'ils découvrirent fut telle que dans l'ouvrage *A History of Animals* de J. Hill (1752), une place importante leur fut accordée. La microscopie moderne permet de dévoiler, au-delà de l'observation de la forme externe, la diversité et la complexité de ces cellules. À cette diversité s'ajoutent des différences génétiques, biochimiques et physiologiques, accumulées au cours de milliards d'années, leur ayant permis d'adapter leurs styles de vie, et ainsi de coloniser l'ensemble de la planète (Chap. 2).

On trouve en effet des procaryotes dans des environnements extrêmement variés, y compris certains inadaptés à la vie d'organismes multicellulaires, animaux et végétaux (Web 1 Fiche 1.1). De nombreuses Bactéries vivent en association avec d'autres organismes (végétaux ou animaux), avec lesquels elles contractent des rapports de différents types (§ 14.2 ; Chap. 18) désignés par les termes de symbiose, commensalisme, saprophytisme et parasitisme (§ 17.1 ; Web 1 Fiche 1.2). Parce qu'elles entrent en compétition avec les autres organismes présents dans un habitat donné, les espèces s'y maintiennent si elles sont capables d'exploiter au maximum les ressources nutritionnelles disponibles dans cet habitat.

La richesse des organismes procaryotes est telle qu'il est impossible d'en tracer une image unitaire rapide, mais on peut décrire les aspects communs qui les distinguent des autres organismes. Pour mieux comprendre leur biologie, il est essentiel, toutefois, de rappeler la place qu'ils occupent dans l'arbre phylogénétique de la vie. L'ensemble des organismes vivants se distribue dans trois domaines phylogénétiques : Bactéries, Archées et eucaryotes (§ 3.3), ceci n'incluant pas les virus (Chap. 16). Les deux premiers comprennent des organismes unicellulaires dépourvus de noyau, d'où leur nom d'organismes procaryotes, tandis que ceux du troisième domaine, les eucaryotes (protistes, animaux, végétaux et champignons), outre la présence d'un noyau, ont de nombreux autres caractères absents chez les procaryotes. Cette diversification phylogénétique, qui a maintenu une organisation cellulaire de base commune, se retrouve à tous les niveaux de la structure, de l'organisation et du fonctionnement des cellules de chacun des domaines.

1.1 CARACTÈRES GÉNÉRAUX ET DIVERSIFICATIONS CELLULAIRES

La description, classique, des cellules procaryotes procède par comparaison avec celles des eucaryotes (Web 1 Fiche 1.3). Cette démarche se justifie par le fait que ces dernières ont été bien définies antérieurement en raison de leurs plus grandes dimensions. On peut schématiser la nature procaryote d'un organisme par cinq caractéristiques principales (fig. 1.1) : (i) leur unicellularité, (ii) la présence d'une paroi, partie d'une structure multistratifiée complexe, l'enveloppe, (iii) l'absence de membrane nucléaire, (iv) l'absence de membranes internes dans le cytoplasme, à l'exception des *Planctomyces*, et (v) certaines propriétés des constituants du cytoplasme. Un aspect important, mais longtemps inconnu ou sous-estimé, est la présence d'un cytosquelette, équivalent à celui des eucaryotes, responsable de la morphologie de la cellule mais aussi d'importantes fonctions (§ 1.3.3 d). Toutefois ce schéma n'est pas exempt d'exceptions. Alors que certaines structures présentes chez les eucaryotes sont souvent absentes chez les procaryotes, d'autres, en revanche, considérées il y a encore peu comme exclusives des eucaryotes, ne le sont plus : leur équivalent procaryote a pu être identifié grâce aux nouvelles approches disponibles (biologie moléculaire, bio-informatique, techniques de microscopie de plus en plus résolutive). Celles-ci ont permis de surmonter les difficultés liées aux dimensions réduites de ces organismes, et aussi d'étudier des espèces auparavant inconnues ou connues mais non explorées pour diverses raisons (difficulté intrinsèque d'étude, intérêt théorique ou pratique considéré comme limité).

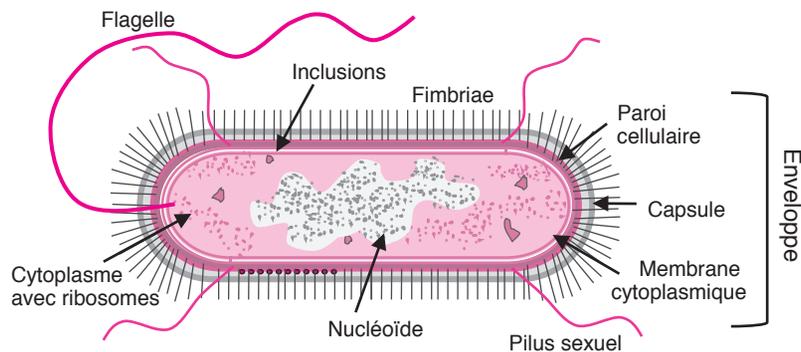


Figure 1.1 - Principales structure et organisation d'une cellule procaryote.

La structure et l'organisation cellulaires internes des Bactéries et des Archées, en particulier celles de leur génome, sont semblables. Cependant les deux domaines se distinguent par un certain nombre de caractères structuraux, fonctionnels, physiologiques et biochimiques. Les Archées présentent des traits (composition et structure de leur paroi) parfois plus proches de ceux des eucaryotes (Web 1 Fiche 1.3). Par ailleurs, on ne connaît actuellement aucune Archée pathogène, peut-être en raison de leurs habitats non compatibles avec ceux des métazoaires (hypothèse peu probable au vu de l'existence d'Archées mésophiles), ou parce qu'encore trop peu d'Archées ont été identifiées et sont cultivables en laboratoire, donc faciles à étudier. À ces particularités sont associées des différences profondes des processus fondamentaux de fonctionnement (reproduction, réplication, régulation de l'expression génique, transcription, synthèse des protéines, etc.).

Bactéries et Archées vivent la plupart du temps sous forme de cellules indépendantes, d'où la conception que ce sont des organismes unicellulaires. Cependant beaucoup peuvent avoir une phase de vie communautaire plus ou moins complexe, sous forme d'organisations quasi multicellulaires pouvant inclure des cellules différenciées (Chap. 15), ou d'associations (agrégats en grappes, chaînes ou filaments), de biofilms (§ 18.2), longtemps interprétées comme des exceptions à la « règle » de l'unicellularité. On considère actuellement les procaryotes comme des organismes unicellulaires dont certains ont développé au cours de

l'évolution différentes voies de multicellularité pour, comme chez les eucaryotes, augmenter leur adaptabilité. L'avantage fourni par la multicellularité est une répartition de diverses fonctions biologiques dans différentes cellules de la communauté.

L'**enveloppe** est constituée d'une membrane (dite membrane interne, ou cytoplasmique, MI), et à l'extérieur de celle-ci de la paroi, une structure essentielle des procaryotes formée d'un polymère complexe, le peptidoglycane, qui définit leur forme et assure l'intégrité cellulaire (§ 1.3.1). Chez les eucaryotes, seules les cellules végétales possèdent une structure pariétale, de nature pectocellulosique. Chez de nombreuses classes de Bactéries (celles à Gram⁻, § 1.3.1) et chez une seule Archée actuellement connue (§ 1.3.1c), la paroi est entourée d'une membrane externe. Sur la surface de la paroi peuvent être présentes un certain nombre de structures ayant différents rôles (§ 1.3.2).

Le **cytoplasme** (§ 1.3.3) se distingue de celui des eucaryotes par l'absence de noyau séparé du reste de la cellule par une membrane nucléaire et de réticulum endoplasmique. Cette différence topologique est importante car elle entraîne une non-compartmentation de fonctions essentielles, la réplication, la transcription et la traduction. Toutefois, la découverte (M.R. Lindsay *et al.*, 2001) de Bactéries, chez les Planctomycètes, dont l'ADN est séparé du reste de la cellule par une ou plusieurs membranes remet en question cette distinction initiale, et pose aussi chez ces organismes les problèmes liés à la compartimentation. Rappelons que dans le noyau eucaryote, l'ADN est organisé en chromosomes dont le nombre et la ploïdie sont typiques des espèces. Chez les procaryotes, l'ADN, quoique non confiné dans un compartiment clos, est cependant structuré grâce à de nombreuses protéines. Ces génomes ont diverses géométries, contrairement à ce qui a été admis pendant longtemps, incluant généralement, outre le(s) chromosome(s), une ou plusieurs familles d'éléments accessoires conférant des avantages adaptatifs potentiels. La grande majorité des procaryotes est haploïde, quoique le nombre de copies de leur chromosome puisse varier (§ 7.1).

Les **organites** des eucaryotes, structures constituant des compartiments internes (mitochondries, chloroplastes, réticulum endoplasmique, etc.) responsables de fonctions spécialisées, sont absents chez les procaryotes. Les fonctions correspondantes se déroulent soit dans le cytoplasme, soit au niveau de structures membranaires. Cependant, un certain nombre d'activités spécialisées ont lieu dans des **structures**, quelquefois équivalentes à de vrais organites (§ 1.3). Un certain nombre de produits (réserves et protéines défectueuses) forment des inclusions cytoplasmiques. Une caractéristique du cytoplasme des procaryotes est l'absence de cyclose, un courant cytoplasmique présent surtout dans les cellules végétales, mettant en mouvement les chloroplastes et d'autres inclusions cellulaires. Le mouvement amiboïde, qui participe activement aux modifications de forme des cellules animales par production de pseudopodes, est aussi inconnu chez les procaryotes. Ceux-ci, toutefois, possèdent un certain nombre de protéines qui effectuent dans le cytoplasme des déplacements ordonnés et cycliques.

1.2 MORPHOLOGIES, DIMENSIONS ; LEURS CONTRÔLES

1.2.1 Morphologies

Les caractéristiques morphologiques sommairement énumérées ici sont une partie des critères utilisés pour définir la nomenclature et la classification des procaryotes. Les Bactéries et les Archées en montrent une grande variété. La forme est une caractéristique importante des êtres vivants, chaque espèce en ayant une propre, et les procaryotes sont conformes à ce principe. Les Bactéries présentent des formes en bâtonnets (réguliers ou courbés), spirales, sphères, sphéroïdes (allongés ou en forme de citron), cônes, rectangles, étoiles, filaments (ramifiés ou simples, plus ou moins longs), et tant d'autres configurations (fig. 1.2). Les

plus communes sont les bâtonnets, sphères et spirales. Les Archées y ajoutent d'autres morphologies, carrées, lobées, triangulaires, longs filaments non segmentés, etc.

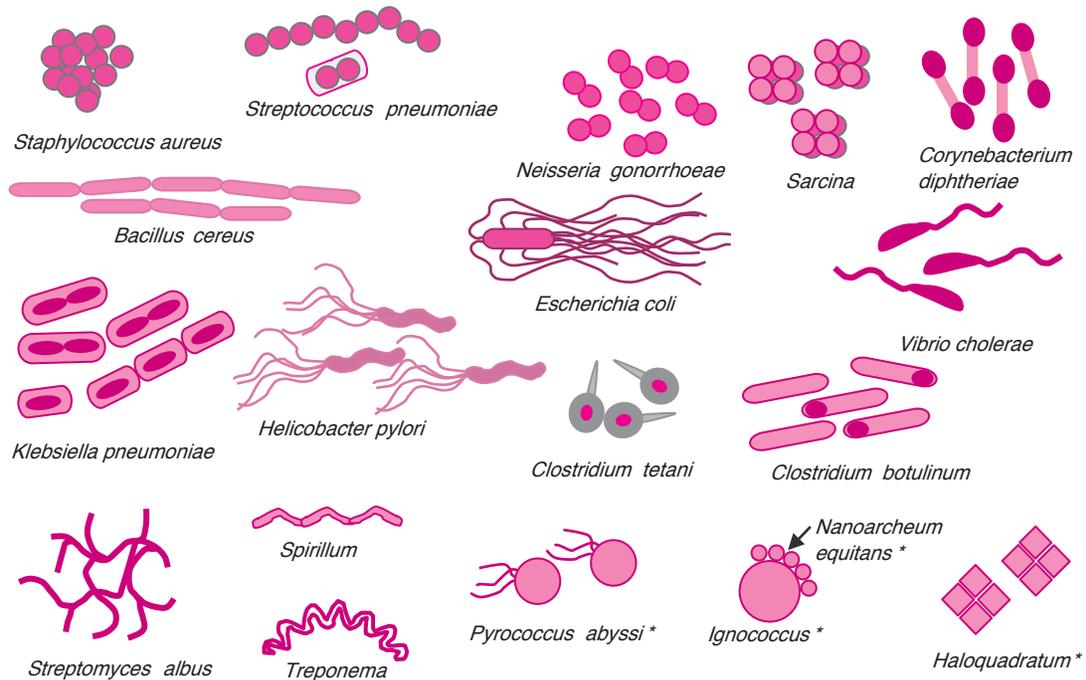


Figure 1.2 - Morphologies cellulaires de quelques espèces procaryotes.

L'astérisque * indique des Archées.

Les cellules d'une même espèce se distinguent d'autre part par leur capacité éventuelle à s'associer en groupes constitués, paires ou petit nombre de cellules disposées de façon à former des cubes réguliers, ou encore des grappes de cellules ou des réseaux. Sur milieu nutritif solide (en particulier au laboratoire, en boîte de Petri), la multiplication des cellules, qui restent proches les unes des autres, conduit à la formation de colonies dont la forme, l'aspect et la présence éventuelle de pigments sont autant de caractères distinctifs des différents genres (Web 1 Fiche 1.4).

Les caractéristiques morphologiques sommairement énumérées ici sont une partie des critères utilisés pour définir la nomenclature et la classification pratique des procaryotes. Des noms tels que bacilles ou coques se réfèrent respectivement à des cellules en forme de bâtonnet ou de sphère : diplocoque (deux sphères associées), streptocoque (chapelet de grains formant une chaîne, *streptos*, surenroulé), staphylocoque (cellules associées sous forme de grappe, *staphylo*), *Staphylococcus aureus* (de couleur jaune or), *Sarcina* (cellules groupées en paquets), *Thermoplasma* (en forme de disque), etc.

1.2.2 Dimensions

Les dimensions linéaires des cellules procaryotes sont généralement de l'ordre de 1 à 10 μm pour les Bactéries, soit 10-100 fois plus petites que les cellules eucaryotes, en fait de l'ordre de dimension des mitochondries et des chloroplastes, et généralement inférieures au μm pour les Archées. Ces petites tailles correspondent en fait à celle d'une cellule minimale à vie libre (planctonique) hypothétique¹.

Remarque : Les numéros indiqués en magenta et en exposant sont des appels de notes.

Les plus petits procaryotes sont rencontrés aussi bien parmi les Archées que les Bactéries. L'Archée *Thermophilum* a un diamètre inférieur à 0,2 μm et une épaisseur de 0,1-0,2 μm . Sous la désignation générique de Ultramicrobacteria sont rassemblés un certain nombre de procaryotes ayant des diamètres inférieurs à 0,2-0,3 μm . À l'inverse, il existe d'autres espèces de dimensions des centaines de fois plus grandes. *Epulopiscium fishelsoni*, *Beggiatoa* spp. et *Thiomargarita namibiensis*, ou encore *Titanospirillum*, en sont des représentants, désignés de façon évocatrice comme Mégabactéries, ou Bactéries géantes. Le procaryote ayant le plus grand volume connu est *T. namibiensis*, une Bactérie sulfureuse de forme sphérique de 750 μm de diamètre, bien visible à l'œil nu, découverte dans le fond de la mer au large de la côte de Namibie. La Bactérie hétérotrophe *E. fishelsoni*, en forme de cigare, isolée de l'intestin du poisson tropical *Acanthurus*, a un diamètre de 80 μm et une longueur de 600 μm . La plus grande Archée connue est le thermophile extrême *Staphylothermus marinus*, qui peut occasionnellement atteindre, en culture, un diamètre de 15 μm .

Les biovolumes des cellules procaryotes couvrent dans leur ensemble une gamme allant de $< 0,01 \mu\text{m}^3$ pour les plus petits jusqu'à $2 \times 10^8 \mu\text{m}^3$ pour les plus grands, soit 10 ordres de grandeur. Ce sont les procaryotes de petites dimensions (de l'ordre du μm^3) qui ont été privilégiés au cours de l'évolution. Lorsque les dimensions atteignent le gigantisme ($> 200 \mu\text{m}^3$), les espèces concernées ont acquis des caractères adaptatifs rendant leur vie optimale. Ainsi, les cellules de *T. namibiensis* ont dans leur cytoplasme une énorme vacuole remplie de nitrate, utilisé pour l'oxydation du soufre. La présence de la vacuole pousse le cytoplasme contre la membrane et en réduit les dimensions à une sorte de couche de 1-2 μm d'épaisseur.

1.2.3 Adaptabilité morphologique à l'environnement

La forme et la taille des cellules procaryotes sont des caractéristiques déterminées génétiquement, adaptées aux styles de vie de chaque espèce. Le diamètre et/ou la longueur de la cellule, variant peu lorsque l'espèce croît dans des conditions stables, sont des paramètres strictement contrôlés mettant en jeu des programmes complexes. Les cellules peuvent toutefois modifier, de manière réversible ou non, leur morphologie, et en général de façon couplée leur physiologie, en réponse à de nombreux facteurs internes ou externes (Web 1 Fiche 1.5). Ainsi, pour une cellule qui se déplace par mouvement flagellaire dans un environnement liquide, une augmentation de 1/10^e de son diamètre exigerait une augmentation énergétique 10⁵ fois plus élevée afin d'assurer les mêmes prestations.

Le taux de croissance des cellules d'une population, en laboratoire comme dans les environnements naturels, varie en réponse aux conditions physiques et nutritionnelles imposées, ce qui affecte leurs dimensions et leurs formes, au moins chez un certain nombre d'espèces. Ceci est lié à un mécanisme de contrôle de la division cellulaire. L'accélération ou le retard de la division à la suite de carences nutritionnelles conduit à la formation de cellules respectivement plus courtes ou plus longues. Malgré les nombreux cas connus, la corrélation entre morphologie et adaptabilité reste assez incomprise, mais le fait que ce soit un caractère stable suggère qu'elle correspond à un état adaptatif important. Ainsi, les bactéries pathogènes développent une cascade de variations morphologiques suivant les stades de l'infection, leur permettant de mieux envahir leur hôte ou de résister à sa contre-attaque (Chap. 17 ; Web 1 Fiche 1.5).

1.3 STRUCTURES ET ORGANISATION CELLULAIRES

L'idée que les cellules procaryotes avaient une structure et une organisation simples par rapport à leurs homologues eucaryotes a été pendant longtemps dominante. Cette conception réductionniste était fondée sur des observations de microscopie optique et sur les toutes premières descriptions sommaires fournies par la microscopie électronique à transmission. Les études de ces deux dernières décennies basées sur de

nouvelles techniques de microscopie, plus puissantes, et surtout par des approches complémentaires de biologie moléculaire ont bousculé cette idée de simplicité.

1.3.1 L'enveloppe, interface de la cellule avec son environnement

L'interface de la cellule procaryote avec son environnement est une structure multistratifiée complexe. Celle-ci, comme nous l'avons vu, est à l'origine de la morphologie de la cellule; elle est aussi responsable de sa protection, et est le siège de nombreuses réactions biochimiques dont certaines chez les eucaryotes s'effectuent au niveau d'organites intracytoplasmiques.

En 1884, C. Gram a développé une technique de coloration histochimique, portant son nom, qui permet de subdiviser toutes les Bactéries, à une exception connue près, en deux groupes : celles à Gram positif (Gram⁺) et celles à Gram négatif (Gram⁻), dites aussi monodermes et didermes, respectivement. Bien des années plus tard, on s'aperçut que la différence de réponse à la coloration de Gram correspondait à deux types différents de structures de leur enveloppe (Web 1 Fiche 1.6). La nature des parois de certaines espèces de Bactéries (Pneumocoques, Mycobactéries, Corynébactéries) entraîne une réponse ambiguë : décoloration ou changement de coloration suivant l'âge des colonies, mélange de colonies roses et violettes. Ces espèces sont dites à Gram faible, insuffisant ou variable. Dans leur cas cette propriété ne peut donc servir de critère taxonomique ; des techniques de coloration plus spécifiques doivent être utilisées. Il s'avère que les deux groupes de Bactéries ainsi définis se distinguent aussi profondément aux niveaux génétique, biochimique et physiologique. L'exception est la classe des Mollicutes (dont le genre *Mycoplasma* est le plus connu), totalement dépourvues de paroi. La réponse des Archées est diverse selon les espèces, mais il n'y a aucune relation entre leur réponse à ce test et leur appartenance à un phylum.

a) Enveloppe des Bactéries à Gram⁻ (ou didermes)

L'enveloppe des Bactéries à Gram⁻ est formée de trois principales strates. Ce sont, de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule (fig. 1.3) : la membrane externe (ME), qui est en contact avec l'environnement, la paroi de peptidoglycane (PG), qui constitue l'exosquelette, et la membrane cytoplasmique ou membrane interne (MI), qui entoure le cytoplasme.

Entre les deux membranes, se trouve l'espace périplasmique, dans lequel baigne la paroi. Chacune des trois structures définit un compartiment cellulaire particulier, avec une composition protéique qui lui est propre. La complexité structurale et l'importance fonctionnelle de l'enveloppe sont attestées par le nombre de protéines qui y sont associées, représentant environ le tiers des différents types de protéines d'une cellule (1 484 sur environ 4 400 chez *Escherichia coli*). La fonction de la moitié de ces protéines n'est pas encore connue.

La membrane externe (ME), d'une épaisseur d'environ 7,5-10 nm, fournit une structure de stabilisation à la cellule. Elle est asymétrique, structurée par un polymère particulier et spécifique, le lipopolysaccharide (LPS, fig. 1.4) dans un feuillet externe, et des phospholipides dans un feuillet interne. La **composition qualitative de la ME** est assez uniforme chez les Bactéries à Gram⁻ : 30-40 % de protéines, 35-45 % de LPS et 25 % de lipides. Ces derniers consistent en environ 75 % de phosphatidyl-éthanolamine, 20 % de phosphoglycérol et 5 % de cardiolipine, pourcentages qui varient suivant les types de cellules, leur phase de croissance, ainsi que les conditions de culture (milieu, température, conditions de stress, etc.). À peu d'exceptions près, les protéines de la ME peuvent être sous-divisées en deux classes, les lipoprotéines et les β -barrel protéines (Web 1 Fiche 1.7). La ME fonctionne comme une barrière de perméabilité, protégeant la cellule de l'entrée de composés nocifs présents dans l'environnement (antibiotiques, sels biliaires pour les bactéries commensales de l'intestin, etc.), et de la perte des constituants qui

résident dans l'espace périplasmique. Elle contrôle le passage de petites molécules (600-700 daltons), ce qui inclut la plupart des nutriments (acides aminés, monosaccharides, etc.). Le passage de ces molécules est réalisé grâce à la présence d'une famille de protéines intégrées dans cette membrane, les porines (OMP, *Outer-Membrane Proteins*). Ce sont généralement des trimères qui forment des canaux aqueux, permettant ainsi la diffusion passive de petits solutés hydrophiles (fig. 1.3). Les molécules plus grandes, par exemple la vitamine B12, doivent être véhiculées par des transporteurs spécifiques. D'autres OMP ont des fonctions de transport plus spécialisées, comme la sécrétion de protéines et d'éléments structuraux de cette même membrane, ou l'extrusion de drogues.

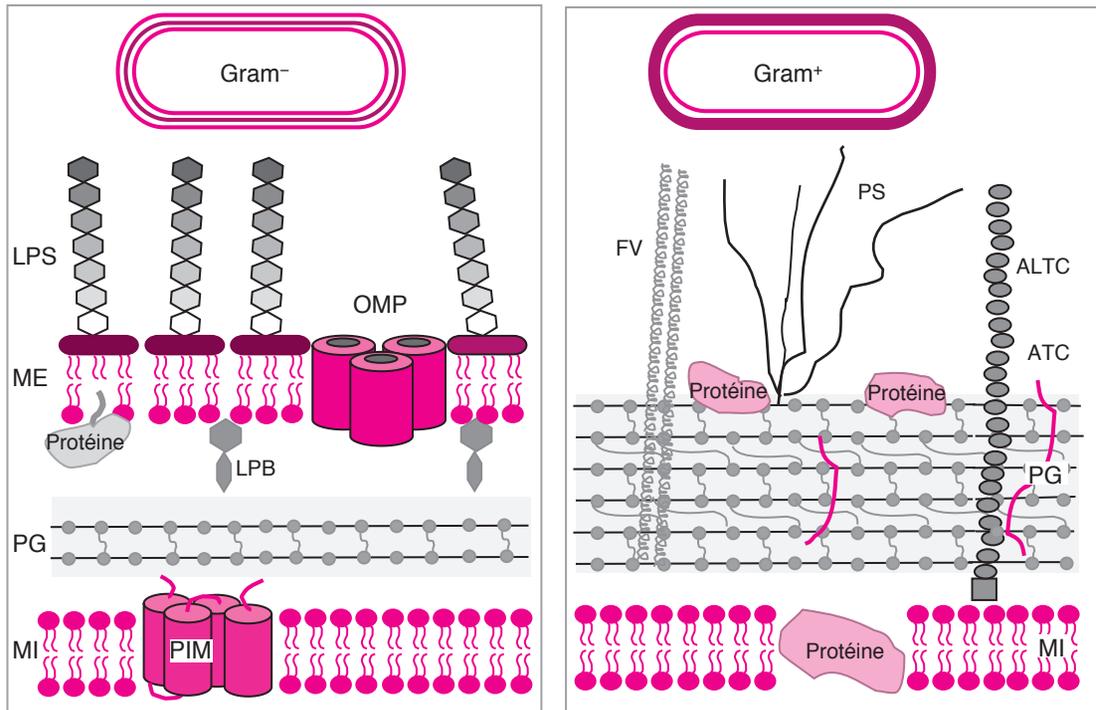


Figure 1.3 – Différences structurales des enveloppes des Bactéries à Gram⁻ et à Gram⁺.

Les différents symboles du LPS représentent différents heptoses constituant son noyau polysaccharidique (fig. 1.4).

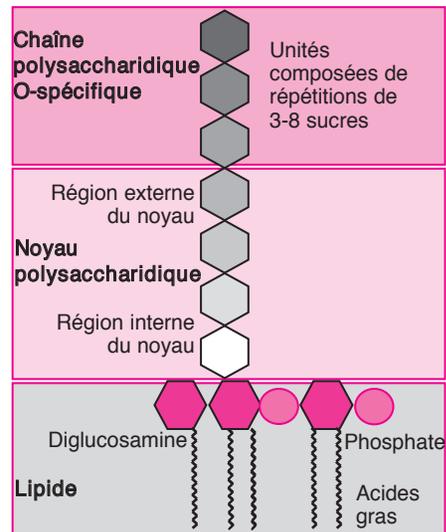
LPS : lipopolysaccharide ; ME : membrane externe, PG : peptidoglycane ; MI : membrane interne ; OMP : protéine intégrale de la membrane externe ; LPB (ou Lpp) : lipoprotéine de Braun ; PIM : protéine intégrale de la MI ; FV : facteur de virulence ; ALTC : acide lipotéichoïque ; ATC : acide téichoïque ; PS : polysaccharide.

Le **lipopolysaccharide** est un glycolipide complexe, présent exclusivement sur la face externe de la ME des bactéries à Gram⁻ (fig. 1.4) ([Web 1 Fiche 1.7](#)). C'est le constituant moléculaire le plus abondant de la ME.

Il représente entre 10-15 % des molécules exposées à la surface. Le nombre de molécules de LPS pour la cellule d'*E. coli* a été estimé à 3,5 millions, couvrant 75 % de la surface cellulaire, le restant étant constitué par des protéines de membrane. La plupart des caractéristiques et des fonctions de la membrane externe sont dues au LPS. Cette molécule est fondamentale pour la survie bactérienne, car elle joue un rôle essentiel dans la perméabilité sélective de l'enveloppe, comme cela a été suggéré par le comportement

de mutants défectifs pour la partie interne du noyau du LPS, qui montrent une sensibilité accrue aux composés hydrophobes. La façon selon laquelle le LPS intervient dans la perméabilité de la ME reste toutefois spéculative. Chez les bactéries pathogènes, le LPS est un facteur important de virulence, qui leur permet de contrecarrer la défense immunitaire de l'hôte en agissant sur la phagocytose et sur l'activation du complément (§ 17.3). Il est parfois désigné par le terme d'endotoxine car il induit une réponse inflammatoire intense lors d'infections bactériennes.

Figure 1.4 – Structure du lipopolysaccharide.



La **lipoprotéine de Braun** (Lpp) constitue un autre composant important de la ME. Cette protéine interagit de façon covalente et non covalente avec le PG, permettant ainsi de maintenir l'intégrité de la ME. Tout comme le LPS, la Lpp stimule dans l'organisme une réponse inflammatoire efficace.

La **paroi** de peptidoglycane (PG, ou muréine) est un hétéropolymère linéaire géant de 5 à 10 nm d'épaisseur, qui constitue une sorte de sac recouvrant totalement la membrane cytoplasmique (d'où les noms de saccule ou de mucopeptide). L'importance de la paroi peut être déduite des caractéristiques de cellules, appelées protoplastes, obtenues après son élimination par traitement au lysozyme, enzyme qui détruit l'intégrité du polymère. Si l'on suspend des protoplastes dans de l'eau distillée (condition d'hypotonie), la différence des concentrations des solutés entre les milieux externe (faible) et endocellulaire (plus élevée) fait pénétrer l'eau dans la cellule, qui gonfle. La diminution de concentration intracytoplasmique des solutés qui en résulte ne permet cependant pas d'équilibrer les pressions intérieure et extérieure ; en conséquence, le protoplaste continue à accepter l'eau jusqu'à exploser. En revanche, des protoplastes suspendus dans une solution de saccharose à une concentration qui équilibre la concentration intracellulaire des solutés (condition dite isotonique) ne sont pas affectés par l'absence de paroi. L'eau est alors en équilibre dans les deux compartiments ; la pression intracellulaire se distribue de façon homogène dans les trois dimensions du volume cellulaire, conduisant le protoplaste à prendre une forme sphérique. La paroi exerce donc une contrainte à l'expansion de la cellule malgré la forte pression exercée par le compartiment intracellulaire. Elle est l'exosquelette bactérien, et joue un rôle essentiel de protection et de maintien de la forme de la cellule. Elle intervient dans d'autres activités importantes (Chap. 5). La chimie du saccule est bien connue (Web 1 Fiche 1.7). L'unité de base (le monomère) est un disaccharide lié à un tétrapeptide, aussi appelé glycane-tétrapeptide (fig. 1.5).

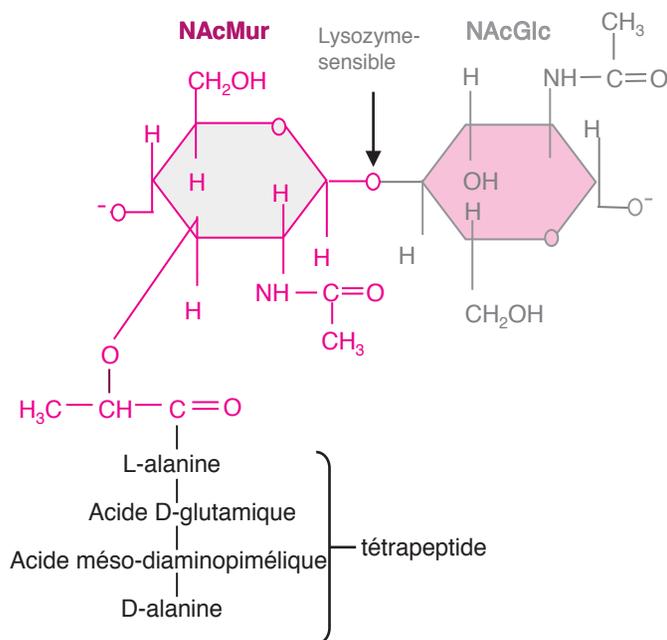


Figure 1.5 - Le glycane-térapeptide.

NacGlc : N-acétylglucosamine ;
NacMur : acide N-acétylmuramique.

Le glycane-térapeptide contient deux dérivés du glucose, l’N-acétylglucosamine (NacGlc) et l’acide N-acétylmuramique (NacMur), associés par une liaison glycosidique β -1,4 (c’est cette liaison qui est détruite par le lysozyme). La composition du térapeptide, variable selon les espèces, est formée d’acides aminés D et L alternés. La formation de longs filaments linéaires de peptidoglycane résulte de liaisons alternées entre les deux amino-sucres (fig. 1.5. et fig. 1.6). La longueur des filaments d’une chaîne de PG varie selon les espèces (quelques dizaines à quelques centaines d’unités) : 50-250 unités chez *Bacillus subtilis*, 18 unités chez *S. aureus* (deux bactéries à Gram⁺) et 20 à 40 unités chez *E. coli*.

La **membrane interne** (MI), ou membrane cytoplasmique, est une structure très dynamique. D’une épaisseur d’environ 7,5 nm, elle est formée d’une double couche de phospholipides (PL), contrairement aux autres membranes biologiques. Elle contient environ 1/3 de toutes les protéines cellulaires, dont environ 1/3 sont des protéines de transport. On distingue deux types de protéines membranaires, celles dites intégrales, qui traversent la membrane par des domaines à hélices transmembranaires, et des lipoprotéines, ancrées dans le feuillet externe par le biais d’un groupement lipidique. Environ 60 % des phospholipides de la MI sont des acides gras liés au glycérol-3-phosphate qui sert de barrière de perméabilité sélective pour le passage (entrée et sortie) des ions et molécules diverses. Chez *E. coli*, les phospholipides principaux sont la phosphatidyl-éthanolamine et le phosphatidyl-glycérol, et en quantités moindres la phosphatidyl-sérine et la cardiolipine. D’autres lipides mineurs comprennent le transporteur polyisoprénoïde C55, qui fonctionne dans la translocation des intermédiaires de sucres nécessaires pour la biogenèse de l’enveloppe.

La MI intervient dans la biosynthèse des lipides, la sécrétion de protéines et le transport actif des nutriments. Elle est également le lieu de la formation des précurseurs de la paroi et de la ME. C’est le siège de diverses fonctions qui, chez les eucaryotes, sont assurées par des organites intracellulaires. S’y trouvent les protéines de la phosphorylation oxydative, donc de la respiration, chez les procaryotes aérobies, et des ATPases pour les anaérobies. Constituant une exception, la chaîne respiratoire des Cyanobactéries est localisée sur des membranes internes siège de la photosynthèse, les thylakoïdes, créant des problèmes de déplacements moléculaires résultant de cette compartimentation interne. La MI joue un rôle fondamental

dans la réponse de la cellule au milieu extérieur. Sa perméabilité sélective est plus contraignante que celle de la ME. La double couche phospholipidique permet le passage par diffusion de petites molécules non ou faiblement chargées, hydro- ou liposolubles telles que eau, gaz (O₂, CO₂, N₂), urée, ammoniacque, glycérol, éthanol ; elle est imperméable aux ions et aux molécules de grandes dimensions, qui traversent la membrane en utilisant une série de transporteurs (§ 1.4). La MI confère aux cellules la capacité de percevoir, *via* des systèmes senseurs, une série de stimuli physiques (lumière, température) et chimiques (osmolarité, disponibilité d'eau et d'autres molécules) provenant du milieu extérieur, et de transmettre un signal dans la cellule afin que celle-ci puisse y répondre, à travers l'expression de gènes spécifiques. C'est ce que l'on définit comme la voie de la transduction du signal (§ 14.1).

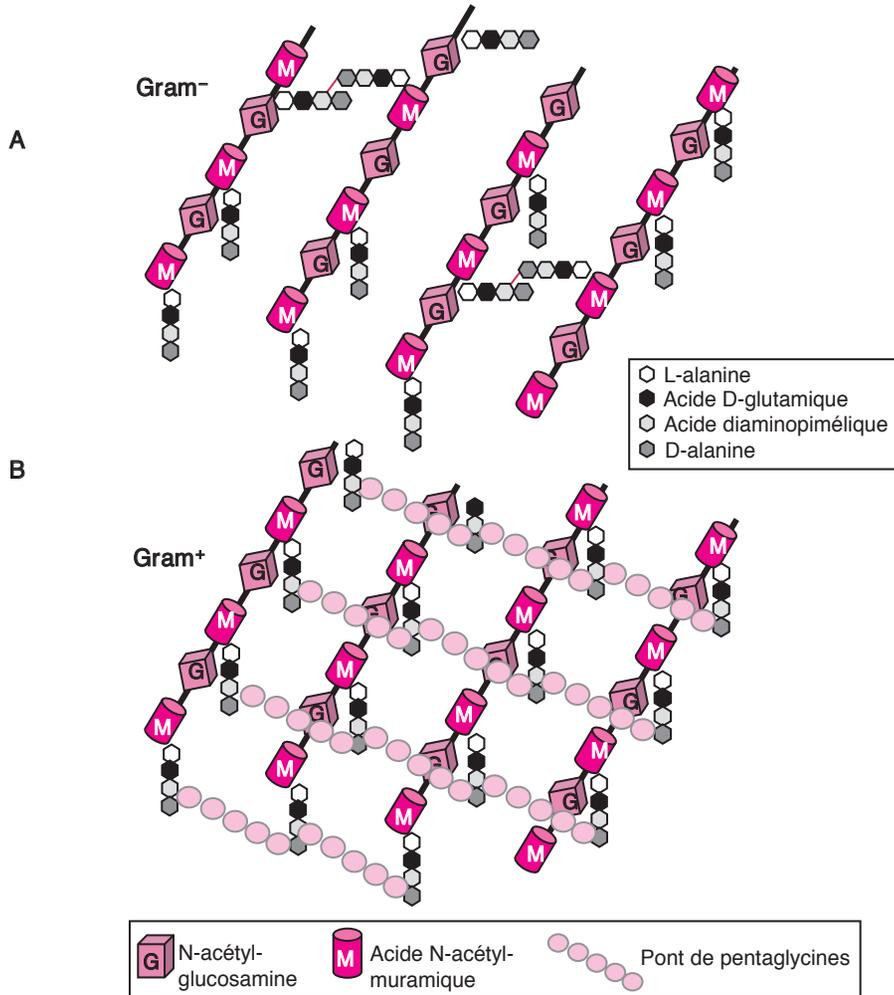


Figure 1.6 - Liaison entre les chaînes de peptidoglycane.

A. Gram⁻ (*E. coli*) ; B. Gram⁺ (*Staphylococcus aureus*).

Le **périplasm**, l'espace compris entre les deux membranes, est un compartiment aqueux, représentant 20-40 % du volume cellulaire. Plus visqueux que le cytoplasme, il a la consistance d'un gel et est riche en protéines solubles ayant des rôles variés. Parmi celles-ci citons : (i) des protéines de liaison, qui

aident à l'absorption des sucres, acides aminés, vitamines et minéraux à partir du milieu extérieur ; (ii) des enzymes de dégradation (phosphatases, nucléases, protéases, etc.) qui fragmentent les molécules trop grosses pour être transportables par la MI pour les rendre utilisables pour la nutrition ; (iii) des enzymes de détoxification, qui inactivent certains antibiotiques auxquelles les cellules peuvent être exposées (telles les β -lactamases dégradant les pénicillines et les céphalosporines) ; (iv) les protéines impliquées dans la biogenèse du peptidoglycane ; (v) les protéines impliquées dans le chimiotactisme. Le périplasma permet aussi aux cellules d'y séquestrer des enzymes potentiellement nuisibles, comme la phosphatase alcaline. Toutes les protéines périplasmiques sont synthétisées dans le cytoplasme puis transportées après avoir traversé la MI.

Le périplasma n'est séparé du milieu extracellulaire que par la membrane externe, qui est poreuse. Ainsi il constitue un compartiment plus sensible aux changements de l'environnement que le cytoplasme. Le périplasma a la même osmolarité que l'intérieur de la cellule. Il y a donc un gradient osmotique entre périplasma et milieu extérieur, qui semblerait régulé en particulier par la concentration en composés inhabituels, appelés MDO (*Membrane-Derived Oligosaccharides*). Il s'agit de molécules contenant 8-10 unités de glucose sous forme d'arrangements ramifiés. Des mutants de nombreuses bactéries pathogènes défectifs pour la synthèse du MDO n'induisent pas de maladie chez l'hôte infecté (animal ou végétal), bien que le rôle du MDO reste obscur.

b) Enveloppe des Bactéries à Gram⁺ (ou monodermes)

La distinction principale entre l'enveloppe des cellules à Gram⁺ et celle à Gram⁻ est l'absence de membrane externe (fig. 1.3). Ces Bactéries résistent à la pression de turgescence exercée sur la membrane plasmique grâce à l'épaisseur du PG (20 à 80 nm), qui arrive à constituer 40 % du poids sec de la cellule. Cette différence d'épaisseur semblerait être responsable de la réponse positive de ces Bactéries à la coloration de Gram.

Chez les organismes à Gram⁺, les chaînes de peptidoglycane sont en général reliées par des ponts peptidiques transversaux dont la structure varie selon les espèces. Chaque pont relie le diamino-acide en position 3 (L-Lys ou DAP) à la D-Ala en position 4 de la sous-unité voisine. Chez *S. aureus*, le pont est un pentapeptide de glycines, tandis que chez *S. pyogenes* ce sont deux alanines (fig. 1.6). Chez certaines espèces, les chaînes de PG peuvent être liées directement, et non par un pont. Chez *Listeria monocytogenes*, la D-ala d'une chaîne est liée directement au DAP d'une autre chaîne. Ce sont ces liaisons (directes ou par l'intermédiaire de ponts) entre les chaînes de PG qui confèrent sa rigidité au saccule.

Dans les couches de peptidoglycane sont insérés de longs polymères anioniques, les acides téichoïque et téichuronique, composés d'unités répétées de 1,3-glycérol-phosphate ou de 1,5-D-ribitol-phosphate, connectées par de l'acide uronique pour le deuxième. Certaines unités peuvent être substituées par des esters de D-alanine glycosylée. L'acide téichoïque peut être lié au squelette polysaccharidique du PG par l'intermédiaire du NAcMur, ou être fixé à la membrane interne par les acides lipotéichoïques. Ces acides peuvent représenter jusqu'à 60 % de la paroi cellulaire, lui conférant sa porosité et sa tension.

La surface des micro-organismes à Gram⁺ est en outre tapissée d'une grande variété de protéines (des centaines) dont certaines sont analogues aux protéines périplasmiques des organismes à Gram⁻. En raison de l'absence de ME, ces protéines extracellulaires peuvent traverser la MI, ou y sont ancrées par l'intermédiaire de lipides, ou encore forment des liaisons covalentes avec le peptidoglycane ou avec l'acide téichoïque. Ces protéines ont une grande variété de fonctions, telles que acquisition d'éléments nutritifs, liaison aux tissus ou aux composants du système immunitaire spécifique de l'hôte chez les Bactéries pathogènes, agrégation intercellulaire au cours du transfert conjugatif d'ADN, etc.

c) Enveloppe des Archées

Les enveloppes des Archées apparaissent très variées, et distinctes de celles des Bactéries comme des eucaryotes, tout en ayant les mêmes fonctions que celles des Bactéries. Jusqu'à récemment, la plupart de nos connaissances sur l'assemblage des composants de surface et la sécrétion des protéines chez les Archées avaient été obtenues par des études de génomique comparative. Ces dernières années ont vu des progrès considérables accomplis dans notre compréhension de cette structure. Seule une Archée connue a une membrane externe, *Ignicoccus*, un organisme dont l'optimum de croissance est de 90 °C, et dont l'espace périplasmique est de dimension énorme (2 ou 3 fois celui du cytoplasme). La plupart des espèces sont couvertes d'une couche de protéines paracrystalline, la couche S (§ 1.3.2), dont le rôle reste énigmatique. La microscopie électronique a indiqué que la surface des Archées est en outre riche en toute une variété d'appendices (§ 1.3.2), semblables à ceux des Bactéries ou uniques à ce domaine.

Les Archées se distinguent aussi par l'absence de muréine dans leur paroi (fig. 1.7). Seules certaines Archées méthanogènes, dont la paroi ressemble à celle des Bactéries, contiennent une pseudomuréine, constituée de répétitions de NAcGlc (comme pour le peptidoglycane) et d'acide N-acétyltalosaminuronique (NAcT), que l'on ne trouve que chez ces Archées (fig. 1.8). Ces différences de composition rendent ces Archées résistantes au lysozyme et aux antibiotiques de type β -lactames. Chez les Archées du genre *Thermoplasma*, la cellule est entourée par une seule membrane tri-stratifiée de 5-10 nm d'épaisseur.

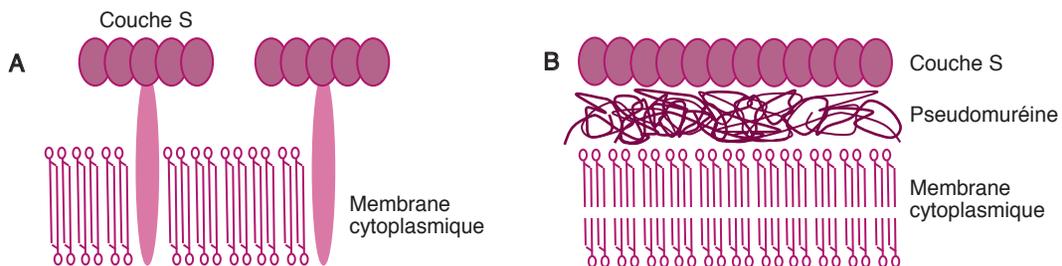


Figure 1.7 - L'enveloppe des Archées.

Noter l'absence de muréine et la présence d'une pseudomuréine chez certaines espèces. La membrane cytoplasmique est mono-couche (A) ou bi-couche (B). La surface externe est généralement recouverte par une couche S.

Une caractéristique importante des Archées est la composition lipidique et la structure de leur membrane cytoplasmique (fig. 1.9). Contrairement aux lipides bactériens, ceux de la majorité des Archées sont de longues chaînes ramifiées d'alcool isoprénique liées au glycérol par des liaisons éthers. Ces lipides forment une membrane partiellement ou majoritairement monocouche selon les espèces. Les hyperthermo-acidophiles contiennent des tétraéther-lipides, composés d'une chaîne C40 d'isoprénoïdes acylés. Un certain nombre de ces lipides traversent toute la membrane (qui est dite monostratifiée), ce qui lui confère une stabilité plus élevée. Cette caractéristique, alliée à d'autres (§ 2.5), pourrait être corrélée à la capacité de ces organismes à se développer à des températures extrêmes. Ces membranes sont particulièrement imperméables aux protons, permettant ainsi à ces cellules de survivre dans des conditions de pH extracellulaire jusqu'à 4 unités en dessous de celui du cytoplasme, donc très acide. En outre, la plupart des protéines extracellulaires des Archées sont glycosylées. Chez *Sulfolobus solfataricus*, une Crénarchée acidophile (pH optimal de 3,0) et thermophile (55-87 °C, avec un optimum à 80 °C), l'assemblage des sucres sur la

surface exploite un mécanisme de transport à travers la membrane nommé bindosome (système Bas). Il s'agit d'un élément structural de l'enveloppe homologue au système bactérien de type IV (impliqué dans l'assemblage des unités de piline ; fig. 1.13). Le système Bas est composé d'une ATPase (BasE), d'une protéine de membrane pour l'ancrage du système (BasF), et de trois autres petites protéines constituant le système de transport des sucres (BasABC).

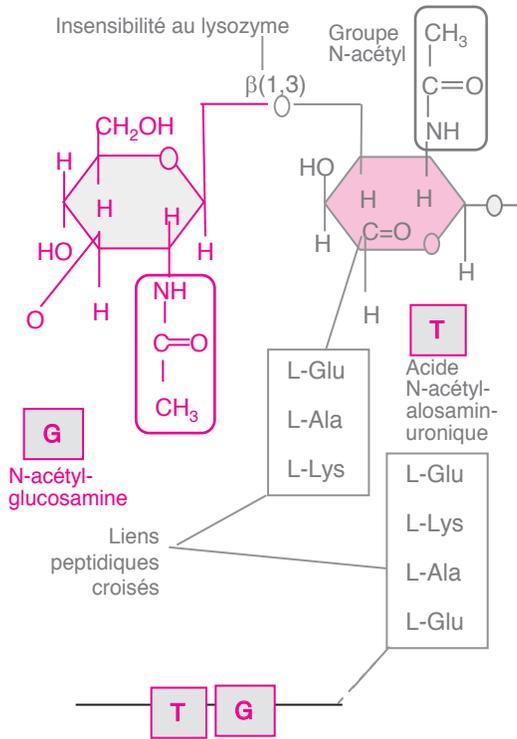


Figure 1.8 - La pseudomuréine des Archées méthanogènes.

Au NAcGlc (G) est associée une molécule d'acide N-acétyltalosaminuronique (T). La liaison $\beta(1-3)$ rend ce PG insensible au lysozyme.

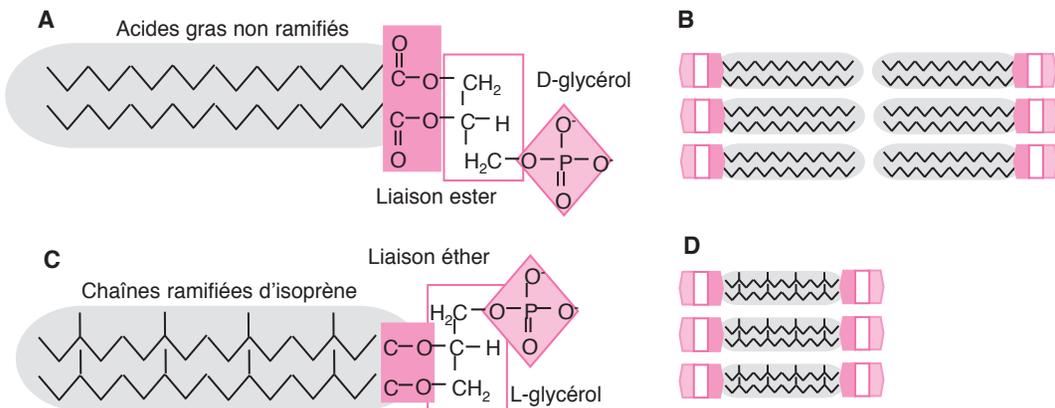


Figure 1.9 - La membrane interne (MI).

Elle est formée de phospholipides (A) organisés en une double couche (B) chez les Bactéries, et en monocouche (en haut) ou en bicouche (en bas) (D) dans la membrane (C) des Archées.

d) Autres types d'enveloppes de Bactéries

L'enveloppe d'un certain nombre de Bactéries diffère des précédentes. La paroi des Mycobactéries, par exemple, est essentiellement composée d'une épaisse couche formée de trois structures liées de manière covalente : le peptidoglycane, l'arabino-galactane et des acides mycoliques. Une liaison covalente entre les acides mycoliques conduit à la formation d'une couche, parfois appelée mycomembrane, ayant une fluidité extrêmement faible. La partie extérieure de la mycomembrane contient des lipides libres variés, comme les glycolipides phénoliques, les sulfolipides et phosphatidyl-inositol-mannosides, intercalés entre les acides mycoliques. La plupart de ces lipides sont spécifiques des Mycobactéries. La couche extérieure, généralement appelée la capsule, contient principalement des polysaccharides.

Les cellules des Mycoplasmes, des organismes commensaux des animaux, sont dépourvues de paroi. Elles peuvent vivre librement sous forme de protoplastes, soit parce que leur membrane cytoplasmique contient des stérols qui lui confèrent une certaine rigidité, soit parce que ces organismes vivent dans un habitat où la pression osmotique est contrôlée (par exemple le corps humain).

1.3.2 Structures péri- et trans-enveloppes

L'enveloppe des procaryotes contient de nombreux types de structures et/ou d'appendices situés sur la surface de la cellule, couvrant une panoplie de fonctions. Certaines de ces structures sont communes à tous les procaryotes, alors que d'autres semblent spécifiques des Bactéries ou des Archées, ou parfois seulement de certaines espèces dans l'un ou l'autre domaine.

a) Couches externes

Deux autres couches externes peuvent envelopper certaines cellules.

La **couche S** a été identifiée en 1953 chez une bactérie du genre *Spirillum*, et a depuis été observée, par microscopie électronique, chez 600 espèces, soit environ 10 % de tous les procaryotes connus. C'est une sorte de supra-structure située à l'extérieur de l'enveloppe, formée par l'auto-assemblage de sous-unités de protéines ou de glycoprotéines et de sucres. Des études génétiques et chimiques ont montré que chaque couche S est formée, sauf rares exceptions, d'un seul type de protéines ou de glycoprotéines. Ces molécules sont souvent faiblement acides, contiennent 40 à 60 % d'acides aminés hydrophobes et peu sinon aucun acide aminé soufré. Cette couche crée sur la surface de la cellule un grillage cristallin de 5-25 nm. Les mailles de ce grillage (fig. 1.10) peuvent avoir diverses formes géométriques, hexagonales, carrées, selon le nombre et la structure des sous-unités qui le composent.

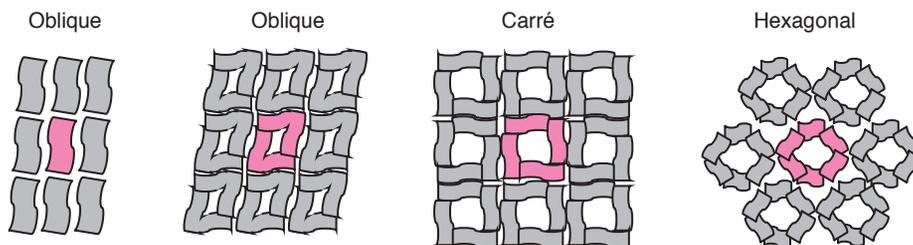


Figure 1.10 – Structures de maillage de la couche S.

Différents types d'assemblage des sous-unités.

L'assemblage crée des pores de 2-8 nm de diamètre, qui occupent jusqu'à 70 % de la surface cellulaire. La fonction de la couche S reste peu connue. Sa présence fréquente chez des procaryotes divers suggère qu'elle doit jouer un rôle important, même si sa perte n'a pas de conséquence pour des cellules cultivées en laboratoire. Ce pourrait être une sorte de tamis destiné à empêcher le passage de macromolécules toxiques, donc à protéger les cellules. Elle pourrait promouvoir leur adhésion sur des surfaces, ou contribuer à la rigidité de la paroi, ou encore avoir un rôle de défense contre le système immunitaire chez les espèces pathogènes. Les propriétés d'assemblage de la couche S en structures monomoléculaires planaires, soit en suspension soit au niveau d'une interface liquide-surface, ont conduit à diverses applications biotechnologiques.

La **capsule** ou glycocalix, formée d'un polysaccharide très hydraté (> 95 % d'eau), entoure la surface externe de nombreuses Bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻. Elle peut contenir en outre des polyalcools, des polyamines ou des polymères d'acides aminés, comme chez *Bacillus anthracis*. Elle peut présenter deux structures, soit étroitement liée à la cellule et désignée par le nom de capsule, soit plus lâche et dite couche visqueuse (*slime*). Sa taille et sa composition varient avec les espèces et les souches.

Les capsules sont considérées comme des structures protectrices, notamment contre le dessèchement ; elles joueraient aussi un rôle dans l'adhérence sur des surfaces et dans la formation de biofilms. La présence d'une capsule est importante dans la pathogénicité de nombreuses Bactéries, chez lesquelles elle agit comme facteur de virulence et de protection contre la phagocytose. En effet, chez de nombreux pathogènes humains, les différences sérologiques des souches sont à attribuer aux variations des antigènes de cette capsule. Ainsi on connaît 80 types différents de polysaccharides capsulaires (appelés aussi antigènes K) chez *E. coli*, et plus de 90 chez *Streptococcus pneumoniae*. Ce nombre élevé de variants chez *S. pneumoniae* est à la base de la difficulté à obtenir des vaccins contre cet important pathogène. La présence d'une capsule associée à la virulence des Bactéries s'observe aussi chez les Bactéries pathogènes des plantes, comme les souches des genres *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Erwinia*.

La biosynthèse et l'assemblage des capsules sont des processus complexes, dépendant des conditions de l'environnement. Dans certaines conditions, pour une souche donnée, la présence de la capsule n'est pas requise. Dans les conditions de croissance en laboratoire, une capsule, par ailleurs indispensable dans des conditions naturelles, peut être perdue. Ainsi *S. pneumoniae* perd sa capsule, et sa virulence, dans les cultures en laboratoire.

b) Appendices de surface

De nombreux procaryotes présentent sur leur surface une ou un ensemble de protéines assemblées sous forme d'appendices, constituant deux catégories d'organites : les flagelles (dans 80 % des espèces connues), qui sont des organes de locomotion, et les pili (ou fimbriae), structures d'adhésion. La présence de ces appendices pourrait être associée à l'adaptation à l'environnement ou, dans le cas des bactéries pathogènes, à la capacité à infecter et à coloniser différents hôtes ou tissus de ces derniers.

• Flagelles des Bactéries

Ces structures assurent la locomotion des cellules en milieu liquide. Le déplacement des cellules joue un rôle physiologique important, leur permettant de se diriger vers des endroits plus propices (recherche de nutriments, ou fuite devant des substances toxiques). Ce mouvement, dit chimiotactisme, est directionnel, de type attractif ou répulsif (§ 14.4). Tous les procaryotes ne sont pas motiles, et il existe des espèces dépourvues de flagelles utilisant d'autres systèmes de locomotion. Le nombre et la disposition des flagelles sur une cellule sont très variables, mais génétiquement contrôlés.

Différents types de structure et d'arrangements des flagelles sont observés selon les espèces : le flagelle peut être rigide ou flexible, droit ou « frisé » (*curly*) ; un ou plusieurs flagelles peuvent être implantés à un (ou aux deux) pôle(s) d'une cellule, ou de nombreux flagelles peuvent être répartis sur toute la cellule (fig. 1.11). Chez les Bactéries appartenant au phylum Spirochètes, les flagelles sont périplasmiques, formant un faisceau inséré dans l'enveloppe.

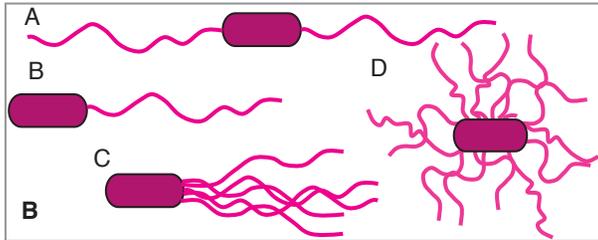


Figure 1.11 - Différentes dispositions des flagelles.

A, amphitriche ; B, monotriche ; C, lophotriche ; D, péritriche.

Le flagelle *sensu stricto* est constitué de milliers d'unités de protéines, les flagellines, assemblées en un polymère hélicoïdal, en configuration droite ou gauche. Suivant les espèces, le flagelle peut être formé de une à un grand nombre de flagellines différentes : on connaît une quarantaine de flagellines antigéniquement distinctes chez *E. coli* et deux types chez *Salmonella typhimurium* (jamais sur le même filament), ou un filament constitué de plusieurs types de flagelline chez *Rhizobium meliloti* et *Caulobacter crescentus*. Enfin la flagelline peut subir des modifications post-traductionnelles².

La structure du flagelle est bien connue chez *E. coli* et *S. typhimurium*. Elle comprend quatre parties : un filament hélicoïdal, le crochet (*hook*), le corps basal et une série d'anneaux. Le filament hélicoïdal, la partie externe, en contact avec le milieu de suspension des cellules, est responsable de la propulsion. C'est une structure rigide, de 5-10 µm de long (donc plus long que la cellule), d'un diamètre de 20 nm (chez *E. coli*). Le filament est attaché à un crochet, lui-même lié au corps basal localisé dans l'enveloppe. Le corps basal est un complexe multi-protéique qui fonctionne comme moteur pour la rotation du flagelle. Une modulation des cycles de rotation (sens horaire/sens anti-horaire) en fonction de la nature chimique de l'environnement de la cellule permet à celle-ci de se diriger (§ 14.4).

• Flagelles des Archées

Ces appendices sont largement présents dans toutes les grandes subdivisions au moins des Archées cultivables. Ils sont structurellement très similaires aux pili de type IV (voir ci-après) plutôt qu'aux flagelles bactériens. En général, un seul locus génétique regroupe l'ensemble des gènes codant pour les constituants du flagelle. Les protéines flagellaires ne présentent aucune similitude moléculaire avec celles des Bactéries. En outre, on ne connaît encore ni le mécanisme d'assemblage ni la structure ni le fonctionnement du moteur qui actionne le flagelle.

Les flagelles des Archées sont impliqués non seulement dans la motilité cellulaire, mais aussi dans l'adhésion des cellules sur différentes surfaces (verre, mica, grilles revêtues de carbone et de pyrite). Cependant des mutants flagellaires de *S. solfataricus* ayant perdu cette capacité sont encore capables de former des biofilms. La colonisation de *P. furiosus* (*Brachyspira*) sur ces surfaces se forme seulement si celles-ci ont été préalablement colonisées par des cellules *Methanopyrus kandleri*. *P. furiosus* utilise ses flagelles pour établir des contacts directs avec les cellules de *M. kandleri* déjà fixées. Chez d'autres Archées comme *Haloferax volcanii*, l'adhésion sur la surface est indépendante des flagelles, comme l'ont montré des mutants ayant perdu la motilité mais conservé la capacité d'adhésion sur du verre.