


Sous la direction de
Luciano Paolozzi
Jean-Claude Liébart

Microbiologie

Biologie des procaryotes et de leurs virus

DUNOD

Illustration de couverture :
Filaments de cellules de *Bacillus subtilis* observés par microscopie à fluorescence.
Les membranes bactériennes sont colorées en magenta
et l'ADN du chromosome bactérien en bleu.
© Institut Pasteur.

<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
5 rue Laromiguière, 75005 Paris
www.dunod.com
ISBN 978-2-10-072081-1

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. Il a enseigné jusqu'en 2012 la microbiologie générale, la génétique et biologie moléculaire des micro-organismes. Son activité de recherche s'est déroulée dans plusieurs laboratoires : Institut Pasteur (Paris), Institut de Microbiologie de la faculté des sciences d'Orsay et actuellement à l'université de Rome (chapitres 1, 5, 7, 8, 12, 14, 16, 18 et 19).

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

Avec les contributions par ordre alphabétique de :

Pascale BAUDA, professeur à l'université de Lorraine, Nancy (chapitre 2).

Josselin BODILIS, maître de conférences à l'université de Rouen (chapitres 3, 6 et 19).

Olivier DUSSURGET, professeur à l'université Paris Diderot (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, professeur à l'université Aix-Marseille (chapitres 15 et 19).

Georges ONA-NGUEMA, maître de conférences à l'université Pierre et Marie Curie, Paris (chapitre 2).

Céline ROOSE-AMSALEG, ingénieur de recherche, CNRS/UPMC, Paris (chapitre 2).

PRÉFACE



En 1965, André Lwoff, Jacques Monod et François Jacob reçoivent le Prix Nobel de physiologie et/ou médecine pour leurs « recherches concernant le contrôle génétique de la synthèse des enzymes et des virus ».

La microbiologie est à son apogée, du moins en tant que modèle car en tant que problème de santé publique, l'affaire est entendue, « il est temps de fermer le livre des maladies infectieuses et de déclarer gagnée la guerre contre les pestilences »... L'hygiène, les antibiotiques et les vaccins les ont vaincues. Les promesses n'engageant que ceux qui y croient et la biologie partant à la recherche de la vérité chez l'éléphant (car *Escherichia coli* est décidément trop petit et trop simple pour la biologie post-moderne), la microbiologie va subir une éclipse.

En 2015, cinquante ans plus tard, la microbiologie affiche de nouveau une santé insolente, que s'est-il passé ? Pourquoi cette renaissance ? Peut-on d'ailleurs l'expliquer sinon d'admettre qu'elle est le fruit complexe de la combinaison de nombreux facteurs ? Tout d'abord, on constate la résurgence brutale des maladies infectieuses prenant leur place comme un fait de société à une échelle éventuellement planétaire. Comme le prédisait d'ailleurs Charles Nicolle dans *Le destin des maladies infectieuses*, l'avenir des pestilences n'était pas de mourir, mais de ressurgir. On parle aujourd'hui d'émergence, qu'il s'agisse de maladies causées par de nouveaux pathogènes ou par des pathogènes connus mais devenus multirésistants aux agents anti-infectieux. Mais là n'est pas la seule raison. D'autres sont strictement scientifiques. Plusieurs faits ont en effet marqué la recherche en microbiologie ces trente dernières années qui en ont clairement renouvelé l'intérêt, en particulier auprès des étudiants et des jeunes chercheurs. On peut en citer quelques-uns. L'avènement de la microbiologie moléculaire, de la génomique et maintenant de la métagénomique ont aiguisé notre perception de la richesse, de la diversité et de la complexité du microbe lui-même et du monde microbien humain, animal, végétal ou environnemental. Des modes de vie microbiens communautaires se sont révélés, comme les biofilms. La symbiose entre hôte multicellulaire animal ou végétal et communautés microbiennes, simples ou complexes, émerge comme un élément fondamental issu de la longue coévolution hôte-microbes dans ses aspects physiologiques et physiopathologiques. Cet élargissement du champ d'intérêt de la microbiologie crée autant d'opportunités de recherche fondamentale. Mais ce n'est pas tout, dans la pure tradition des écoles de Louis Pasteur et Robert Koch, l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires des maladies infectieuses a connu un essor exceptionnel grâce à l'intégration de la microbiologie et de disciplines cousines comme la génétique moléculaire, procaryote et eucaryote, la biologie cellulaire, l'immunologie. Aux interfaces de ces disciplines, de nombreuses découvertes fondamentales ont été réalisées qui portent des espoirs dans l'application au diagnostic, au traitement et à la prévention vaccinale des maladies infectieuses. La microbiologie a donc repris son statut de modèle grâce, entre autre, à son intégration avec d'autres disciplines, faisant preuve avec éclat de sa vitalité, de sa capacité inépuisable de renouvellement et de la richesse des solutions qu'elle est en mesure

Microbiologie

de proposer dans le vaste champ des sciences du vivant et même au-delà. Un exemple ? La rhodopsine de *Chlamydomonas* qui a permis le développement de l'optogénétique. Une leçon à méditer, ce d'autant que bactéries et virus sont devenus des agents incontournables, on dit maintenant des « plates-formes », dans beaucoup de secteurs des biotechnologies et ont représenté les modèles pionniers de la biologie de synthèse.

Il est difficile d'imaginer que la renaissance de la microbiologie, en particulier dans ses aspects fondamentaux, ne soit pas accompagnée d'ouvrages de référence qui en présentent la diversité, en déchiffrent la complexité et mettent en valeur les potentiels pour le futur.

À cette « nouvelle microbiologie », il fallait un nouvel ouvrage et l'on peut se féliciter qu'il soit rédigé en français pour sa première édition, reflétant le goût et l'attraction qu'a toujours eu la communauté scientifique francophone pour cette discipline. Cet ouvrage est exhaustif comme peu le sont, mais avec une véritable logique, une perspective sur les derniers développements, y compris dans les aspects les plus fondamentaux des régulations, de la physiologie et du métabolisme microbien qui y retrouvent ici toute leur attractivité. Les jeunes chercheurs y trouveront réponse à toutes leurs questions dans une présentation et une perspective qui ne sont jamais scolaires du fait d'efforts constants pour intégrer les données et fournir une véritable approche de biologie systémique du microbe.

Les illustrations sont claires et pertinentes. Il fait peu de doutes que ce volume sera un succès et qu'il sera rapidement réédité, mis à jour et traduit, de par sa valeur pédagogique exceptionnelle, dans d'autres langues. Il faut sincèrement remercier les coordonnateurs et les auteurs pour ce « milestone » dans l'enseignement de la microbiologie.

Philippe J. SANSONETTI

Professeur au Collège de France

Chaire de Microbiologie et Maladies Infectieuses

Professeur à l'Institut Pasteur

TABLE DES MATIÈRES

Liste des auteurs	V
Préface	VII
Avant-propos	XXI
Liste des relecteurs	XXVII
Remerciements	XXIX

PARTIE I

LES PROCARYOTES

Chapitre 1. Structures cellulaires	3
1.1 Caractéristiques générales	4
1.2 Morphologies, dimensions ; leurs contrôles	6
1.2.1 Adaptabilité morphologique à l'environnement	7
1.2.2 Cellule minimale	8
1.3 Structures et organisation cellulaires	8
1.3.1 Enveloppe, interface de la cellule avec son environnement	8
1.3.2 Structures péri- et trans-enveloppes	17
1.3.3 Cytoplasme	22
1.3.4 ADN et nucléoïde	25
1.3.5 Ribosomes	26
1.3.6 Cytosquelette	26
1.4 Systèmes de transport et d'assemblage	27
1.4.1 Translocation des protéines à travers la membrane	27
1.4.2 Auto-assemblage du flagelle bactérien	30
1.5 Protéome – le cas d' <i>E. coli</i>	31
Chapitre 2. Métabolisme et écologie	32
2.1 Métabolisme énergétique	34
2.1.1 Chimio-organotrophie	34
2.1.2 Chimio-lithotrophie	38
2.1.3 Phototrophie	38

Table des matières

2.2	Biosynthèses	38
2.2.1	Assimilation des composés en C1 – autotrophie et méthyliotrophie	39
2.2.2	Assimilation des composés en C ₂ ou plus – hétérotrophie	40
2.3	Écologie microbienne	40
2.3.1	Interactions organismes-biotope	40
2.3.2	Interactions biotiques	41
2.3.3	Cycles biogéochimiques	42
2.4	Métabolisme et écologie des Archées	46
2.4.1	Métabolisme énergétique et autotrophie	46
2.4.2	Archées et cycle de l'azote	48
2.5	Procaryotes extrêmophiles	48
2.5.1	Halophiles extrêmes	49
2.5.2	Hyperthermophiles	50
2.5.3	Acidophiles et alcalinophiles extrêmes	51
2.5.4	Psychrophiles	52
2.5.5	Barophiles	52
2.5.6	Résistance aux radiations	53
Chapitre 3.	Taxonomie, phylogénie, évolution	54
3.1	Origine de la vie – premières étapes de l'évolution du vivant	54
3.1.1	Premières traces fossiles d'êtres vivants et Terre primitive	54
3.1.2	Ordre d'apparition des macromolécules informationnelles	57
3.1.3	Premiers virus et rôle possible dans l'évolution des génomes	58
3.1.4	La forme cellulaire aux origines de la vie ?	59
3.2	Classifications des organismes vivants	60
3.2.1	Classification phénotypique	60
3.2.2	Classification et phylogénie moléculaire	61
3.3	Arbre universel du vivant	64
3.3.1	Premiers arbres universels phénotypiques	64
3.3.2	Travaux de Carl Woese : du phénotype au génotype	65
3.3.3	Grands phylums des trois domaines	67
3.3.4	Arbre universel et relation procaryote/eucaryote	68
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	75
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	80
Chapitre 4.	Croissance et homéostasie	82
4.1	« Courbe de croissance »	83
4.1.1	Un outil d'étude indispensable	83
4.1.2	Conditions expérimentales	83
4.2	Phases de la courbe de croissance	85
4.2.1	Phase exponentielle	86
4.2.2	Autres phases	87
4.2.3	Phase stationnaire et états de stress chez les Gram ⁺	89
4.3	Facteurs influant sur la croissance	90
4.3.1	Facteurs physico-chimiques	90
4.3.2	Facteurs biochimiques	91
4.4	Homéostasie cellulaire – application aux procaryotes	93
4.4.1	Cas des Archées	94
4.4.2	Rôle de l'homéostasie dans les états de stress	94
4.5	Adaptations moléculaires aux conditions extrêmes	96
4.5.1	Adaptation aux hautes températures	97
4.5.2	Adaptation aux bas pH	98
4.5.3	Adaptation aux basses températures	98
4.5.4	Adaptation aux fortes salinités	98
Chapitre 5.	Reproduction	100
5.1	Modèles de cytokinèse	101
5.2	Division symétrique	102
5.2.1	Aperçu global	103
5.2.2	Rôle central de FtsZ	104
5.2.3	De l'anneau Z à l'anneau septal	105
5.2.4	Assemblage du divisome	108
5.2.5	Systèmes <i>in vitro</i> pour l'étude de la division	114
5.2.6	Contrôle du cycle cellulaire	115
5.3	Division asymétrique	116
5.3.1	Modèle de sporulation de <i>B. subtilis</i>	116
5.3.2	Modèle de division de <i>Caulobacter crescentus</i>	117

Table des matières

5.4	Autres systèmes FtsZ-dépendants	118
5.4.1	Cyanobactéries : division par scissions multiples	118
5.4.2	Streptomycètes : croissance sans division	119
5.4.3	Bactéries à prosthèque et Planctomycètes : gemmation	120
5.4.4	<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i> : divisions multiples	121
5.4.5	De l'endospore à la progéniture intracellulaire	122
5.5	Systèmes de division FtsZ-indépendants	122
5.6	Division chez les Archées	123

PARTIE II

LE GÉNOME : STRUCTURE ET REPRODUCTION

Chapitre 6.	Génomique et métagénomique	127
6.1	Séquençage complet d'un génome procaryote	127
6.1.1	Clonage et séquençage par la technologie Sanger	128
6.1.2	Nouvelles techniques de séquençage à haut débit	129
6.1.3	Assemblage des génomes	132
6.1.4	Stratégies de séquençage d'un génome procaryote	134
6.2	Annotation des génomes	135
6.2.1	Recherche des cadres de lecture	135
6.2.2	Biais dans la composition nucléotidique et l'usage des codons	135
6.2.3	Recherche des fonctions codées par les gènes	137
6.2.4	Recherche des gènes orthologues	138
6.2.5	Polymorphisme génique (SNP)	138
6.2.6	Synthénie	138
6.2.7	ARN non traduits et ADN non codant	139
6.3	Comparaison et diversité des génomes procaryotes	139
6.3.1	Diversité de taille et nombre de gènes	139
6.3.2	Diversité fonctionnelle	140
6.3.3	Génomes des organites eucaryotes d'origine procaryote	141
6.4	Génomique fonctionnelle	142
6.4.1	Transcriptomique	142
6.4.2	Protéomique	145
6.4.3	Métabolomique et autres « -omiques »	145
6.5	Métagénomique	146
Chapitre 7.	Génomes procaryotes	148
7.1	Nucléoïde	149
7.1.1	Structure physique	149

7.1.2	Géométries et ploïdies des génomes	158
7.1.3	Organisation fine	161
7.1.4	Appauvrissement des génomes des parasites et symbiontes	165
7.1.5	Génome minimal	166
7.2	Éléments génétiques accessoires (EGA)	167
7.2.1	Plasmides	167
7.2.2	Éléments génétiques mobiles (EGM)	169
7.2.3	Îlots génomiques	171
7.2.4	Éléments intégratifs conjugatifs (ICE)	172
7.2.5	Shufflons	173
7.2.6	Hérédité infectieuse intracellulaire	173
7.2.7	Intégrons	173
7.3	Génomes des Archées : similitudes et originalités	174
Chapitre 8.	Réplication de l'ADN	176
8.1	Caractéristiques générales	176
8.2	Notion de réplicore	178
8.3	Enzymes de la réplication	179
8.3.1	Hélicases	179
8.3.2	Protéines de maintien des ADN simple-brin (SSB)	179
8.3.3	Primases	180
8.3.4	ADN polymérases	181
8.4	Initiation de la réplication	184
8.4.1	Origine de réplication, <i>ori</i>	184
8.4.2	Protéine initiatrice DnaA	185
8.4.3	Initiation à <i>ori</i>	187
8.4.4	Contrôle de l'initiation	187
8.5	Élongation	189
8.5.1	Synthèse d'ADN à partir des amorces ARN	189
8.5.2	Processivité de l'ADN polymérase Pol III	190
8.6	Terminaison de la réplication	191
8.7	Aspects mécaniques de la réplication	191
8.7.1	Modèle trombone : coordination de synthèse dans un réplicore	191
8.7.2	Configuration des réplisomes au cours de la réplication	192
8.8	Ségrégation des chromosomes	192
8.8.1	Migration des origines	192
8.8.2	Migration de la masse du chromosome	193
8.8.3	Ségrégation de la région terminus	193
8.8.4	Ségrégation des génomes segmentés	193

Table des matières

8.9	Réplication des chromosomes linéaires	194
8.10	Réplication des EGA	195
8.10.1	Aspects généraux de la réplication des plasmides	195
8.10.2	Réplication mixte θ et cercle roulant de génomes phagiques	197
8.11	Réplication chez les Archées – Particularités	199
Chapitre 9. Recombinaison génétique		202
9.1	Recombinaison homologue	204
9.1.1	Modèle formel de Holliday	204
9.1.2	Autres modèles formels	205
9.1.3	Bases moléculaires	207
9.2	Recombinaison homologue chez les procaryotes	207
9.2.1	Modèle <i>E. coli</i> – Approche génétique	207
9.2.2	Voie <i>recA</i>	207
9.2.3	Voies de recombinaison homologue alternatives	210
9.3	Recombinaison non homologue	211
9.3.1	Recombinaison site-spécifique	211
9.3.2	Transposition et transposases	213
9.3.4	Jonction d'extrémités d'ADN non homologues (NHEJ)	218
9.4	Recombinaison chez les Archées – Particularités	219

PARTIE III

DIVERSIFICATION ET STABILITÉ DES GÉNOMES

Chapitre 10. Nature des mutations		223
10.1	Dénombrement et identification des mutants	224
10.2	Mutations spontanées : genèse et nature	225
10.2.1	Erreurs d'appariements par insertion de tautomères des bases	225
10.2.2	Rôle mutagène des ADN polymérases	227
10.2.3	Autres processus physiologiques à risque mutagénique	229
10.3	Agents mutagènes	229
10.3.1	Rappel historique	229
10.3.2	Mutagènes endocellulaires	230
10.3.3	Agents mutagènes exogènes	231
10.4	Contrôle du taux de mutation spontanée	233
10.5	Gènes mutateurs, adaptabilité et sélection	234
10.5.1	Variants mutateurs : un avantage adaptatif ?	235
10.5.2	Mutation, sélection et adaptation	236

10.6	Mutagenèse adaptative	241
10.6.1	Genèse de mutants dans des conditions de sélection non létales	241
10.6.2	Modèles explicatifs du phénomène de réversion adaptative	242
Chapitre 11.	Systèmes de réparation	244
11.1	Induction de processus de réparation	244
11.2	Réparation par excision de base (BER)	245
11.2.1	Glycosylases procaryotes	245
11.2.2	Cibles du système BER	248
11.3	Réparation par excision de nucléotide (NER)	249
11.3.1	Approche génétique de l'étude de la sensibilité d' <i>E. coli</i> aux UV	249
11.3.2	Analyse biochimique de la réaction d'excision	250
11.3.3	Mécanisme d'excision des lésions chez <i>E. coli</i>	251
11.3.4	Couplage transcription-excision chez <i>E. coli</i>	251
11.4	Réparation des mésappariements (MMR) – le modèle <i>E. coli</i>	254
11.4.1	Sélection de mutants affectés dans le processus MMR	254
11.4.2	Rôle des séquences GATC dans la reconnaissance de la lésion	254
11.4.3	Protéines en jeu dans le MMR et leur rôle	255
11.4.4	Reconnaissance des mésappariements	256
11.4.5	Rôle de l'ATP	256
11.4.6	Excision du brin anormal	257
11.4.7	Modèles	257
11.4.8	Organismes dépourvus de MthH	258
11.5	Déblocage des fourches de réplication	259
11.5.1	Rôle de la recombinaison	260
11.5.2	Cas particulier de fourches bloquées au terminus	260
11.5.3	Rôle des protéines PriA et Rep	261
11.6	Systèmes de réparation chez les Archæa	263
Chapitre 12.	Systèmes de transfert génétique	265
12.1	Transformation	267
12.1.1	État de compétence	268
12.1.2	Machinerie de capture de l'ADN	269
12.1.3	Liaison de l'ADN à la cellule, sa fragmentation et son transport	270
12.1.4	Destin de l'ADN transformant internalisé	271
12.2	Conjugaison	272
12.2.1	Découverte	272
12.2.2	Épisome autotransférable F	274
12.2.3	Transfert linéaire des gènes chromosomiques	276
12.2.4	Machinerie de conjugaison	278

Table des matières

12.2.5	Mécanisme moléculaire du transfert conjugatif	279
12.2.6	Niveaux de contrôle du transfert	280
12.3	Transduction	281
12.4	Agents de transfert génique (GTA)	282
12.5	TGH chez les Archées	283
12.6	Barrières au TGH et leur esquive	283
12.6.1	Systèmes de restriction-modification de l'ADN	283
12.6.2	Barrière de la recombinaison	286
12.6.3	Immunité héréditaire à l'ADN exogène : le système CRISPR	287
12.6.4	Contrôle par H-NS de l'expression d'ADN xénogénique	289
12.6.5	Stratégies antibarrières	289

PARTIE IV

STRATÉGIES D'ADAPTATION

Chapitre 13.	Expression génique, mécanismes et régulations	293
13.1	Transcription	294
13.1.1	Appareil de transcription bactérien	294
13.1.2	Reconnaissance du promoteur	296
13.1.3	Élongation de la transcription	297
13.1.4	Terminaison de la transcription	298
13.2	Traduction	299
13.2.1	Ribosomes	299
13.2.2	ARN de transfert et aminoacyl-ARNt synthétases	299
13.2.3	Démarrage de la traduction	301
13.2.4	Élongation de la traduction	302
13.2.5	Code génétique	304
13.2.6	Terminaison de la traduction	305
13.2.7	Traduction et physiologie	305
13.3	Stratégies de régulation de l'expression génique	305
13.3.1	Régulations du démarrage de la transcription	306
13.3.2	Régulation de l'élongation de la transcription	316
13.3.3	Régulation de la traduction	319
13.3.4	Quand les ARN se font régulateurs de l'expression génique	320
13.4	Expression génique et régulation chez les Archées	323
13.4.1	Une machinerie de transcription de type eucaryote	323
13.4.2	Différents niveaux de régulation de la transcription	324
Chapitre 14.	Réponses globales à l'environnement	325
14.1	Détection et signalisation de modifications de l'environnement	325

14.2	Adaptation à un hôte : la pathogénicité	327
14.2.1	Identification, origine et évolution des facteurs de pathogénicité	328
14.2.2	Invasion de la cellule hôte : avantages pour le pathogène	330
14.2.3	Signalisation environnementale : le cas de <i>Salmonella</i>	331
14.2.4	Évitement du système immunitaire : <i>Listeria monocytogenes</i>	334
14.3	Adaptation à un stress nutritionnel : la compétence	335
14.3.1	Compétence bactérienne	336
14.3.2	Comportements cannibaliste et fratricide	338
14.3.3	Compétence et apports nutritionnels alternatifs	339
14.4	Mobilité, chimiotaxie attractive ou répulsive	340
14.4.1	Nage (<i>swimming</i>)	340
14.4.2	Essaimage (<i>swarming</i>)	345
14.4.3	Glissement (<i>gliding</i>)	346
14.4.4	Rétraction (<i>twitching</i>)	347
14.5	Quorum sensing : communications intercellulaires	347
14.5.1	Quorum sensing chez la Bactérie <i>Vibrio fischeri</i>	347
14.5.2	Pathogénicité et QS chez les Bactéries Gram ⁻	349
14.5.3	QS chez les Bactéries Gram ⁺	352
14.5.4	Interactions interespèces	353
14.5.5	Quorum quenching et lutte antimicrobienne	355
14.5.6	Évolution et maintien des systèmes de régulation QS-dépendants	355
14.6	Les biofilms, des communautés bactériennes	356
14.6.1	Morphologie et composition des biofilms	357
14.6.2	Mise en place d'un biofilm : une réponse globale ou individualiste ?	358
14.6.3	Échanges génétiques dans les biofilms	359
14.6.4	Quelques cas de biofilms monospécifiques	360
14.6.5	Biofilms naturels multispécifiques	362
14.6.6	Changements phénotypiques des cellules au sein d'un biofilm	363
14.7	Vie sociale chez les Archaea	365
14.7.1	Quorum sensing	365
14.7.2	Implication d'Archæa dans des biofilms	365
	Chapitre 15. Différenciation	367
15.1	Se différencier pour se reproduire : <i>Caulobacter crescentus</i>	367
15.1.1	Régulation du processus de différenciation	368
15.1.2	Signaux extracellulaires	371
15.2	Se différencier pour survivre à la carence en azote : <i>Anabaena</i> PCC 7120	372
15.2.1	Structure des hétérocystes	372
15.2.2	Régulation de la différenciation des hétérocystes	372
15.2.3	Signaux de la différenciation	375

Table des matières

15.3	Se différencier pour coloniser : <i>Streptomyces</i>	375
15.3.1	Cycle cellulaire de <i>Streptomyces coelicolor</i>	375
15.3.2	Régulation de la différenciation	376
15.3.3	Signaux de la différenciation	378
15.4	Socialiser pour se différencier : <i>Myxococcus xanthus</i>	379
15.4.1	Principales étapes du cycle de développement	379
15.4.2	Régulation du processus de différenciation	380
15.5	Se différencier pour résister : <i>Bacillus subtilis</i>	381
15.5.1	Principales étapes du cycle de sporulation	382
15.5.2	Régulation du processus de différenciation	382
15.5.3	Signaux extracellulaires	385
15.5.4	Bimodalité	385

PARTIE V

INTERACTIONS PROCARYOTES ET AUTRES ORGANISMES

Chapitre 16. Virus des procaryotes	389	
16.1	Virosphère et sa diversité	390
16.2	Morphologie et structure des virus procaryotes	391
16.2.1	Capsides icosaédriques simples et à géométrie complexe	393
16.2.2	Capsides à géométrie hélicoïdale	393
16.2.3	Capsides à enveloppe	394
16.2.4	Formation et assemblage des capsides	395
16.3	Diversité, organisation et architecture des génomes	396
16.4	Principe de classification des virus	398
16.5	Méthodes d'études	399
16.5.1	Isolement, purification et quantification	399
16.5.2	Culture : le cycle unique de production	400
16.6	Phases du développement viral	401
16.6.1	Adsorption du virion et spécificité des récepteurs bactériens	401
16.6.2	Transfert du génome viral dans la cellule hôte	402
16.6.3	Production de nouveaux virions	405
16.6.4	Coévolution de l'infectiosité virale et de la défense de l'hôte	409
16.7	Quelques systèmes modèles de bactériophages	409
16.7.1	Bactériophages à ADN double-brin de la série T	409
16.7.2	Bactériophages à ADN simple-brin	412
16.7.3	Bactériophages à ARN simple-brin	415
16.7.4	Bactériophages à ARN double-brin	417
16.7.5	Bactériophages tempérés et lysogénie	418

16.8	Les archeovirus	422
16.8.1	Diversité et caractéristiques générales	423
16.8.2	Cycle infectieux du virus STIV	424
16.8.3	Infection par le virus SIRV	425
16.8.4	Un virus à ADN simple-brin d'une Archée hyperthermophile	426
Chapitre 17.	Interactions hôtes/Bactéries pathogènes	427
17.1	Types d'interactions hôtes/Bactéries	427
17.2	Interactions hôtes-bactéries pathogènes	428
17.2.1	Infection bactérienne et virulence	434
17.2.2	Principales maladies infectieuses d'origine bactérienne chez l'Homme	435
17.3	Pathogénèse infectieuse	436
17.3.1	Transmission	436
17.3.2	Colonisation	437
17.3.3	Adhérence	439
17.3.4	Invasion	439
17.3.5	Résistance aux défenses de l'hôte	442
17.3.6	Toxines	445
17.4	Perspectives	447
Chapitre 18.	Lutte antimicrobienne	448
18.1	Du concept d'antibiose à l'utilisation d'antibiotiques	449
18.1.1	Métabolites secondaires comme sources d'antibiotiques	450
18.1.2	Nature chimique, classification et mode d'action	451
18.1.3	Organismes producteurs	455
18.2	Biologie de la production des antibiotiques	455
18.2.1	Physiologie et production d'antibiotiques	455
18.2.2	Organisation génétique	456
18.2.3	Rôles biologiques des antibiotiques	457
18.3	Résistance aux antibiotiques	458
18.3.1	Mécanismes de résistance	458
18.3.2	Acquisition de la résistance	459
18.4	Épidémiologie de la résistance	460
18.5	Recherche et production de nouveaux antibiotiques	461
18.5.1	Stratégies de criblage	461
18.5.2	Amélioration de souches productrices préidentifiées	463
18.5.3	Approche génomique	465
18.5.4	Structure cristallographique et design moléculaire	466

**DES PERSPECTIVES
EN GUISE DE CONCLUSION**

Chapitre 19. Bio- et nano-technologies	469
19.1 Principes généraux	470
19.2 Biotechnologies blanches	471
19.2.1 Production d'acides aminés	471
19.2.2 Molécules plate-forme : l'exemple de l'acide succinique	472
19.2.3 Enzymes	472
19.2.4 Énergies renouvelables	472
19.2.5 Produits dérivés de l'ADN recombinant - Exemples	474
19.3 Biotechnologies jaunes	474
19.3.1 Contaminants environnementaux	475
19.3.2 Atténuation naturelle d'une pollution environnementale	476
19.3.3 Détection et traitements de la pollution par des micro-organismes	477
19.4 Biotechnologies rouges	480
19.4.1 Fantômes bactériens (<i>ghost</i>), une plate-forme biotechnologique	480
19.4.2 Production d'anticorps par des procaryotes	481
19.4.3 Élimination spécifique d'une bactérie – Le cas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	482
19.4.4 Affinité des bactéries pour les tumeurs	482
19.5 Biotechnologies vertes	483
19.6 Nanobiotechnologies	484
19.6.1 Couche S	484
19.6.2 Utilisation des magnétosomes	484
19.7 Bactériophages dans les bio- et nanotechnologies	485
19.8 Biologie synthétique : organismes vivants artificiels	487
19.8.1 Applications	487
19.8.2 Problèmes éthiques	488
Bibliographie	489
Liste des compléments Web	495
Index général	499
Index des organismes	509

À Lorenzo
À Yannick, Déborah et Sarah

AVANT-PROPOS



On ne connaît bien une science que si l'on en connaît l'histoire.

Auguste Comte, 1825

Le phénomène « vie » est de loin la forme d'organisation de la matière la plus complexe dont nous ayons actuellement connaissance. La vie, ou au moins des éléments qui y sont associés, ne sont toutefois pas étrangers à notre Univers. Les principaux constituants du vivant, hydrogène, carbone, oxygène et azote, sont en effet les éléments parmi les plus abondants au sein du cosmos, et les astrophysiciens ont détecté des molécules organiques dans les nuages interstellaires et, plus près de nous, dans les météorites et les comètes. Certaines de ces molécules, relativement complexes, témoignent de l'existence d'une chimie organique abiotique qui a précédé la chimie organique terrestre à l'origine de la vie sur notre planète. De nombreuses formes de chimie organique existent certainement dans l'Univers. Une forme a récemment été mise en évidence sur Titan, l'un des satellites de Saturne. On ne connaît toutefois pour le moment qu'une seule forme de vie, celle qui nous a donné naissance, caractérisée par l'existence de macromolécules capables de porter une information et un programme, et des organismes « vivants » capables de la générer et de la reproduire. La vie pourrait ainsi s'envisager comme « le mode d'existence des êtres vivants ». La façon dont cette vie est apparue reste un grand mystère. Nous pouvons tout au plus émettre des hypothèses basées sur des conjectures quant aux conditions environnementales qui ont favorisé son apparition, et quant aux structures des premiers êtres vivants. En revanche, les progrès de la biologie moléculaire des cinquante dernières années ont permis d'établir un scénario pour l'apparition des différentes macromolécules informationnelles caractéristiques du vivant, l'ARN, les protéines et l'ADN. Il est probable que ces trois molécules sont apparues dans cet ordre, pour aboutir au ménage à trois, caractéristique des cellules modernes.

Bactéries, Archées et Virus sont les formes de vie les plus proches des premiers organismes qui peuplèrent la Terre, il y a environ 3,8 milliards d'années, lorsque les conditions physiques et chimiques y étaient encore « infernales » : température encore élevée, forte irradiation UV, activité volcanique très intense et générale, absence d'oxygène atmosphérique, etc. Ce sont de ces lointains « pionniers », dérivant eux-mêmes d'un ancêtre commun, que se différencièrent les premiers procaryotes, Bactéries et Archées, et plus tard les eucaryotes. Les organismes actuels, appartenant à l'un ou l'autre de ces trois domaines de la vie, dérivent tous de ces premiers colons inconnus. Nous ne devons donc pas nous étonner de trouver chez les procaryotes (après leur si long parcours évolutif) l'« invention » de mécanismes biologiques les plus variés et imaginables (dont beaucoup très probablement toujours à découvrir) leur permettant de fonctionner, de se reproduire et de s'adapter efficacement aux écosystèmes les plus divers.

Microbiologie

Littéralement, la Microbiologie est la science qui étudie les micro-organismes. Mais, comme nous le verrons, la conception moderne (dérivant des développements historiques de la recherche et de l'enseignement) est plus restrictive quant à ses objectifs, qui sont centrés sur l'étude de Bactéries, Archées et Virus. C'est une discipline relativement jeune. Des micro-organismes commencèrent à être observés seulement à partir de 1683 par Anthony van Leeuwenhoek, grâce à son invention du microscope. Ce dernier permit de découvrir un monde auparavant inconnu, qui devait alors changer la perception du monde vivant. Toutefois, deux siècles devront encore s'écouler avant que la microbiologie ne devienne discipline scientifique ; deux siècles durant lesquels il aura fallu démanteler de nombreuses croyances et annihiler le halo d'obscurantisme concernant l'origine de ces organismes. Si, comme le pensent certains historiens de la science, toute discipline suit un parcours en trois grandes périodes, antiquité classique, moyen âge et renaissance, on peut dire qu'il n'en a pas été ainsi de la microbiologie ; ceci non en raison de sa naissance récente par rapport aux grandes périodes de l'histoire, mais paradoxalement par le recul culturel qu'elle va induire ! La découverte des micro-organismes devint, en effet, le bastion dans lequel de nombreux naturalistes et penseurs ravivèrent la théorie aristotélicienne de la génération spontanée, pourtant réfutée par les expériences de Francesco Redi dès 1668. Ce dernier avait montré que les larves qui se formaient sur de la viande en putréfaction étaient issues du développement des œufs que les mouches y avaient déposés, et non d'une transformation de la viande en larves ! Mais pouvait-on appliquer à la prolifération d'« animalcules » observés au microscope dans les infusions et bouillons de viande l'explication donnée pour la génération des larves ? Répondre à cette question fut une tâche difficile et longue. Mais toute la période pendant laquelle les naturalistes y furent engagés fut intellectuellement riche et dynamique, malgré des progrès lents, qui cependant créèrent peu à peu le climat favorable à la naissance de la microbiologie. De nombreuses expériences furent réalisées dans le but de prouver (John Needham 1755, Félix Pouchet 1859, pour n'en citer que deux) ou de rejeter (Charles Bonnet, Lazzaro Spallanzani 1770, parmi tant d'autres) l'hypothèse de la génération spontanée. À cette controverse prirent part Buffon, qui ne considérait ces germes que comme des formes intermédiaires, totalement dépourvues d'intérêt, entre molécules organiques simples et animaux, et à l'opposé Voltaire qui appuiera les résultats obtenus par Spallanzani, et Réaumur qui en 1751 dans son écrit *Lettres à un Américain sur l'histoire naturelle* critique les expériences de Needham. Spallanzani avait en effet montré, dans une expérience bien conçue, que des récipients en verre contenant des infusions ou des bouillons chauffés avant d'être scellés à la flamme (afin que rien de nouveau ne puisse y entrer) ne développaient pas de ces « animalcules ». On lui objecta que la chaleur avait détruit le « fluide vital » nécessaire à leur développement.

L'origine des maladies infectieuses n'avait jusque-là que peu retenu l'attention, même après la découverte des micro-organismes. Il faut toutefois citer quelques brillantes intuitions du passé. Durant la Renaissance, le savant Girolamo Fracastoro fit l'hypothèse que des *seminaria*, organismes vivants invisibles, étaient responsables des maladies. Ces *seminaria* se transmettraient par contact direct ou *via* des matériaux ou l'air. Son traité *De contagione et contagiosis morbis et curatione*, de 1546, trop novateur (le microscope sera inventé un siècle plus tard) par rapport aux doctrines mystiques de Paracelse, fut vite oublié. Trois siècles après, l'explication de l'origine des maladies infectieuses est encore inconnue, mais elle commence à s'enrichir de contributions novatrices. En 1847, Philippe Semmelweis attribuait la fièvre puerpérale, qui se manifestait dans les maternités, à des contaminations propagées par les jeunes médecins qui, après avoir pratiqué des dissections, se rendaient directement dans les salles de maternité. Il postulait que le contact de leurs mains, souillées des exsudats des cadavres, transmettait aux parturientes « des particules cadavériques invisibles ». En obligeant les médecins à se laver les mains, idée très mal accueillie à l'époque, et à adopter d'autres précautions similaires, Semmelweis devenait un précurseur de la prophylaxie. Deux ans après, John Snow soutenait que le choléra se transmettait d'un malade vers une

personne saine par l'intermédiaire de quelque « poison » pouvant se propager même si la distance entre les deux était assez grande. Il parvenait à l'hypothèse que l'eau pouvait être la voie de transmission du poison, lequel une fois dans l'individu sain pouvait s'y multiplier et propager la maladie. Cette longue période d'obscurantisme et de brillantes intuitions trouve sa fin avec les grands travaux de Louis Pasteur et de Robert Koch, dans la seconde moitié du XIX^e siècle. En 1864, Pasteur démontre que ce sont les germes présents dans l'air qui modifient les liquides contenant de la matière organique, mettant fin à la théorie de la génération spontanée. Sa communication sur « La théorie des germes » en 1878, et la formulation par Robert Koch en 1880 des postulats sur l'origine bactérienne des maladies infectieuses, sont les fondements solides sur lesquels va s'ériger la microbiologie.

Les découvertes de Pasteur couvrent de nombreux domaines de la microbiologie. Sa thèse sur la « dissymétrie moléculaire des produits organiques » inaugure la stéréochimie. Ses deux mémoires, l'un sur la fermentation lactique, l'autre sur la fermentation alcoolique (1857), sa découverte qu'à chaque fermentation correspond un ferment particulier, et ses travaux sur les maladies du vin et de la bière, le conduiront en 1865 à l'invention de la pasteurisation. Avec l'introduction de levures sélectionnées dans le moût préalablement pasteurisé pour améliorer la bière, il donne naissance à la microbiologie industrielle. Entre 1877 et 1881, il découvre de nombreux pathogènes (vibron septique, staphylocoque, streptocoque, bacille du choléra des poules, pneumocoque). Avec l'atténuation de cultures de pathogènes (du choléra des poules, du charbon et de la rage), il découvre la vaccination. Sa *Théorie des germes* contient les fondements de l'origine des maladies infectieuses.

L'autre grand pionnier de cette époque est Koch. Son œuvre et celle de ses collaborateurs, vouées surtout à l'identification des bactéries pathogènes et aux moyens de lutte et de prévention des infections, seront déterminantes dans l'émergence de la bactériologie médicale. On doit à son école le développement des principales techniques de bactériologie (l'invention de milieux de culture solides gélosés, des boîtes de Petri, des techniques d'isolement bactérien et de cultures pures). Il est difficile d'imaginer une génétique bactérienne sans ces instruments et technologies. Avec l'aide d'une quinzaine de collaborateurs, il identifie, entre 1882 et 1898, les bactéries responsables de quatorze pathologies infectieuses, dont la tuberculose, la peste, la diphtérie, la dysenterie aiguë, etc.

Ces deux savants, par leurs différences de personnalité et de formation, auront une influence décisive sur leurs nombreux élèves, et seront à l'origine de la formation de deux écoles de pensée.

La microbiologie du début du XX^e siècle, en raison de l'hétérogénéité des organismes étudiés, protozoaires, algues, champignons, Bactéries (les Archées seront découvertes bien plus tard), virus, est constituée de nombreuses sous-disciplines (bactériologie, mycologie, virologie, parasitologie, etc.) ayant en commun la structure unicellulaire des organismes étudiés et les méthodologies d'investigations (microscopie, cultures cellulaires, stérilité, etc.). Les progrès croissants de l'étude des bactéries pathogènes vont spécialiser une partie de la microbiologie en d'autres branches, immunologie, épidémiologie, chimiothérapie antibactérienne. Directement issue des études de Pasteur sur la fermentation et des connaissances du métabolisme bactérien, prend naissance la microbiologie industrielle. On voit naître aussi une microbiologie environnementale. Les techniques nouvelles de séquençage de l'ADN et de traitement informatique des séquences sont à la base d'une résurgence de l'intérêt porté aux micro-organismes, non pas tant au niveau fonctionnel d'une espèce donnée qu'au niveau des populations naturelles et de leur biodiversité. Cette approche « réactivée » renoue avec les travaux initiés dès la fin du XIX^e siècle par des chercheurs tels que Sergueï Winogradsky et Martinus Beijerinck.

Vers les années 1950, l'idée novatrice est d'attribuer le statut d'organisme modèle aux bactéries et à leurs virus : tous les phénomènes biologiques devaient ainsi pouvoir être expliqués en extrapolant à partir

des résultats obtenus chez ces organismes « simples ». Cette conception constitua une vraie révolution. Jusqu'aux années 1940, en effet, nombreux étaient ceux qui pensaient encore que les bactéries (c'est-à-dire les procaryotes) étaient dépourvues d'hérédité génétique. L'application à ces organismes des principes de la génétique signifiait leur reconnaître une hérédité, comme à tout organisme vivant. Un autre ferment est issu des idées d'un groupe de physiciens attirés par les phénomènes du monde vivant : ces chercheurs étaient convaincus que l'explication du mode de propagation des virus bactériens à partir d'une bactérie infectée par une de ces particules, laquelle en produisait des centaines après quelques dizaines de minutes, devait permettre de découvrir de nouvelles lois de la physique. Ce ne fut pas le cas, mais néanmoins ce groupe (appelé plus tard « le Groupe du Phage »), par ses concepts, ses méthodologies, sa rigueur expérimentale, sa méthode d'analyse, deviendra un élément catalyseur qui transformera la microbiologie en une science quantitative, puis « moléculaire ». Ce sont *Escherichia coli* et ses virus, et une poignée d'autres bactéries, qui serviront de modèles d'études ; et c'est par l'étude de ces modèles que pendant une vingtaine d'années, on verra s'accumuler les plus importantes découvertes de la biologie : la confirmation de la nature du matériel génétique, sa structure, le code génétique, le mécanisme et les acteurs de la réplication de l'ADN, l'expression de l'information génétique et sa régulation, la synthèse protéique, les mécanismes moléculaires de la recombinaison et de la réparation de l'ADN, et tant d'autres. Les découvertes de ce domaine, et les concepts qui en ont découlé, auront une influence dans l'étude non seulement des procaryotes en général (Bactéries et plus tard Archées), mais aussi dans le domaine des eucaryotes et de leurs virus, dont le développement des connaissances va subir une forte accélération.

La microbiologie, dès les années 1970, connut sa seconde grande révolution avec la découverte des enzymes de restriction, qui eut pour conséquence le séquençage de l'ADN et le développement du génie génétique. Il devint possible de déchiffrer les messages de génomes entiers (y compris d'eucaryotes), et de les manipuler pour mieux comprendre les processus cellulaires, ou dans des buts appliqués. La microbiologie bénéficie petit à petit, en retour, de nombreuses connaissances et technologies dérivées de l'étude des eucaryotes, ouvrant de nouveaux horizons sur la complexité et la diversité de structure des cellules bactériennes, puis de celles des Archées. De l'idée d'une structure et d'une organisation simples de la cellule bactérienne, dérivant surtout des images offertes par la microscopie optique et de l'approche réductionniste de la décennie précédente qui réduisait conceptuellement toute cellule procaryote au modèle *E. coli*, on découvrira peu à peu la diversité et l'hétérogénéité des procaryotes, aboutissant à la distinction de deux domaines, les Bactéries et les Archées qui présentent à la fois des aspects communs et d'autres fortement distincts. On commencera aussi à découvrir que la distance séparant eucaryotes et procaryotes est plus ténue qu'initialement envisagé. Encore plus proche de nous, la convergence entre mathématiques, informatique, physique et biologie, à la base des sciences dites « omiques », permet d'analyser l'entièreté d'un génome, tous ses transcrits et ses protéines ; la régulation de son expression peut être abordée *in silico*. Les banques de données informatiques permettent de comparer aisément les données relatives à un organisme avec celles disponibles pour d'autres organismes, d'établir des relations phylogéniques entre familles de protéines, et de perfectionner les connaissances sur « l'arbre de la vie ». La génomique fonctionnelle (métagénomique, métaprotéomique et génomique environnementale), grâce à l'application de nouveaux algorithmes, permet des études prédictives (identification de nouveaux gènes, déterminations fonctionnelles et expression). Le séquençage de tout ou partie de l'ADN « total » d'un échantillon contribue à l'identification et à l'étude de nombreuses espèces procaryotes sans le recours, souvent encore non maîtrisé et techniquement lourd, à l'isolement préliminaire et à la culture du/des organismes constitutifs de cet échantillon. Les récentes technologies dites de *single cell*, d'une puissance sans égal, rendent possibles le séquençage génomique et l'étude d'un organisme difficilement ou non cultivable en conditions de laboratoire.

Avec ces nouveaux instruments, la microbiologie de demain est déjà là. Il sera possible d'identifier de nouvelles protéines, d'en prédire la fonction grâce à l'analyse bio-informatique, de découvrir les mécanismes intimes de leurs interactions et de leur distribution à l'intérieur de la cellule, et de leurs assemblages en structures complexes et en machineries fonctionnelles. Cependant l'approche « génétique classique » a des beaux jours devant elle, car elle seule, *via* l'étude de mutants, permettra, pendant encore longtemps, d'associer un rôle physiologique à la myriade de protéines dites « sans fonction connue » découvertes grâce aux nouvelles approches « omiques ». L'étude et l'exploitation de l'énorme biodiversité du monde procaryote complétera nos connaissances sur ces organismes et leur évolution, et permettra de pénétrer encore plus en profondeur dans le « mystère » de l'origine de la vie. Les applications de ces connaissances dans le domaine des biotechnologies et de la biologie de synthèse sont une riche mine, qu'il faut tenter d'exploiter avec une plus grande efficacité. Et aussi la plus grande prudence.

Ce livre a été rédigé pour répondre aux exigences actuelles de l'enseignement supérieur. La Microbiologie est présente depuis longtemps dans l'enseignement supérieur français. Celui-ci a évidemment subi de nombreux « remaniements » inhérents à l'évolution des connaissances. Actuellement, hors les enseignements de spécialités correspondant au master 2^e année, l'enseignement de la microbiologie est placé, dans la majorité des universités françaises, à divers niveaux des cursus de licence et de master 1^{re} année. Malgré ces disparités, il englobe un tronc commun de connaissances que notre livre s'est donné pour but de couvrir, bien sûr, tout en essayant de transmettre le plaisir de découverte qui a accompagné le développement de cette discipline.

La microbiologie des procaryotes et de leurs virus y est abordée en s'appuyant sur l'aspect unitaire que permet l'approche moléculaire. Outre la description de la structure et du fonctionnement de ces cellules et de leurs virus, une place importante a été accordée à la description des mécanismes d'adaptation de ces organismes à l'environnement, révélant leur grande diversité. À côté des méthodologies d'études classiques de la génétique bactérienne, et de la richesse de leur contribution, celles utilisant les approches moléculaires et les concepts modernes, les résultats récents et les tendances de la recherche actuelle y sont présentés. Un chapitre est dédié aux retombées appliquées, actuelles et/ou prévisibles, telle la biologie synthétique, de l'étude des procaryotes.

Dans la majorité des cas, nous avons choisi de présenter les aspects concernant les Archées en fin de chapitre, ceci d'une part afin de rendre plus évidentes leurs spécificités, et d'autre part parce que leurs découvertes récentes font que l'historique de leur étude, basée largement sur les méthodes *in silico*, est totalement différent, et le niveau des connaissances encore souvent limité. L'emploi du terme procaryote se réfère, selon les cas, à ce qui est commun aux organismes des deux domaines Archées et Bactéries, et dans d'autres cas à ce qui les distingue des eucaryotes.

Pour ne pas alourdir le texte sans priver le lecteur d'un certain nombre d'aspects (méthodologies de laboratoire, développements et démarches scientifiques historiques, biographies) ou d'approfondissements (recherches ou technologies récentes), des compléments Web ont été conçus. Vous trouverez ainsi sur *dunod.com*, sur la page de présentation de l'ouvrage, des compléments d'information, ainsi que des petits documents techniques filmés. Outre une liste d'ouvrages ou d'articles assez généraux proposée pour chaque chapitre (bibliographie complémentaire), une liste de références (articles ou ouvrages mentionnés dans les chapitres) est aussi disponible à cette adresse.

Les auteurs espèrent que ce livre répondra à la demande des lecteurs (étudiants, ingénieurs, ou curieux de toutes sortes), et leur souhaitent autant de plaisir à sa lecture, qu'ils en ont eu à sa conception.

LISTE DES RELECTEURS



Christophe BELOIN, directeur de recherche au CNRS

Damien BREGEON, maître de conférences à l'université Pierre et Marie Curie, Paris

Marie-Pierre CASTANIE-CORNET, maître de conférences à l'université Paul Sabatier, Toulouse

Sarah DUBRAC, chargée de recherches à l'Institut Pasteur

Fanette FONTAINE, maître de conférences à l'université Paris Diderot

Hélène DAUCHEL, maître de conférences à l'université de Rouen, Normandie Université

Patrizia GHELARDINI, responsable de recherches à l'Istituto di Biologia, Medicina Molecolare e Nanobio-technologie, Centro Nazionale delle Ricerche, Roma

Françoise JOSET, professeur honoraire de l'université Aix-Marseille II

Imad KINSAU, professeur à l'université Paris Sud

Nicholas LINDLEY, directeur de recherches au CNRS

Isabelle MARTIN-VERSTRAETE, professeur à l'université Paris Diderot

Victor NORRIS, professeur à l'université de Rouen

Philippe ROUSSEAU, maître de conférences, université Paul Sabatier, Toulouse III

Marc UZAN, directeur de recherche au CNRS

Cheng-Cai ZHANG, professeur à l'université Aix-Marseille

REMERCIEMENTS



Cet ouvrage est le fruit d'une collaboration harmonieuse et enthousiaste entre les auteurs, les membres du comité de lecture et l'éditeur, que nous tenons à remercier ici.

Nous savons gré à M. Philippe Sansonetti de sa disponibilité pour lire, commenter et préfacier cet ouvrage.

Toute notre gratitude va aussi à M^{me} Patrizia Ghelardini pour avoir réalisé la majeure partie de l'iconographie, et à M^{me} Lucia Grenga pour la réalisation des vidéos techniques. Nul doute que l'une comme l'autre de ces contributions participent fortement à la clarté de l'ensemble de l'ouvrage.

Nous sommes très reconnaissants au comité éditorial de Dunod, en particulier M^{me} Laetitia Hérin pour ses conseils sans lesquels ce livre n'aurait peut-être pas vu le jour, et M^{me} Vanessa Beunèche pour sa compétence, sa disponibilité et sa patience. Nous avons eu plaisir à travailler avec ces deux personnes.

Enfin un vif remerciement doit être adressé à M^{me} Françoise Joset, pour son soutien et son inestimable collaboration durant toutes les phases de la réalisation de cet ouvrage. Son expérience d'enseignante de génétique bactérienne et de microbiologie dans les universités de Paris-Sud, puis Tours et Aix-Marseille, s'est avérée précieuse à plus d'un titre : une révision rédactionnelle parfois assez complexe et extrêmement minutieuse, tant du texte que des figures a sans nul doute rendu plus homogène les chapitres issus de différents auteurs ; en outre, une lecture critique approfondie a permis de rendre plus clair l'exposé de certaines données scientifiques.

Luciano PAOLOZZI, Jean-Claude LIÉBART

Partie I

Les Procaryotes

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 six milliards 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, de physiologie et de 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 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. 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 est probablement de plusieurs millions (Chap. 3). Seul un (très) petit nombre d'espèces, voire de souches, ont été étudiées, essentiellement dans des conditions de laboratoire, c'est-à-dire totalement artificielles et largement simplifiées par rapport aux habitats naturels. 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. Leur relative simplicité a fait des génomes procaryotes les premiers à aider à l'élucidation des mécanismes moléculaires fondamentaux du monde vivant. Les connaissances acquises sur ces génomes (structure, organisation et fonctionnement, processus de leur évolution) sont d'une importance fondamentale pour comprendre l'essence de la vie, et son origine. En outre, elles sont potentiellement riches en retombées dans des secteurs très variés, de la médecine aux diverses biotechnologies, y compris la biologie synthétique, le grand défi de la biologie du XXI^e siècle.

STRUCTURES CELLULAIRES

CHAPITRE 1

La diversité des cellules procaryotes est connue depuis longtemps : ainsi en 1683, Anthony van Leeuwenhoek, dans une lettre adressée à l'Académie Royale de Londres, décrivait l'invention du microscope et en illustrait les observations qu'il 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 aux procaryotes. Ce document, plutôt méconnu à son époque, eut le grand mérite, outre l'invention 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 de formes et de structures s'ajoutent des différences génétiques, biochimiques et physiologiques, en relation avec les styles de vie leur permettant de coloniser des niches très variées. Des cellules vivant à 100 ou à 0 °C, à pH très acide ou alcalin, ou dans tant d'autres conditions, ont dû développer des moyens d'adaptation à ces différents habitats (Chap. 2 ; 4).

La diversité des cellules procaryotes et leur colonisation de la planète sont le résultat de milliards d'années d'évolution. On trouve des procaryotes non seulement partout où les conditions physico-chimiques et nutritionnelles sont aptes à la vie des organismes multicellulaires, animaux et végétaux, mais aussi là où la vie de ces derniers est impossible (Web 1 Fiche 1.1). De nombreuses Bactéries vivent au contact, ou à l'intérieur, d'autres organismes (végétaux ou animaux), avec lesquels elles contractent des rapports de différents types. Selon le(s) bénéficiaire(s) de l'association, ceux-ci sont désignés par les termes de symbiose, commensalisme, saprophytisme et parasitisme (Web 1 Fiche 1.2) (Chap. 17). Les procaryotes sont donc nombreux et ubiquitaires. Leurs modes de dissémination sont le vent et l'eau, et accessoirement d'autres organismes. 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 en 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 (Chap. 3), ceci n'incluant pas les virus. 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 (protozoaires, animaux et végétaux), outre la présence du noyau, ont de nombreux autres caractères absents chez les procaryotes. Ces trois domaines auraient divergé en deux temps à partir d'un ancêtre commun, dans deux directions, l'une conduisant aux Bactéries,

l'autre aux Archées (avec deux phylums majeurs, les Euryarchées et les Crenarchées) puis aux eucaryotes. 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 CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES

La présentation, classique, de l'organisation et de la structure des cellules procaryotes sous forme de comparaison avec celles des eucaryotes (Web 1 Fiche 1.3), se justifie par le fait que ces dernières ont été historiquement les premières bien définies, en raison de leurs plus grandes dimensions. Des caractéristiques présentes chez les eucaryotes sont souvent absentes chez les procaryotes ; certaines, en revanche, considérées il y a encore peu comme exclusives des eucaryotes, ne le sont plus suite à l'acquisition de données obtenues grâce à de nouvelles approches. La première est l'examen d'organismes procaryotes auparavant inconnus, ou connus mais non explorés pour diverses raisons (difficulté intrinsèque d'étude, intérêt théorique ou pratique considéré comme limité). Une autre source de données résulte de l'exploitation des approches de la biologie moléculaire, de la bio-informatique et de techniques de microscopie de plus en plus élaborées, permettant de surmonter les difficultés créées par les dimensions réduites de ces organismes.

La nature procaryote d'un organisme peut être schématisée en quatre points (fig. 1.1) : (i) la présence d'une paroi, partie d'une structure multistratifiée complexe, l'enveloppe ; (ii) l'absence de membrane nucléaire ; (iii) l'absence de membranes internes dans le cytoplasme, à l'exception des Planctomycètes ; (iv) certaines caractéristiques des constituants du cytoplasme.

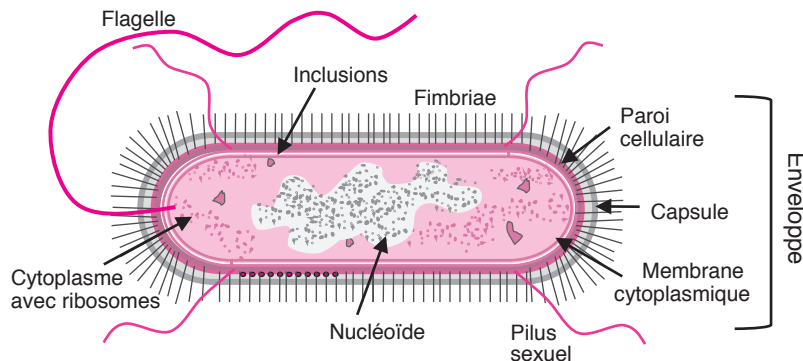


Figure 1.1 – Structure et organisation d'une cellule procaryote.

L'enveloppe est constituée d'une membrane (membrane interne, ou cytoplasmique, MI), et à l'extérieur de celle-ci de la paroi, une structure essentielle des procaryotes, qui définit leur forme et assure l'intégrité cellulaire (§ 1.3.1). Cette structure est formée d'un polymère complexe, le peptidoglycane (ou muréine) chez les Bactéries, ou pseudomuréine chez certaines Archées. Chez les eucaryotes, seules les algues possèdent une structure pariétale, de nature pectocellulosique. Chez de nombreuses classes de Bactéries (les Gram⁻) et chez une seule Archée actuellement connue (§ 1.3.2), la paroi est entourée d'une membrane externe. Chez de nombreuses Bactéries, à l'enveloppe s'ajoute un autre revêtement, la capsule, constituée de polysaccharides très hydratés, qui joue un rôle protecteur important (§ 1.3.2). Sur la surface de la paroi sont présentes un certain nombre de structures ayant différents rôles (§ 1.3.2).