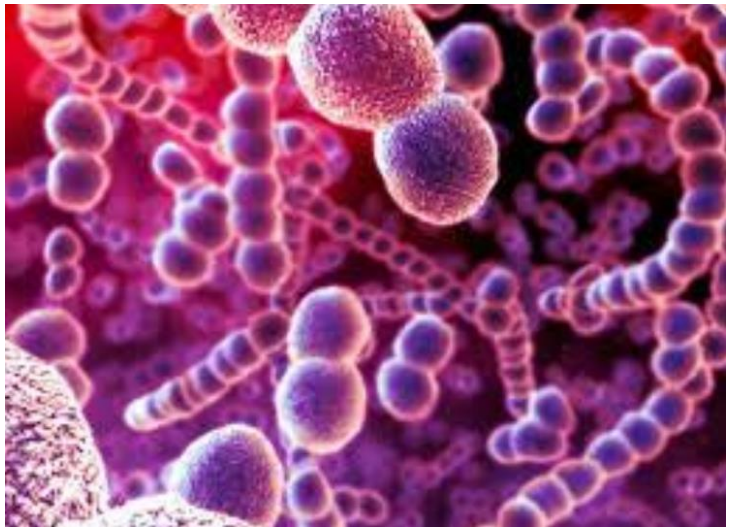
Filière science de la vie (S_3)



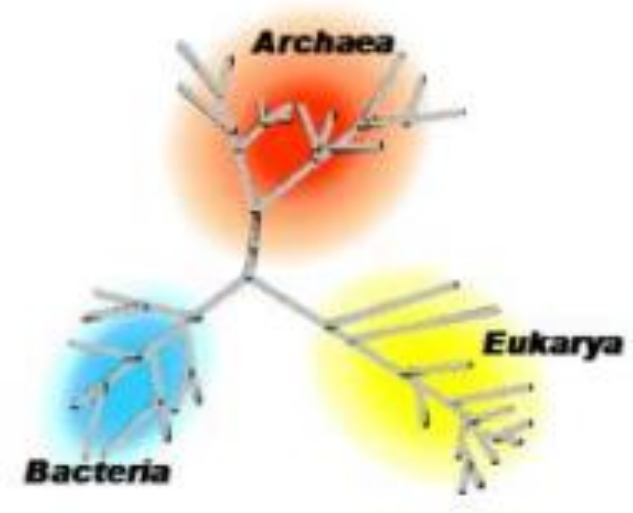
Module:

« Microbiologie Générale »



3. Les Bacteria et Archaea

Les *Archaea* - le troisième domaine du vivant



Notions à retenir

-les Archées sont des procaryotes unicellulaires

-les Archées ne sont pas des bactéries

-les Archées ne sont pas que des bêtes exotiques vivant dans des conditions extrêmes dans des endroits inaccessibles et uniques (sources chaudes, fond d'océan).

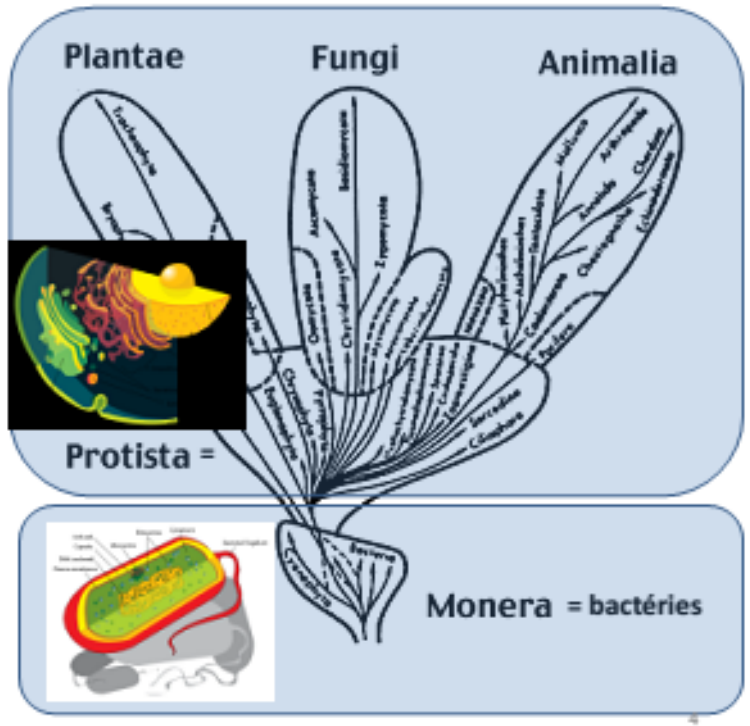
- elles sont partout et représentent jusqu'à 20% des procaryotes en biomasse ;

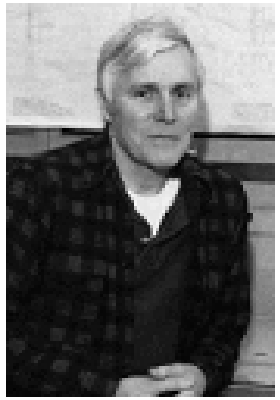
La découverte des Archaea (archées, archéobactéries)

Les classifications du vivant au XX siècle – classification de Robert Whittaker (1969)

Cinq règnes du vivant représentant 2 mondes

eucaryotes et procaryotes





Woese is currently a professor of Microbiology University of Illinois at Urbana-Champaign.

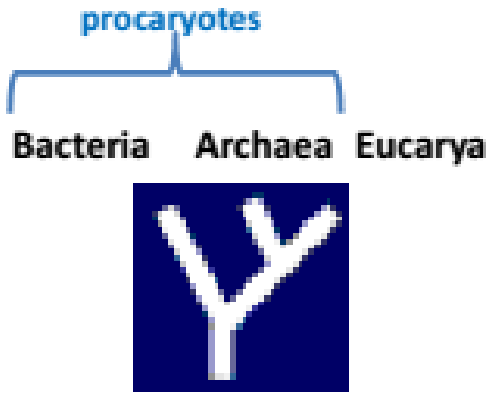
Trois domaines du vivant de Carl Woese

« the Woesian Revolution »

1977-1990

-nouvel arbre du vivant basé sur la phylogénie moléculaire

- **trois** domaines de la vie
- **découverte des Archaea**



ancêtre commun universel

5

Questions à poser

- **pourquoi les Archées n'ont-elles pas été découvertes plus tôt ?**
- **comment ont-elles été découvertes?**

3 groupes de procaryotes connus depuis longtemps et mal classifiés

Par leur phénotype

-petites cellules; - pas de noyau; - pas d'organites

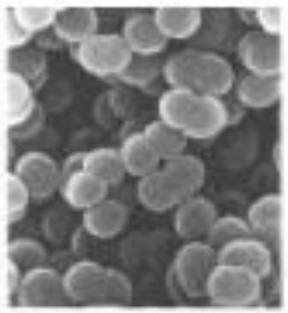
ils ressemblent aux procaryotes typiques et ne peuvent pas être distingués des bactéries

les méthanogènes

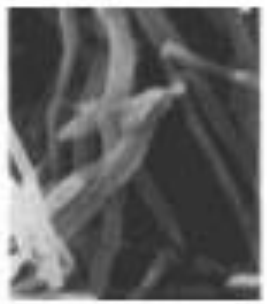


Methanobrevibacter

les halophiles



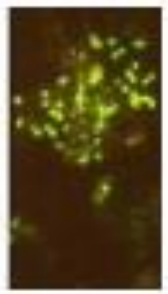
Halococcus



Halobacterium

les extrêmophiles



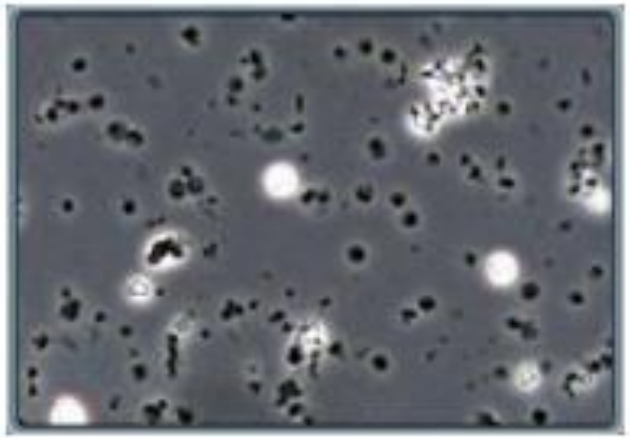


Sulfolobus acidocaldarius
60-95°C pH 1-5

en réalité, ce ne sont pas des bactéries mais des Archées (Archaea)

7

L'observation au microscope ne permet pas de constater la différence entre les vraies bactéries et les archées



Une archée hyperthermophile, *Sulfolobus solfataricus*

La découverte du méthane – gaz combustible – par Alessandro Volta en 1776 – Lac Majeur



le gaz est produit par une « bactérie » appelée méthanogène et habitant dans les marais

10

Les méthanogènes: une biodiversité extraordinaire

Habitats variés:

- **eaux stagnantes (marais, station d 'épuration)**
- **sol**
- **lacs salés**
- **zones volcaniques**
- **sédiments sous-marins des sources chaudes**
- **tractus intestinal des mammifères (homme inclus)**

Modes de vie très variés:

- **adaptation à la salinité**
- **adaptation à toutes les températures**

Methanogenium frigidum (15°C)

Methanopyrus, 100°C

11

Les méthanogènes: comme leur nom l'indique…

… ce sont les seuls organismes sur Terre à produire du méthane:

méthanogenèse

$$CO_2 + 4H_2 = CH_4 + 2H_2O$$

réduction du CO_2 ou des substrats méthylés
en utilisant l'hydrogène comme donneur d 'e-

CONDITIONS: anaérobie stricte; une réductase avec des coenzymes uniques contenant le Ni^{2+}

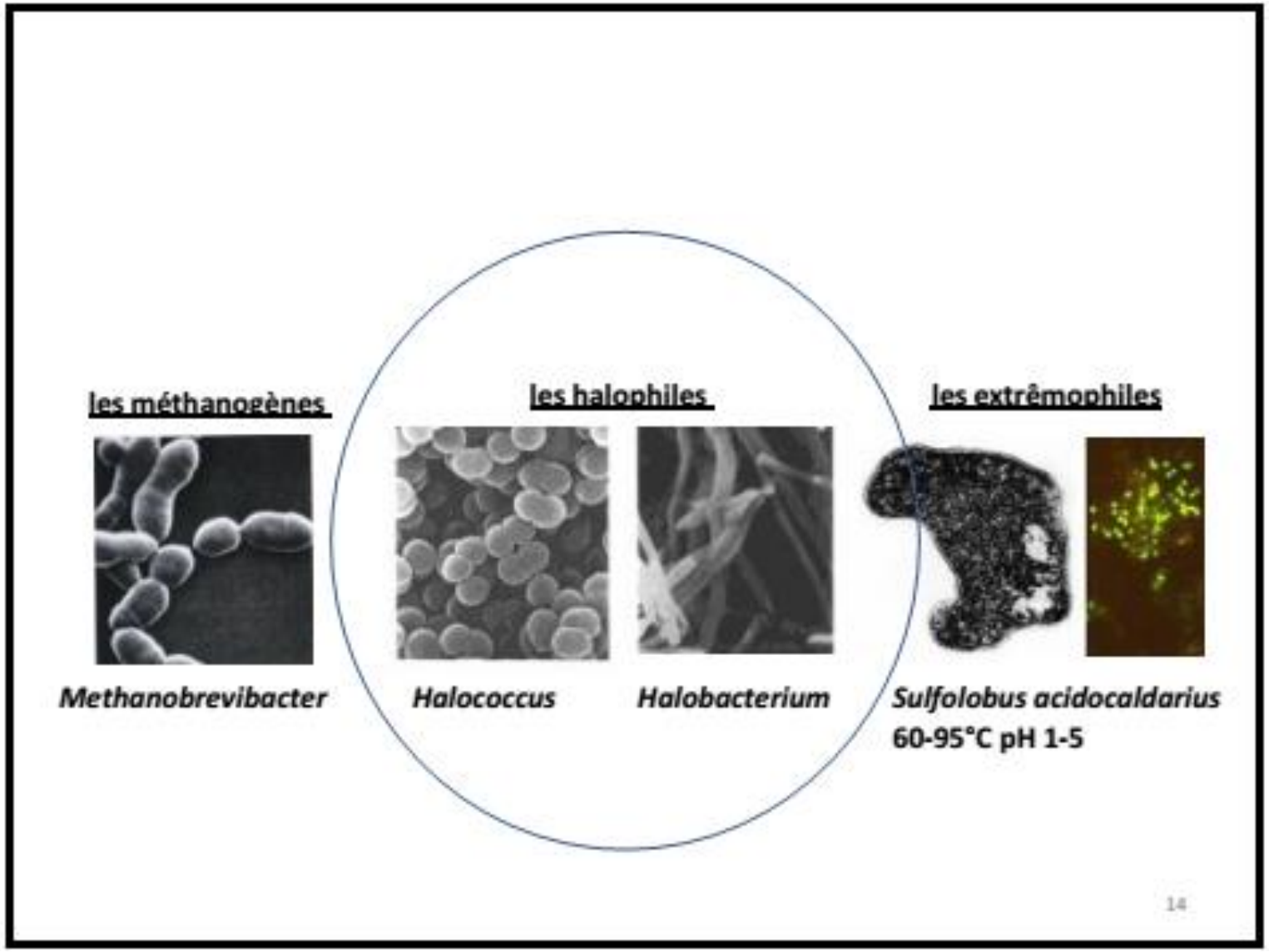
12

Conclusion

l'étude phénotypique et métabolique des méthanogènes ne permettait pas de mettre en évidence leur différence par rapport aux autres bactéries

Alors – les méthanogènes, sont elles tout simplement des bactéries bizarres?

13


les méthanogènes
les halophiles
les extrêmophiles
Methanobrevibacter
Halococcus
Halobacterium
Sulfolobus acidocaldarius
60-95°C pH 1-5
14

Les halophiles sont parmi les premiers extrêmophiles connus

Les extrêmophiles sont des organismes capables de vivre dans des conditions de température, pression , salinité, acidité, rayonnement… extrêmes, qui seraient mortelles pour la majorité des êtres vivants.

Un **organisme halophile** (du grec *alos*, sel et *philein*, aimer)
est un organisme qui a un besoin absolu de fortes concentrations en sel pour vivre

Procaryotes

- *Halobacterium*
- cyanobactérie *Aphanothece halophytica*

Eucaryotes

- une algue verte *Dunaliella salina*

15

Les extrêmes halophiles - habitat

TABLE 17.1 Ionic composition of some highly saline environments

Ion	Concentration (g/l)			
	Great Salt Lake	Dead Sea	Typical soda lake	Seawater (for comparison)
Na^+	105	40.1	142	10.6
K^+	6.7	7.7	2.3	0.38
Mg^{2+}	11	44	<0.1	1.27
Ca^{2+}	0.3	17.2	<0.1	0.40
Cl^-	181	225	155	18.9
Br^-	0.2	5.3	—	0.065
SO_4^{2-}	27	0.5	23	2.65
HCO_3^- or CO_3^{2-}	0.7	0.2	67	0.14
pH	7.7	6.1	11	8.1



Great Salt Lake, Utah, USA



La Mer morte



Marais salants, Californie

16

Les procaryotes extrêmes halophiles

Type trophique : chimioorganotrophes - acides aminés , acides organiques

Respiration: aérobes obligatoires

Division cellulaire: fission binaire; pas de noyau – procaryotes typiques

Capacité de mouvement : motiles



Haloferax sulfurifontis



Halobacterium

17

Conclusion

les études phénotypiques et métaboliques de certains halophiles ne permettaient pas de mettre en évidence leur différence par rapport aux autres bactéries

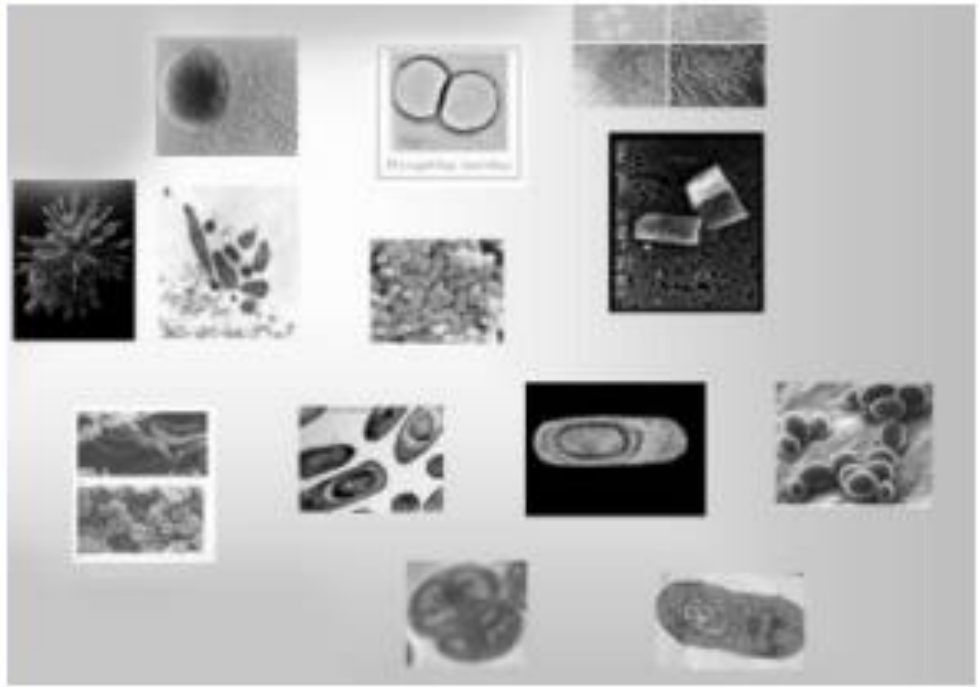
Alors – tous les procaryotes halophiles, sont elles tout simplement des bactéries bizarres?

18

La taxonomie classique des microorganismes est difficile et inexacte…

Les critères sont

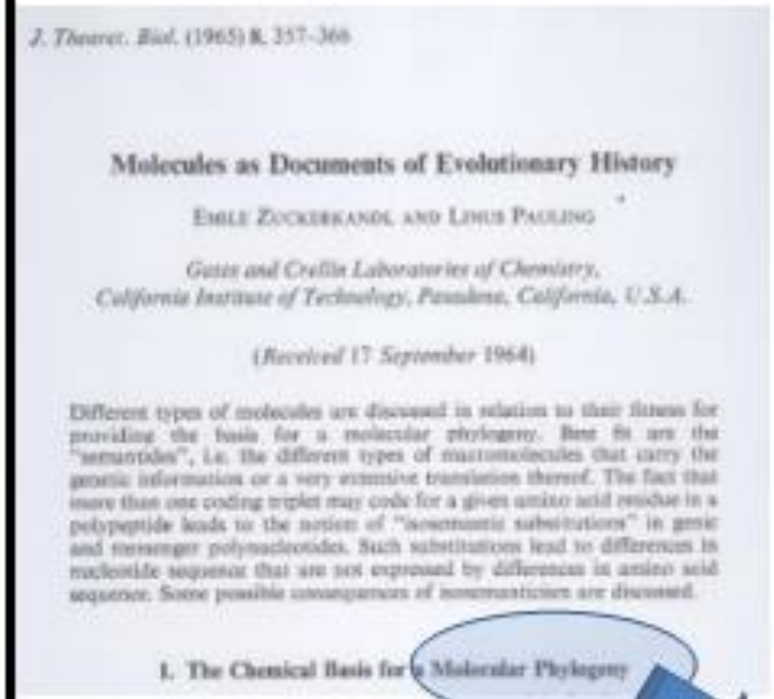
- morphologie
- coloration
- métabolisme
- habitat
-- autres ??



… et ne reflète pas l'évolution réelle du monde des procaryotes

19

Les macromolécules, témoins de l'évolution



J. Theoret. Biol. (1965) 8, 357-366

Molecules as Documents of Evolutionary History

EMILE ZUCKERKANDL AND LINUS PAULING

Gates and Crellin Laboratories of Chemistry,
California Institute of Technology, Pasadena, California, U.S.A.

(Received 17 September 1964)

Different types of molecules are discussed in relation to their fitness for providing the basis for a molecular phylogeny. Best fit are the "semantides", i.e. the different types of macromolecules that carry the genetic information or a very extensive translation thereof. The fact that more than one coding triplet may code for a given amino acid residue in a polypeptide leads to the notion of "isosemantic substitutions" in genic and messenger polynucleotides. Such substitutions lead to differences in nucleotide sequence that are not expressed by differences in amino acid sequence. Some possible consequences of isosemanticism are discussed.

1. The Chemical Basis for a Molecular Phylogeny

L'idée de comparer les séquences des macromolécules pour retracer l 'évolution date de 1965

(Emile **Zuckerkandl**, Linus **Pauling**)

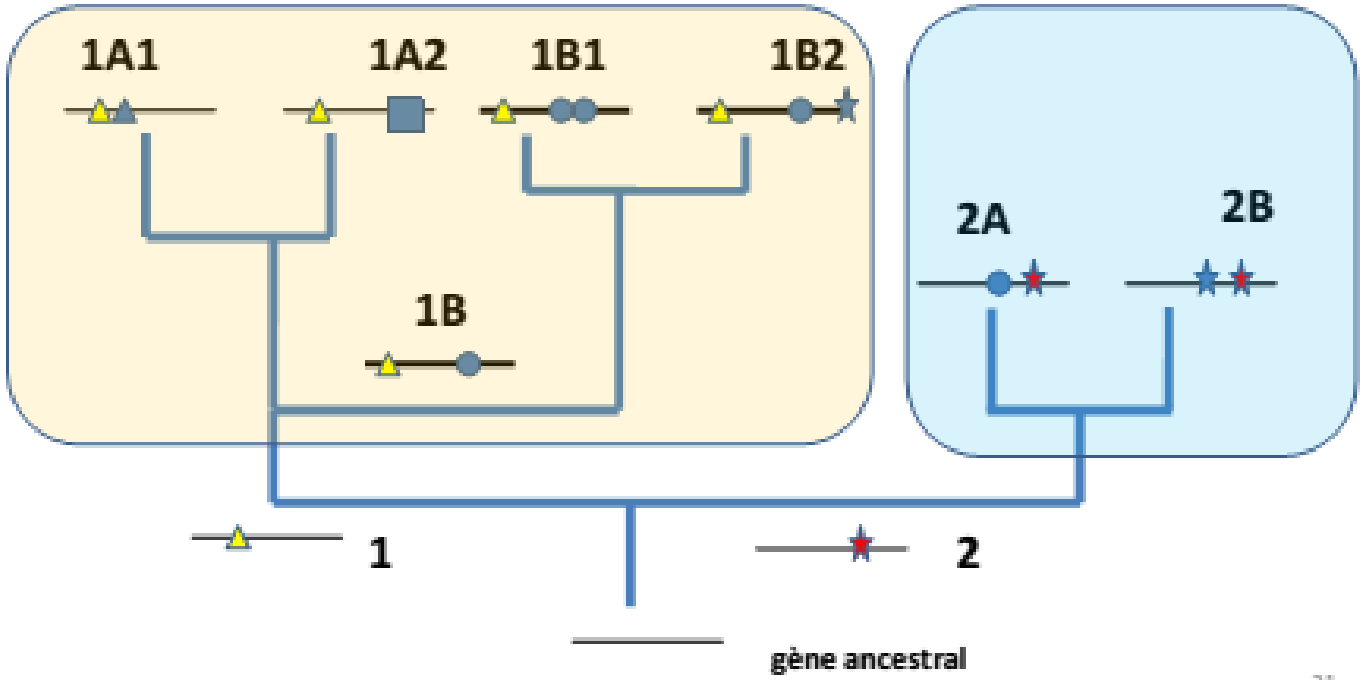
nouvelle approche – la phylogénie moléculaire basées sur l'analyse de séquences des gènes

20

L'ADN en tant que mémoire de l'évolution

- les gènes ont une histoire commune car ils descendent d'un même ancêtre.

- l'analyse de rares changement dans la séquence d'ADN codant permet de construire un arbre phylogénique



21

Les macromolécules, témoins de l'évolution



Temps → **histoire évolutive**

ancêtre commun

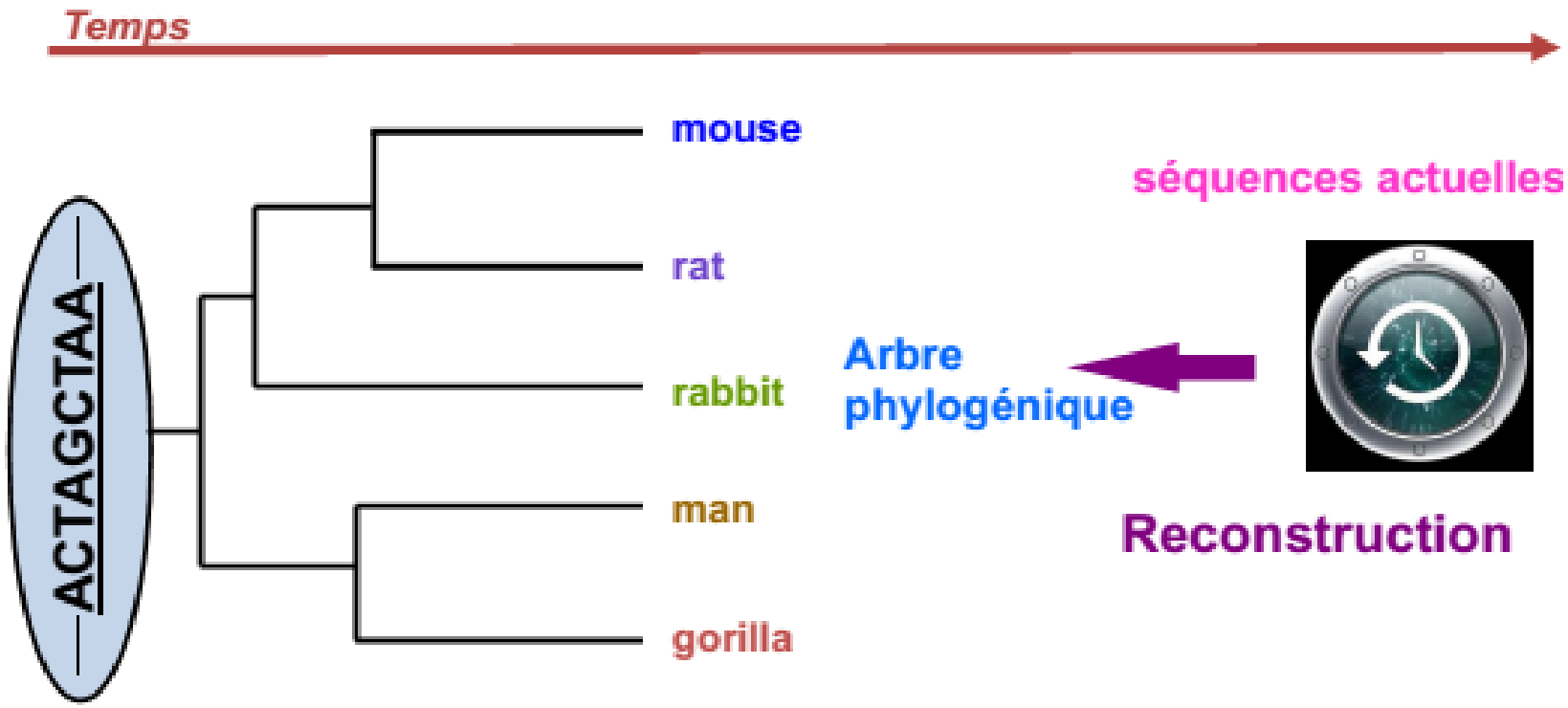
ACTAGCTGA

mouse	ACcAGCTAA
rat	ACTAGCTAA
rabbit	AgTAGCTAA
man	ACTTGtTGA
gorilla	ACTTGaTGA

séquences actuelles

Selon l'hypothèse de l'horloge moléculaire, les mutations génétiques s'accumulent dans un génome à une vitesse globalement proportionnelle au temps géologique écoulé après la séparation d'espèces issues du même ancêtre commun

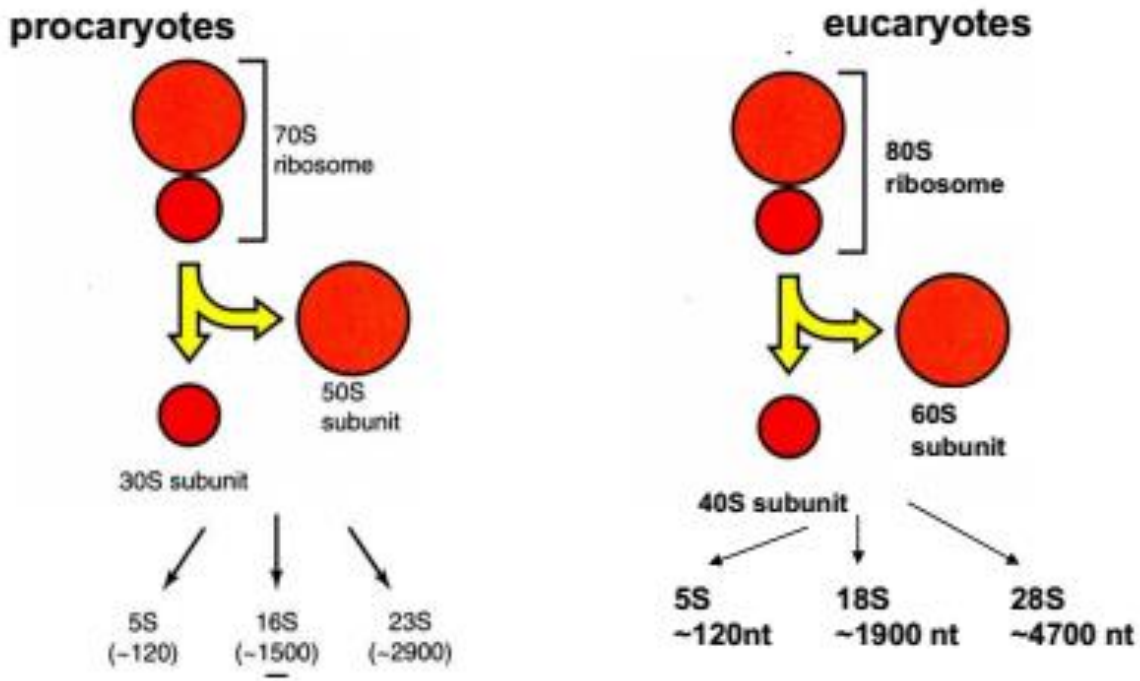
Phylogénie moléculaire – une machine à remonter le temps



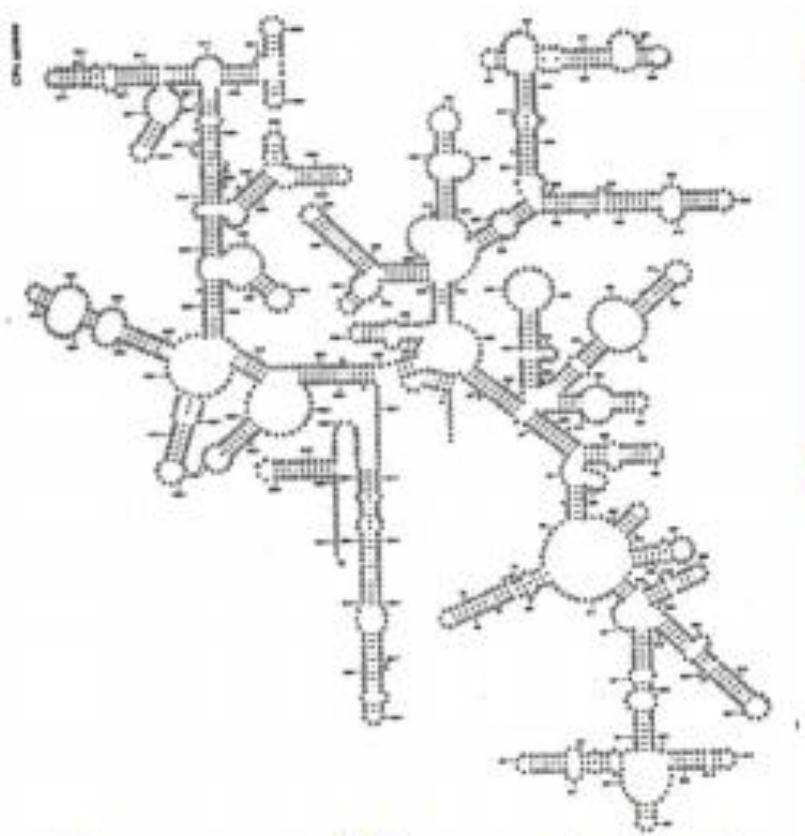
L'arbre phylogénique construit même avec un seul gène reflète l'histoire naturelle des espèces

Phylogénie moléculaire des grands groupes – avec quel(s) gène(s)?

les ARN ribosomaux - ubiquitaires (toutes les cellules possèdent des ribosomes)
- essentiels (message non saturé)
- et longs (contiennent suffisamment d'information)



ARN 16S (ou 18S) – le choix idéal



ARN 16S – 1400 - 1500 nt
(18S chez eucaryotes -1900 nt)

- **plus riche en information que le 5S – 120-130 nt**

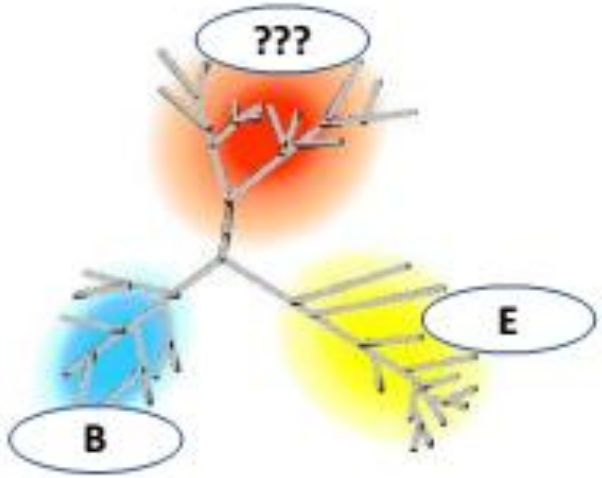
-**plus facile à étudier que le 23S – ~3000 nt**

Pour comparer il faut connaître les séquences de ARN 16S venant de plusieurs espèces

« Il existe trois grands types d'ARN 16S (et donc 3 type de ribosomes) sur Terre »



Carl Woese, 1977



1 - E –eucaryotes
2 - B – procaryotes (bactéries)
3 - ?????

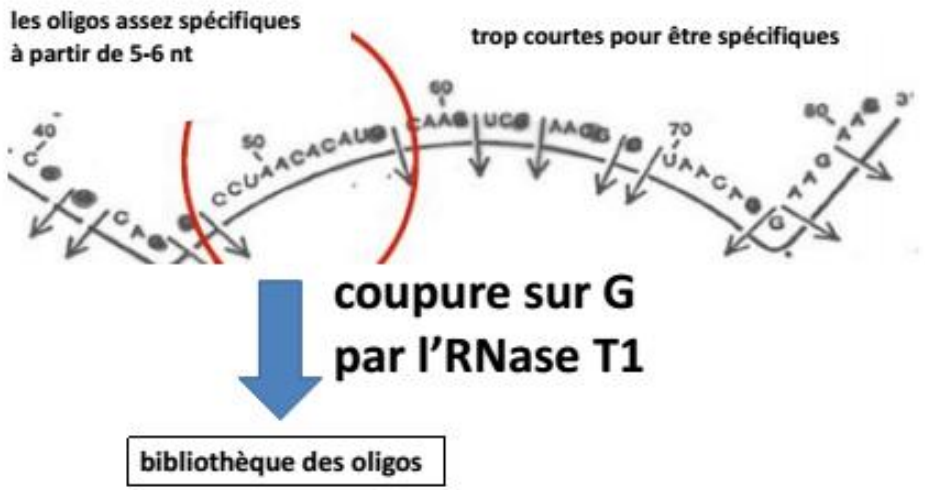
1977 – la technique employée par C. Woese pour séquencer l'ARN 16S

- la technique de séquençage de l'ADN est inconnue

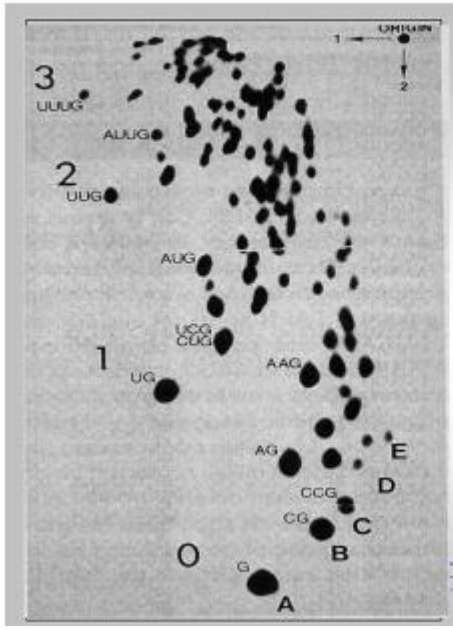
- cependant, l'ARN 16S peut être facilement extrait des ribosomes

- une technique laborieuse permet de comparer les séquences des différents ARN

Production d'un catalogue d 'oligonucléotides digérés par la RNAse T1



Les bibliothèques d'oligonucléotides



Marquage des cellules au P32

⇩

Isolement des ribosomes

⇩

Isolement des ARN ribosomiques

⇩

Isolement de l 'ARN 16S

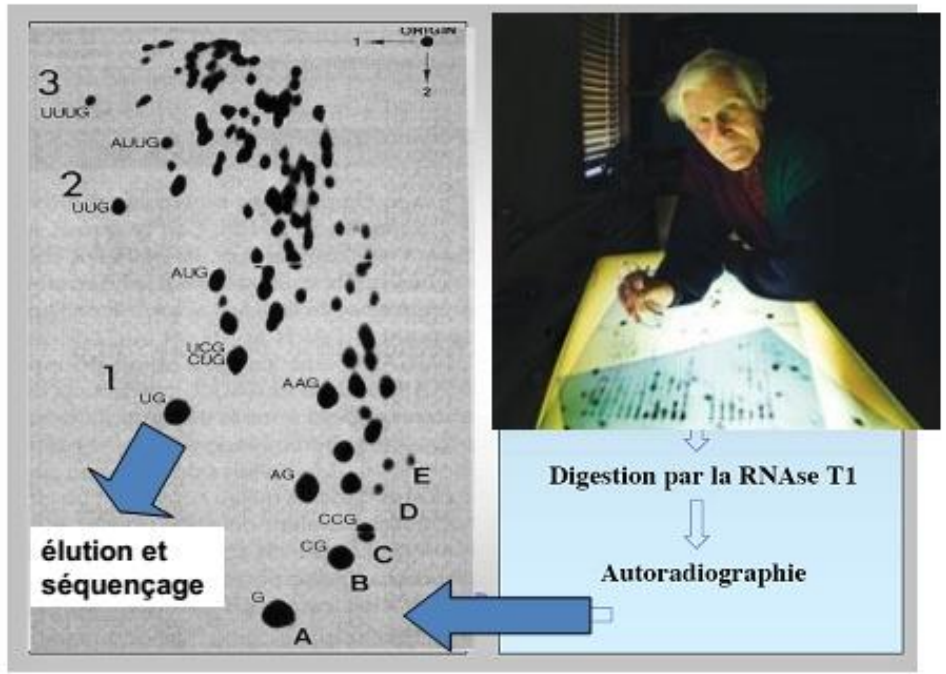
⇩

Digestion par la RNAse T1

⇩

Autoradiographie

Les bibliothèques d'oligonucléotides



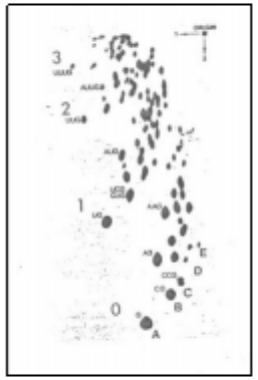
Digestion par la RNAse T1

⇩

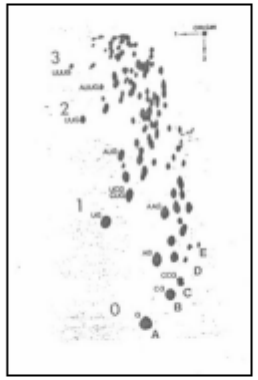
Autoradiographie

La comparaison des bibliothèques d'oligonucléotides

espèce **a**



espèce **b**



Na = Nombre d 'oligo
dans le catalogue
De l'espèce a

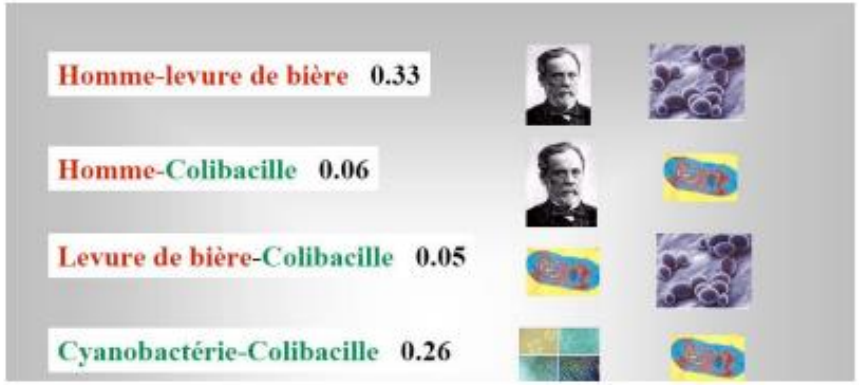
Nb = Nombre d 'oligo
dans le catalogue
De l'espèce b

Nab = Nombre d 'oligo
Commun aux catalogued
des espèces a et b

$$Sab = 2Nab/Na + Nb$$

Sab – la coefficient de similarité
(ou coefficient d'association)

Les premiers résultats de Woese –
les bactéries sont éloignées des eucaryotes



– les chloroplastes sont des ex-bactéries



Les valeurs de S_{AB} de deux bactéries ou de deux eucaryotes sont toujours supérieures à 0,2

Carl Woese entreprend alors l'analyse des « bactéries bizarres »:

- **les méthanogènes**
- **les halophiles**
- **les hyper thermoacidophiles (*Sulfolobus*)**

Le résultat

Les « bactéries » bizarres ne sont pas les bactéries (ni les eucaryotes).
Une autre forme de vie??

Signature sequences from 16S or 18S rRNA defining the three domains of living organisms

Oligonucleotide signatures[a]	Approximate position[b]	Occurrence among[c] les « bactéries » bizarres	Bacteria	Eukarya
CACYYG	315	0	>95	0
CYAAYUNYG	510	0	>95	0
AAACUCAAA	910	3	100	0
AAACUUAAAG	910	100	0	100
NUUAAUUCG	960	0	>95	0
YUYAAUUG	960	100	<1	100
CAACCYYCR	1110	0	>95	0
UUCCCG	1380	0	>95	0
UCCCUG	1380	>95	0	100
CUCCUUG	1390	>95	0	0
UACACACCG	1400	0	>99	100
CACACACCG	1400	100	0	0

Trois formes de vie

Méthanogène-Homme 0.05	I ére forme de vie - eucaryotes
Méthanogène-Colibacille 0.06	II éme forme de vie - eubactéries
Méthanogène- *Halobacterium* 0.19	existence de la troisième forme de vie
Méthanogène 1-Méthanogène 2 0.25	
Méthanogène-*Sulfolobus* 0.13	
Halobacterium-Sulfolobus 0.15	

Conclusions

	Sab
eucaryote A - eucaryote B	0,29 - 0,36
eucaryote - bactérie	0,05 - 0,11
bactérie A - bactérie B	0,20 - 0,34
méthanogène - bactérie	0,05 - 0,13
méthanogène - eucaryote	0,06 - 0,11
méthanogène - méthanogène	0,24 - 0,51
halophile - méthanogène	0,19 - 0,34
Thermoplasma - méthanogène	0,13 - 0,23
Sulfolobus - méthanogène	0,13 - 0,17

- les méthanogènes sont aussi éloignés de l'homme que des bactéries

- les trois groupes analysés

  -méthanogènes
  -halophiles
  -hyperthermophiles

forment un domaine très distincts de ceux de vraies bactéries et d'eucaryotes

C. Woese appelle ce domaine Archeobactéries devenu aujourd'hui Archées (*Archaea*)

37

Italie, Sicile



USA, Yellowstone Park



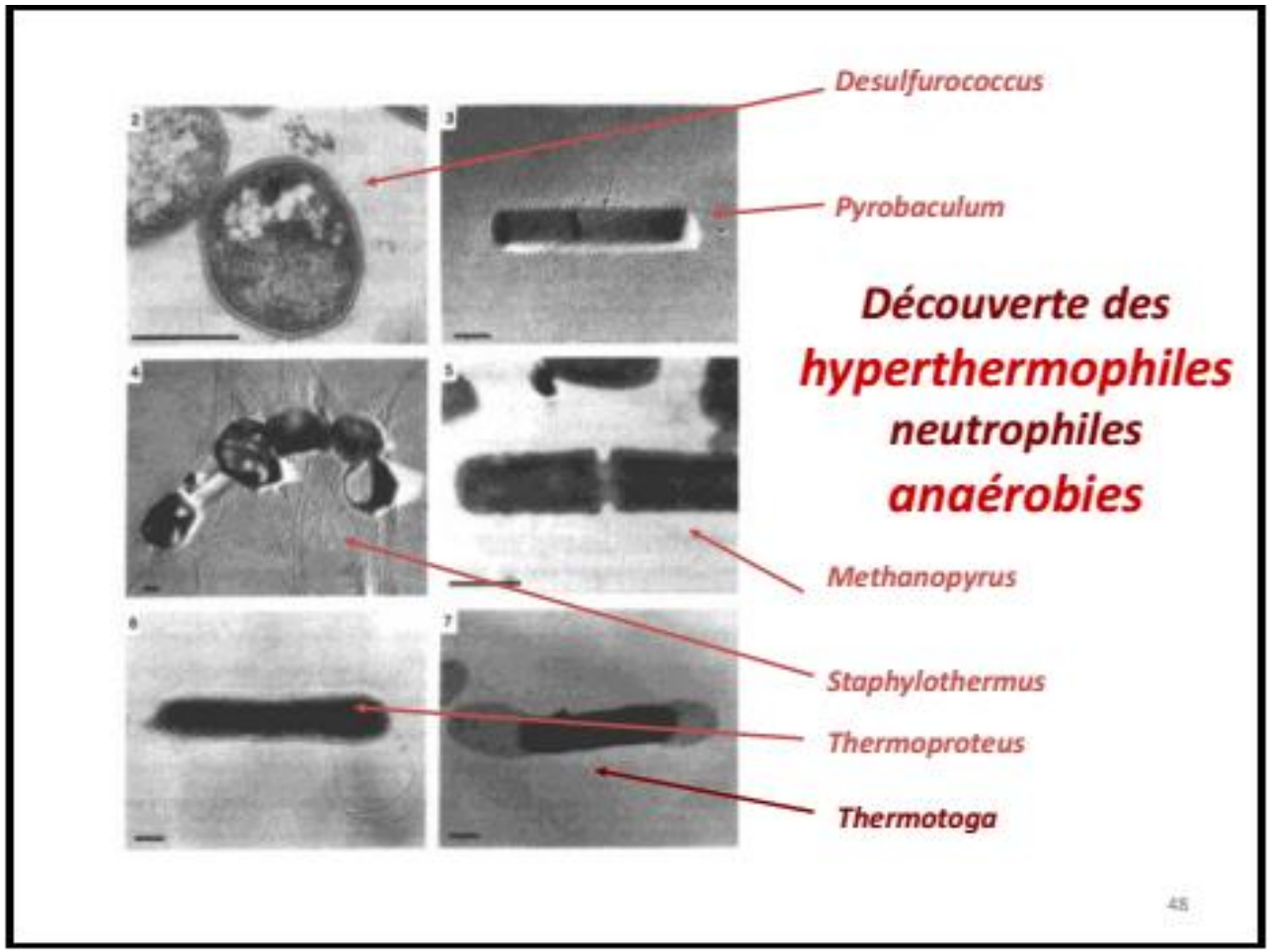
conditions –
température 85-115°C
pH – de 0 à 2 riche en H_2SO_4

Islande








Desulfurococcus
Pyrobaculum
Découverte des
hyperthermophiles
neutrophiles
anaérobies
Methanopyrus
Staphylothermus
Thermoproteus
Thermotoga

Conclusions 1:
a membrane cytoplasmique: bactéries /eucaryotes *vs* archées

3 points principaux qui distinguent la membrane des archées:

- chiralité du glycérol – D chez les Bactéries / L chez les Archées

- liaison ester chez les Bactéries / ether chez les Archées entre le glycérol et les chaîne des acides gras

- acides gras non saturés et non ramifiés chez les Bactéries / chaînes isopréniques saturées et ramifiées chez les Archées

Conclusions 2:

a membrane cytoplasmique: bactéries /eucaryotes *vs* archées

La membrane atypiques des archées leur permet
de mieux résister aux
conditions extrêmes, surtout à la température extrême.

Quels sont d'autres facteurs permettant aux archées
de mieux s'adapter
aux conditions extrêmes?

Chapitre III :
Taxonomie bactérienne

1. Place des microorganismes dans le monde vivant
2. Classification biologique contemporaine
3. Classification des protistes procaryotes

Introduction générale et vue d'ensemble

- **Taxinomie**
  - **Science de la classification biologique.**
  - **Constituée de 3 parties séparées mais reliées entre elles:**
    - **Classification: Arrangement des organismes en groupes ou taxons selon leur similitude et leur parenté évolutive.**
    - **Nomenclature: Consiste à donner des noms aux groupes taxinomiques selon les règles publiées.**
    - **Identification: Détermine qu'un isolat particulier appartient à un taxon connu.**

Importance de la taxinomie

- **Permet de mettre de l'ordre dans l'énorme quantité de connaissances que nous avons des organismes, parce que tous les membres d'un groupe donné partagent de nombreuses caractéristiques.**

- **Permet de faire des prédictions et des hypothèses pour une recherche future, basée sur la connaissance d'organismes similaires.**

- **Répartit les micro-organismes en groupes significatifs, utiles, avec des noms précis, de sorte que les microbiologistes peuvent les étudier et communiquer efficacement.**

- **Essentielle pour l'identification précise des micro-organismes.**

L’évolution et la diversité microbiennes

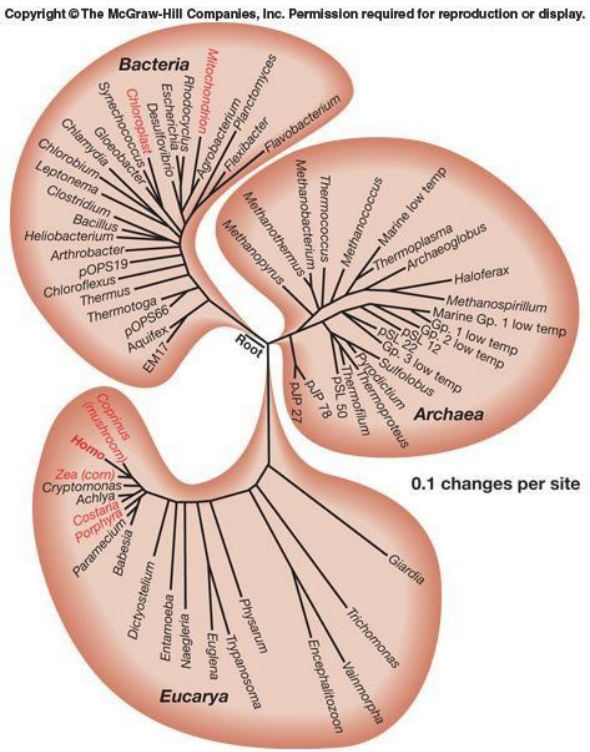
- **Notre planète est agée de ~ 4.6 milliards d’années.**
- **Les premiers procaryotes datent d’au moins 3.5 à 3.8 milliards d’années.**
- **Des restes fossiles ont été découverts dans les stromatolithes et les roches sédimentaires.**
  - **Stromatolithes: Roches stratifiées, so forme de dômes, qui sont formés par de minéraux dans des tapis microbien**



- **Étaient probablement anaérobiques.**

Évolution des procaryotes

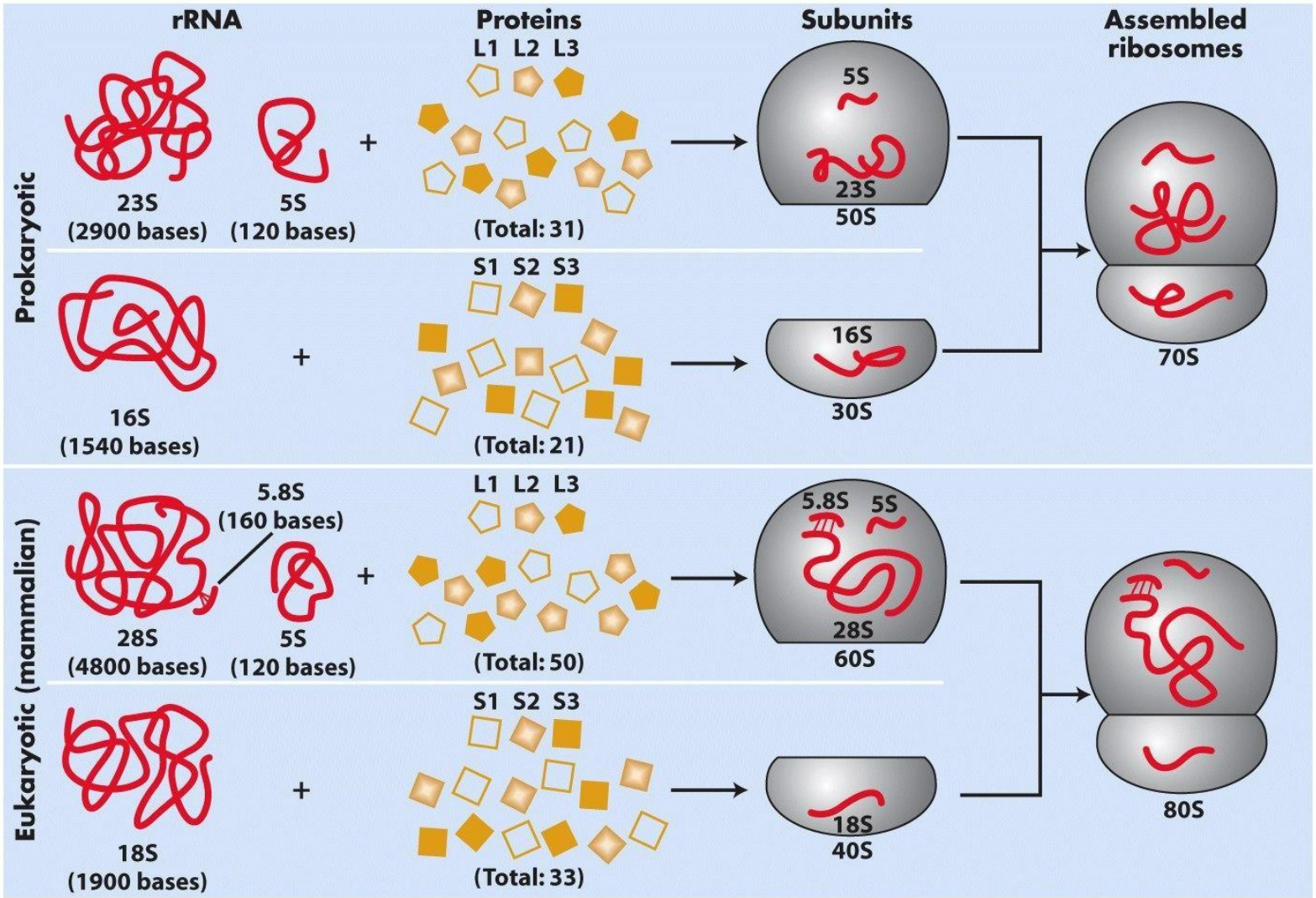
- **Les théories actuelles sont principalement basées sur la caractérisation de séquences d'ARNr.**
  - **Études de Carl Woese et al. (années 1970).**
- **Les procaryotes se sont di tôt en deux groupes distinc**
  - ***Bacteria***
  - ***Archaea***



Évolution des eucaryotes

- **Les cellules eucaryotes modernes auraient dérivé des procaryotes voici environ ~ 1.4 milliard d'années.**
- **Deux hypothèses principales:**
  - **1) L'hypothèse de la fusion des génomes**
    - **Soutien que certains gènes bactériens et archéens se sont combinés pour former un seul génome eucaryote – évolution du noyau.**
  - **2) L'hypothèse endosymbiotique**
    - **Une endosymbiose serait responsible de l'apparition des organites.**
    - **Les chloroplastes origineraient de cyanobactéries photosynthétiques qui seraient entrées en relation symbiotique avec des eucaryotes primitifs.**
    - **Les mitochondries origineraient d'un mécanisme similaire (alpha-protéobactérie).**

Les ribosomes

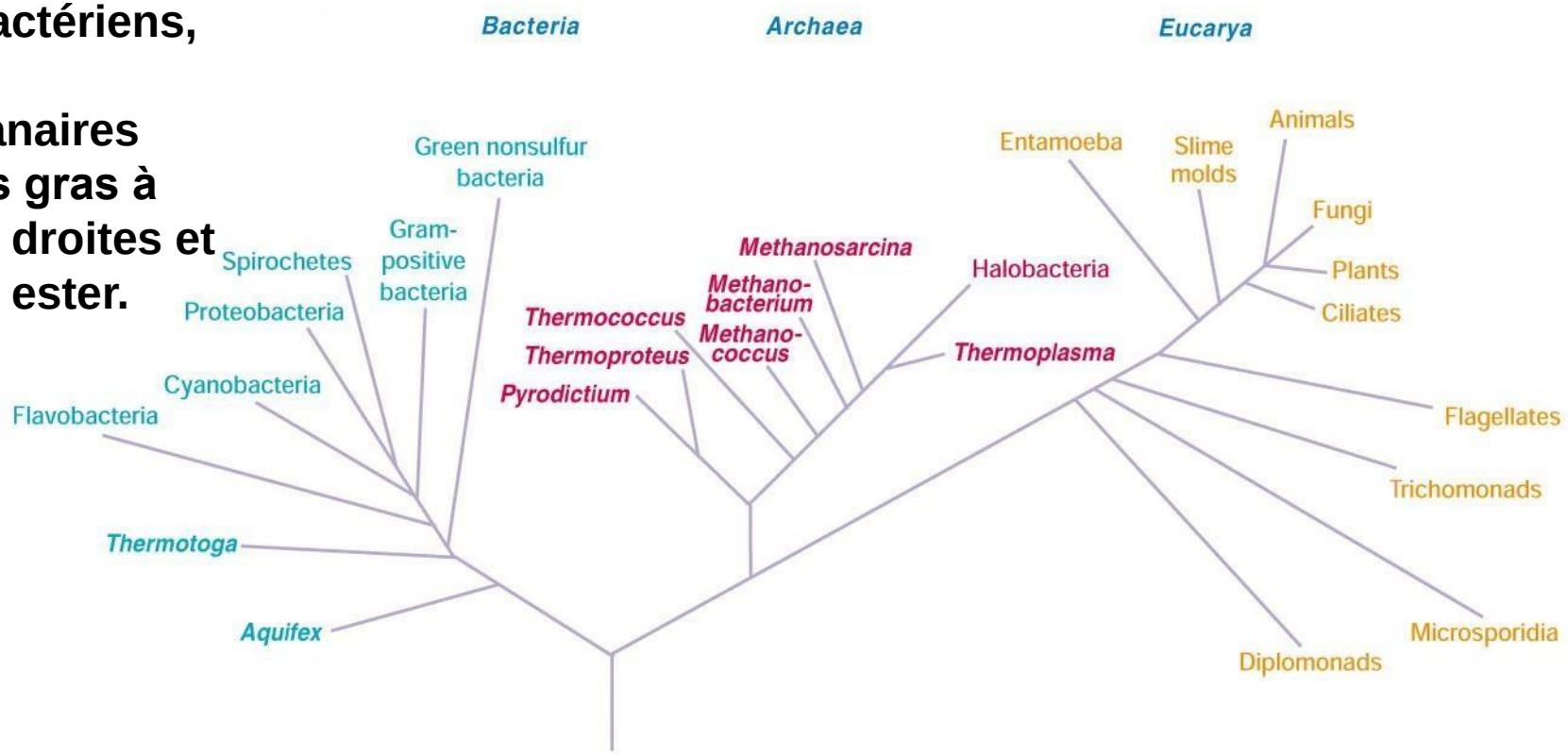


L’arbre phylogénique universel

Archaea
Cellules procaryotes, ARNr achéobactériens, lipides membranaires constitués de chaînes aliphatiques ramifiées et liaisons éther.

Eucarya
Cellule eucaryotes, ARNr encaryote, lipides membranaires d’acides gras à chaînes droites et liaisons ester.

Bacteria
Cellules procaryotes, ARNr bactériens, lipides membranaires d’acides gras à chaînes droites et liaisons ester.



Comparaison des *Bacteria*, *Archea*, et *Eucarya*

Table 19.8 Comparison of *Bacteria, Archaea,* and *Eucarya*

Property	*Bacteria*	*Archaea*	*Eucarya*
Membrane-Enclosed Nucleus with Nucleolus	Absent	Absent	Present
Complex Internal Membranous Organelles	Absent	Absent	Present
Cell Wall	Almost always have peptidoglycan containing muramic acid	Variety of types, no muramic acid	No muramic acid
Membrane Lipid	Have ester-linked, straight-chained fatty acids	Have ether-linked, branched aliphatic chains	Have ester-linked, straight-chained fatty acids
Gas Vesicles	Present	Present	Absent
Transfer RNA	Thymine present in most tRNAs	No thymine in T or TψC arm of tRNA	Thymine present
	N-formylmethionine carried by initiator tRNA	Methionine carried by initiator tRNA	Methionine carried by initiator tRNA
Polycistronic mRNA	Present	Present	Absent
mRNA Introns	Absent	Absent	Present
mRNA Splicing, Capping, and Poly A Tailing	Absent	Absent	Present
Ribosomes			
Size	70S	70S	80S (cytoplasmic ribosomes)
Elongation factor 2	Does not react with diphtheria toxin	Reacts	Reacts
Sensitivity to chloramphenicol and kanamycin	Sensitive	Insensitive	Insensitive
Sensitivity to anisomycin	Insensitive	Sensitive	Sensitive
DNA-Dependent RNA Polymerase			
Number of enzymes	One	Several	Three
Structure	Simple subunit pattern (4 subunits)	Complex subunit pattern similar to eucaryotic enzymes (8–12 subunits)	Complex subunit pattern (12–14 subunits)
Rifampicin sensitivity	Sensitive	Insensitive	Insensitive
Polymerase II Type Promoters	Absent	Present	Present
Metabolism			
Similar ATPase	No	Yes	Yes
Methanogenesis	Absent	Present	Absent
Nitrogen fixation	Present	Present	Absent
Chlorophyll-based photosynthesis	Present	Absent	Present[a]
Chemolithotrophy	Present	Present	Absent

a Present in chloroplasts (of bacterial origin).

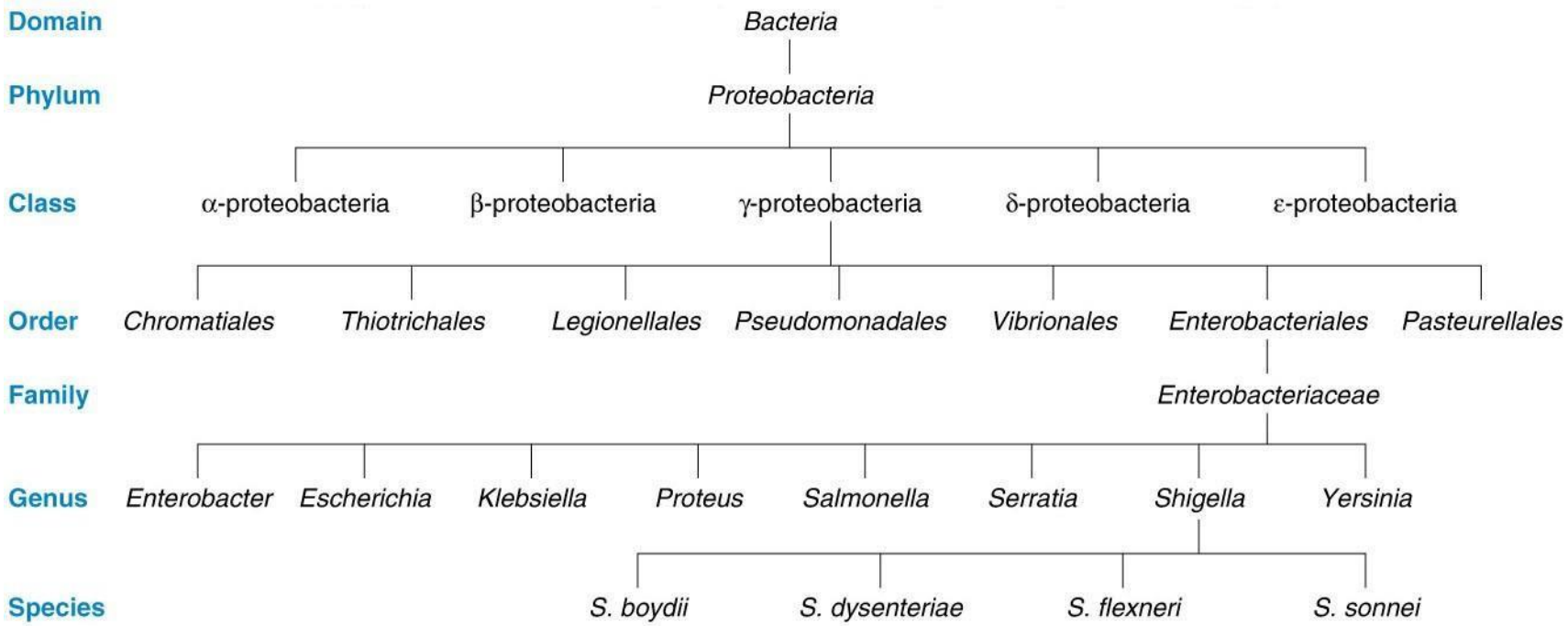
Les rangs taxinomiques

- **Les microbiologistes utilisent fréquemment des noms communs**
  - **i.e., bactéries pourpres, spirochètes, bactéries sulfureuses, etc.**

Table 19.1 An Example of Taxonomic Ranks and Names

Rank	Example
Domain	*Bacteria*
Phylum	*Proteobacteria*
Class	γ-Proteobacteria
Order	*Enterobacteriales*
Family	*Enterobacteriaceae*
Genus	*Shigella*
Species	*S. dysenteriae*

Structure hiérarchique en taxinomie



Genre: Groupe bien défini, d'une ou plusieurs espèces, qui est clairement séparé des autres genres.