

Andrew Tolonen (atolonen@genoscope.cns.fr)
mars 2014

TD4 Microbiologie

Exercice 1: Associez les termes proposés aux définitions des questions.

a. conjugaison b. transcription c. transduction
d. transformation e. traduction

1. Transfert d'ADN d'une cellule donneuse à une cellule receveuse par un bactériophage:
c. transduction
2. Transfert d'ADN d'une cellule donneuse à une cellule receveuse sous forme d'ADN nu en solution:
d. transformation
3. Transfert d'ADN d'une cellule donneuse à une cellule receveuse par l'intermédiaire d'un pilus sexuel:
a. conjugaison

Exercice 2: Répondre aux questions suivantes.

1. Les bactéries peuvent acquérir la résistance aux antibiotiques par:

a. la mutation b. insertion des transposons c. acquisition de plasmides
d. tout ce qui précède e. rien de ce qui précède

2. Supposons que vous inoculez 3 flacons contenant un bouillon salin minimal avec *E. coli*. Le **flacon A** contient du glucose; Le **flacon B** contient du glucose et du lactose; Le **flacon C** contient du lactose. Après quelques heures d'incubation, vous vérifiez s'il y a présence de beta-galactosidase dans les flacons. Selon vous, lequel (ou lesquels) des flacons aura (auront) cette enzyme?

a. flacon A b. flacon B **c. flacon C** d. flacons A et B e. flacons B et C

3. Les plasmides diffèrent des transposons parce qu'ils:

a. s'insèrent dans les chromosomes.
b. se répliquent de façon autonome à l'extérieur du chromosome.
c. se déplacent d'un chromosome à l'autre.
d. portent des gènes de résistance aux antibiotiques.
e. Rien de ce qui précède

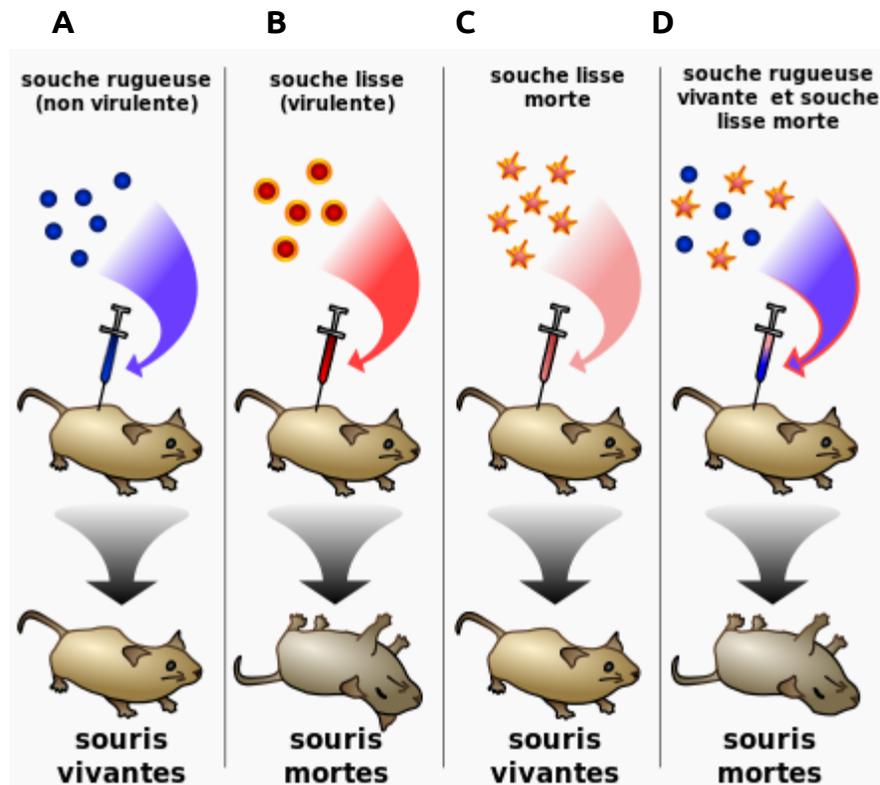
4. Le transfert horizontal de gènes est un processus dans lequel un organisme intègre du matériel génétique provenant d'un autre organisme sans en être le descendant. Lequel des phénomènes suivants n'est pas un moyen de transfert horizontal des gènes?

a. scissiparité b. conjugaison c. intégration d'un transposon
d. transduction e. transformation

Exercice 3: pouvoir pathogène et génétique.

Cette figure présente une expérience réalisée par le microbiologiste anglais Frederick Griffith. L'inoculation d'une souche capsulée de *Streptococcus pneumoniae* (souche L, 'lisse') à une souris (expérience B) provoque en 24h sa mort par septicémie. À l'autopsie, on retrouve des bactéries dans

différents organes. Par contre, après inoculation dans les mêmes conditions des bactéries S mortes (expérience C), ou d'une souche non capsulée (souche R, 'rugueuse') (expérience A), les souris survivent.



1. Commenter ces résultats et en déduire la modalité du pouvoir pathogène de *Streptococcus pneumoniae*. Quel est le rôle de la capsule de *Streptococcus pneumoniae* dans son pouvoir pathogène?

Seule la souche L vivante a un pouvoir pathogène. Elle est retrouvée dans tout l'organisme de la souris morte, elle a donc provoqué la septicémie. Le pouvoir pathogène de *S. pneumoniae* est dû à son pouvoir invasif. Comme la souche R (sans capsule) n'est pas virulente, il est possible de conclure que ce pouvoir invasif de la souche S est dû à la capsule.

Streptococcus pneumoniae est protégé par sa capsule contre la phagocytose. La capsule exerce un chimiotactisme négatif sur les cellules phagocytaires du sang. La bactérie peut se multiplier sans être éliminée par le système immunitaire et envahir l'organisme.

Si on incube la souche R vivante et la souche L morte avant de les administrer à une souris, celle-ci meurt par septicémie (expérience D) et on retrouve dans son sang des bactéries de souche L.

2. Quel est le moyen de changement génétique des bactéries des souche R en souche L?

Le matériel transformant est l'ADN. Le rôle de l'ADN est de porter l'information permettant à la souche de fabriquer la capsule.

Exercice 4: Génétique microbienne chez *E. coli*

Vous étudiez 2 souches d'*E. coli* (souches S1 et S2) qui ont été obtenue par traitement aux rayons ultraviolets d'une souche sauvage S0.

Vous réalisez trois étalements sur LB agar supplémenté de IPTG/Xgal avec ou sans streptomycine et les résultats sont présentés après 24h d'incubation. La streptomycine est une antibiotique qui se fixe sur la structure du ribosome. Une fois l'antibiotique fixé sur le ribosome, la bactérie produit des protéines non fonctionnelles et meurt rapidement.

Streptomycine	Souche S0	Souche S1	Souche S2	Souche S1+S2
-	Colonies bleues	Colonies blanches	Colonies bleues	Bleues et blanches
+	vide	vide	Colonies bleues	Bleues et blanches

1. Quelle est l'action des rayons ultraviolets sur la souche sauvage S0? Préciser sur quelle molécule biochimique des cellules bactériennes les rayons ultraviolets ont réagi.

Les UV affectent l'ADN en plus particulièrement les bases pyrimidiques, lors des mécanismes de réparation de l'ADN création de mutations.

2. Décrire les mutations chez souche S1 (colonies blanches) et S2 (résistance au streptomycine).

Souche S1: colonies blanche a cause d'une mutation dans l'operon lac.

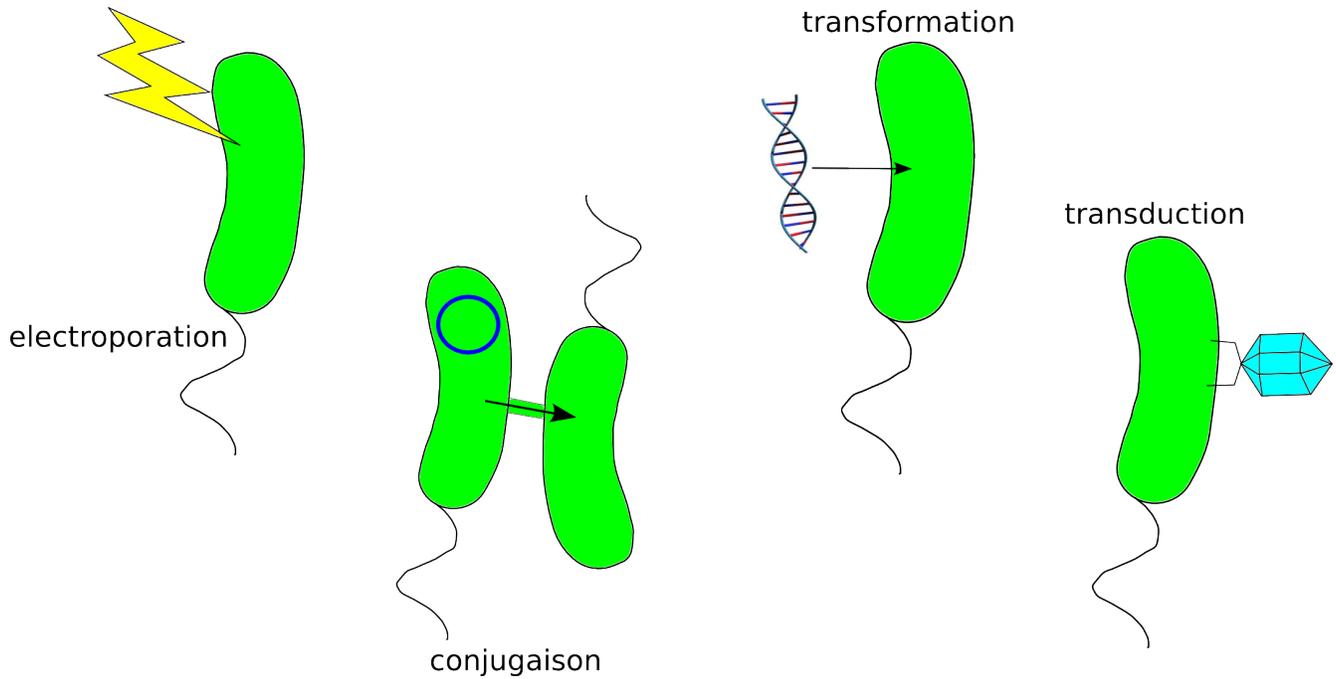
Souche S2: résistant a la streptomycine grace a une mutation dans le gene rpsL (ribosome).

3. Nommer et expliquer un phénomène qui pourrait permis l'apparition des colonies blanches sur LB avec streptomycine.

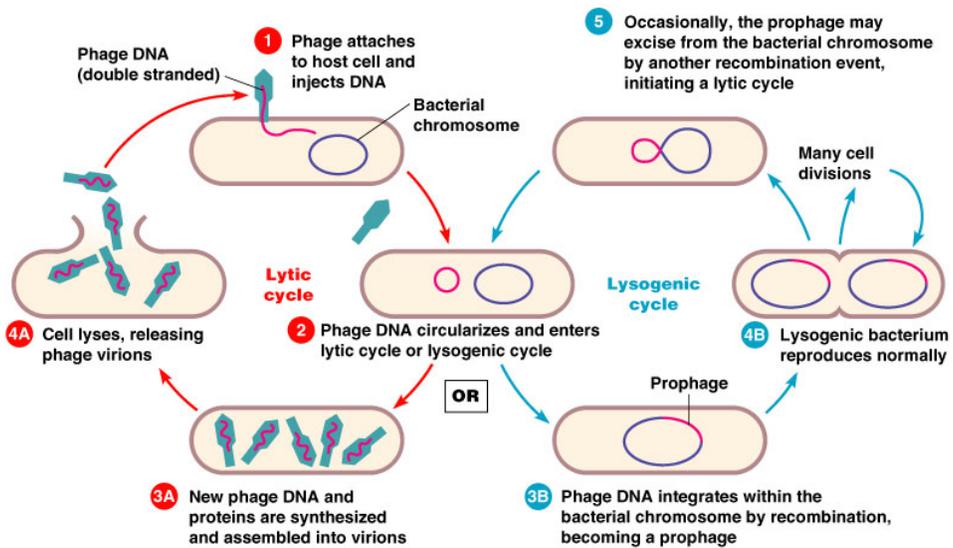
Conjugaison.

Informations Supplémentaires

4 méthodes de transfert d'ADN aux bactéries

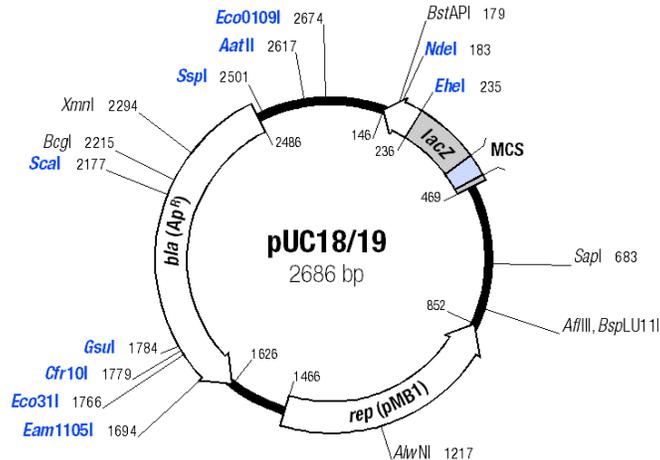


Infection par les phages: transduction

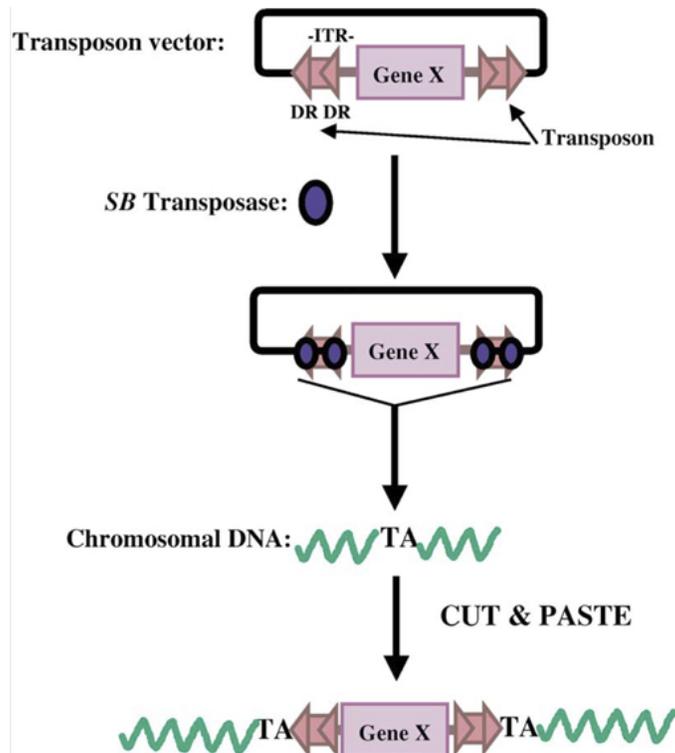


Éléments génétiques: plasmides et transposons

un plasmide: molécule d'ADN circulaire qui se réplique dans une cellule. Le plasmide pUC contient un gène de résistance aux antibiotiques, une origine de réplication, et un site de clonage

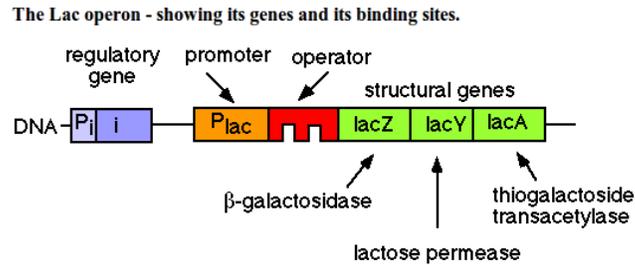


un transposon: séquence d'ADN linéaire qui peut changer sa position dans le génome, créant parfois des mutations génomique.

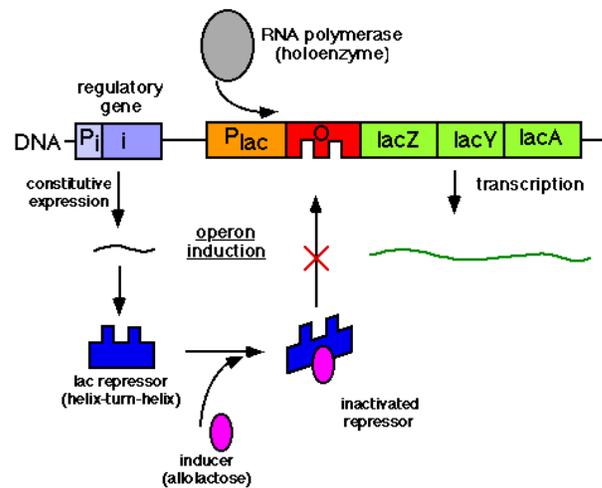


L'opéron lac: fonctionnement de la répresseur (LacI)

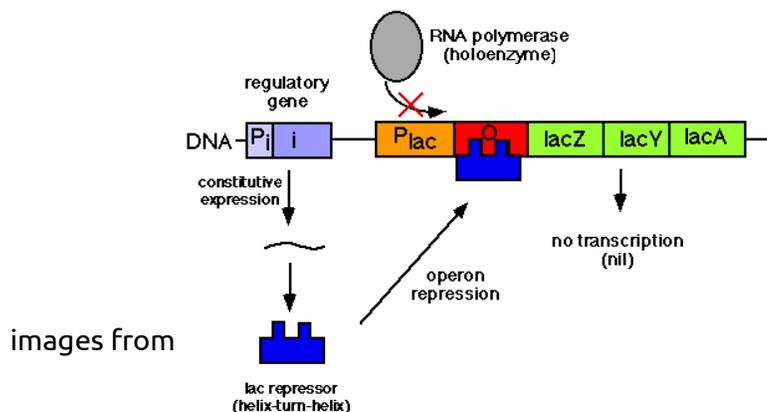
La structure de l'opéron lac



Expression en présence de lactose: accrochement du lactose à la protéine LacI empêche son activité

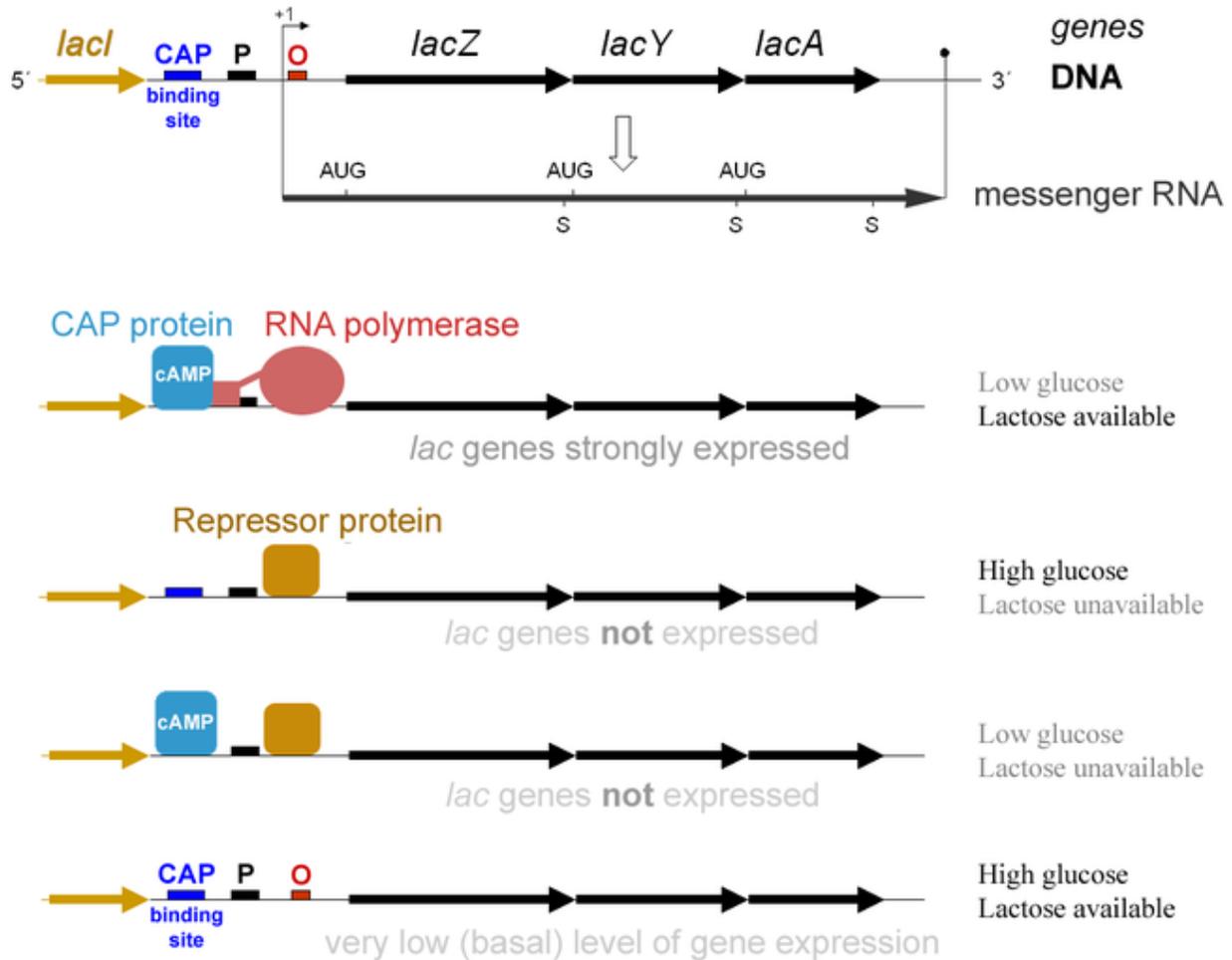


Repression en absence de lactose: la répresseur LacI bloque la transcription des gènes *lac*



L'opéron lac: fonctionnement de l'activateur (CAP)

The *lac* Operon and its Control Elements



source: http://en.wikipedia.org/wiki/Lac_operon

- glucose, +lactose: activation par CAP et pas de repression par Lacl -> **expression des gènes *lac***
- +glucose, -lactose: pas d'activation par CAP et repression par Lacl -> **pas d'expression des gènes *lac***
- glucose, -lactose: activation par CAP mais repression par Lacl -> **pas d'expression des gènes *lac***
- +glucose, +lactose: pas d'activation par CAP et pas de repression -> **pas d'expression des gènes *lac* (ou faible expression)**