

Travaux dirigés de Microbiologie
Master I
Sciences des Génomes et des Organismes
Janvier 2015

A- Généralités

I- La vie sur terre **telle que nous la connaissons** ne pourrait pas exister sans bactéries. Donnez deux raisons spécifiques pour lesquelles cela est vrai.

- Les bactéries jouent des rôles essentiels dans les cycles nutritifs : fixation de l'azote, recyclage de la biomasse des plantes.
- Les bactéries étaient la source originale de l'oxygène dans l'atmosphère.
- Les chloroplastes et les mitochondries ont évolué à partir des bactéries
- Les bactéries sont nécessaires pour la digestion humaine (dégradation des carbohydrates)
- Certaines bactéries sont les pathogènes (la peste) et les autres qui nous protègent des pathogènes.

II- L'objectif d'un antibiotique est de tuer les cellules bactériennes pathogènes sans nuire à l'hôte. Ainsi, les antibiotiques ciblent des structures cellulaires qui diffèrent entre les cellules bactériennes et eucaryotes. Donnez deux exemples de ces structures cellulaires qui sont souvent ciblés par les antibiotiques:

- le ribosome
- la paroi cellulaire (la synthèse de la peptidoglycane)
- transcription par l'ARN polymérase

III- Votre laboratoire de recherche vient de découvrir le premier membre des *Archaea* pathogène pour les humains ... Félicitations ! Mais maintenant que vous avez à vous soucier de la façon de traiter la maladie causée par cet organisme. Pour trouver un antibiotique qui tue les cellules, votre collègue suggère de commencer avec de la pénicilline et des variantes de la pénicilline chimiquement modifiée. Est-ce une bonne idée, ou seriez-vous perdre votre temps avec cette approche ? Expliquez brièvement mais précisément.

Ce serait une perte de temps. La pénicilline et tous les médicaments liés à la synthèse de la paroi inhibant la formation de liaisons croisées entre les brins de peptidoglycane. Mais les Archées n'ont pas de peptidoglycane dans leur paroi cellulaire, donc un autre type de médicament est nécessaire.

Les caractéristiques des archées : Les membranes ont un diéther dans lequel une unité de glycérol est reliée par une liaison éther à deux molécules de phytanol. L'absence de peptidoglycane dans les parois.

IV- Donner une explication plausible du fait que la moisissure *Penicillium* produit de la pénicilline, étant donné qu'elle n'est pas sujette à des infections bactériennes. Quel lien existe-t-il entre votre explication et l'emploi de la pénicilline en médecine humaine ?



Dans la nature, la moisissure *Penicillium* partage son environnement avec les bactéries dont la croissance est souvent plus rapide que la sienne, et qui utilisent par conséquent la plupart des ressources du milieu. Pour survivre, **la moisissure doit détruire les bactéries compétitrices**; pour cela, elle produit et sécrète une substance dans son environnement qui inhibe la croissance bactérienne sans nuire à la sienne. En médecine humaine, on utilise cette substance antimicrobienne, appelée pénicilline, pour détruire les mêmes bactéries qui, dans ce cas, infectent l'organisme humain.

V- Donnez deux exemples de **bactéries ou archees** extrémophiles.

Archées : halophile=*Halobacterium* acidophile=*Picrophilus* thermophile=*Pyrococcus*

Bactéries : acidophile=*Thiobacillus*, *Acetobacter* thermophile=*Thermus aquaticus* .

VI- Le koala est un animal phyllophage (c'est-à-dire qui se nourrit de feuilles). Que peut-on supposer à propos de son système digestif ?

On peut supposer que le koala héberge dans un de ses organes digestifs une population de microorganismes symbiotiques capables de dégrader la cellulose des feuilles dont il se nourrit. Les produits issus du métabolisme des bactéries sont ensuite digérés par les enzymes du tube digestif de l'animal.

VII. Vous étudiez l'effet protecteur de la microflore intestinale de l'homme contre l'invasion par des contaminants pathogènes d'origine alimentaire. Vous infectez des rats avec un micro-organisme pathogène X. Vous mesurez le taux de croissance de ce micro-organisme. Un autre groupe de rats est traité avec des antibiotiques pour détruire leur microflore normale puis vous les infectez avec le même pathogène. Les résultats du dénombrement bactérien sont les suivants :

	Rats non traités aux antibiotiques	Rats traités avec l'antibiotique.
- Quantité introduite au départ	10^4 cells/ml	10^4 cells/ml
- Nombre de bactéries dénombrées près 8h d'incubations	6×10^6 cells/ml	3×10^8 cells/ml

a. On assume que les cellule sont en phase exponentielle. Calculer le temps de génération de la bactérie X chez les 2 lots de rat (traités et non traités à l'antibiotique).

$$N_t = N_0 \cdot 2^n$$

$$\text{Non traites : } \log(6e6/1e4)/\log(2)=n=9.22. \quad 8h/9.22=0.86h=52 \text{ min}$$

$$\text{traites : } \log(3e8/1e4)/\log(2)=n=14.8. \quad 8h/14.8=0.53h=33 \text{ min}$$

b. Donner les voies possibles d'inhibition de la croissance de la bactérie X dans l'intestin ?

Compétition nutritive. Compétition de l'espace. La flore normale peut produire les inhibiteurs.

VIII- Le génome de la bactérie *Neisseria gonorrhoeae* est constitué d'une molécule d'ADN double-brin unique qui contient 2,220,000 paires de bases ; un kb d'ADN est 0.34 um.

Calculer la longueur de cette molécule d'ADN en micromètres. La longueur de la cellule est 1 micromètre. Quel est le rapport de la longueur du génome et la longueur de la cellule ?

Génome = 2.2×10^6 bp

1 pb = 0.34×10^{-3} um.

$2.2 \times 10^6 \times 0.34 \times 10^{-3} = 0.75 \times 10^3$ um = 750 um = 750 fois la longueur de la cellule.

Si 85% de cette molécule d'ADN est constituée de cadres ouverts de lecture des gènes codant pour des protéines et la protéine moyenne est de 300 acides aminés de long, combien de gènes codant pour la protéine *N. gonorrhoeae* possède ?

$2.2 \times 10^6 \times 0.85 = 1.87 \times 10^6$ bp

$1.87 \times 10^6 / 900 = 2077$ gènes

Quel genre d'information pensez-vous être présent dans le reste des 15% de l'ADN ?

ARN stable/regulateur. Promoteurs. Termineurs.

IX- La présence d'un génome indépendant chez les plastes des plantes soutiennent l'hypothèse que:

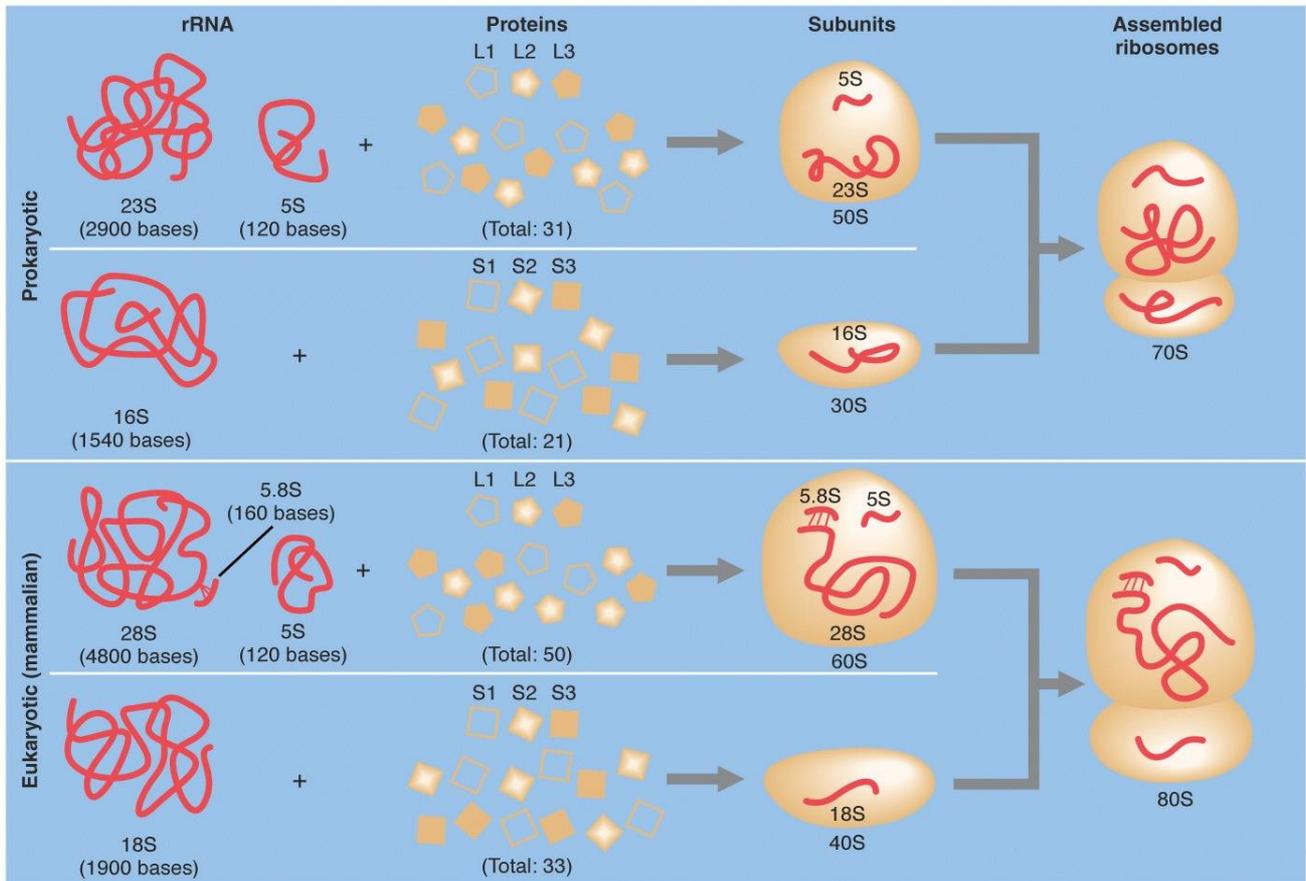
- a) ces plastes se sont développés à partir de mitochondries.
- b) ces plastes ont fusionné.
- c) ces plastes sont issus d'Archéobactéries.
- d) ces plastes résultent de l'endosymbiose secondaire.
- e) ces plastes ont bourgeonné à partir de l'enveloppe nucléaire.

X- Les biologistes postulent que l'endosymbiose a donné naissance aux mitochondries avant les plastes, parce que:

- a) les produits de la photosynthèse n'auraient pas pu être métabolisés sans enzymes mitochondriales.
- b) presque tous les Eucaryotes possèdent des mitochondries, tandis que seuls les Eucaryotes autotrophes comportent des plastes.
- c) l'ADN mitochondrial ressemble moins à l'ADN procaryote que l'ADN des plastes.
- d) sans production de dioxygène dans les mitochondries, la photosynthèse était impossible.

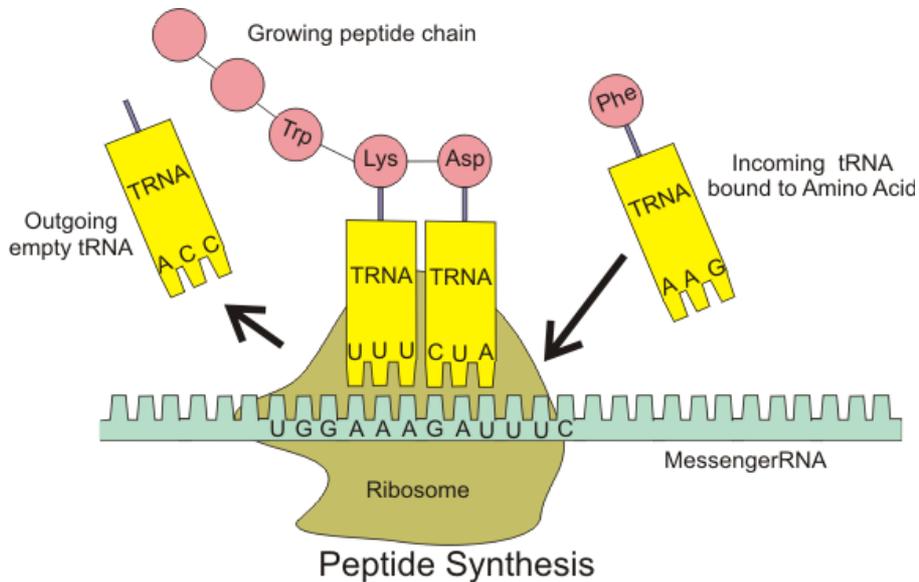
#####

Comparison de la structure du ribosome des prokaryotes et eukaryotes



<http://biology-pictures.blogspot.fr>

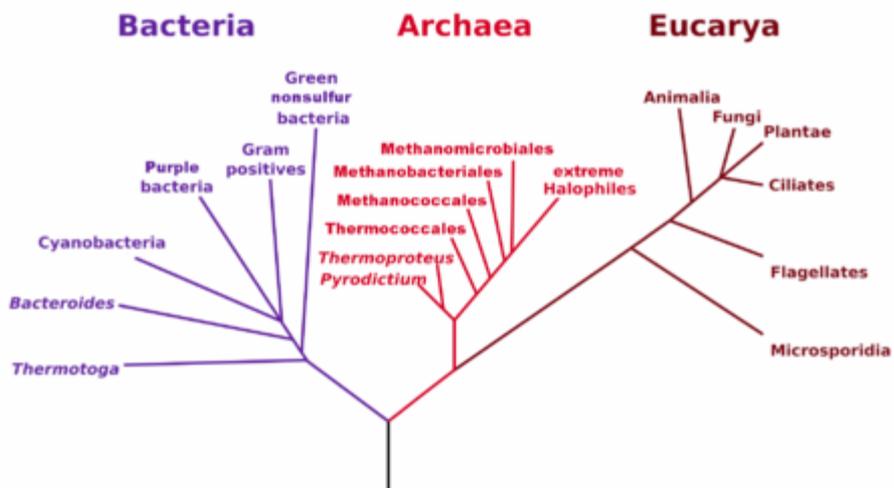
Le ribosome Un complexe des 3 ARNs et 52 protéines qui traduit l'ARNm en une chaîne polypeptidique lors de la synthèse des protéines. Le 16S se agit d'une des sous-unités de l'ARN. Le «S» correspond à la vitesse de sédimentation dans une centrifugeuse.



<https://www.boundless.com>

L'arbre phylogénétique rRNA proposé par Carl Woese

Phylogenetic Tree of Life



http://en.wikipedia.org/wiki/Carl_Woese

Table 27.2 A Comparison of the Three Domains of Life

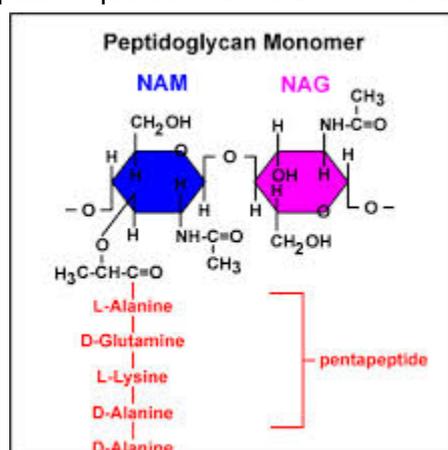
CHARACTERISTIC	DOMAIN		
	Bacteria	Archaea	Eukarya
Nuclear envelope	Absent	Absent	Present
Membrane-enclosed organelles	Absent	Absent	Present
Peptidoglycan in cell wall	Present	Absent	Absent
Membrane lipids	Unbranched hydrocarbons	Some branched hydrocarbons	Unbranched hydrocarbons
RNA polymerase	One kind	Several kinds	Several kinds
Initiator amino acid for start of protein synthesis	Formyl-methionine	Methionine	Methionine
Introns (noncoding parts of genes)	Absent	Present in some genes	Present
Response to the antibiotics streptomycin and chloramphenicol	Growth inhibited	Growth not inhibited	Growth not inhibited
Histones associated with DNA	Absent	Present	Present
Circular chromosome	Present	Present	Absent
Ability to grow at temperatures >100°C	No	Some species	No

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Différences entre les archées et les bactéries

Structure de la paroi cellulaire

Bactéries: La paroi des bactéries se compose de peptidoglycane, un polymère des sucres (NAM et NAG) et acides aminés (D-alanine, D-glutamine, L-lysine, D-alanine). La paroi cellulaire des bactéries gram positif est plus épaisse que celle des bactéries Gram négatives.

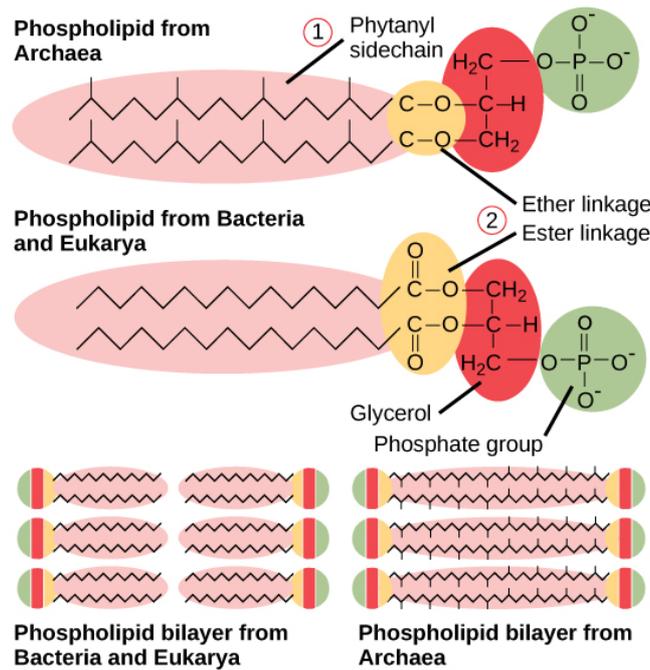


Archées : La paroi des archées se compose d'une de 4 possibilités : pseudopeptidoglycan, polysaccharides, glycoproteins négativement chargés (halophiles), ou une protéine S-layer.

Les lipides membranaires

Bactéries : un ester (R-C=O-O-R) de glycerol et d'acides gras à chaînes linéaires.

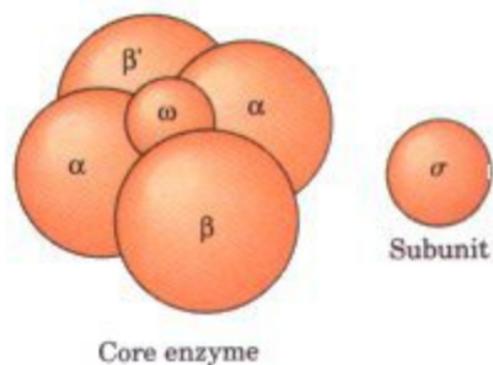
Archées : un diéther (R-O-R') dans lequel une unité de glycerol est reliée par une liaison éther à deux molécules de phytanol



<https://www.boundless.com>

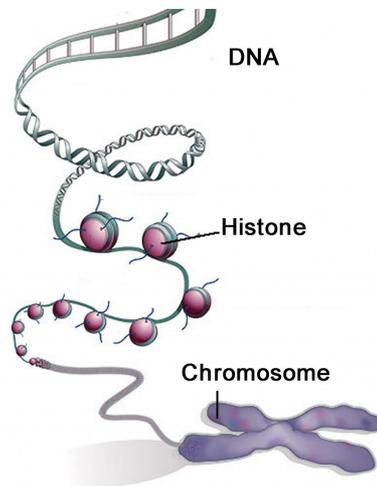
ARN polymérase

Bactéries : ARN polymérase se compose de 5 sous-unités (alpha1, alpha2, beta, beta2, omega). La spécificité pour les promoteurs est dirigée par le sous-unité sigma



Archées : ARN polymérase est plus complexe que celles des bactéries. Elle a 12-13 sous-unités et ressemble celles des eukaryotes.

Les histones sont des protéines dans la chromatine qui emballent l'ADN dans les structures qui s'appellent les nucléosomes.



Bactéries : absence des histones

Archées : présence des histones

Chemical class	Examples	Biological source	Spectrum (effective against)	Mode of action
Beta-lactams (penicillins and cephalosporins)	Penicillin G, Cephalothin	<i>Penicillium notatum</i> and <i>Cephalosporium</i> species	Gram-positive bacteria	Inhibits steps in cell wall (peptidoglycan) synthesis and murein assembly
Semisynthetic beta-lactams	Ampicillin, Amoxicillin		Gram-positive and Gram-negative bacteria	Inhibits steps in cell wall (peptidoglycan) synthesis and murein assembly
Clavulanic Acid	Augmentin is clavulanic acid plus Amoxicillin	<i>Streptomyces clavuligerus</i>	Gram-positive and Gram-negative bacteria	Inhibitor of bacterial beta-lactamases
Monobactams	Aztreonam	<i>Chromobacterium violaceum</i>	Gram-positive and Gram-negative bacteria	Inhibits steps in cell wall (peptidoglycan) synthesis and murein assembly
Carboxypenems	Imipenem	<i>Streptomyces cattleya</i>	Gram-positive and Gram-negative bacteria	Inhibits steps in cell wall (peptidoglycan) synthesis and murein assembly
Aminoglycosides	Streptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>	Gram-positive and Gram-negative bacteria	Inhibits translation (protein synthesis)
	Gentamicin	<i>Micromonospora</i> species	Gram-positive and Gram-negative bacteria esp. <i>Pseudomonas</i>	Inhibits translation (protein synthesis)
Glycopeptides	Vancomycin	<i>Amycolatopsis orientalis</i> (formerly designated <i>Nocardia orientalis</i>)	Gram-positive bacteria, esp. <i>Staphylococcus aureus</i>	Inhibits steps in murein (peptidoglycan) biosynthesis and assembly
Lincomycins	Clindamycin	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Gram-positive and Gram-negative bacteria esp. anaerobic <i>Bacteroides</i>	Inhibits translation (protein synthesis)
Macrolides	Erythromycin, Azithromycin	<i>Streptomyces erythreus</i>	Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria not enterics, <i>Neisseria</i> , <i>Legionella</i> , <i>Mycoplasma</i>	Inhibit translation (protein synthesis)
Polypeptides	Polymyxin	<i>Bacillus polymyxa</i>	Gram-negative bacteria	Damages cytoplasmic membranes
	Bacitracin	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram-positive bacteria	Inhibits steps in

				murein (peptidoglycan) biosynthesis and assembly
Polyenes	Amphotericin	<i>Streptomyces nodosus</i>	Fungi (<i>Histoplasma</i>)	Inactivate membranes containing sterols
	Nystatin	<i>Streptomyces noursei</i>	Fungi (<i>Candida</i>)	Inactivate membranes containing sterols
Rifamycins	Rifampicin	<i>Streptomyces mediterranei</i>	Gram-positive and Gram-negative bacteria, <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Inhibits transcription (bacterial RNA polymerase)
Tetracyclines	Tetracycline	<i>Streptomyces</i> species	Gram-positive and Gram-negative bacteria, Rickettsias	Inhibit translation (protein synthesis)
Semisynthetic tetracycline	Doxycycline		Gram-positive and Gram-negative bacteria, Rickettsias <i>Ehrlichia</i> , <i>Borrelia</i>	Inhibit translation (protein synthesis)
Chloramphenicol	Chloramphenicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Gram-positive and Gram-negative bacteria	Inhibits translation (protein synthesis)
Quinolones	Nalidixic acid	synthetic	Mainly Gram-negative bacteria	Inhibits DNA replication
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	synthetic	Gram-negative and some Gram-positive bacteria (<i>Bacillus anthracis</i>)	Inhibits DNA replication
Growth factor analogs	Sulfanilamide, Gantrisin, Trimethoprim	synthetic	Gram-positive and Gram-negative bacteria	Inhibits folic acid metabolism (anti-folate)
	Isoniazid (INH)	synthetic	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Inhibits mycolic acid synthesis; analog of pyridoxine (Vit B6)
	PAS	synthetic	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Anti-folate

Les mécanismes d'antibiotiques contre les bactéries

inhibition de la synthèse de la paroi : beta-lactams, monobactams, carboxypenems, glycopeptides, bacitracin

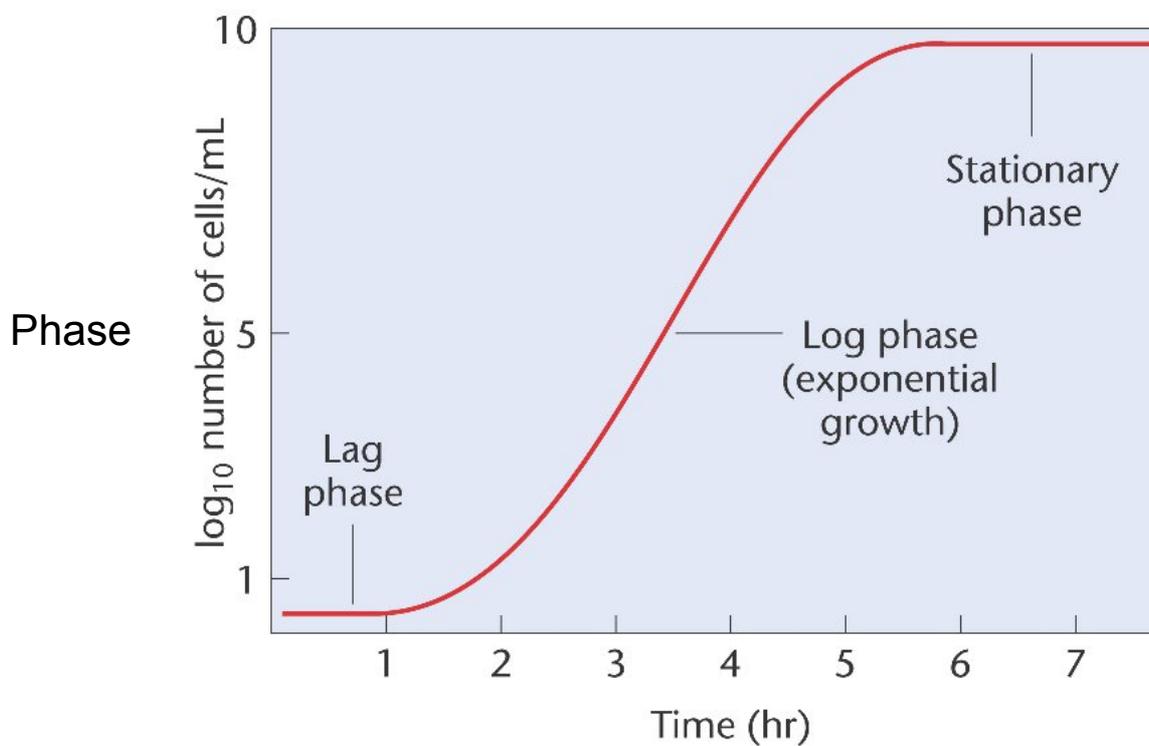
inhibition de la traduction des protéines par le ribosome : aminoglycosides, lincomycins, macrolides, tetracyclines, chloramphenicol

inhibition de la transcription d'ADN par l'ARN polymérase : rifamycin

inhibition de la replication d'ADN par ADN polymérase : quinolones

inhibition du métabolisme : triméthoprim, PAS, isoniazid.

La croissance des microorganismes



Formule de la croissance exponentielle ($N_t = N_0 \cdot 2^n$)

N_t = nombre de cellules a temps=t

N_0 = nombre de cellules a temps = zero

n = nombre de générations.