

TD N°4 de Génétique Bactérienne

Exercice 1 :

Soit une culture d'*E.coli*, sensible à la streptomycine, dont la dilution est 10^{-7} , étalée à raison de 0,1 ml sur un milieu gélosé en boîte de Pétri, donne après incubation, 10 colonies.

- 0,1 ml de cette culture est étalé sur un milieu gélosé additionné d'un antibiotique, la streptomycine, à une dose supérieure à la CMI. Après incubation, la boîte de Pétri montre 4 colonies.

Quel est le taux de mutation des résistants à la streptomycine?

- La culture initiale est traitée par un agent mutagène, la nitroso-guanidine, puis étalée comme précédemment à raison de 0,1 ml sur le même milieu gélosé à la streptomycine (GN + Stp). Après incubation, la boîte de Pétri montre 40 colonies.

Calculez le taux de mutation (T_m) des résistants. Comparez cette valeur à celle trouvée précédemment et conclure.

Exercice 1 :

On réalise un croisement entre deux souches A et B d'*E. coli* dont les génotypes sont :

(A) : *Hfr*, *arg*⁺, *bio*⁺, *leu*⁺ ;

(B) : *F*⁻, *arg*⁻, *bio*⁻, *leu*⁻

Les bactéries obtenues sont d'abord sélectionnées sur un milieu contenant uniquement de la biotine et de la leucine. Ensuite les recombinants sont répliqués sur un milieu contenant seulement de la biotine d'une part et sur un milieu contenant seulement de la leucine d'autre part, ainsi que sur un milieu minimum. Les résultats sont les suivants :

Milieu	MM+biotine+leucine	MM+biotine	MM+leucine	Milieu minimum
Nombre de colonies	376	320	328	320

- Quels sont les génotypes des bactéries sélectionnées sur chacun des milieux ? (il peut y avoir plusieurs génotypes possibles pour un même milieu).
- Pour chaque génotype combien de colonies sont obtenues ?
- Quel est l'ordre des gènes ?

Exercice 2 :

On mélange une souche d'*E. Coli* **Hfr** portant les marqueurs ($T^+ L^+$) = pouvoir de synthétiser la thionine et la leucine, (T_1^S) = sensible au phage T_1 , (Lac^+) = fermentant le lactose, (Gal^+) = fermentant le galactose, (Str^S) = streptomycine sensible et une souche **F**⁻ portant les marqueurs (T^-), (T_1^R), (Lac^-), (Gal^-) et (Str^R).

On interrompe la conjugaison aux temps indiqués ci-contre et on étale pour chaque temps des échantillons sur des milieux qui permettent de cribler les recombinants. Les résultats sont :

- 10 mn : T^+L^+ ; Gal^- ; Lac^- ; Str^R ; T_1^R
- 15 mn : T^+L^+ ; Gal^- ; Lac^- ; Str^R ; T_1^S
- 20 mn : T^+L^+ ; Gal^- ; Lac^+ ; Str^R ; T_1^S
- 28 mn : T^+L^+ ; Gal^+ ; Lac^+ ; Str^R ; T_1^S

- Déterminez l'ordre des gènes.

Exercice 3 :

Cinq souches Hfr, A - E, sont obtenues au départ d'une même souche F⁺. Le tableau ci-dessous reprend les temps d'entrée des cinq premiers marqueurs transférés dans une souche F⁻ par chacune des Hfr lors d'une expérience de croisement interrompu.

A	B	C	D	E
mal ⁺ (1)	ade ⁺ (13)	pro ⁺ (3)	pro ⁺ (10)	his ⁺ (7)
strS (11)	his ⁺ (28)	met ⁺ (29)	gal ⁺ (16)	gal ⁺ (17)
ser ⁺ (16)	gal ⁺ (38)	xyl ⁺ (32)	his ⁺ (26)	pro ⁺ (23)
ade ⁺ (36)	pro ⁺ (44)	mal ⁺ (37)	ade ⁺ (41)	met ⁺ (49)
his ⁺ (51)	met ⁺ (70)	strS (47)	ser ⁺ (61)	xyl ⁺ (52)

1. Dessinez la carte de la souche F⁺ en indiquant la position de tous les gènes et les distances en minutes qui les séparent.
2. Indiquez le point d'insertion et l'orientation de F dans chaque souche Hfr.

Exercice 4 :

Dans trois souches Hfr de bactéries, qui dérivent toutes d'une même culture F⁺ s'étant développée pendant plusieurs mois, un groupe de gènes aléatoire est étudié. On montre qu'ils sont transférés dans l'ordre suivant :

Souche HFr	Ordre de transfert					
1	E	R	I	U	M	B
2	U	M	B	A	C	T
3	C	T	E	R	I	U

1. En supposant que (B) est le premier gène du chromosome, donnez l'ordre des gènes et argumentez votre réponse ?