TD FICHE 3

Exercice 1

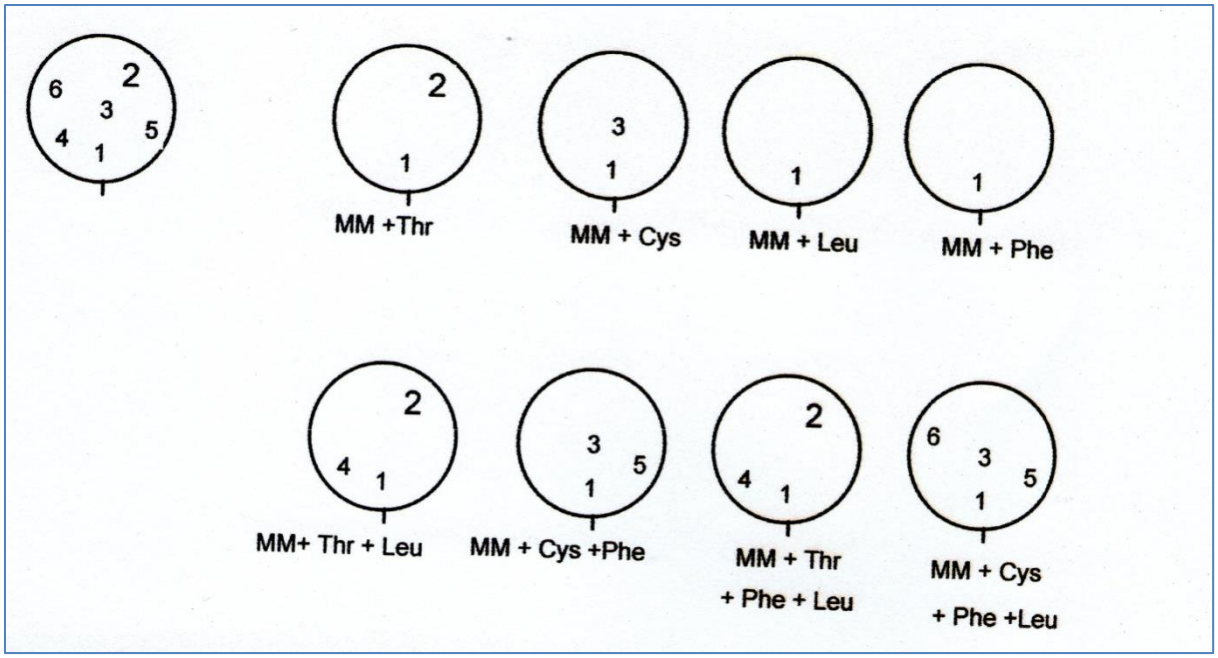
Soit une culture d'*E.coli*, sensible à la streptomycine, dont la dilution 10^{-7}, étalée à raison de 0,1 ml sur un milieu gélosé en boîte de Pétri, donne après incubation, 10 colonies.

1) 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
2) Quel est le phénotype des 4colonies

La culture initiale est traitée par un agent mutagène, la nitrosoguanidine, 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. 3) Calculez le taux de mutation (Tm2) des résistants. Comparez cette valeur à celle trouvée précédemment et conclure.

Exercice 2

Six clones d'*E.coli* numérotés de 1 à 6, sont cultivés sur milieu minimum MM additionné de thréonine (Thr), leucine (Leu), Phénylalanine (Phe) et cystéine (Cys), puis repiqués par la technique du tampon de velours sur huit milieux minimum Mm diversement additionnés d'un ou de plusieurs de ces quatre acides aminés, comme indiqué sur la figure. Les clones qui poussent sur les boîtes de Pétri sont indiqués par leurs numéros. Indiquer les phénotypes de 6 clones.



Exercice 3

On mélange une souche d'*E.coli*K12 **Hfr** portant les marqueurs (T+ L+): pouvoir de synthétiser la thréonine et la leucine, (T1s): sensible au phage T1, (Lac+):fermentant le lactose, (Gal +): fermentant le galactose, (Strs): streptomycine sensible et une souche **F-** portant les marqueurs (T- L-), (T1r), (Lac-), (Gal-), et (Strr). On interrompt 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-) (Strr) (T1r)
15 mn : (T+L+) (Gal-) (Lac-) (Strr) (T1s)
20 mn : (T+L+) (Gal-) (Lac+) (Strr) (T1s)
28 mn : (T+L+) (Gal+) (Lac+) (Strr) (T1s)

Déterminez l'ordre des gènes (T+L+) (Gal+) (Lac+) (T1s).

Exercice 4

On réalise une expérience de transformation bactérienne avec une souche auxotrophe pour la Thymine et l'Arginine 1, et de l'ADN purifié à partir d'une souche auxotrophe pour l'Arginine 2. Des fractions diluées identiques sont étalées sur milieu minéral + glucose (milieu 1) et sur milieu minéral + glucose + Arginine (milieu 2). On observe 362 colonies sur le milieu 2 et 3 colonies sur le milieu 1. Calculer le % de recombinaison entre les deux marqueurs d'arginine.

Exercice 5

Une souche bactérienne auxotrophe pour la lysine, est transduite par un lysat d'une souche auxotrophe pour l'Arginine. On étale une fraction diluée de cette culture sur un milieu minéral + glucose + Arginine (1) et une fraction identique sur milieu minéral + glucose. On obtient 195 colonies sur le milieu (1) et 10 colonies sur le milieu 2. Expliquer l'apparition des colonies sur le milieu 2- Calculer le pourcentage de bactéries recombinées.