

**UNIVERSITE DE TOURS**  
**FACULTE DES SCIENCES et TECHNIQUES**  
**Année Universitaire 2004 - 2005 - 1<sup>o</sup> session (Mai 2005)**  
**LICENCES de BIOLOGIE et de BIOCHIMIE**

**EXAMEN de MICROBIOLOGIE (sur 30 points)**

Durée = 2 heures - sans document -

**3 sujets obligatoires à traiter sur des copies séparées.**

**SUJET 1 DE Mme ROSENAU Agnès**

**(10 points)**

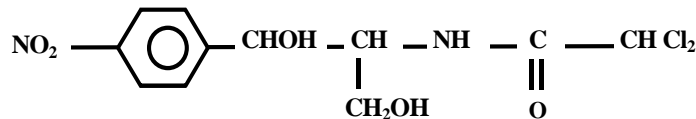
**1 – Oxydase et catalase bactériennes :**

- Expliquez la place et le rôle de ces enzymes dans le métabolisme bactérien.
- Décrivez les méthodes de mise en évidence.
- Donnez deux genres bactériens possédant ou ne possédant pas chacune de ces enzymes.  
 ( Deux genres catalase +, deux genres catalase -, deux genres oxydase +, deux genres oxydase -).

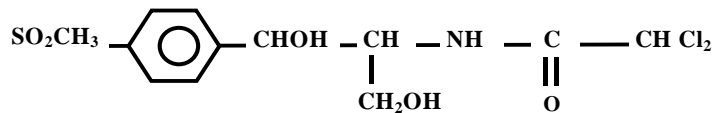
**2 – Antibiotiques :**

- D'après la formule chimique de ces antibiotiques :

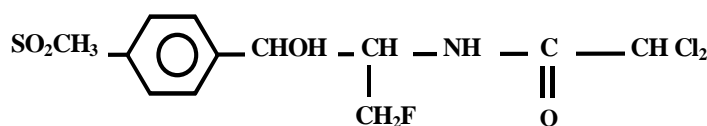
1)



2)



3)



- 1) A quelle famille appartiennent-ils ?
- 2) Reconnaissez-vous certains d'entre eux ?
- 3) Quel est l'intérêt des modifications de structure de ces molécules ?

Les concentrations critiques et les diamètres critiques de ces molécules sont : 8 et 16 mg/L et 19 et 23 mm.

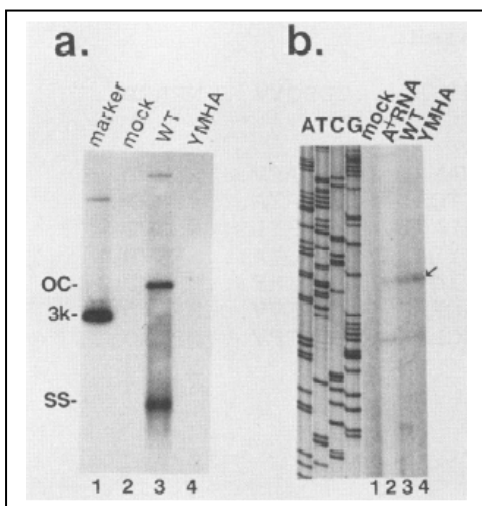
- 4) Vous déterminerez précisément, en traçant une courbe, les concentrations minimales inhibitrices de 3 souches dont les diamètres d'inhibition sont 27 mm, 35 mm et 6 mm ; vous préciserez leur catégorie clinique.

## SUJET 2 DE Mme DUPUY Catherine

(10 points)

Tiré de l'article : *Effects of insertional and point mutations on the functions of the Duck hepatitis B virus polymerase*. Chang et al, 1990. *Journal of Virology*.

Des chercheurs ont isolé une souche mutante non infectieuse du virus de l'Hépatite B du canard et cherchent à comprendre la raison pour laquelle ce virus est non infectieux. Pour cela, ils transfectent des hépatocytes avec le génome contenu dans les particules virales issues du virus sauvage (DHBV) ou du virus mutant (mDHBV). Après 4 jours, les cellules sont lysées et les particules virales intra-cellulaires sont purifiées. Les acides nucléiques totaux (ARN et ADN) sont extraits. L'ADN est transféré sur une membrane de nylon et hybridé avec une sonde correspondant à l'intégralité du génome du DHBV (Southern blot). L'ARN extrait est traité de la même façon et hybridé avec une sonde correspondant à l'ARN pré-génomique du virus (Northern blot). Les membranes sont ensuite révélées par autoradiographie. Les résultats sont présentés dans la figure 1 ci-dessous :



**Figure 1** : Southern-blot (1a) et Northern blot (1b) réalisés après extraction des acides nucléiques des particules virales purifiées à partir d'hépatocytes infectés avec le DHBV sauvage (WT) ou par le mDHBV (YMHA). Des hépatocytes non transfectés sont utilisés comme contrôle (mock).

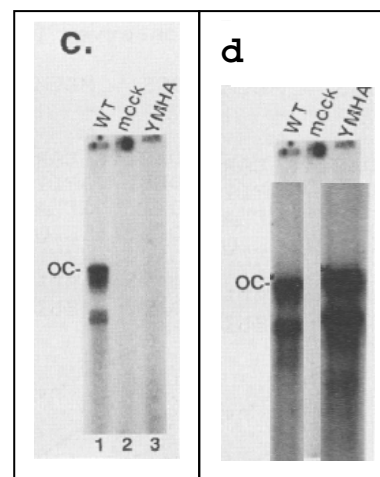
« Marker » : marqueur ADN de 3kb.

« A+RNA » : marqueur ARN polyA+ de 3.2kb.

OC : Open circular DNA (ADN circulaire ouvert)

SS : single-strand DNA : ADN simple brin.

Ne tenez pas compte dans la fig1b de la partie de la figure avec ATCG. Sur cette même figure, ne prenez en compte que la bande située au niveau de la flèche.



**Figure 2** : Southern-blot réalisés après synthèse *in vitro* des acides nucléiques purifiés à partir de particules virales issues d'hépatocytes non transfectés (mock), transfectés avec le DHBV sauvage (WT) ou par le mDHBV (YMHA) sans ajout de transcriptase réverse (2c) et avec ajout de transcriptase réverse (2d).  
OC : Open circular DNA (ADN circulaire ouvert).

**Question 1** : Analyser et interpréter les résultats présentés sur la figure 1. Quelles sont les caractéristiques de la souche mutante ?

Afin d'approfondir les résultats, les chercheurs réalisent des expériences de synthèse (réplication) *in vitro*. Des hépatocytes sont transfectés avec le génome contenu dans les particules virales issues du virus sauvage (DHBV) ou du virus mutant (mDHBV). Après 4 jours, les cellules sont lysées, les particules virales sont purifiées puis lysées. Au lysat sont ajoutés des désoxynucléosides triphosphates (dNTP ou nucléotides) marqués au  $P^{32}$  avec addition ou non de transcriptase réverse du DHBV. L'ADN synthétisé est donc marqué au  $P^{32}$ . Il est ensuite extrait spécifiquement et analysé par autoradiographie après migration en gel d'agarose. Les résultats sont représentés sur la figure 2 ci-dessus :

**Question 2** : Analyser et interpréter les résultats présentés sur la figure 2. Pourquoi la souche mDHBV est-elle non infectieuse ?

<b>SUJET 3 DE Mme PETIT Agnès</b>
-----------------------------------

<b>(10 points)</b>
--------------------

- 1 – Qu'est-ce que la transmission horizontale de gènes?  
Décrivez brièvement les différents mécanismes impliqués dans cette transmission.
- 2 – Qu'est-ce que la protéine Rec A ?  
Quel est son rôle dans la transmission horizontale de gènes ?
- 3 – Qu'est-ce que le groupe d'incompatibilité d'un plasmide ?