

UNIVERSITE
PAUL
SABATIER



TOULOUSE III

Deuxième année de Licence
Science de la Vie et de la Santé
Filière préparatoire

Travaux Dirigés d'Analyse Génétique

Année universitaire 2005-2006

Exercice n°1 :

Vous disposez d'une bactérie *E. coli* qui est prototrophe, capable de dégrader tous type de sucre et sensible aux antibiotiques connus.

Proposez un protocole précis pour isoler des mutants résistants à la streptomisine

Exercice n° 2

a) Une culture d'*E.coli* sauvage réalisée en milieu riche, génère des mutants auxotrophes pour le tryptophane (Try^-) avec une fréquence de l'ordre de 10^{-6} .

b) Lorsqu'on cultive une souche d'*E.coli* try^- en milieu riche, on obtient des Try^+ avec une fréquence de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-10} .

Question 1) Comment isoler les mutants en a ?

Question 2) Comment isoler les Try^+ en b ?

Question 3) Comment expliquer les différences de fréquences obtenues en a et b ?

Question 4) Est-il plus difficile d'obtenir les révertant Try^+ (rare, b) que les mutants Try^- (fréquents, a) ?

Exercice n° 3

A partir d'une souche sauvage d'*E.coli*, on réalise des séries de **100 cultures indépendantes** en milieu riche et en **tubes**. Lorsque le nombre de bactérie par tube atteint 10^9 , les **mutants** spontanés Sm^R et Arg^- apparus dans chaque tube sont recherchés. On obtient les résultats suivants:

	Sm^R	Arg^-
Tubes sans mutants	99	5

Question 1) Peut-on calculer une **fréquence de mutants** avec ces données ?

Question 2) Quel est le **taux moyen de mutation par division** sachant que l'inoculum de départ est négligeable par rapport au nombre de bactérie en fin de culture ?

Rappel : loi de Poisson $f(0) = e^{-m}$
 $\ln(0,99) = -0,01$; $\ln(0,05) = -2,99$

Exercice n° 4

Chez les hommes, l'analyse de certains types de cancers du côlon (HNPCC) indique la présence de mutations inactivants le gène *MSH2*. Un gène (*hexA*) présentant une séquence nucléotidique homologue à celle de HNPCC existe chez la bactérie *Streptococcus pneumoniae*.

On a analysé quelques caractères chez une souche de *S. pneumoniae* délétée pour ce gène :

a) Temps de génération : normal

b) Aspect des colonies : globalement normal ; les expérimentateurs notent cependant la présence de quelques colonies petites ou mal formées. La souche sauvage dans les mêmes conditions de culture ne présente pas de telles colonies.

c) Fréquence des mutants spontanés :

Résistants au méthotrexate (Mtx^R)	10^{-4}	(souche + : 10^{-6})
Résistants à la rifampicine (Rif^R)	10^{-7}	(souche + : 10^{-9})
Incapables de cataboliser le maltose (Mal^-)	10^{-4}	(souche + : 10^{-6})

Question 1) La fréquence des mutants Mtx^R est plus proche de la fréquence des Mal^- que de celle des Rif^R ; discutez ce point.

Question 2) Que suggèrent ces résultats quant à la fonction du produit du gène délété ?

Question 3) Est-il cohérent d'attribuer la même fonction au gène humain HNPCC ?

Exercice n° 5 : Partiel 2005 (1 heure)

Chez la bactérie *E. coli*, on veut étudier le mode d'action de l'antibiotique streptomycine (Str). Pour cela on procède à plusieurs expériences.

Expérience 1 :

On fait tout d'abord une culture de cette bactérie en milieu complet jusqu'à atteindre une concentration de 10^8 bactéries par ml de culture. On étale 1 ml de cette culture sur une boîte de petri contenant un milieu complet gélosé avec streptomycine. Après une incubation de 12h à 37°C de cette boîte, aucune colonie n'est observée.

Question 1) Que concluez-vous de cette expérience ?

Expérience 2 :

On étale maintenant 10^{10} bactéries sur une boîte de petri contenant un milieu complet gélosé avec streptomycine. Après une incubation de 12h à 37°C de cette boîte, 7 colonies sont observées.

Question 2) Quelle est la fréquence d'obtention de ce mutant ? (discutez cette valeur)

Question 3) Peut-on dire que la fréquence d'apparition de la mutation qui donne le phénotype Str^R est précisément égale à $7 \cdot 10^{-10}$?

Expérience 3 :

On a recommencé 7 fois cette expérience et isolé à chaque fois une colonie poussant sur ce milieu complet gélosé avec streptomycine. Les souches ainsi obtenues sont notées Str^R1 à Str^R7 .

Question 4) Pourquoi avoir fait 7 fois cette expérience plutôt que d'avoir isolé les 7 colonies de l'expérience 2 ?

Expérience 4 :

Par un test de complémentation chez les bactéries que l'on ne décrira pas ici, on montre que nos 7 souches mutantes appartiennent toutes au même groupe de complémentation.

Question 5) Que concluez-vous de cette expérience ?

Expérience 5 :

On nomme le gène isolé dans ces expériences *rdna* : c'est le gène d' *E. coli* dont certains allèles mutants confèrent à la bactérie une résistance à la streptomycine. Par des techniques de génétique moléculaire qui fonctionnent d'habitude très bien chez cette bactérie, on essaye de construire une souche délétée pour ce gène. Un tel mutant n'est jamais obtenu.

Question 6) Discutez ce résultat négatif ?

Expérience 6 :

On a donc cherché à obtenir des mutants thermosensibles de ce gène.

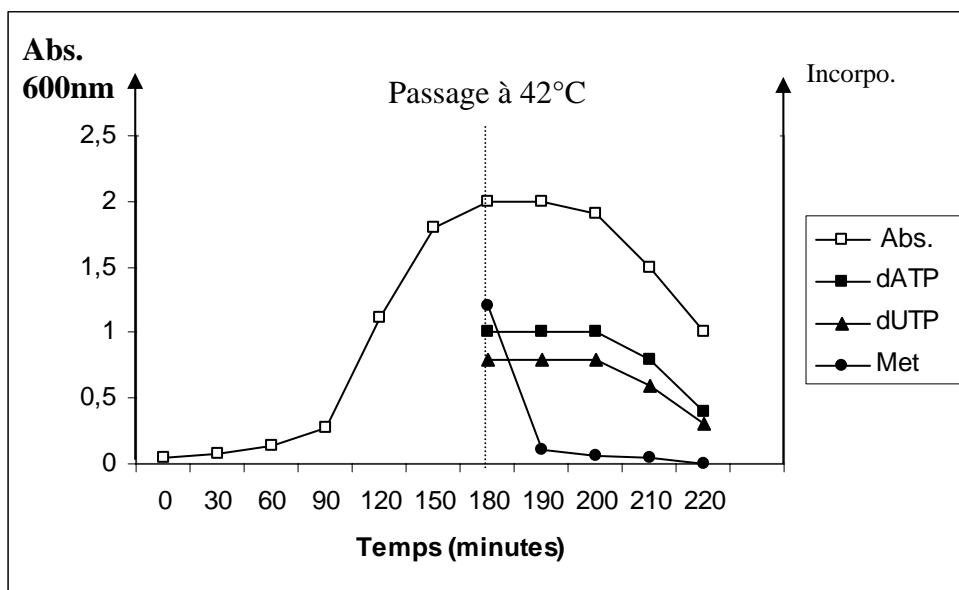
Question 7) Pourquoi chercher des mutants thermosensibles dans ce cas précis ?

Question 8) Comment isole-t-on des mutants thermosensibles en général?

Expérience 7 :

On a obtenu un mutant thermosensible du gène *rdna* : *rdnaTS*.

Le phénotype de ce mutant *rdnaTS* est analysé au cours d'une culture en milieu liquide complet. Au cours du temps la population bactérienne est dosée par spectroscopie (absorbance à 600nm = Abs. 600nm). Au bout de 180 minutes, la culture est passée à 42°C (température non permissive pour ce mutant thermosensible). A partir du changement de température, on continue de suivre l'Absorbance (Abs. 600nm), mais on dose aussi l'incorporation de différents composés marqués radioactivement (incorpo. ; unité arbitraire): dATP (nucléotide), dUTP (nucléotide spécifique des ARN), Met (méthionine, acide aminé). Les résultats sont résumés dans le graphique suivant :



Question 9) Au vu de ce graphique, pouvez-vous proposer une fonction pour le gène *rdna* ?

Question 10) Ceci vous permet-il de proposer un mécanisme d'action pour la streptomycine ?

Exercice N°6

Pour étudier la **voie de synthèse** d'un métabolite X, chez la levure (sauvage, S), on a sélectionné un certain nombre de **mutants** incapables de pousser sur milieu minimum (MM) s'il n'est pas additionné du composé X (MM+X) : ces mutants sont notés X₁ ...à ... X₆.

On connaît un certain nombre d'intermédiaires supposés de la voie de synthèse de X : A, B, C, E, F et X.

On analyse d'abord la croissance des **haploïdes** mutants sur des MM additionnés des intermédiaires supposés :

	MM	MM+A	MM+B	MM+C	MM+X	MM+E	MM+F
X1	-	-	+	-	+	-	-
X2	-	-	+	+	+	-	-
X3	-	-	+	-	+	-	-
X4	-	+	+	+	+	-	-
X5	-	-	-	-	+	-	-
X6	-	+	+	+	+	+	-
S	+	+	+	+	+	+	+

On analyse ensuite la croissance sur MM des **diploïdes** issus des croisements entre haploïdes mutants et/ou sauvage (S) :

	S	X1	X2	X3	X4	X5	X6
S	+	+	+	+	+	+	+
X1		-	+	-	+	+	+
X2			-	+	+	+	+
X3				-	+	+	+
X4					-	+	+
X5						-	-
X6							-

Légende : + = croissance ; - = pas de croissance

Question) Analysez ces données.

Exercice n°7

Chez un rongeur on a isolé deux souches pures mutantes :

Souche A : pelage clair, noté [c]

Souche B : moustaches frisées noté [f]

La souche sauvage notée (+) , est grise à moustaches raides.

Les croisements suivants sont réalisés et donnent les résultats indiqués :

A x (+) => F1_{Ax+} [+] F1_{Ax+} x F1_{Ax+} => F2_{Ax+} : 147 [+] et 53 [c]

B x (+) => F1_{Bx+} [+] F1_{Bx+} x F1_{Bx+} => F2_{Bx+} : 211 [+] et 69 [f]

Question 1) Interpréter ces résultats.

Question 2) On croise A avec B. Les F1_{AxB} sont [+]. Donnez le génotype des F1_{AxB}.

Les F1_{AxB} sont croisées entre elles.

On obtient en F2_{AxB} : 7 individus [c, f], 22 individus [c], 20 individus [f] et 61 [+]

Question 3) Les F2_{AxB} confirment-elles les F2_{Ax+} et les F2_{Bx+} ? Apportent-elles d'autres informations ?

Exercice n°8: Partiel 2002 (1 heure)

La souche sauvage haploïde de levure, notée (+), est prototrophe pour l'uracile, [ura⁺].

On dispose de 8 souches haploïdes mutantes de levures, notées de A à H, auxotrophes pour l'uracile, [ura⁻].

Chaque souche mutante est croisée avec la souche (+). Tous les croisements mutant x mutant sont également réalisés. Les phénotypes des diploïdes issus de chaque croisement sont consignés dans le tableau ci-dessous.

NB: Les phénotypes des diploïdes issus des croisements mutant x mutant impliquant la souche H ont été volontairement omis.

+ signifie que le phénotype des diploïdes est [ura⁺]

- signifie que le phénotype des diploïdes est [ura⁻]

	A	B	C	D	E	F	G	H
(+)	+	+	+	+	+	+	+	-
A		-	+	-	+	+	+	
B			+	-	+	+	+	
C				+	+	+	+	
D					+	+	+	
E						+	-	
F							-	
G								

- 1) *Interprétez les phénotypes des diploïdes issus des croisements mutant x (+) (1^{ère} ligne du tableau).*
- 2) *Quel phénotype a-t-on vraisemblablement observé pour tous les diploïdes issus des croisements mutant x mutant impliquant la souche H?*
- 3) *Combien de gènes sont-ils mis en évidence par les croisements mutant x mutant impliquant les 7 souches A, B, C, D, E, F et G ? (expliquer).*
- 4) On fait sporuler les diploïdes issus des croisements entre chacun des 8 mutants et la souche (+). Un seul de ces 8 croisements n'a pas généré 50% de spores [ura⁺] et 50% de spores [ura⁻].
Quel est le mutant dont le croisement avec la souche (+) n'a pas généré 50% de spores [ura⁺] et 50% de spores [ura⁻] ? Que peut-on conclure pour les 7 autres mutants?
- 5) *Les souches C et H portent-elles la même mutation? (expliquer)
Peut-on dire si les souches C et H sont mutées sur le même gène? (expliquer)*
- 6) On fait sporuler les diploïdes issus du croisement C x H. 100% des spores ainsi produites sont [ura⁻].
Que suggère ce résultat?

Exercice n°9

Chez une plante, l'allèle A d'un gène responsable de la couleur des pétales présente une dominance partielle sur l'allèle a. On obtient les phénotypes suivants : rouge pour AA, rose pour Aa, blanc pour aa . Dans le cas du gène responsable de la couleur des graines, celui ci possède un allèle B présentant une dominance partielle sur b, de telle sorte que l'on obtient des graine rouge pour BB, roses pour Bb et blanches pour bb.

Question 1) Prévoir le phénotype et les proportions attendus parmi la descendance des croisements suivants dans l'hypothèse où les gènes sont sur des chromosomes différents :

AA bb x aa BB 2) Aa Bb x Aa Bb 3) Aa Bb x aa bb

Question 2) Le croisement 3) a été réalisé. Interprétez les résultats obtenus ci-dessous:

Fleur rose, graine rose	370
Fleur rose, graine blanche	135
Fleur blanche, graine rose	130
Fleur Blanche, graine blanche	365

Question 3) Déterminez le phénotype des parents de Aa Bb, sachant que ce sont des lignées pures.

Exercice n°10

Dans une population hétérogène, on a prélevé deux plantes de pois dont l'une (A) est à fleurs rouges et a donné des grains ridés, tandis que l'autre (B) est à fleurs blanches et a donné des grains lisses.

Le croisement de la plante A par la plante B donne une F1 homogène à fleurs rouges et grains lisses.

La F2 obtenue par autofécondation de la F1 a la composition suivante :

- 5021 plantes à fleurs rouges et grains lisses
- 2448 plantes à fleurs rouges et grains ridés
- 27 plantes à fleurs blanches et grains ridés
- 2470 plantes à fleurs blanches et grains lisses

Question 1) Indiquez les relations de dominance /récessivité, le nombre de gènes en présence, en les localisant les uns par rapport aux autres si nécessaire.

Question 2) Que pouvez vous dire du génotype des souches A et B.

Exercice n° 11

A partir d'une culture sauvage , notée +, de *Sordaria macrospora*, prototrophe, des mutants auxotrophes pour l'uracile ont été isolés. Ces mutants sont notés A, B et C. Plusieurs croisements ont été réalisés et pour chacun d'entre eux, 100 asques sont analysées. On obtient les résultats suivant :

asques	+	+	-	+	-	-	-
	+	-	+	-	-	+	-
	-	+	+	-	-	-	-
	-	-	-	+	+	-	-
croisements							
A x +	100						
B x +	80	10	6	4			
C x +	40				10	10	40
A x C							100
B x C							100

Interprétez ces résultats.

Exercice 12 : Avril 2003 (1heure)

Chez la levure, *Saccharomyces cerevisiae*, des chercheurs s'intéressent aux processus de brassage génétique qui ont lieu à la méiose.

Les chercheurs ont tout d'abord obtenu trois souches (A, B et C) auxotrophes pour la leucine, [leu-]. Lorsqu'on les croise avec une souche sauvage (+) prototrophe, [leu+], on obtient les résultats suivants :

Croisement	Phénotype du diploïde	Descendance du diploïde : phénotype des haploïdes en tétrades
A x +	[leu+]	100 : (2 [leu+] ; 2 [leu-])
B x +	[leu+]	45 : (2 [leu+] ; 2 [leu-]) 5 : (1 [leu+] ; 3 [leu-]) 45 : (4 [leu-])
C x +	[leu+]	90 : (2 [leu+] ; 2 [leu-]) 8 : (1 [leu+] ; 3 [leu-]) 2 : (4 [leu-])

Q1) Pour chaque croisement :

- a) **Que concluez-vous du phénotype du diploïde ?**
- b) **Que concluez-vous de la descendance haploïde ?**

A partir de ces souches A, B et C, les chercheurs ont construit trois autres souches A*, B* et C* dans lesquelles le gène *spo11* a été délété (l'allèle se note Δ). Ces nouvelles souches sont toujours [leu-]. On les croise avec une souche nommée D, dérivée de (+), délétée de *spo11* et qui est [leu+].

Croisement	Phénotype du diploïde	Descendance du diploïde : phénotypes des haploïdes en tétrades
A* x D	[leu+]	100 : (2 [leu+] ; 2 [leu-])
B* x D	[leu+]	50 : (2 [leu+] ; 2 [leu-]) 50 : (4 [leu-])
C* x D	[leu+]	100 : (2 [leu+] ; 2 [leu-])

Q2) Pour chaque mutant, la délétion de *spo11* modifie-t-elle la descendance ? Si oui, quel(s) événements sont absents ?

Exercice n°13 : Juin 2002 (1 heure)

On dispose de plusieurs souches pures de *Drosophila melanogaster* :

- la souche sauvage, de phénotype [œil rouge]
- la souche A, de phénotype [œil brun]
- la souche B, de phénotype [œil brun].

Au cours de ce travail, on va analyser une partie du déterminisme génétique de la couleur des yeux chez *Drosophila melanogaster*.

A) Analyse de la souche A.

On croise une femelle A [œil brun] avec un mâle sauvage [œil rouge].

En F1, on a 100% [œil rouge] et en F2 (F1 x F1), on obtient :

- 448 drosophiles à [œil rouge]
- 152 drosophiles [œil brun].

Q1 : Quels renseignements fournissent ces résultats ? **2Pts**

B) Analyse de la souche B.

On croise une femelle sauvage [œil rouge], avec un mâle B [œil brun].

En F1, on a 100% [œil rouge] et en F2 (F1 x F1), on obtient :

- 302 drosophiles à [œil rouge]
- 98 drosophiles à [œil brun].

Q2 : Quels renseignements fournissent ces résultats ? **2Pts**

Q3 : Que pouvez-vous dire en comparant les résultats des Q1 et Q2 ? **1Pt**

C) Analyse du croisement de A et B.

On croise une femelle A [œil brun], avec un mâle B [œil brun].

En F1, on a 100% [œil rouge]. En F2 (F1 x F1), on obtient :

- 898 drosophiles à [œil rouge]
- 702 drosophiles à [œil brun].

Q4 : Quelle information apporte la F1 ? **1Pt**

Q5 : Interprétez les effectifs de la F2 (nombre de gène muté , localisation ...).

Q6 : Combien de gènes au minimum contrôlent la couleur des yeux chez *Drosophila melanogaster* et quelles sont leurs relations ? **questions 5 & 6 groupées 2Pts**

Q7 : On croise une femelle F1 avec un mâle F2 de phénotype [œil brun] et on obtient 250 drosophiles à [œil rouge] et 250 drosophiles à [œil brun]. Quel est le génotypes du mâle F2 utilisés dans ce croisement. De quel type de croisement s'agit-il ? **2Pts**

Exercice n°14 : Septembre 2000 (1 heure)

Chez les plante, la lignée sauvage (homozygote, notée +) présente une fleur jaune-pâle. On a sélectionné 3 lignées homozygotes mutantes notées A, B, et C. (A : fleurs blanches ; B : fleurs blanches ; C : fleurs rouge-orangées).

I) Analyse des croisements entre mutant et sauvage.

Croisement	F1	F2 (F1 x F1)
A x +	?	902 jaune-pâles ; 298 blanches
B x +	?	1000 jaune-pâles ; 334 blanches
C x +	?	1350 rouge-orangées ; 450 jaune-pâles

Question 1) Interprétez la F2 de chaque croisement.

Question 2) Déduire les phénotypes de la F1 de chaque croisement.

II) Analyse des croisements entre mutants.

Croisement	F1	F2 (F1 x F1)
A x C	rouge-orangées	3748 rouge-orangées ; 1252 blanches
A x B	jaune-pâles	1294 jaune-pâles ; 1006 blanches
B x C	rouge-orangées	2249 rouge-orangées ; 749 jaune-pâles ; 1002 blanches

Question 3) Pour chacun des trois croisements, dire quelle information la F1 donne ou ne donne pas.

Question 4) Interprétez la F2 de chacun des trois croisements (ségrégations géniques, éventuelles indépendances ou liaisons, relations génotype-phénotype).

III) Bilan

Question 5) Quel nombre minimal de gènes, impliqués dans la couleur des fleurs, pouvez-vous proposer au vu de ces résultats ?

Question 6) Combien de mutations différentes sont-elles mises en évidence par ces trois mutants ?

Question 7) Chez la plante sauvage (+) la couleur jaune-pâle est due à la présence d'un pigment synthétisé par les cellules. Au vu des résultats obtenus ici, proposez une voie de synthèse pour ce pigment : placez les gènes, les mutations et leur conséquences fonctionnelles.

Exercice n° 15 : Janvier 1999 (1 heure)

Soient 4 souches mutantes de drosophile qui ne peuvent pas voler car leurs ailes sont paralysées. Ce phénotype est noté [inv], pour incapacité à voler. Les 4 souches mutantes sont pures et notées A, B, C et D. La souche sauvage (pure) est notée +, de phénotype [+]. L'analyse génétique effectuée sur ces souches est décrite dans le tableau ci-dessous. Les F2 sont obtenues par autofécondation F1 x F1.

Croisements	F1	femelles F2	mâles F2
m (A) x f (+)	[+]	124 [+]; 39 [inv]	119 [+]; 38 [inv]
m (B) x f (+)	[+]	185 [+]; 64 [inv]	187 [+]; 63 [inv]
m (C) x f (+)	[+]	111 [+]; 36 [inv]	110 [+]; 37 [inv]
m (D) x f (+)	[+]	439 [+]	199 [+]; 197 [inv] 21 [invG]; 23 [invD]
m (A) x f (B)	[+]	352 [+]; 349 [inv]	351 [+]; 353 [inv]
m (B) x f (C)	[inv]	2 [+]; 44948 [inv]	3 [+]; 45047 [inv]

f = femelle; m = mâles

[invG] = aile gauche paralysée mais aile droite fonctionnelle

[invD] = aile droite paralysée mais aile gauche fonctionnelle

Questions :

A- Interprétation des croisements : mutant x sauvage.

- 1) Donnez les relations de dominance / récessivité.
- 2) Quelle est la localisation chromosomique des mutations (autosomes ou chromosomes sexuels) ?
- 3) Combien de gènes sont mutés chez chacun des mutants ? Si certaines souches ont plus d'un gène muté, dire si ces gènes sont indépendants ou liés (distance).

B- Interprétation des croisements : mutant x mutant.

- 4) Qu'indiquent les F1 des croisements *m (A) x f(B)* et *m (B) x f(C)* ?
- 5) Qu'indique la F2 du croisement *m (A) x f(B)* ? Quelle information cette F2 n'apporte t'elle pas ?
- 6) Comment expliquer l'apparition de mouches [+] en F2 du croisement (B) x (C) ? Déterminer la distance entre le site muté chez (B) et celui muté chez (C) à partir de la fréquence de ces mouches [+].

Remarques :

- En F1 les femelles et les mâles présentent le même phénotype.
- Il n'y a pas de crossing-over chez le mâle de la drosophile
- Si plusieurs croisements donnent lieu à la même interprétation, une seule démonstration suffit.

Exercice n° 16

Chez *Escherichia coli*, on a isolé cinq mutants auxotrophes pour le tryptophane [Trp-], notés M1 à M5.

Question 1) Donner un protocole pour cet isolement.

A partir d'une souche prototrophe d'*E.coli* portant un gène de résistance à la tétracycline [TetR] inséré sur son chromosome, on obtient un lysat transducteur P1. Ce lysat est utilisé pour infecter les cinq mutants [Trp-] isolés précédemment. Ces transductions sont étalées sur milieu minimum.

Question 2) Que sélectionne-t-on dans ces conditions ? Quels sont les événements majoritaires conduisant à l'apparition de ces colonies ?

Un schéma explicatif sera bienvenu.

Parmi les transductants [Trp+], on cherche ceux qui sont aussi [TetR], on obtient les résultats suivant :

mutants	% de [TetR] parmi les [Trp+]
M1	95
M2	90
M3	90
M4	85
M5	80

Question 3) Que pouvez vous conclure à partir de ces résultats ?

Exercice n° 17

1) Sachant que chez la bactérie *Escherichia coli*, la fréquence d'apparition de mutants est de l'ordre de 10^{-6} , proposez :

- un protocole pour isoler un mutant incapable de synthétiser le Tryptophane (phénotype Trp⁻)
- un protocole pour isoler un mutant incapable d'utiliser le maltose (phénotype Mal⁻)
- un protocole pour isoler un mutant résistant à la Kanamycine (phénotype Kan^R)

2) Plusieurs de ces 3 types de mutants ont été isolés et après analyse génétique l'ensemble des mutants a permis d'identifier 5 gènes *trp* (notés *trpA* à *trpE*), 2 gènes *mal* (*malA* et *malB*) et 2 gènes *kan* (*kan1* et *kan2*). Des expériences de conjugaison, que l'on ne décrira pas ici, avec 4 souches Hfr différentes (Hfr1 à Hfr4) ont été réalisées, et l'ordre d'apparition des marqueurs a été le suivant :

- *trpA-kan1-trpB-trpC-malA-trpD-malB-trpE-kan2* (conjugaison avec la souche Hfr1)
- *trpC-malA-trpD-malB-trpE-kan2-trpA-kan1-trpB* (conjugaison avec la souche Hfr2)
- *trpD-malA-trpC-trpB-kan1-trpA-kan2-trpE-malB* (conjugaison avec la souche Hfr3)
- *trpE-kan2-trpA-kan1-trpB-trpC-malA-trpD-malB* (conjugaison avec la souche Hfr4)

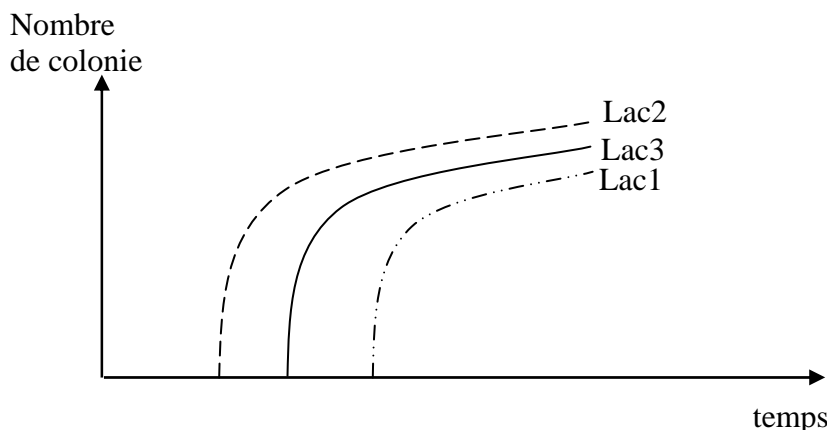
Question) Positionnez qualitativement les marqueurs sur le chromosome ainsi que l'origine et le sens de transfert des Hfr.

Exercice n° 18

À partir d'une souche d'*E.coli* résistante à l'Ampicilline (présence du gène *bla*) de phénotype lactose +, on a isolé trois souches Lactose – (Lac1, Lac2 et Lac3). Ces trois souches n'appartiennent pas au même groupe de complémentation et ne sont mutées que pour un seul gène chacune.

Chacune de ces souches (Lac1, 2 ou 3) est mise en co-culture avec une souche d'*E.coli* Lactose + et HFR en milieu riche à 37°C. Au cours du temps des aliquots de 0,1 ml de ces co-cultures sont étalés sur un milieu minimum contenant de l'ampicilline et du lactose comme seule source de carbone.

On obtient les résultats suivants :



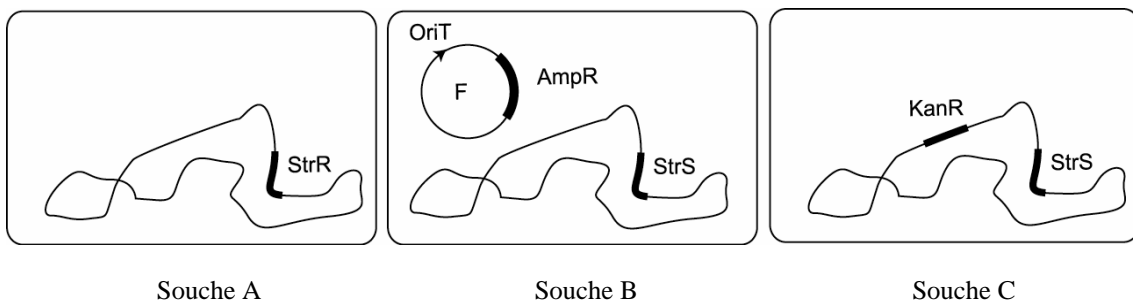
Question 1 : Expliquer le principe de l'expérience

Question 2 : Que peut-on conclure du résultat de cette expérience ?

Exercice 19

A partir d'une souche F- d'*E.coli*, on peut obtenir une souche résistante à la streptomycine. Une fois obtenue, cette souche A [*str^R*, F-] est mise en co-culture, en milieu liquide complet à 37°C, avec une souche B qui contient un plasmide conjugatif F pourvu d'un gène de résistance à l'ampicilline* [*str^S*, F+*amp^R*]. Au bout de quelques heures, on étale une dilution de la co-culture sur un milieu gélosé complet contenant de l'ampicilline et de la streptomycine. Après 12 heures d'incubation à 37°C, on observe plusieurs colonies sur la boîte .

* la résistance à l'ampicilline est due à la production de β -lactamase et ne peut être obtenue par la mutation spontanée d'un gène préexistant chez *E.coli*.



1) Que ce passe-t-il lors de cette en co-culture et qu' isole-t-on sur la boîte ? (schéma) (2pts)

On a conservé des cultures des différents individus [str^R , F^+amp^R] isolés précédemment. Des co-cultures entre ces souches [str^R , F^+amp^R] et une souche C résistante à la kanamycine et qui ne contient pas de facteur F [Kan^R , F-] sont faites en milieu liquide complet. Au bout de quelques heures, on étale des dilutions de ces différentes co-cultures sur un milieu gélosé complet contenant de la Kanamycine (MC + Kana) ou de la Kanamycine et de l'ampicilline (MC + Amp + Kana) ou de la Kanamycine et de la streptomycine (MC + Kana + Strep). Après 12 heures d'incubation à 37°C, on regarde si on obtient des colonies sur les boîtes . Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous où la présence de colonies est notée par un + et l'absence par un -. On obtient 4 types de résultats différents en fonction des individus [str^R , F^+amp^R] de départ.

Individu	MC + Kana	MC + Kana + Amp	MC + Kana + Strep
Type I	+	+	-
Type II	+	-	+
Type III	+	+	+
Type IV	+	-	-

2) Comment peut-on expliquer que tous les individus [str^R , F^+amp^R] de départ ne se comportent pas de la même façon ? (1pts)

3) Donner une explication possible (schéma) pour le comportement de chaque type d'individu. (2pts)

Exercice n° 20

En vue d'analyser le mécanisme de régulation de l'expression des opérons permettant l'utilisation du lactose d'une part et de l'arabinose d'autre part, les gènes codant pour les protéines régulatrices de chaque opéron ont été délétés et l'activité des enzymes impliqués dans le catabolisme de chacun de ces sucres a été déterminée. Les résultats sont les suivants :

- Lactose (activités enzymatiques):

	+ inducteur	- inducteur
Souche sauvage	100	1
Souche délétée	100	100

- Arabinose (activités enzymatiques):

	+ inducteur	- inducteur
Souche sauvage	100	1
Souche délétée	1	1

Question) Expliquez ces résultats en proposant un modèle de régulation des gènes impliqués dans le catabolisme du lactose et de l'arabinose.

Exercice n° 21 :

On dispose de trois souches d' *E.coli* (F⁻) mutantes pour la régulation de l'opéron lactose (mutants A, B et C). On conjugue ces souches par une souche ayant un F' portant tout l'opéron lactose sauvage (régulé). Les phénotypes des exconjugants sont présentés dans le tableau ci-dessous :

mutants	phénotype	Phénotype après conjugaison
A	Lac + constitutif	Lac + constitutif
B	Lac + constitutif	Lac+
C	Lac -	Lac -

Question) En vous appuyant sur vos connaissances sur la régulation de l'opéron lactose, proposez , en vous justifiant, un génotype pour les mutants A, B et C.

CORRIGES

Corrigé de l'exercice n°14 :

1) Interprétation des F2 :

A x + F1 : ? et F2 : ¾ jaunes pâles ; ¼ blanches
Ceci est compatible avec une solution monogénique ou jaunes pâles est dominant sur blanches. On écrit :

$$\begin{array}{ccc} A & \times & + \\ b/b & & +/+ \end{array}$$

F1 : b/+

F2	b (½)	+ (½)
b (½)	blanches	Jaunes pâles
+ (½)	Jaunes pâles	Jaunes pâles

On produit le même raisonnement pour la souche B.

Pour la souche C, le raisonnement est le même mais cette fois, le phénotype rouge-orangées est dominant.

2) Les F1 de A x + et de B x + sont jaunes pâles et celle de C x + est rouge-orangée (cf. hypothèses de 1).

3) Rouge-orangées semble dominant sur blanches (A x C et B x C).

Le croisement A x B donne un phénotype sauvage. Ces deux souches mutantes complètent donc. Elle ne sont donc pas muté pour le même gène. Il existe donc au moins deux gènes différents qui, lorsqu'ils sont mutés, donne le phénotype blanches.

4) En F2 :

A x C donne une F2 en ¾ rouge-orangées, ¼ blanches qui est compatible avec une hypothèse monogénique :

$$\begin{array}{ccc} A & \times & C \\ b/b & & c/c \end{array}$$

F1 : b/c

F2	b (½)	c (½)
b (½)	blanches	Rouge-orangées
c (½)	Rouge-orangées	Rouge-orangées

Ces deux souches présentent donc deux allèles du même gène: l'un dominant et l'autre récessif.

A x B On sait qu'on regarde deux gènes différents (cf. 3). Sont-ils liés ou Indépendants ? La F2 est en 9/16 Jaunes-pâles et 7/16 blanches. Posons une hypothèse simple où les deux gènes sont indépendants.

A x B
 b1/b1, +/+ +/+ , b2/b2

F1 : b1/+, +/b2

F2	b1, + (1/4)	+, b2 (1/4)	b1, b2 (1/4)	+, + (1/4)
b1, + (1/4)	blanches	Jaunes pâles	blanches	Jaunes pâles
+, b2 (1/4)	Jaunes pâles	blanches	blanches	Jaunes pâles
b1, b2 (1/4)	blanches	blanches	blanches	Jaunes pâles
+, + (1/4)	Jaunes pâles	Jaunes pâles	Jaunes pâles	Jaunes pâles

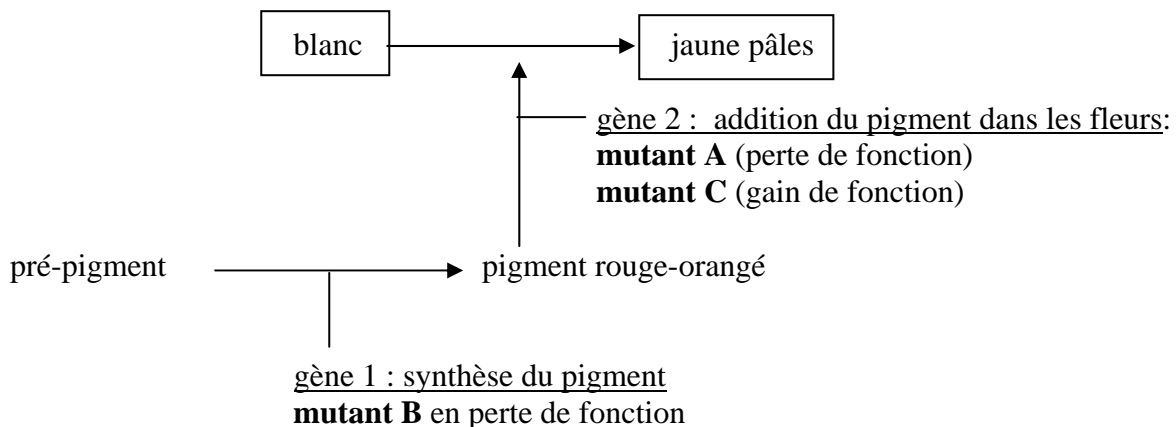
L'hypothèse de deux gènes indépendants semble donc la bonne.

B x C En F2 on a 9/16 rouges-orangées, 3/16 jaunes-pâles, 4/16 blanches. B est muté pour un gène indépendant de celui muté en A, et A est muté pour le même gène que celui muté en C. Donc B et C sont mutés pour deux gènes indépendants.

5) On a donc au moins deux gènes impliqués dans la couleur des fleurs : Le gène muté en A et C et celui muté en B.

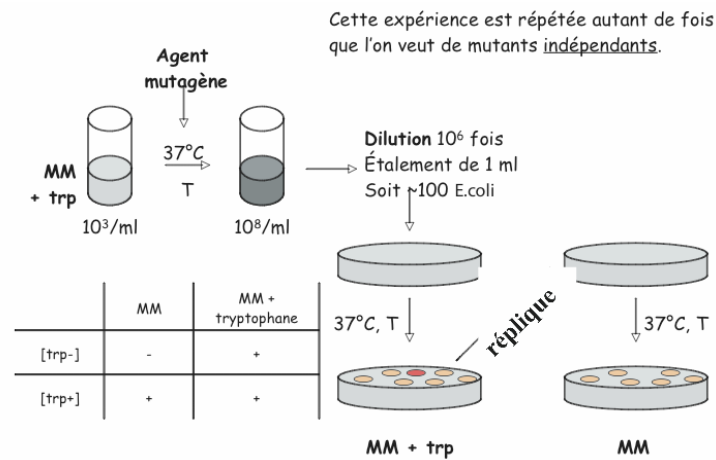
6) On a trois mutations différentes puisque la mutation du gène en C est différente de celle en A (une récessive l'autre dominant).

7) On peut proposer :



corrigé de l'exercice e n°16 :

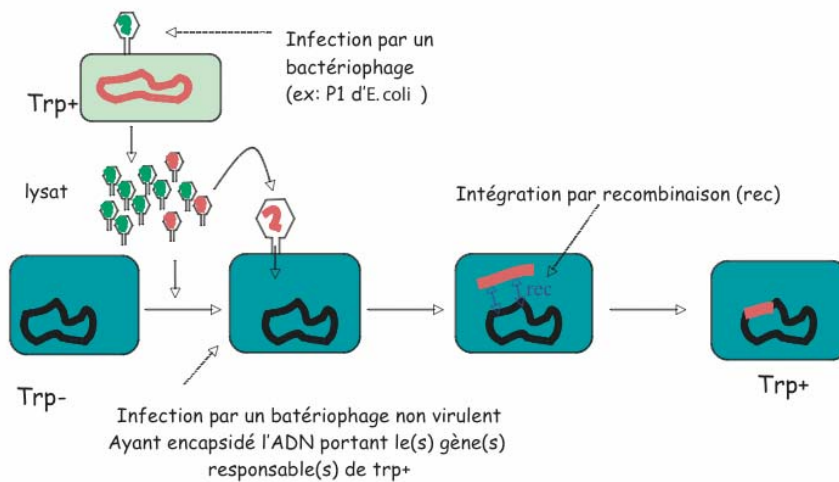
Q1) Crible indirect :



Q2)

On sélectionne des bactéries qui étaient (trp-) à l'origine mais qui ont été transformées en bactéries (trp+).

Cette transformation se fait majoritairement par transduction. Le Bactériophage P1 transduit l'allèle (trp+) de la souche prototrophe infectée vers la souche mutante. La bactérie mutante peut aussi reverser mais à très basse fréquence (minoritaire).



Q3)

On observe une co-transduction entre les allèles trp- et l'allèle tetR. Ces allèles sont donc proches les uns des autres. Le pourcentage de co-transduction est proportionnel à la proximité des allèles donc on peut ranger les allèles trp- par ordre croissant de distance par rapport à l'allèle tetR :

M1 ; M2, M3 ; M4 ; M5.

Notons que les allèles M2 et M3 peuvent être identiques ou différents (placés de par et d'autre de tetR).