

**Université Mohamed Khider -Biskra-**  
**Faculté des Sciences Exactes et des SNV**  
**Département des SNV**

**TD N° 03 : Mutation**

L'étude des mutations et des mutants est très importante en biologie car elle permet de comprendre le fonctionnement de la cellule et l'organisation des gènes.

**1/Exemples de mutations chez les bactéries :**

\**Mutants auxotrophes* : la mutation induit une exigence par rapport au milieu de culture. Par exemple un mutant peut être auxotrophe pour la thréonine. Ces mutants sont nommés thr<sup>-</sup>. Les bactéries sauvages sont dites thr<sup>+</sup>. Un mutant peut être auxotrophe pour différents nutriments (acides aminés, vitamines, bases puriques...). L'auxotrophie peut être multiple.

\**Mutants résistants* (ou *non résistants*) : certaines bactéries sont résistantes à des agents toxiques comme l'azoture (NaN<sub>3</sub>) ou les métaux lourds car ils possèdent des gènes de résistance. Ces gènes de résistance ne sont pas obligatoires. Les bactéries les possédants sont capables de résister aux agents toxiques correspondants. Comme n'importe quel gène ces gènes de résistance peuvent muter. Les mutants seront donc incapables de survivre dans un milieu comportant la substance toxique en question... Il existe également des gènes de résistance à des antibiotiques et à des bactériophages (*E. coli* est résistant au phage T2 grâce au gène ton : tonS et tonR), une mutation au niveau de ces gènes rend la bactéries non résistantes (sensible).

\**Mutants cataboliques* : Les mutants cataboliques sont incapables d'utiliser (de dégrader) une substance, par exemple le galactose ou le lactose. On parle donc de bactéries gal<sup>-</sup>, gal<sup>+</sup>, lac<sup>-</sup> et lac<sup>+</sup>.

**2/Expérience de Lederberg (1952) : Spontanéité de la mutation**

**Principe**

Un morceau de velours stérile est tendu sur un cylindre de métal ou de bois dont le diamètre est légèrement plus petit qu'une boîte de Pétri. En appuyant légèrement le velours sur une gélose en boîte de Pétri contenant des colonies bactériennes, une fraction de chaque colonie est transférée sur le velours. En appliquant ensuite la surface du velours sur une autre gélose vierge, on obtient d'un seul coup un repiquage colonie par colonie de la première gélose, et, en répétant les « répliques », on peut repiquer l'ensemble des colonies d'une boîte de Petri sur de multiples boîtes.

**Réalisation**

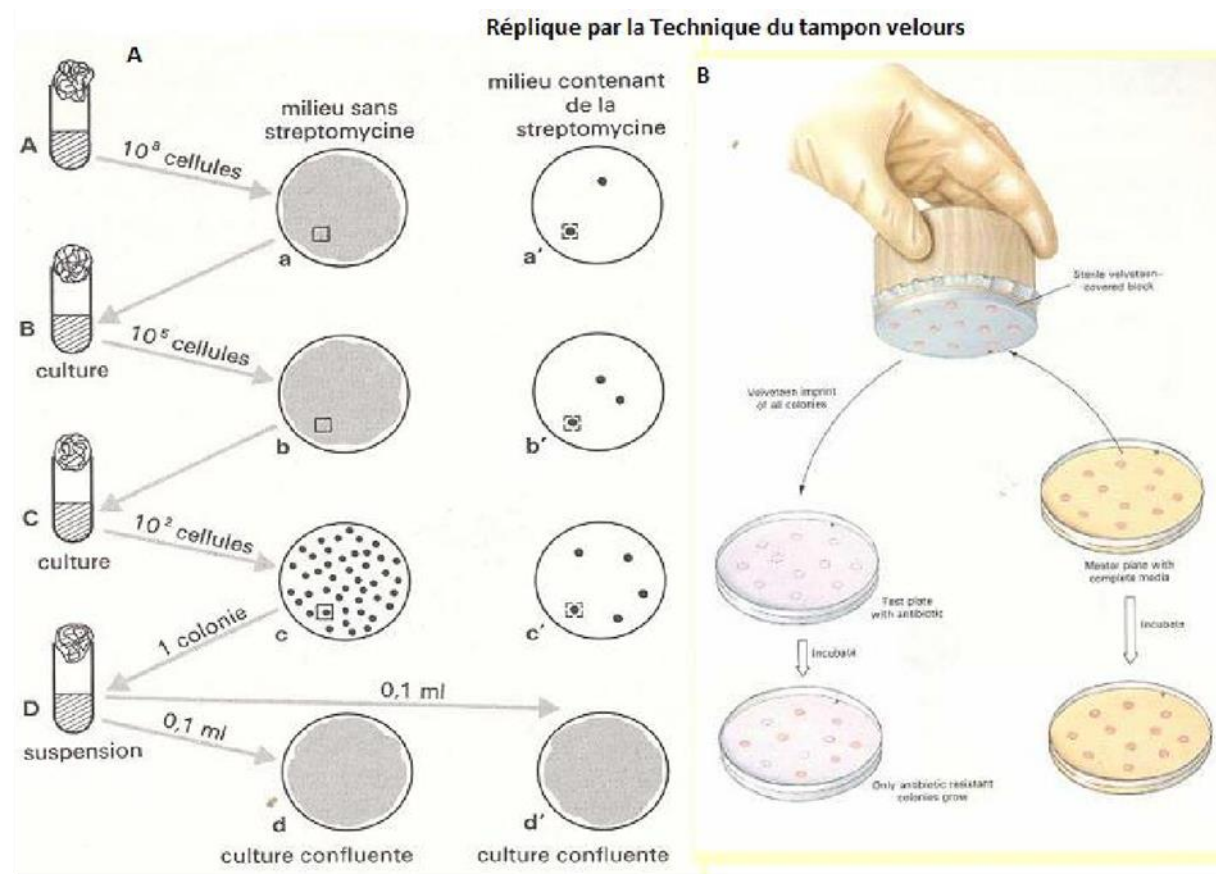
Pour cela on étale un grand nombre d'*E. coli* sur une gélose sans antibiotique (Streptomycine). Lorsque la culture a poussé en donnant des colonies confluentes, on fait, à partir de cette gélose, des répliques sur d'autres boîtes contenant l'antibiotique. Quelques colonies de **mutants résistants à l'antibiotique** apparaissent sur ces boîtes repiquées, ces colonies occupent une position identique que celle dans la boîte originelle. On peut présumer que ce sont **originaires de cellules qui se trouvaient sur la boîte d'origine**. Des colonies de la culture à l'emplacement correspondant sur la boîte d'origine sont prélevées et ensemencées dans un tube de bouillon. Lorsque la culture en bouillon s'est produite, un échantillon est étalé sur une seconde boîte de

gélose sans antibiotique et, ensuite, lorsque cette culture a poussé, on repique par la technique du tampon de velours de nouvelles boîtes contenant l'antibiotique. On constate qu'il y a maintenant une **plus grande proportion de colonies résistantes** que la première fois. On constate aussi que des colonies de mutants résistants occupent une position identique sur chaque boîte répliquée. Il suffit de prélever à nouveau des colonies à la surface de culture à l'emplacement correspondant sur la boîte d'origine et de les mettre dans un bouillon.

Si on répète ce processus plusieurs fois, on obtient des cultures **de plus en plus riches en colonies résistantes à l'antibiotique**.

Le fait capital de cette expérience est que, **sans aucun contact direct avec l'antibiotique, on a pu augmenter la proportion de mutants**, à chaque cycle d'étalement, ce qui prouve que la mutation originelle confère la résistance à l'antibiotique est apparue en l'absence de l'antibiotique qui ne joue dans l'expérience que le rôle d'agent sélecteur.

**On peut démontrer par cette technique que les mutations sont spontanées et surviennent indépendamment du facteur de sélection.**



**Figure 01 : Expérience de Lederberg**