

## Les Plasmides

Double chaîne d'ADN circulaire, refermée sur elle-même. Le plasmide est introduit dans la cellule. Le fait d'être refermé sur elle-même lui permet de résister aux enzymes qui rongent l'ADN par les bouts pour protéger la cellule. Le plasmide confère à la cellule une résistance à un antibiotique. On peut alors sélectionner les cellules qui résistent à l'antibiotique : on force la cellule à conserver la modification contenue dans le plasmide.

Les plasmides sont introduits dans la cellule en rendant la paroi poreuse, avec un choc thermique (à l'aide de calcium) ou avec un choc électrique.

Les plasmides contiennent une séquence, qui sera transcrite en ARN messager, par les outils présents dans la cellule.

GFP : Green Fluorescent Protein (238 AA) protéine dont le cœur a des propriétés fluorescentes.

## 1 Techniques de Microscopies

Microscopies sur fond clair : c'est la microscopie optique classique.

Microscopie sur fond noir : on éclaire avec un angle trop grand, ce qui fait que la lumière ne doit pas pouvoir atteindre l'objectif. Les seuls objets lumineux sont les objets qui ont diffracté la lumière. Cela permet d'avoir un meilleur contraste.

Microscopie polarisée : on rajoute un couple analyseur polariseur sur la trajectoire de la lumière.

Contraste de phase, contraste interférentiel.

Microscopie de fluorescence.

## Virus

Un virus est un parasite obligé : il dispose de son propre code génétique, mais ne sait pas le transcrire, le traduire et le répliquer. Est-ce que c'est un être vivant ? Tout dépend de la définition.

Composition : ds DNA, ss DNA, dsRNA, ss RNA, quelques protéines pour faire la capside.

Taille : 20 à 300 nm. Les plus petits sont les bactériophages, les plus grands les mimivirus.

Génome : 3,2 kbp (environ 1000kbp par protéine) pour l'hépatite B (le plus petit virus code pour 4 protéines seulement !). λphage : 48kbp 40-50 protéines. Mimivirus : 1200 kbp.

Utilité : biochimie : source d'enzymes (ADN endo-nucléase, enzyme qui coupe l'ADN). Fabrication de bactéricides, de pesticides, d'anti-cancer (pas encore très efficace), vecteurs de gènes (rétrovirus, pour la thérapie génique).

La première partie d'un virus code pour la destruction du système TTR de la cellule. Il va démonter les mécanismes de la cellule, pour utiliser les

mécanismes à son profit. Pour détruire le système de l'hôte, le virus fabrique des endonucléases.

Après, ils utilisent : les AA de la cellule comme matériau, les nucléosides (ATP...), les ribosomes, énergie (ATP, GTP...)

Deux types de virus :

Lyse (le plus bourrin) : Il se débrouille pour injecter son ADN dans la cellule. Il détruit l'ADN de la cellule hôte, afin que son ADN soit le seul transcrit. Avec la machinerie de la cellule, il se reproduit. Ensuite, il fait exploser la membrane de la cellule et les nouveaux virus se dispersent.

Pour un bactériophage en conditions idéales : 100 000 virus fabriqués par jour. HIV :  $10^{11}$  par jour !

Lyso-genie :  $\lambda$ phage : Selon les conditions alimentaires extérieures, il peut si elles ne sont pas favorables, intégrer son génome à celui de la bactérie (et ainsi ne pas tuer son hôte immédiatement).

T4 : qq 10 nm, 50 kbp. La longueur de persistance de l'ADN double brin est 50nm. Cela va donc coûter de l'énergie de plier le brin dans la capsid, de l'ordre de  $kTl_p \int C^2 ds$ . Pour minimiser l'énergie de courbure, l'ADN se met en solénoïde. Il y a un petit moteur à l'entrée de la capsid, qui aspire l'ADN dedans. On peut tester la force de ce moteur en fixant une pince optique à un brin d'ADN, que l'on fait rentrer dans la capsid, qui est de l'ordre de 50 pn, avec une pression à l'intérieur de la capsid de l'ordre de 50 bar ! On peut également jouer sur la pression osmotique du milieu extérieur, lorsqu'on s'approche que la pression à l'intérieur de la cellule, l'ADN ne sort plus.

Champignon : *pyricularia oryzae*, parasite du riz. Les spores se déposent sur les feuilles, les cellules font pousser un tube vers la cellule. Le noyau passe dans le tube, et l'ADN se met dans une petite poche au bout. Le système se met alors à fabriquer une paroi rigide de mélanine dotée d'un trou du côté de la feuille de riz. Le système fabrique alors du glycérol, qui ne passe pas la mélanine (alors que l'eau si). Cela augmente alors la pression osmotique, et permet de percer un trou dans la feuille, pour permettre l'infection de la plante.

Trois principales étapes dans la vie des bactériophages : destruction - duplication - fabrication d'une capsid. La destruction se fait principalement avec les endonucléases.

## Bactéries

Estimation : à la surface de la Terre,  $5 \cdot 10^{30}$ , sur la peau :  $10^{12}$ , dans les intestins  $10^{14}$ , au total, on a 10 fois plus de bactéries que de cellules dans le corps.

Découverte en 1668 (sous le nom d'animalcules) par l'inventeur du microscope.

2 grandes familles de bactéries : Gram + et Gram -. Test avec un colorant, le bleu de gentiane.

Les endospores sont des bactéries vivants dans les milieux extrêmes.

## 2 Nage des Bactéries

Et autres unicellulaires (paramécies).

La bactérie fait une taille typique de 1 à 2 microns, son flagelle fait 10 microns, est constituées d'environ 6 filaments enroulés les uns autour des autres (diamètre environ 20 nm).

Les flagelles sont enchâssés dans un moteur, qui est à l'intérieur de la membrane. Le moteur fonctionne grâce à un gradient de protons, et peut donc tourner dans un sens ou dans l'autre. Les filaments sont chiraux, et ont donc une hélicité propre, et s'emmêlent lorsque les moteurs tournent dans un sens, ce qui crée le flagelle qui propulse la bactérie. Si l'un d'entre eux tourne dans l'autre sens (le sens des aiguilles d'une montre), les flagelles se désemmêlent, et la bactérie tourne sur elle-même.

Le coefficient de diffusion (sans les flagelles) :

$$D_t = \frac{kT}{6\pi\eta R}$$

En 1s, elle se déplace d'environ 1 micron.

Pendant la phase où elle avance (phase de run), elle avance à environ 20µm/s. Les moteurs passent en moyenne 90% dans leur état de flagelle, et 10% en rotation (phase de tumble).  $V_{run} = 20\mu m/s$ .

$$D_{t \text{ actif}} = V_{run}^2 \tau_{run} = 400\mu m^2/s$$

c'est-à-dire le coefficient de diffusion d'une petite molécule.

$$\frac{\partial}{\partial p(\theta, t)} t = D_r \nabla^2 p(\theta, t)$$

$$D_r = \frac{kT}{8\pi\eta a^3}$$

pour une sphère.

Pour la rotation en mode passif :

$$\Delta\theta^2 \approx D_r t$$

$$\Delta\theta \approx \sqrt{D_r t} \approx 15$$

10s à 15s.

$$\tau_{passif} = \frac{1}{D_r}$$

La bactérie perd la mémoire de son orientation au bout de 10-15 secondes.

Pour régler ce problème, trois solutions : augmenter  $V$  (mais l'énergie consommée augmente en  $V^2$ , donc cette solution n'a pas été choisie), on ne nage pas (c'est radical, mais toutes les bactéries marines (pélagiques) sont ainsi, pour mieux diffuser, elles sont petites, 0.3 microns), et la solution intermédiaire, celle de E.Coli, voyager en ligne droite, puis tourner sur soi-même, et recommencer, à des fréquences suffisamment rapides pour que la diffusion ne joue pas trop :  $\tau_{run} = 1s$ ,  $\tau_{tumble} = 0,1s$ .

Mais rien ne sert de diffuser vite, il faut partir dans la bonne direction ! Il y a des récepteurs à la surface de la bactérie, qui permettent de percevoir les conditions favorables (nourriture, oxygène, bonne température), ou défavorables. À l'aide des informations fournies par ces récepteurs, la bactérie peut moduler la longueur du run, et ainsi faire une marche aléatoire biaisée (chemotaxie pour la nourriture, thermotaxie pour la température,