

Faculté ENAC
Institut des Sciences et Technologies de l'Environnement
Laboratoire de Biotechnologie Environnementale

Microbiologie pour l'ingénieur

Epreuve écrite du 9 janvier 2007

Réponses aux questions

Remarques :

- Il y a 6 questions et chaque question donne un maximum de 4 points
- Le nombre maximal de point est de 24
- Un total de 20 points est requis pour une note de 6.0
- La note se calcule de la manière suivante :

$$\text{Note} = 1 + (\text{nombre de point})/4$$

Question 1 : (4 points)

Pour le dimensionnement du biotraitement d'une eau usée industrielle polluée par des composés organiques biodégradables, vous avez besoin du taux de croissance maximale de la biomasse et du rendement de croissance pour pouvoir estimer la production de boues. Il faut déterminer ces paramètres expérimentalement.

- Quelle(s) approche(s) expérimentale(s) choisiriez-vous pour la détermination de ces deux paramètres ?
- Quels paramètres allez-vous mesurer pour ce faire ?
- Quelles sortes de graphique faut-il produire pour déterminer le taux de croissance maximale et le rendement ?

Réponses :

a) On peut utiliser un système « batch ». On prend une certaine quantité de l'eau usée non-traitée comme substrat et on inocule avec des boues activées de la STEP ou d'une STEP.

b) Il faut mesurer la concentration du substrat et de la biomasse. Pour la biomasse on peut mesurer la matière sèche de la matière en suspension.

c) Il faut produire un graphe avec le logarithme naturelle de la biomasse X dans le temps t . Pendant la phase de croissance exponentielle cette courbe est une droite avec la pente qui est égale au taux de croissance maximale μ_{max} .

En plus il faut faire un graphe avec $(X-X_0)$ en fonction de (S_0-S) . La pente de la droite obtenu est le rendement de croissance Y .

Question 2 : (4 points)

Pour pouvoir utiliser la réaction en chaîne par polymérase ou la transcriptase réverse, on a besoin d'un « primer ». Expliquez de quoi il s'agit et en quoi il est nécessaire à la réaction. Argumentez aussi sur l'avantage de son utilisation dans le clonage de fragments d'ADN spécifiques.

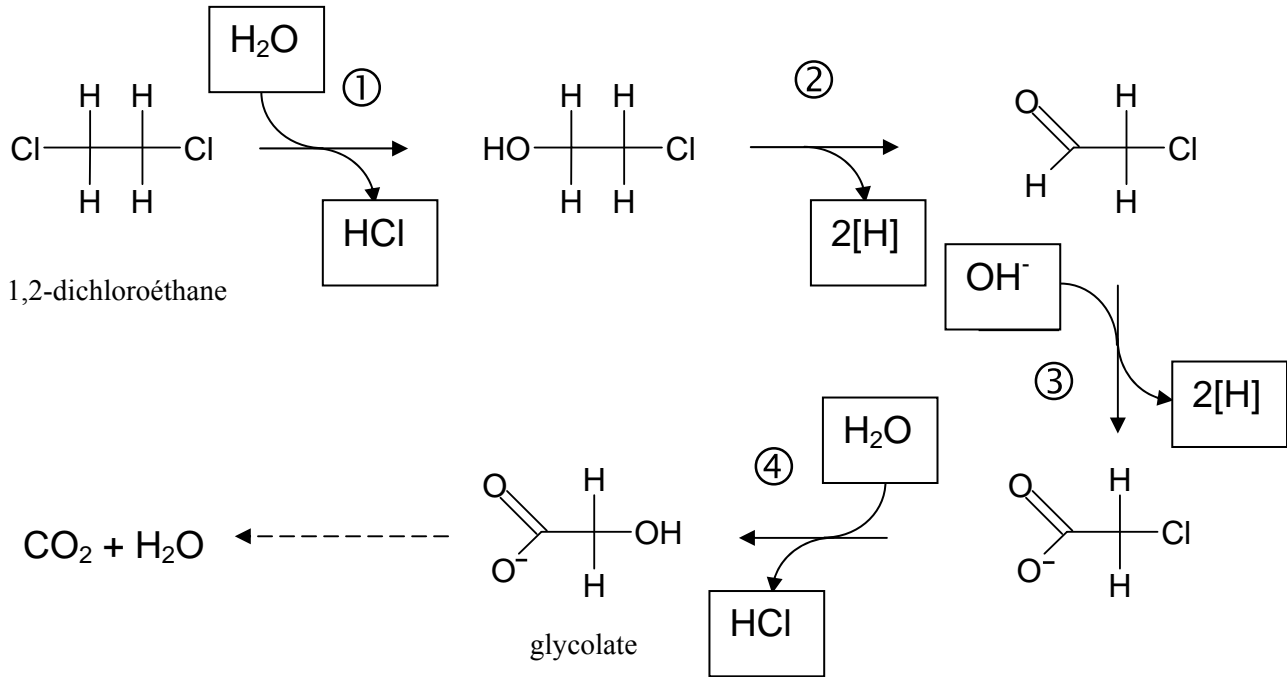
Réponse :

Les « primers » sont des petits amorces d'ADN ou aussi appelé oligonucléotides. Les polymérases et transcriptases peuvent seulement créer le brin complémentaire d'un brin d'ADN ou ARN simple brin s'il y a déjà un petit morceau d'ADN double brins pour commencer la réaction.

L'avantage de ce faite est qu'on peut utiliser des oligonucléotides très spécifiques si on connaît la séquence du gène qu'on veut étudier. Ainsi seulement les gènes avec une séquence similaire sont amplifiés pendant la réaction en chaîne par polymérase ou seulement les ARN messagers des gènes spécifiques sont transformés en ADN.

Question 3 : (4 points)

Les bactéries aérobies qui utilisent le 1,2-dichloroéthane comme source de carbone et énergie, transforment ce composé en glycolate, un intermédiaire qui peut être ensuite oxydé complètement dans un cycle de Krebs modifié. Complétez le schéma ci-dessous et indiquez plus bas la classe à laquelle appartient l'enzyme qui catalyse les quatre réactions.



- ① hydrolase
- ② oxydoréductase
- ③ oxydoréductase
- ④ hydrolase

Question 4 : (4 points)

Pour la dégradation biologique des polluants dans l'environnement, est-ce que c'est plus important d'avoir des bactéries qui ont des enzymes avec des k_{cat} très élevées ou des bactéries qui ont des enzymes avec des K_M très basses ? Donnez des raisons pour votre choix.

Réponse :

Pour l'élimination des polluants des milieux pollués il faut souvent respecter des normes strictes et donc atteindre des concentrations résiduelles après traitement très basses. Des enzymes de dégradation avec des K_M très basses sont donc plus intéressantes parce la K_M est inversement proportionnelle à l'affinité de l'enzyme pour son substrat. Avec une affinité élevée pour son substrat, une K_M basses donc, on peut plus facilement atteindre des concentrations basses pendant le traitement.

Question 5 (4 points)

Par des études moléculaires, on a trouvé trois gènes différents de tétrachloroéthène déhalogénase réductrice dans une culture mixte de bactéries qui déchloro le tetrachloroéthène en dichloroéthène. Comment peut-on obtenir des indications pour connaître laquelle de ces trois déhalogénases est responsable de la transformation observée dans cette culture ?

Réponse :

Une possibilité d'obtenir des indications pour connaître laquelle de ces trois déhalogénase est responsable de la transformation observée dans cette culture est de montrer pour laquelle de ces trois déhalogénase on trouve des ARN messenger pendant la réaction. L'ARN messenger indique que l'enzyme est exprimé et donc utilisé. Il faut donc isoler l'ARN d'un échantillon de culture qui est en train de déchlorer, transformer l'ARN messenger en ADN en utilisant des oligos spécifiques pour les gènes des déhalogénases. Avec cette ADN on peut faire une réaction en chaîne de polymérase et si on obtient un produit (montré avec un gel d'agarose), on sait qu'il avait de l'ARN messenger de ce gène.

Question 6 (4 points)

Plusieurs bactéries forment des inclusions de polyhydroxybutyrate (PHB) à l'intérieur de leurs cellules sous conditions de limitation d'azote. Le PHB est une réserve de carbone et énergie et il a des caractéristiques d'un plastique. Dans un chémostat, on a trouvé que la biomasse contient des taux de PHB différents, et ce en fonction de la vitesse de dilution (voir tableau ci-dessous). Ces résultats ont été obtenus avec du glucose comme substrat (10 g l⁻¹) et une bactérie qui a un μ_{max} de 0.5 h⁻¹, une K_S de 0.2 g l⁻¹ et un Y de 0.55 g_X g_S⁻¹. Sous quelles conditions aurait-on une production maximale de PHB et donc de bioplastique ?

Réponse :

*Il faut appliquer la formule pour la productivité d'un chémostat car c'est la quantité de PHB produit par unité de temps qui intéresse. La formule est $R = D * Y * (S^0 - K_S * D / (\mu_{max} - D))$. Le R multiplié avec le taux de PHB par biomasse donne la production de PHB par unité de temps et on peut déterminer la production maximale de PHB.*

D (h⁻¹)	PHB (% de la biomasse)	R_X (g_X h⁻¹)	R_{PHB} (g_{PHB} h⁻¹)
0.05	65	0.2744	0.1784
0.10	75	0.5473	0.4104
0.15	74	0.8179	0.6053
0.20	60	1.0853	0.6512
0.25	45	1.3475	0.6064
0.30	34	1.6005	0.5442
0.35	25	1.8352	0.4588

Le tableau montre qu'avec la vitesse de dilution de 0,2 h⁻¹ on obtient la production maximale de PHB.