****

**Une introduction de la bactérie hôte Arthrobacter sp.**

Les chercheurs appartenant au programme SEA-PHAGES explorent la diversité et les relations génétiques des populations de bactériophages qui infectent les Actinobactéries, dont la bactérie *Arthrobacter sp.* Il existe de nombreuses souches différentes de *Arthrobacter sp.* (isolées de différents échantillons environnementaux). La souche *Arthrobacter sp.* la plus communément utilisée dans le programme SEA-PHAGES est appelée *Arthrobacter sp. KY3901.* Cette souche est issue de la collection « American Type Culture » (catalogue # 21022). Elle pourra vous servir d’« hôte » pour l’isolement de phages.

*Arthrobacter sp*. est l'une des espèces qui composent le genre Arthrobacter (il en existe plus de 70), classé dans l’embranchement des Actinobactéries. *Arthrobacter sp*. est un micro-organisme Gram-positif retrouvé dans le sol, et les membres apparentés sont bien équipés pour décomposer divers hydrocarbures. *Arthrobacter arilaitensis*, par exemple, pousse à la surface du fromage et catabolise les acides gras, les acides aminés et l'acide lactique, contribuant ainsi à la couleur et à la saveur du fromage. D'autres espèces d'Arthrobacter sont capables de décomposer des composés tels que le chrome hexavalent, qui est cancérigène, suggérant une utilisation potentielle en biorestauration (c'est-à-dire la dégradation des polluants). La souche spécifique d'Arthrobacter que vous utiliserez ainsi que des souches apparentées, se sont avérées capables de produire des dérivés de la pénicilline et de la décarboxylase aspartique.

*Arthrobacter sp*. peut croître et se diviser sur de nombreux milieux riches en nutriments. Dans votre recherche, vous ferez pousser *Arthrobacter sp*. sur un milieu PYCa et à une température de 22 – 28°C. Dans ces conditions, *Arthrobacter sp*. croît rapidement, se divisant environ une fois à toutes les 2 à 3 heures. Cela signifie qu'il faut généralement environ 3 jours pour qu'une cellule individuelle forme une colonie sur une plaque de gélose. Cependant, lors de la préparation d'un tapis bactérien, vous pouvez commencer par ajouter de nombreuses cellules bactériennes (par exemple 107 ou plus) afin qu'un épais tapis bactérien se développe en 1 à 2 jours.

Les colonies d'*Arthrobacter* *sp.* sont de couleur beige à jaune, lisses et brillantes (Figure 4.0-4). Lorsqu'elles sont incubées pendant des périodes prolongées, la couleur des colonies s'intensifie. Une culture liquide d'*Arthrobacter sp.* inoculée à partir d'une seule colonie prendra 1 à 2 jours pour former une culture liquide saturée, présentant une couleur beige. La souche avec laquelle vous travaillerez, *Arthrobacter sp*. *KY3901*, n'est pas inhibée par l’antifongique cycloheximide ou l'antibiotique spectinomycine. Par conséquent, ils peuvent être ajoutés au milieu de croissance pour empêcher d'autres microorganismes de se développer dans vos cultures.

|  |
| --- |
| https://dzf8vqv24eqhg.cloudfront.net/userfiles/11001/13941/ckfinder/images/Arthrobacer%20sp(1).jpg |
| Figure 4.0-4. *Arthrobacter sp*. poussant sur une plaque de gélose. |

Si vous utilisez cette bactérie comme hôte pour l'isolement des phages, référez-vous à la liste ci-dessous pour les conditions de croissance et de culture spécifiques à vos expériences.

**Milieu de croissance :**

Liquide : PYCa

Gélose : PYCa

Couche de gélose molle (top agar) : PYCa

**Température de croissance :** 22 – 28°C

**Agents antimicrobiens**: cycloheximide (10 μg/ml), spectinomycine (optionnel)

**Tampon pour phages :** Tris 10 mM (pH 7.5), MgSO4 10 mM, NaCl 68 mM, CaCl2 1 mM, (glycerol 10%, optionnel)

**Enzymes de restriction :** BamHI, ClaI, EcoI, HaeIII et HindIII

Remarque : les isoschizomères, qui sont différentes enzymes de restriction qui reconnaissent la même séquence d'ADN, peuvent être utilisés à la place de l'une des enzymes énumérées ci-dessus.