****

**Une introduction de la bactérie hôte *Microbacterium testaceum***

Dans ce cours, vous isolerez des bactériophages qui infectent la bactérie *Microbacterium testaceum* (*M*. *testaceum*). Vous utiliserez une souche appelée *M*. *testaceum* SEA B-24232 qui est mise à votre disposition par le service de recherche agricole de l'USDA. Il s'agit de votre « hôte » pour l'isolement des phages.

*M*. *testaceum* est l'une des espèces qui composent le genre Microbacterium (il en existe plus de 90), classé dans l’embranchement des Actinobacteries. Les microbactéries sont des bactéries Gram-positives en forme de bâtonnets qui sont légèrement plus petites que les bactéries typiques en forme de bâtonnets, d'où le nom de microbactéries. Les microbactéries ont été isolées du sol, de l'eau et des plantes. Des microbactéries ont également été isolées à partir de croûtes de fromage, où elles peuvent contribuer au profil de saveur.

*M*. *testaceum* poussera sur de nombreux milieux riches en nutriments, et à des températures allant de la température ambiante (22°C) à 37°C. Dans votre recherche, vous ferez pousser *M*. *testaceum* sur un milieu PYCa à 30°C. Dans ces conditions, *M*. *testaceum* croît rapidement et il faut généralement environ 2 à 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 inoculer avec de nombreuses cellules bactériennes (par exemple, 107 ou plus) afin qu'un épais tapis bactérien se développe dans les 24 heures. À température ambiante (~ 22°C), *M*. *testaceum* se divise plus lentement et nécessite généralement 24 heures supplémentaires pour former une colonie ou un tapis sur des plaques.

Les colonies de *M*. *testaceum* sont de couleur ocre à jaune, lisses et brillantes (Figure 4.0-4). Lorsqu'elles sont incubées pendant des périodes prolongées ou lorsqu'elles sont cultivées à température ambiante, la couleur des colonies est d'un jaune plus vif. Une culture liquide de *M*. *testaceum* inoculée à partir d'une seule colonie prendra 24 à 48 heures pour former une culture saturée, présentant une couleur beige à jaune, qui s'intensifie avec une incubation prolongée ou lorsqu'elle est cultivée à température ambiante. La souche avec laquelle vous travaillerez, *M*. *testaceum* SEA B-24232, n'est pas inhibée par le l’agent antifongique cycloheximide. Par conséquent, le cycloheximide peut être ajouté aux milieux de croissance pour empêcher d'autres micro-organismes de se développer dans vos cultures.

|  |
| --- |
| https://dzf8vqv24eqhg.cloudfront.net/userfiles/11001/16338/ckfinder/images/testaceum.png |
| Figure 4.0-4. *Microbacterium testaceum* 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 :** PYCa

**Température de croissance :** 30°C

**Agents antimicrobiens :** cycloheximide (10 μg/ml)

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

**Enzymes de restriction :** HaeIII, NspI et SacII

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.