

Microbiologie

Culture de bactéries lumineuses

Il est possible de «visualiser» la consommation de dioxygène chez certaines bactéries grâce à la bioluminescence

PRINCIPE

Comme beaucoup d'autres bactéries, les bactéries lumineuses tirent leur énergie de l'oxydation d'un substrat carboné (par exemple, le glycérol). Cette énergie est produite pendant le transfert des électrons à l'oxygène, par le système respiratoire. Ces électrons sont spécifiquement transportés par de petites molécules spécialisées parmi lesquelles la flavine mononucléotide : celle-ci est réduite lorsqu'elle prend en charge les électrons (FMNH₂) et oxydée lorsqu'elle les cède (FMN). Chez les bactéries lumineuses, la FMNH₂ tend à s'accumuler dans les cellules. Comme la forme oxydée doit être absolument régénérée, la FMNH₂ est oxydée par une autre voie métabolique : la voie lumineuse. Cette voie, catalysée par la *luciférase*, permet l'oxydation de FMNH₂ par l'oxygène, de concert avec une aldéhyde à longue chaîne carbonée la *luciférine*. Cette réaction s'accompagne de l'émission de photons. La lumière émise est dite «froide» car l'essentiel de l'énergie chimique libérée par la réaction est convertie en énergie lumineuse et non en chaleur.

Le système luciférine-luciférase donne, à l'heure actuelle, naissance à un nombre rapidement croissant d'applications biotechnologiques.

ISOLEMENT DES BACTÉRIES LUMINEUSES

- immerger, à 9°C, un poisson de mer dans de l'eau de ville contenant 30 grammes de NaCl par litre ; la macération dure de 48 à 72 heures ;
- renouveler l'eau salée toutes les 24 heures ;
- prélever, dans l'obscurité, à l'aide d'une anse à inoculation, les bactéries lumineuses les plus visibles et les étaler sur milieu solide en boîtes de Pétri ;
- incuber les boîtes à 9°C, et pratiquer l'isolement ;
- conserver les bactéries lumineuses en boîtes de Pétri à 9°C ;
- les repiquer tous les mois.

CULTURE CONFINÉE EN MILIEU LIQUIDE

- à l'aide d'une anse à inoculation, prélever une colonie de bactéries lumineuses sur boîte de Pétri et ensemercer 10 mL de milieu liquide (préculture 1) ;
- incuber à 9°C sous agitation douce ;
- après croissance (suspension opaque et lumineuse), ensemercer 100 mL de milieu liquide à l'aide des 10 mL de la préculture 1 (préculture 2) ;
- incuber à 9°C sous agitation douce ;
- après croissance, ensemercer 1000 mL de milieu de culture liquide à l'aide des 100 mL de la préculture 2 (préculture 3) ;
- incuber à 9°C sous agitation douce ;
- recommencer les opérations jusqu'à obtention du volume de culture désiré.

Composition des milieux de culture

Milieu de culture liquide

En grammes pour 1 litre d'eau distillée :

- bacto-tryptone	10
- yeast-extract	5
- NaCl	30
- K ₂ HPO ₄	7
- KH ₂ PO ₄	3
- Glycérol	5 (4 mL)

Autoclaver 20 minutes à 1 kg.cm⁻².

Milieu de culture solide

Pour le milieu solide (boîtes de Pétri), ajouter 20 g d'agar à 1 litre de milieu liquide.

Autoclaver 20 minutes à 1 kg.cm⁻².

On reverra avec intérêt l'article de Didier Pol : Un outil pédagogique original, la bioluminescence, paru dans *Biologie Géologie*, 1-1994.

Cette fiche est tirée d'un article : La lumière par les bactéries, paru dans Probio-Revue, 18 (1995), n°4.

