(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) **N° de publication :** **2 753 201**
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **96 10926**

(51) Int Cl[6] : **C 12 N 1/21**, A 23 L 3/3571 // (C 12 N 1/21, C 12 R 1:225)

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt** : 06.09.96.

(30) **Priorité** :

(43) **Date de la mise à disposition du public de la demande :** 13.03.98 Bulletin 98/11.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire :** *Se reporter à la fin du présent fascicule.*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

(71) **Demandeur(s) :** *INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE INRA* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** DUWAT PATRICK LUDOVIC HENRI, GRUSS ALEXANDRA DOROTHY, MAGUIN EMMANUELLE GHISLAINE JEANNE et RALLU FABIEN CLAUDE.

(73) **Titulaire(s) :** .

(74) **Mandataire :** REGIMBEAU.

(54) BACTERIES MULTIRESISTANTES, PROCEDES D'OBTENTION ET UTILISATION.

(57) L'invention concerne des bactéries présentant une résistance aux stress améliorée par rapport à la souche sauvage, caractérisées en ce qu'elles comportent au moins une mutation dans un gène qui altère l'activité normale dudit gène, ce gène étant impliqué dans le transport d'électron, d'acides aminés, d'oligopeptides, du phosphate ou dans le métabolisme de l'arginine et choisi parmi:

- les gènes de la voie de biosynthèse du GTP, pppGpp ou ppGpp,
- les gènes du clone SS80, R1.4, GlnQ, de la carbamoyl phosphate synthétase, GlnH, GlnJ, R1.14, GlnP, R1.20, Rel, d'un transporteur ABC hypothétique (R2.6), AhrC, SupE, R2.15, R2.16, R2.17, d'une protéine hypothétique de B. subtilis (R2.20), pstB, tktA et trl1.

FR 2 753 201 - A1

La présente invention concerne des nouvelles souches de bactéries lactiques présentant des résistances aux stress, le procédé d'obtention desdites souches ainsi que leur utilisation notamment dans des procédés de fermentation.

L'un des facteurs importants dans les procédés de fermentation est la qualité de la croissance et de la survie des ferments bactériens, ainsi que la survie bactérienne dans le produit final. Ainsi, les souches qui se sont révélées croître très bien en laboratoire peuvent tout à fait se révéler sensibles à des conditions de stress intervenant lors des fermentations industrielles, par exemple par acidification du milieu (qui est une conséquence naturelle de la croissance), augmentation de la température, présence ou absence d'oxygène, présence de sel (en particulier pour la préparation des fromages) ou problèmes liés au froid (durant le stockage). Des taux de survie insuffisants des bactéries peuvent conduire à des mauvaises fermentations et à un accroissement de la mortalité dans la conservation des cultures ferments.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet de nouvelles souches bactériennes qui présentent une résistance accrue aux stress.

De façon générale, la croissance bactérienne dans les laboratoires a été étudiée depuis des dizaines d'années et on sait que la courbe de croissance des bactéries en laboratoire suit une courbe de croissance sigmoïde, ainsi, lors de l'inoculation d'un milieu frais, il y a une période de latence pendant laquelle la bactérie se prépare à la croissance, suivie par une multiplication cellulaire dans laquelle les cellules croissent de manière exponentielle jusqu'à ce que le milieu devienne une condition limitante pour la croissance. C'est à ce point que les cellules rentrent dans ce qui est appelé la phase stationnaire durant laquelle la multiplication est arrêtée et le métabolisme des cellules diminue. La survie durant ces trois phases de croissance, c'est-à-dire les phases de latence, exponentielle et stationnaire, peut varier de façon très importante en fonction des conditions spécifiques de croissance et du type de souche utilisée. Bien que les conditions de laboratoire soient des conditions optimales pour la croissance, dans les processus de fermentation industrielle on peut trouver des conditions qui conduisent à la mort des bactéries. Ci-après on donne des exemples dans lesquels la survie des bactéries lactiques dépend des conditions de croissance.

1. *L. lactis*, comme d'autres bactéries lactiques, acidifient le milieu durant leur croissance et sont capables de supporter les conditions acides allant jusqu'à pH 4, pH qui est atteint durant la phase stationnaire. Toutefois, si le milieu de culture est acidifié brutalement durant la phase exponentielle, les cellules meurent rapidement. Les cellules peuvent être adaptées à des bas pH en les exposant tout d'abord à des pH intermédiaires, entre pH 5 et 6 par exemple, avant de passer à des pH plus bas. Dans ce cas, on obtient une meilleure survie.

2. Les cellules de *L. lactis* meurent si elles sont exposées à des hautes températures (par exemple 55°C). Toutefois, si on les expose à des températures intermédiaires (37°C) avant un choc thermique, on note une meilleure survie des cellules.

3. L'oxygénation par agitation constitue une partie du processus de fermentation, *L. lactis* est tolérant à l'oxygène durant la croissance. Néanmoins, les cellules oxygénées meurent plus rapidement lorsqu'elles entrent dans la phase stationnaire.

4. Lors de la préparation du fromage durant la phase de maturation on ajoute du sel. Les cellules en phase stationnaire sont plus résistantes au traitement par le sel que dans la phase exponentielle.

Ces exemples montrent des conditions de stress qui peuvent conduire à une survie très faible de *L. lactis*, même si dans certains cas le taux de survie peut être augmenté par une préadaptation des cellules à ce stress.

L'existence d'un mécanisme de résistance au stress a été établie dans toutes les bactéries examinées jusqu'à présent. Dans chaque cas, un stress particulier conduit à l'induction de l'expression d'un ensemble de gènes qui aide la cellule à s'adapter au stress. Les différentes protéines qui sont synthétisées en réponse au stress sont souvent fortement conservées. De nombreux gènes requis pour un stress particulier, par exemple l'endommagement de l'ADN (induit par l'oxygène ou les rayonnements ultraviolets) ou le choc thermique, ont été identifiés dans *L. lactis* par homologie avec les gènes connus dans *E. coli* ou d'autres organismes. Les gènes du choc thermique (Heat shock genes) comprennent notamment *dnaJ*, *grpE-dnaK*, *groELS* et *hflB*. Les gènes à impliquer dans la réparation des dommages causés par l'oxygène comportent notamment *recA* et *sodA*. Néanmoins, chaque espèce bactérienne présente une niche spécifique et doit

par conséquent être adaptée à son environnement particulier. Dans ces conditions, la régulation des gènes de réponse au stress doit être différente pour différents organismes.

Il existe un grand nombre d'informations concernant le contrôle de réponse aux stress dans différentes bactéries. Essentiellement deux types de contrôle semblent exister : un type de contrôle qui induit les gènes en réponse seulement à un stress spécifique, l'autre type de contrôle résultant en l'expression de nombreux gènes qui vont protéger la cellule contre différents types de stress. Dans les bactéries, le premier type de contrôle peut se faire par l'intermédiaire d'activateurs ou de represseurs, tandis que le second type de contrôle peut être effectué par les enzymes de transcription, l'ARN polymérase (par les facteurs σ).

Dans *E. coli*, le facteur σ impliqué dans la réponse aux stress en général, est σ^S, le facteur σ de la phase stationnaire. Dans *B. subtilis*, la réponse aux stress générale semble être un facteur σ^B. Dans *L. lactis*, aucun facteur σ de stress spécifique n'a pu être isolé. Toutefois, il existe une évidence physiologique d'une protection croisée lorsqu'on expose les cellules à un stress déterminé. Par exemple en soumettant *L. lactis* à une irradiation on obtient un taux de survie amélioré en présence d'acide, d'éthanol, d'H_2O_2 ou d'un choc thermique. Les résultats montrent que le gène *recA* est nécessaire pour une résistance complète à l'oxygène et à la chaleur. En outre, conformément aux observations sur *E. coli*, les cellules en phase stationnaire non adaptées de *L. lactis* sont plus résistantes aux stress que les cellules en croissance exponentielle. Ces résultats suggèrent qu'une réponse générale aux stress est induite à la fois en cas d'insuffisance du milieu de croissance ou lorsque les bactéries sont soumises à un stress particulier. Jusqu'à présent, rien n'était connu sur la régulation de ces systèmes, ni sur les gènes qui y étaient impliqués.

La présente invention concerne la mise en évidence des gènes impliqués dans la résistance aux stress et dont la mutation conduit à une augmentation de la résistance aux stress des bactéries correspondantes.

C'est pourquoi la présente invention concerne des bactéries présentant une résistance aux stress améliorée par rapport à la souche sauvage, caractérisées en ce qu'elles comportent au moins une mutation dans un gène qui altère l'activité normale dudit gène, ce gène étant impliqué dans le transport d'électron, d'acides aminés, d'oligopeptides, du phosphate ou dans le métabolisme de l'arginine et choisi parmi :

- les gènes de la voie de biosynthèse de la pppGpp ou de la ppGpp,
- les gènes du clone SS80, R1.4, GlnQ, de la carbamoyl phosphate synthétase, GlnH, GlnJ, R1.14, GlnP, R1.20, Rel, d'un transporteur ABC hypothétique (R2.6), AhrC, SupE, R2.15, R2.16, R2.17, d'une protéine hypothétique de *B. subtilis* (R2.20), pstB, tktA et trl1.

Avantageusement, le gène de la voie de biosynthèse du GTP, pppGpp ou ppGpp est choisi parmi *deo*B, *hpt* , *gua*A, *rel*A/*spo*T, *gpp*S.

Comme cela sera démontré dans l'exemple, une mutation introduite dans ces gènes conduit à l'augmentation de la résistance aux stress qui dans la plupart des cas sera une résistance multiple.

Il faut préciser que la terminologie employée "altération de l'activité normale dudit gène" peut également comporter une diminution voire une augmentation de l'activité du gène lorsque celui-ci conduit à une amélioration de la résistance aux stress.

La mutation en cause pourra être aussi bien une mutation par insertion d'une séquence d'ADN, délétion d'une séquence d'ADN et/ou mutation ponctuelle au moyen par exemple d'un agent mutagène.

De préférence, les mutations seront obtenues par les techniques de recombinaison génétique.

Dans le cas d'insertion d'une séquence d'ADN, on préfèrera tout particulièrement l'introduction d'éléments génétiques mobiles tels que des séquences d'insertion comme cela sera décrit dans l'exemple avec IS*S1*.

Bien entendu, il est possible de prévoir d'autres techniques assurant la mutation en cause, on pourra utiliser les systèmes de mutation connus de l'homme du métier ainsi que les insertions ou autres modifications d'ADN obtenues par les techniques de recombinaisons homologues.

De préférence, lorsque l'ADN sera inséré, il s'agira d'un ADN provenant de la même espèce, ceci de façon à garder l'acceptabilité sur le plan agro-alimentaire de la souche ainsi obtenue.

Parmi les bactéries multiples qui pourront bénéficier des avantages de la présente invention, il faut citer tout particulièrement les bactéries lactiques en particulier *Lactobacillus* et *Lactococcus*.

Comme cela sera montré dans l'exemple, on a pu insérer des séquences d'ADN dans les gènes qui ont été ensuite déterminés, les bactéries ainsi obtenues présentent un accroissement de la résistance à certains stress ou bien à un ensemble de conditions de stress. Il est possible d'envisager des mutations multiples sur différents gènes. Pour chaque problème spécifique

posé, il est préférable de composer un ensemble de bactéries mutées dans différents gènes et de sélectionner les mutants les plus appropriés pour les conditions de stress qui sont susceptibles de survenir durant le procédé de fermentation.

Bien que l'on préfère utiliser les méthodes mettant en oeuvre les ADN recombinants, il est également possible de prévoir de sélectionner des mutants dans les mêmes gènes par des moyens traditionnels de mutations en sélection en particulier lorsque l'on connaît, comme cela sera décrit ci-après, les voies métaboliques dans lesquelles sont impliqués les gènes en cause et que l'on aura les moyens d'agir directement sur ces voies métaboliques par l'intermédiaire d'agents mutagènes appropriés.

La présente invention concerne également un procédé de fermentation mettant en oeuvre une bactérie selon la présente invention et en particulier les procédés de fermentation utilisant comme milieu de fermentation le lait ou des sous-produits du lait. On peut également envisager l'utilisation de ces bactéries pour la production des ferments.

Parmi les fermentations qui peuvent bénéficier des bactéries selon la présente invention, il faut citer en particulier les produits lactés fermentés tels que les yaourts et produits équivalents ainsi que la préparation des fromages.

Les bactéries conformes à la présente invention peuvent également être utilisées pour la conservation des produits alimentaires ou à des fins probiotiques.

Il est important de rappeler que les gènes décrits dans le cadre de la présente invention ont pour un grand nombre d'entre eux été isolés chez *Lactococcus* mais que leurs équivalents existent chez *E. coli* dans d'autres souches. Dans ces conditions, la présente invention n'est nullement limitée à des fermentations de type lactique mais peut également s'envisager pour d'autres bactéries et d'autres types de fermentations.

La Figure 1 illustre le système de mutagénèse via le plasmide pGh : IS*S1*.

La Figure 2 illustre l'obtention de mutants dépourvus d'ADN étranger.

La Figure 3 illustre le procédé d'identification du gène muté.

La Figure 4 représente la voie de biosynthèse du GTP, pppGpp ou ppGpp.

La Figure 5 liste les séquences des gènes mutés, à l'origine de la multirésistance, aux jonctions de l'insertion plasmidique, les microorganismes concernés étant issus de ce que l'on a appelé la Sélection 1 dans l'exemple.

La Figure 6 liste les séquences des gènes mutés, à l'origine de la multirésistance, aux jonctions de l'insertion plasmidique, les microorganismes concernés étant issus de ce que l'on a appelé la Sélection 2 dans l'exemple.

La Figure 7 liste les séquences des gènes mutés par mutagénèse dirigée.

La Figure 8 liste les séquences des gènes mutés, à l'origine d'une résistance à l'acide supérieur à la souche parentale (données non montrées) aux jonctions de l'insertion plasmidique, les mutants étant issus de la Sélection 1.

La Figure 1A représente une cellule de microorganisme avec son chromosome, dans laquelle a été introduit par transformation le plasmide pGh : IS*S1* lequel contient le réplicon pG+host (Ts *ori*), un gène de résistance à un antibiotique (Ab^R) et un élément mobile IS*S1*. A 30°C, le plasmide se réplique dans la cellule du microorganisme.

La Figure 1B représente la population de cellules bactériennes mutantes résultant de l'intégration du plasmide dans le chromosome bactérien après duplication de l'IS*S1*. En effet, à 37°C, la replication plasmidique est inactive et le plasmide est perdu sauf si la bactérie subit un événement de transposition.

La Figure 2A représente la structure chromosomique d'un mutant obtenu par transposition de l'IS*S1* dupliqué. Les éléments IS*S1* encadrent le plasmide pG+host. A 30°C, la replication du pG+host est activée et stimule la recombinaison homologue entre les séquences IS*S1* dupliquées.

La Figure 2B représente la recombinaison homologue ayant lieu entre les deux séquences IS*S1* aboutissant à l'excision du plasmide pGh : IS*S1* qui est ensuite perdu lorsque la souche est étalée à la température non permissive de 37°C. Suite à l'événement de recombinaison, la souche mutée contient seulement un exemplaire de l'IS*S1* qui est une séquence originaire du microorganisme muté, lequel ne contient donc aucune trace d'ADN étranger.

La Figure 3 représente le clonage des jonctions entre l'IS*S1* et le chromosome. Les sites de restriction *Hind*III et *Eco*R1 sont uniques dans la structure transposée et se situent de part et d'autre du plasmide pG+host. La digestion par *Hind*III de l'ADN chromosomique du mutant produit un fragment constitué du pG+host et de la jonction droite IS*S1* - chromosome. Après circularisation, ce fragement s'établit comme un plasmide chez *E. coli*.. La jonction est alors séquencée au moyen d'amorces correspondant à la séquence de l'IS*S1* ou à celle du pG+host. La jontion gauche IS*S1* - chromosome est obtenue en appliquant la même procédure après digestion par *Eco*R1 de l'ADN chromosomique du mutant.

La Figure 5 liste les séquences des gènes mutés telles qu'elles ont pu être déterminées conformément au protocole illustré par la Figure 3. Un code en "R" a été donné pour identifier chaque gène concerné. Chaque jonction séquencée a été comparée, en terme d'homologie, aux séquences de microorganismes déjà connues, et quand l'une d'entre elles a été identifiée, elle a été mentionnée. NS signifie qu'aucune homologie significative avec un gène déjà connu n'a pu être établie. La donnée numérique apparaissant (pour chaque jonction identifiée), correspond à la probabilité qu'a la séquence représentée de ne pas être identique aux gènes déjà connus mentionnés.

La Figure 6 liste les séquences des gènes mutés telles qu'elles ont été déterminées conformément au protocole illustré par la Figure 3 (sauf indications contraires).

La Figure 7 représente les séquences de fragment interne de certains gènes dont on avait déjà déterminé la séquence des jonctions conformément à la Figure 5. Le fragment interne du gène en question a été amplifié par PCR puis séquencé sur les deux brins. Ces fragments ont ensuite été utilisés pour inactiver, par recombinaison homologue, les gènes correspondants dans la souche sauvage de façon à vérifier que les phénotypes de multirésistance étaient bien dus à l'inactivation de ces gènes.

La Figure 8 ne concerne que des gènes dont l'inactivation a permis de mettre en évidence au moins une résistance à l'acide des souches concernées.

La présente invention sera mieux comprise au moyen de l'exemple qui suit. Cet exemple n'est cependant qu'illustratif et ne limite aucunement l'invention.

EXEMPLE

Lactococcus lactis est une bactérie qui, à l'état sauvage, présente les caractéristiques suivantes :

- sur un milieu à 30°C, que le pH soit de 7 ou de 5,5, elle présente une même efficacité d'étalement ;
- sur un milieu à 37°C, l'efficacité d'étalement sur pH 7 est 10^4 fois supérieure à celle obtenue sur pH 5,5.

Deux groupes de mutants de *Lactococcus lactis* ont été sélectionnés.

Un groupe de mutants, appelé Sélection 1, est issu de la souche sauvage MG1363 de *Lactococcus lactis* et est constitué de mutants présentant à 37°C une efficacité d'étalement sur un milieu à 37°C à pH 5,5 comprise entre 1 et 0,01 par rapport à ph 7. Une trentaine de mutants ont ainsi été isolés.

Un deuxième groupe de mutants, appelé Sélection 2, est issu de la souche sauvage MG1363 de *Lactococcus lactis* préalablement mutée dans le gène recA la rendant sensible à la température. Cette souche, appelée VEL1122 est sensible à la tempéraute. On a constaté qu'à la température de 39,3°C (avec un pH du milieu d'environ 7 mais non déterminant) la souche recA présentait une efficacité d'étalement inférieure à 10^{-8} quand la souche sauvage MG1363 présentait une efficacité d'étalement de 1. On a sélectionné des mutants à partir de la souche VEL1122 capables de croître à une température de 39,3°C. Une vingtaine de mutants ont ainsi été isolés.

Les mutants de la Sélection 1 et de la Sélection 2 ont été obtenus après mutagénèse par l'intermédiaire du plasmide thermosensible pGh : IS*S1* (cf. référence 16). Ce plasmide se compose du réplicon pG+host (Ts ori), d'un gène de résistance à un antibiotique (dans le cas présent l'érythromycine) et de l'élément mobile IS*S1* (cf. Figure 1). Ce plasmide présente la particularité de se répliquer dans les cellules à 30°C, mais pas à 37°C. Ce plasmide peut s'intégrer dans le chromosome des bactéries via un événement de transposition de l'IS*S1*. Lors de la transposition, la totalité du plasmide, flanquée de part et d'autre de l'IS*S1* est intégrée dans le chromosome. Les sites d'intégration du transposon sont aléatoires. Les bactéries ayant intégré dans leur chromosome le plasmide pGh : IS*S1* conservent donc une résistance à l'érythromycine à 37°C. Par conséquent, parmi les bactéries ayant subi la susdite mutagénèse, on sélectionne celles encore capables de croître en présence d'antibiotiques sur un milieu à 37°C. Ces bactéries ont subi un événement de transposition qui génère des mutations aléatoires.

Par rapport au nombre de bactéries de départ contenant le pGh :

IS*S1* , on obtient de 1 à 5 % de bactéries mutantes. A partir de cette population de bactéries mutantes, des mutants plus résistants aux stress ont été sélectionnés suivant les méthodes précédemment indiquées (Sélection 1 ou 2).

Les mutants résultant des Sélections 1 et 2 sont soumis à une température de 30°C qui active la réplication du pG+host et stimule la recombinaison homologue entre les séquences IS*S1* dupliquées ce qui aboutit à l'excision du plasmide pGh : IS*S1*. Les bactéries en question ne contiennent donc, inséré dans leur chromosome, plus qu'un exemplaire de l'IS*S1* (cf. Figure 2).

Les bactéries *Lactococcus lactis* ainsi obtenues (mutants Sélection 1 ou Sélection 2), sont ensuite soumises à différentes conditions de stress à l'égard desquelles leur résistance a été testée comparativement à celle de la souche parentale soumise aux mêmes conditions.

Chaque fois qu'il a été constaté qu'une souche présentait une résistance supérieure à celle de la souche parentale, on a cherché à identifier le gène responsable de cette résistance, c'est-à-dire le gène au niveau duquel le plasmide pGh : IS*S1* s'était inséré. Les jonctions entre l'IS*S1* et le chromosome ont donc été clonées puis séquencées. Puis, les séquences ainsi déterminées ont été comparées aux séquences des banques de données afin de rechercher le degré d'homologie qu'elles présentaient avec d'autres gènes connus issus des bactéries lactiques ou d'autres organismes (cf. Figure 3).

Les résultats de ces tests sont rassemblés dans le tableau I pour ce qui concerne une partie des mutants issus de la Sélection 1 et dans le tableau II pour ce qui concerne les mutants issus de la Sélection 2.

Les gènes identifiés dans le tableau I correspondent à ceux listés dans la Figure 5, à l'exception de R2.17 et de la jonction HindIII de R2.16.

Les gènes identifiés dans le tableau II correspondent à ceux listés dans la Figure 6.

Ces tableaux rassemblent des données calculées par rapport à la mesure de la résistance à chacun des stress concernés de la souche parentale qui sert donc de référence. En fonction des conditions imposées, on remarquera que les mutants survivent jusqu'à environ 2 500 fois mieux que la souche parentale correspondante. Ces résultats montrent que lesdits mutants, c'est-à-dire les souches présentant une altération du gène concerné, sont potentiellement capables de survivre mieux dans les conditions de stress des procédés industriels.

TABLEAU I

Sélection 1		Stress acide			Stress thermique		Survie long terme	Stress oxydatif
		A	B	C	55°C sans adaptation°	55°C avec adaptation*	Glucose limitant pH final : 4,3❑	H_2O_2 1 mM▲
Gènes	Durée du stress	2 heures	1 heure	1 heure	5 min	15 min	2 jours	30 min
	Souche parentale	(7e-5)Δ	(6e-5)Δ	(9e-4)Δ	(8e-4)Δ	(8e-4)Δ	(1e-4)Δ	(1e-4)Δ
	MG1363	1	1	1	1	1	1	1
R1.1	Clone SS80	79	1	249	1	1	1	1000
R1.4	NS	372	24	224	1	1	1	300 à 1000
R1.5	GlnQ.	1	8	1	2	1	1	1
R1.7	Carb. phos. synth.	192	9		1	1		
R1.8	GlnH. / GlnJ.	1	11		1	1		
R1.14	NS	233	11		2	1		
R1.16	GlnP.	1	9		1	1		
R1.17	GlnQ.	6	1		1	1		
R1.19	Hpt	111	46		13	1		
R1.20	NS	2	25		1	1		
R2.2	Rel.	1176	54	6	6	20	1225	
R2.3	GuaA.	364	438	352	3	107	2503	1 à 3
R2.6	Trans. ABC hyp.	7	13		1	1		
R2.9	AhrC.	18	20	1	7	1	1	1 à 4
R2.11	SupE.	288	27		1	1		
R2.14	GuaA.	1072	421	12	7	57	1330	10
R2.15	NS	624	9	7	3	15	605	
R2.16	NS (arl 2)	19	22		24	1		
R2.17	NS (arl 1)	244	492	28	6	107	1728	0,2 à 12
R2.20	Prot.hyp.de B.subt.	86	3		1	1		
ahrC		22	28	1	6	1	2	
guaA		1028	117	12	7	48	1318	
hpt		1032	28	4	11	2	820	
relA		1176	83	3	6	19	1321	
NS : Non significatif								

A : les bactéries, en phase exponentielle sur un milieu à pH 7, ont été étalées sur un milieu à pH 3,7.
B : les bactéries, en phase stationnaire sur un milieu à pH 7, ont été étalées sur un milieu à pH 3,0.
C : les bactéries, en phase exponentielle sur un milieu à pH 7, ont été étalées pendant 30 min sur un milieu à pH 5,5 puis sur un milieu à pH 3,2.
° : les microorganismes, cultivés à 30°C, sont directement soumis à un stress thermique de 55°C.
* : les microorganismes, cultivés à 30°C, sont soumis pendant 15 minutes à une température de 37°C puis à un stress thermique de 55°C.
❑ : les bactéries ont été maintenues en carence en glucose et à pH acide durant 2 jours avant d'être étalées sur un milieu à pH 7.
▲ : les bactéries en phase exponentielle à pH neutre ont été incubées 30 minutes en présence de 1mM de H_2O_2 avant d'être étalées sur un milieu à pH 7.
Δ : survie réelle de la souche parentale (MG1363) qui sert de référence et à lequelle on attribue la valeur de 1.

2753201

TABLEAU II

Sélection 2		Stress Oxydatif	Stress Thermique		
		Résistance au H_2O_2 1mM	**Survie à 55°C** sans adaptation°	**Survie à 55°C** avec adaptation*	**Survie à long terme**
	Durée du stress	15 minutes	15 minutes	15 minutes	2 jours
	VEL11221 Souche parentale	(3e-2)Δ 1	(5e-6)Δ 1	(2e-4)Δ 1	(6e-3)Δ 1
Gènes	*gua* A	10	1190	320	160
	deo B	6	120	170	8
	pst B	7	28	100	5
	gpp S	6	82	10	5
	tkt A	5	140	260	5
	trl 1	1	270	90	8

° : les microorganismes, cultivés à 30°C, sont directement soumis à un stress thermique de 55°C.

* : les microorganismes, cultivés à 30°C, sont soumis pendant 15 minutes à une température de 37°C puis à un stress thermique de 55°C.

Δ : survie réelle de la souche parentale ; cette valeur est ensuite ramenée à 1.

2753201

REVENDICATIONS

1/ Bactéries présentant une résistance aux stress améliorée par rapport à la souche sauvage, caractérisées en ce qu'elles comportent au moins une mutation dans un gène qui altère l'activité normale dudit gène, ce gène étant impliqué dans le transport d'électron, d'acides aminés, d'oligopeptides, du phosphate ou dans le métabolisme de l'arginine et choisi parmi :

- les gènes de la voie de biosynthèse de la pppGpp ou de la ppGpp,
- les gènes du clone SS80, R1.4, GlnQ, de la carbamoyl phosphate synthétase, GlnH, GlnJ, R1.14, GlnP, R1.20, Rel, d'un transporteur ABC hypothétique (R2.6), AhrC, SupE, R2.15, R2.16, R2.17, d'une protéine hypothétique de *B. subtilis* (R2.20), *pst*B, *tkt*A et *trl*1.

2/ Bactéries selon la revendication 1, caractérisées en ce que le gène de la voie de synthèse du GTP, pppGpp ou ppGpp est choisi parmi *deo*B, *hpt*, *gua*A, *rel*A/*spo*T, *gpp*S.

3/ Bactéries selon la revendication 1 ou 2, caractérisées en ce que la mutation provient de l'introduction ou de la délétion d'une séquence d'ADN par voie recombinante dans ledit gène.

4/ Bactéries selon la revendication 1 ou 2, caractérisées en ce que la mutation est induite par un agent mutagène.

5/ Bactéries selon la revendication 3, caractérisées en ce que la séquence d'ADN introduite comporte au moins un élément génétique mobile.

6/ Bactéries selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisées en ce que la séquence d'ADN introduite provient de la même espèce bactérienne.

7/ Bactéries selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisées en ce que la mutation inactive ou modifie l'expression dudit gène.

8/ Bactéries selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisées en ce que la bactérie est une bactérie lactique.

9/ Bactéries selon la revendication 8, caractérisées en ce que la bactérie lactique est choisie parmi *Lactococcus, Lactobacillus.*

10/ Procédé de préparation d'une bactérie présentant une résistance aux stress améliorée par rapport à la souche sauvage, caractérisé en ce qu'il consiste à altérer par mutation un gène desdites bactéries, le gène étant impliqué dans le transport d'électron, d'acides aminés, d'oligopeptides, du phosphate ou dans le métabolisme de l'arginine et choisi parmi :

- les gènes de la voie de biosynthèse du GTP, pppGpp ou ppGpp,
- les gènes du clone SS80, R1.4, GlnQ, de la carbamoyl phosphate synthétase, GlnH, GlnJ, R1.14, GlnP, R1.20, Rel, d'un transporteur ABC hypothétique (R2.6), AhrC, SupE, R2.15, R2.16, R2.17, d'une protéine hypothétique de *B. subtilis* (R2.20), *pst*B, *tkt*A et *trl*1.

11/ Procédé d'obtention de bactéries selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'altération consiste à insérer dans le gène visé le plasmide pGh : IS*S1*, puis, de façon facultative, à exciser ledit plasmide.

12/ Procédé d'obtention de bactéries selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'altération du gène consiste à insérer dans le gène visé une séquence d'ADN par recombinaison homologue.

13/ Procédé de fermentation, caractérisé en ce qu'il met en oeuvre, sur le milieu à fermenter, des bactéries selon l'une des revendications 1 à 9.

14/ Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce que le milieu à fermenter est du lait ou un dérivé du lait.

15/ Utilisation de bactéries selon l'une des revendications 1 à 9, dans des procédés de fermentation.

16/ Utilisation des bactéries selon l'une des revendications 1 à 9, dans des procédés de conservation de produits alimentaires.

17/ Utilisation des bactéries selon l'une des revendications 1 à 9, à des fins probiotiques.

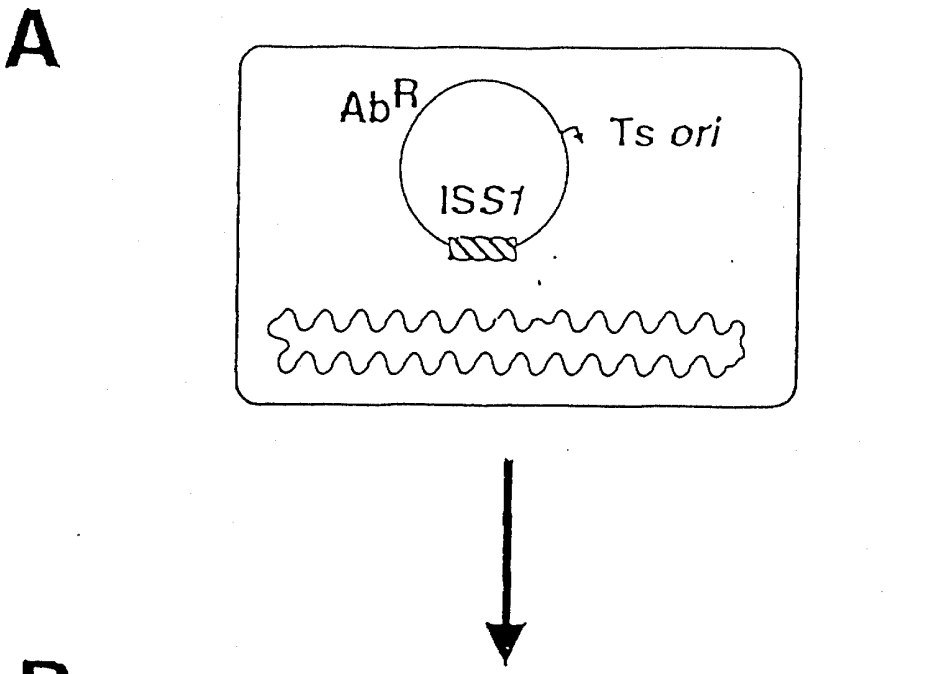


FIGURE 1

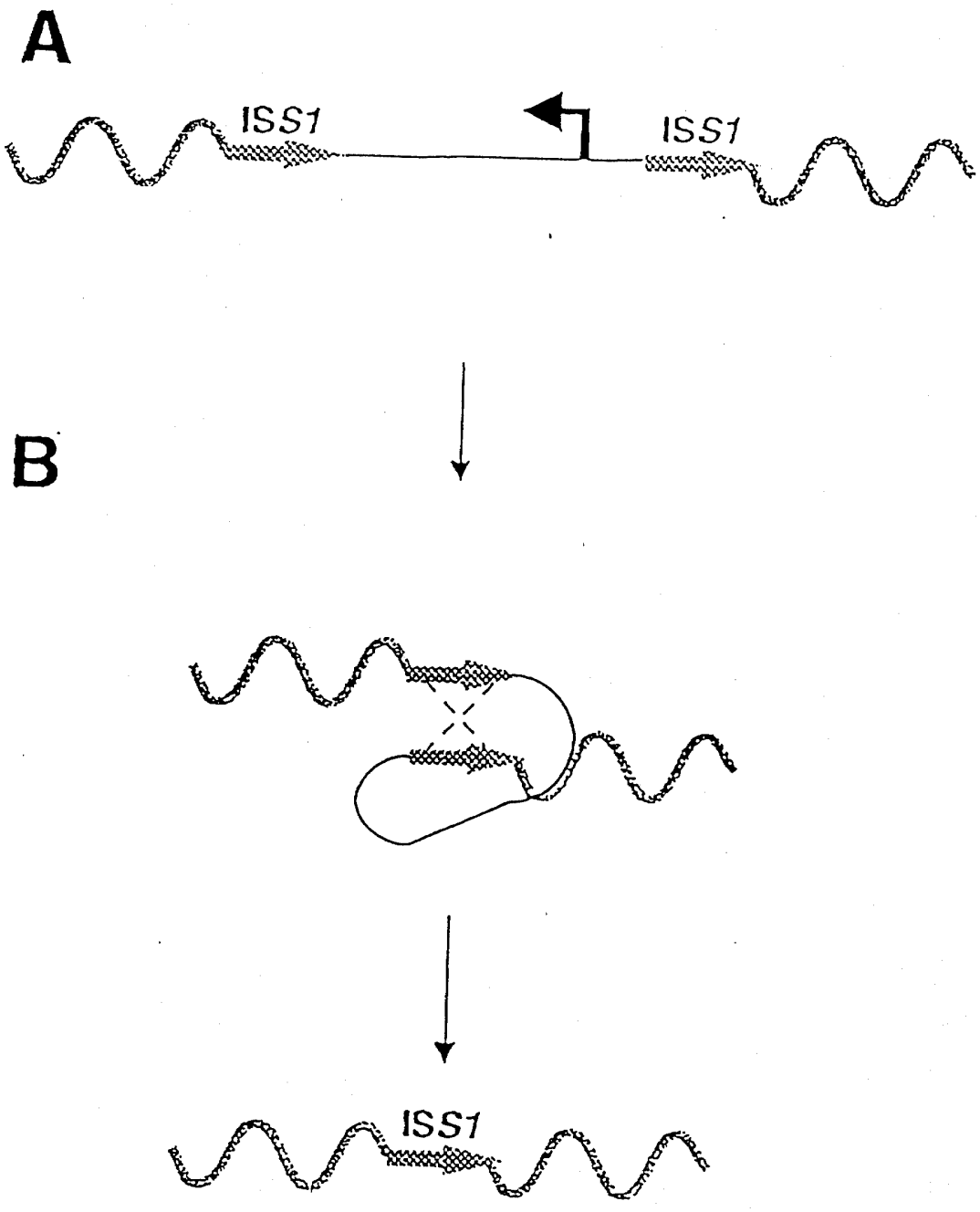


FIGURE 2

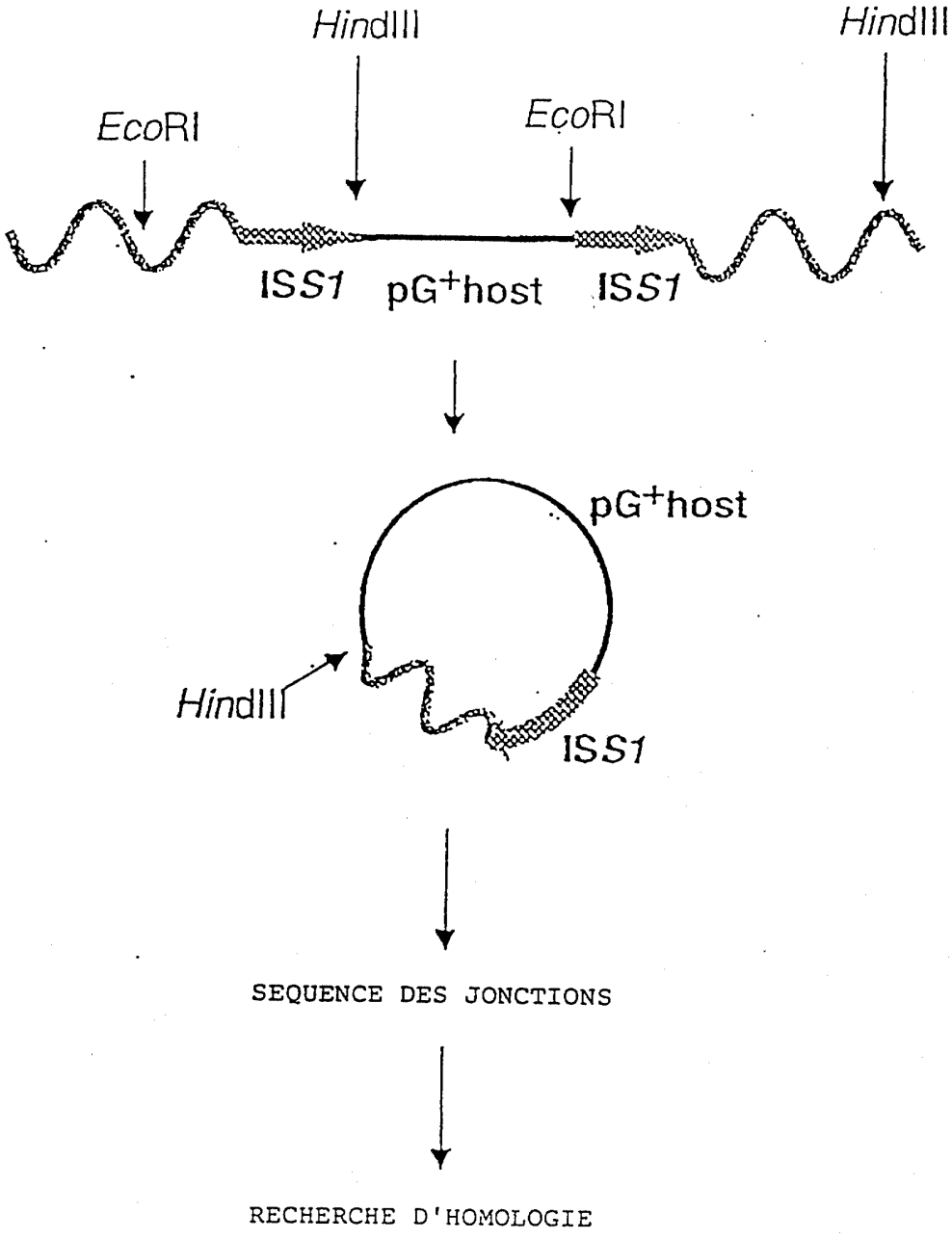

HindIII
HindIII
EcoRI
EcoRI
ISS1
pG+host
ISS1
pG+host
HindIII
ISS1
SEQUENCE DES JONCTIONS
RECHERCHE D'HOMOLOGIE

FIGURE 3

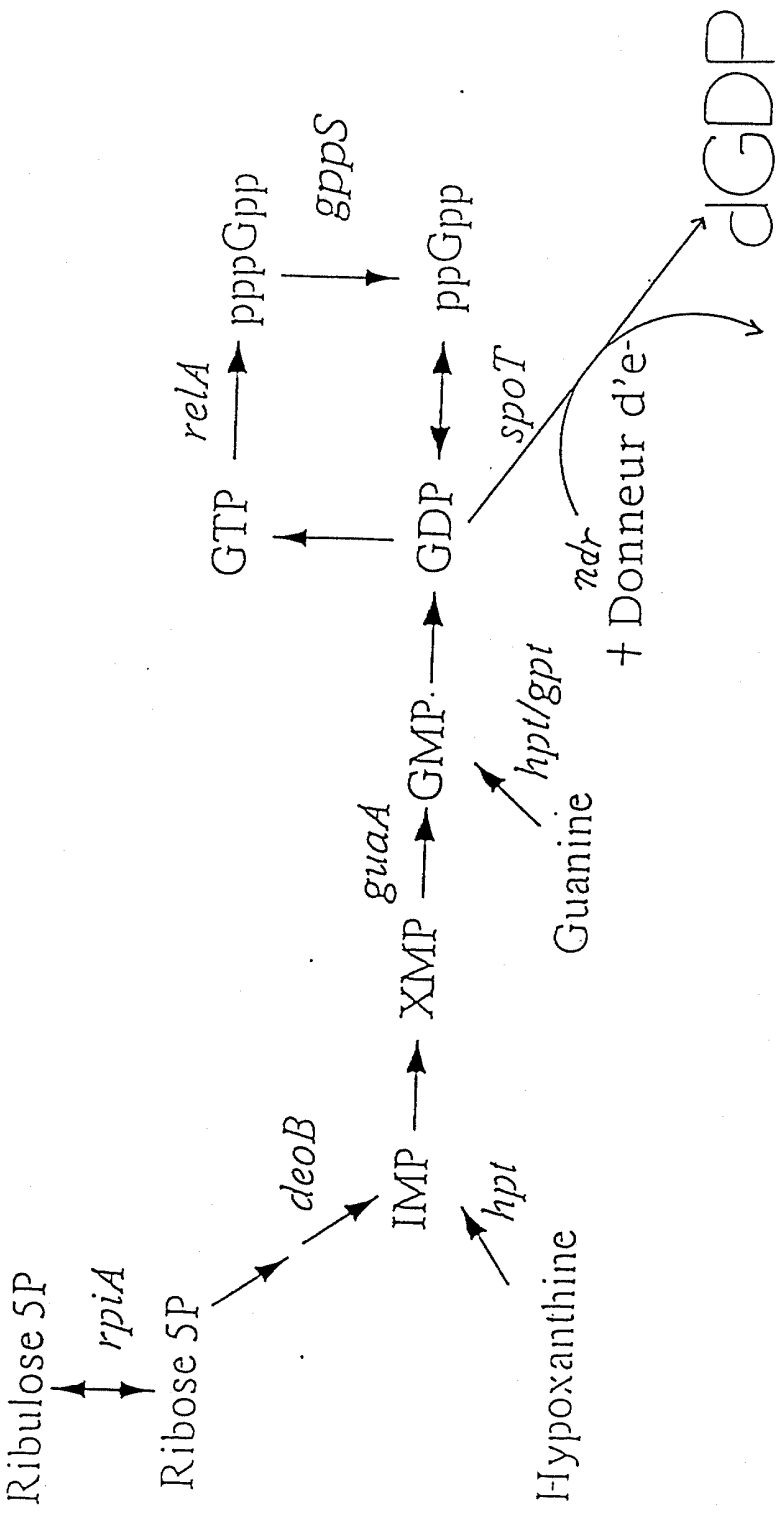

Ribulose 5P
rpiA
Ribose 5P
deoB
IMP
hpt
Hypoxanthine
XMP
guaA
GMP
hpt/gpt
Guanine
GTP
relA
pppGpp
gppS
ppGpp
GDP
spoT
ndr
+ Donneur d'e-
dGDP

FIGURE 4

R1.1

Jonction EcoRI : clone SS80 *L. lactis* (3e-14)

GCTATGAAGAAGAAAATTTTTATTGCTTTGATGGCCAGTGTAAGTTTATTTACATTGGCAGCTTGTGGTTCTGGAAATAAACAGGTC
ACAGCTGGTGGCTCAACTGCTTTGCAGCCAATGGTTGAACATGCTTCTATGTCATATATGAAGCAAAATCCTGATGAAATTATCATG
GTTCAAGGGGGCGGTTCTGGTGTTGGCTTGGCTCAAGTTGCTGCTGGTTCTTTTCAAATTGGTAATTCTGATATTTTTGGCGAAGAA
AAGTCAGGAATAGCGGTTGATAAAATTATTGACCAgAAAGTTGCTGTTATTGGTTT

Jonction HindIII : clone SS80 *L. lactis* (3e-47)

TTCATAGCTTAATTATAACATAATGCCCCCTCAAAGGTCGgTTGATGACAGCGCTTCTTATGTAAATGTTGTTGTAAATAATACGGG
AAAATGCTCAATTCTTAGAGAATGAGCAGCTTCCTGTCTTTAGGGAAAGAATATGATGATATATTTAAAGCCCAATGCTCAGTAACC
CCTGTTTAAATCCACCGAGCATTGATTTTATAAAAAAGTAGCTGAGCATAAAATTTTAATTTATGAAGAAGAAAATTTTTATTGCTG
TGAATGATGCGATTAgCCACTACTTCTTATACATAATTATTTTACTGACAAACTGATTTCTGTCGAAATTGAATCAGCATCCgTCTT
ATTTTTTAGTAATATTTCCGgCAGCATCACG

R1.4

Jonction HindIII : NS

AAACTTTGCAACAGAACCTTCCCCAGCCACTCGCGATAACACCTAACATATAACTGATAGTACCTTGTGTTTGAATAGTTCTATATA
CCTCCATACTTGTTTTCGGGAAAATTGGTATAAGGGGCCAAAAGTTTCACCCAAATAAATAACCAATTCCAATTTTTAAAAATACTC

R1.5

Jonction EcoRI : GlnQ. *E. coli* (3.4e-14)

GGgCACATCATCGTGGgCCGTAACTTCCAAGCCTTCCGCGTTTATGGGTTAATTGGTTTAGTgTACATGATTGTTCTgCTCTTCTTG
ATGTGGGTTGGACGTCGTGTAGAAAAAAGAATGAAATAATAAATAAGGAGAACATACTAACATGGGAATCAATACTCAAATTGAAGT
CACTGATCTTCACAAATCTTTTGGAAAAAATGAAGTTCTAAAAGGAATTACTACAAAATTTGAAAAAGGGGATGTCGTATGTATTAT
CGGTCCCTCAGGTTCTGGAAAATCGACTTTTCTgAGAGCTTgGAATGGTCTTGAAACAGCTACTgCTGGTGATATCATTATTGACGG
GATTTAATCTTGACTGATAAAAATACAAATCTCAATCTCGCCCGCCAAAAACGTTGGGAATGGGCTTTCAACAATATCAATCTTTgT
CCAAACAATGACTTGTTTTGGGAAAATTTTTACTTTATTGCCCCCAC

Jonction HindIII : GlnQ. *E. coli* (6.6e-34)

ATTTGACCTGTGTGGAGTAATTCAACAAGTCCGATAACTGAAACCAATGTTGTgTCTgTCAAAGTGATGATGAATTGGTTAgTCAAG
CTAGGAATTGTGATTTTAATGGCTTGAGGCAAGATAACCTTACGCATTGAAGTTAGGTATGTCACACCAAGTGAACGGCTGGCTTCC
ATTTGTCCAGAAGGTACTGCTTGGACACCAGAACGAACGATTTCTGCGATATAAGCAGAAGAGTTTAAGGTAAGGGCAATAACACCG
GCCGTAAATTCATTGAGTGGAGATTGATGACCAGgAATGATTTGTAGAAGGTTAGGAATCCCGTAGAAGATAAAGATTGTTAACACT
AAACGCGGAATTGACCG

FIGURE 5

R1.7

Jonction EcoRI : NS

TAAAAAATAAACAGCCCCAAATGGGGCTTTgTTTATTTCTGAATAAAAGTTAATAAGTATTTGAAGGGAGTGTATTATTATTCGgAC
AAAGGAGGCGTGAGAAAGCGTCTTATTAGACTTAAGTTAGAAAATAGGTTATAAATGATATATAGGCTACAAAGTAATTTATAAACG
ACAACATgTTGAAAGAGGGTAGGTGAATGACTGACATAAATAAAGCAAAAATATTCATATTTAGTTTAATTTTTATTAGTATCCCCT
ggCTAATTTTTGTTGAAAGCCCTGTGTCATCAGATACAGCAATTGACAGCCAAAATTCTACAGCAAATGGCTATATAAATGTTACCg
CTCCAACAACAAATATTTGGAGTTTGACTGCTCCACACTTTAATTTgGGGACCCAgCCATCAAGTGCATCAGCTAATTAATAGCAAT
GCAACAGGAGATGCAgCAATgAGAATTGggAATTTGTCTGGAAGCTCAACAAGT

Jonction HindIII : Carbamoyl-phosphate synthase. *B. caldolyticus* (3.9e-11)

TTTTATATTgGTGGTTGTAAAACTACGACTTgGCATCACCTTAAGAATgGCCGCAACTGTATCTAGCGAAGTAAAGAGAGGAgTTCg
TCGGCTGATTGCTTCTTGTCGAATGCGGAAACCATCAGTGGCTGTTGTTAATGAAGCTCGCGTATCACCCATGGTATgGACAACGGC
TTGAgCTCGCCCCTGACGAATATCTCAACAAGCGTTCCTCCACATCTTCTCCAgCAGCAAGTTTCTCCACTTCGCGCACATAAAGTC
CGTTTTCTgTAAGAAAGGCTGCTGCTCCTGCGG

R1.8

Jonction EcoRI : GlnH. *E. coli* (5.3e-29)

CTTTAATGGCATATTTGATGACAGGTTCATCGTCCATTAAAGCATTGATAGAGCCGTTATTTAATGATGAGTACATGGTTGTTGCAT
CAGTAAATGTTTTTACAGTATAACCGTATTCTTTTGCGTGATCATTAAGATAATCGAAAGAGGCAGTACCGTTTTTAGCCCCAAGTG
TTTTACCTTTTAGGTCTTTCCATGATTTGATAGAATCATCGGTACTTGATGTAGCAATGGTTAAGTTAGATGAATAGTAAGGATTAC
CATAATCAAAAACTTGTTTACGGGCATCGGTAATTGACATCCCTGACATCATTCCGTCAGCATGACCAGATTGAACAGAGTCAACAG
CTGCTTGGAAACCAATGAAATTCCATTTGAGTTTGAATCCTTGGTTCTTGGCGATGGCATTTAGTAAGTCAACGTCGATACCAGTGA
TTGTTTGTTGTCATTTTGAAATTCAAAAGGGGCAAAGCTATTATCTGAGGCAATGGTATAAACATCTTTTTTCGGTGTTTGCTTTTT
TAGAATTTGTTATTCCATATTTTTTCAAGATT

Jonction HindIII : GlnJ. *E. coli* (4.2e-7)

ATTAAACCAATCCCTGACGGTCAATATGGATTTGCCGTTAAAAAAGGAAGCAATCCTGAACTGATTGAAATGTTTAATAATGGTTTA
GCTAATCTCCGTGCAAATGGTGAATATGATAAAATCATTGATAAATATTTAGCTAGTGATACTAAAACCATTCAATCAAGTGCAAAA
GAAAATACTTCNTTTGGTATTTTGCAAAACAACTGGGAACAAATCGGACGCGGGTTGCTCGTTACACTTGAACTTGCTGTTCTCTCA
TTTATCCTANCAATGATTGTCGGAATTATCTTTGGACTCTTCTCTGTAGCTCCAAGCAAGATTCTTCGTANAATTGCACGAATTTAT
GTCGACCTTAANCGTNCAATTCCGCTTTTAGTGTTAANAATCTTTATCTTCTANGGGATTCCTAANCTTCTACAAATCATT

R1.14

Jonction EcoRI : NS

TTCAGAGGGAAAAATTGAATGATAATAGgCAAAAAATATTGTTGATAATTTATCTCCAAGCTCGTTTAACTTATCGTGGCATAATCT
TATATCAAGCTATCTAATCATGTTTTATCACTGCATTAAGATAATTATATCTCGCTTGAAATAGGGCGGATAGCAACTTTTTGTACC
AAAATATAGAATCCACTACTGTTCAGAACAAGAGCGAAAATAAAAAGCGCAATGTGCGCGTGAAAGGAGAAATCGATAAGCTTGAAG
TTTCGGCAAGCTTTAAAAAAGAAGTCACTGAAAAAACAATTGCTGAAATTAACTTAGCAGTTTCTTATATTGAAGGACTGGTTGGAT
AGCTTTTCAAgTCTTATTgATGAAGGACTTATGGCAAACCCGATAACTTAAATGATAAAAAAGATTATCTTATGTT

Jonction HindIII : NS

CCTCTGAACAATCTTCAACTTGgGGGTGTGATTCTGGATTAGATTTCTTAATCTTTAAAGCTgCAAAACGAGGGGTCCCACCGACAC
TTATTGAGAACTATAAATCAgTCATTGAAGATAAgC

FIGURE 5 (suite)

R1.16

Jonction HindIII : GlnP. *E. coli* (2.3e-30)

GCCCCCGTGANAAATTTAAANNNNNCGGGGCCNGGGGACCCAANAAACAAANGNNACAGAATTTCCTAACCTTCTACAAATCATTAC
TGGTCATCAATCTCCACTCAATNAATTTACGGCCGGTGTTATTGCCCTTACCTTAAACTCTTCTGCTTATATCNTATAAATNNTTCG
TTCTGGTGTCCAAACANTACCTTCTGGACAAATGGAAGCCANCCGTTCACTTGGTGTGACATACCTAACTTCAATGCGTAAGGTTAT
CTTGCCTCAAGCCATTAAAATCACAATTCCTANCTTGATTAACCAATTCATCATCACTTTGAAAGATACAACATTGGTTTTATTTAT
CGGACTTGTTGAATTACTCCAAACAGGTCAAATCATCGTGGCCCGTAACTTCCAANCCTTCCGCGTNTATGGGTTAATTGGTTTANT
TTACATGATTGTNCTTCTCTTCTNGATGTGGGTTGGACGTCNTGTANAAAAAAANAATGAAATAATAAATAANGAGAACATACTAACT

R1.17

Jonction EcoRI : NS

TTTTTGACAATCCTAAACATCCACGTTTACAAGACTTTTTATCAAAAGTTTTAAATGCCTAATAATAAAAAAACACCTTACGGTGTT
TTTTTATTGAAATAAATAAGAGATGACTTACTCTTATTTAATTAAATTGCTTAATTTTCCAAAATGTTGCAACATCATTTTTAAGGC
ACGTAAGATTCCATAAGCCGATGCTGTCCCAGCCGCTAAACCAGCTGCTCCAGCAATTCTTAATTTAAGAATATGTGCTTTTTGATT
CACTTCACTAGCAATAGAACGATTAGCTATTGCTTTTTGCGTTGTTGAAAATGATGGCGTAGGAGGAGCTAACGGAGCTTTTTATCT
GATTTTCAGGCGATTGACTTGGGTCGG

Jonction HindIII : GlnQ. *E. coli* (7e-35)

GTCAGAACGTCTTCAGGGGTACCATCTTCTAGGATTACTCCACCATCAGTGAgAATCACGCGATTGGCAACTTgACGAGCAACGCCC
ATgTCGTGAGTGACAATTAgCATTGTCATTCCTTCTTCAGCAAGTgGgTGgATACCCGgGGAGGACATCTCCGgCCATTTCAGGGTC
AAGCGCTGAGGTTGGCTCATCAAAGAGCATAACATCAGGATTCATTGCGAGGGCACGAGCACTCGCAACACGTTGTTTGTGTCCTCC
AGAAAGCATTCTGGCATCGCGTCTTTTTTgTCTgCCAAGgCATCTGTgTCGAGAAGCTGgATGGgTTCCACATGTGTATCATCTTgA
GATAgTTTCACATCTCAATTGGGGgATAAGTAATATTGTGGAAAACAGTCATGTGTGGGAAAAAGATTGATATGTTGGAgAGCACCA

R1.19

Jonction EcoRI : Hpt. *L. lactis* (5e-101)

ATCGTGTAGgTTTTTCATTTTACACTAAAATAGATTATCAGAAAATTTGCAACAGAACCATCTGGTTTAATTTCAACAATTCTTCCT
TCTGGTTTATCAAGAAGCGTAACAATTTTTACATTTGgTCCACGATGTTCCAAAAGTTCTTTTAGATATTTTAAAGTGCGACCTGTG
TCGATAATATCTTCAACAATCAAAATTTCACGACCTTTAACCGCTGTATCAACGTCTAAAATCAATTTTACTTCACCAGAAGATTTT
GTTCCTCCGTGATAGCTTGATACGGTCATAAAATCAGTTTCAAGATGACAATCAATATGTTTGATTAGTTCAGCTAAGAAAGGAACT
GACCCACGAAGAATTCCCAATTCCTGCAAGATAAGTTTGGAAGTTATCATGGTCATAACTTTCACGGGGAAGGTGGGACCTTTGGCA
ACTCAACCATGATTTCTTGTACAGGGAACCATATTTAATATCTTGCTTGT

Jonction HindIII : Hpt. *L. lactis* (1.9e-62)

AGCAGATTATTCAGGATTTACCATgCCAAATGAATTTGTTGTTGGCTTTGGTTTAGACTACGAAGgAAAACTACCGTgACCTCCCAT
ATGTTGGgGTTGTTGAAGCCTGAGGTTTATAGTAAATAATACATTGATTTAAGTAGGTTAAAAATTCTCTCAGACTAAAGTATGAAA
AAATCTCTGCCCAATACTTACTATTAGgAggCCAAAAGGAAATATGCTATAgCTAGGTATAGCTGTTATTGATTAGCTTGTCTCCTT
AT

R1.20

Jonction EcoRI : NS

TGTTgGGCTCACTTAGTTCAGGAAACATCGCAGGAGCAATGGATGAAGTCCCAGTTATCTCTTATGCTATGAAACAAGGTCAAGATT
TAGCTACAAACTTCCCTTCTATCTCTCTTTCAGGAGGTTATGGgTTTGCTGTGATGAAAGGCAAAAACCAAACGCTCGTGGATGGTT
TCAATAAAGCATTGACTGAAATGAAATCAAATGGAGATTATGATAAAATCCTGAAAAAATATGGAATAACAACTTCTAAAAAAGCAA

FIGURE 5 (suite)

CACCGAAAAAAGATGTTTATACCATTGCCTCAGATAATAGCTTTGGCCCTTTTGAATTTCAAAATGACAACAAACAATTCACTGGTT
CGACGTTGACTTACTAAATGCCATCGCCAAGAACCAAGGGATTCAAAACTCAAAT

R2.2

Jonction EcoRI : Rel. *S. equisimilis* (1.4e-53)

CGGATAANTTACGGATAATTTGTCCCAATTGGGCCCACTTTAAAATTTGCNGGACAACCANNATCTCAACTCGGTCCCCTGTTTTTA
ATTGAACAGATAAAGGTTTCATACGTCCATTTACTTTAGCACCCGTCGCATGATCTCCAACTTTAGTGTGAATCGCATAAGCAAAGT
CAATTGGACCAGAGCCTCTAGGGAGTTCTTGGACTTCACCATTCGGAGTAAAGACATAAATCTTGTCTGATAAGATATCTTCTTGAA
CTGCTTTAACAAAATCTTCGGCTGAGTCGCCTGCTTCTTCGCGCAATTCGACTAATTCATGAATCCAATTCAATGTTTCTGAGATTT
CATGAAACATCAACTTTTGATTTAATTCCTTGTTTGTAAGCCCAGTGAGCGGCAACCCCATATTCCGCAATTTGGTGCATTTCCCGC
GTTCTAATCTGGAATTCCTGCAGCCCGGGGGATCCACTAGTTCTAGAGCGGCCGCCACCGCGGTGGGATCCTCTAGAGTCTAGGGAC
CTCTTTAGCTCCTTGGAAGCTGTCAGTANTATACCTAATAATTTATCTACATTCCCTTTAGTAACGTGTAACTTTCCAAATTTACAA
AAGCGACTCATANAATTATTTCCTCCCCGTTAAATAATAGATAACTATTAAAAATAGACAATACTTGCTCATAANTTAACGGTACTT
AAATTGTTTACTTTGGCGTGTTTCATTGCTTGATGAAACTGATTTTTANTAAACANTTGAAGAAATTCTCGAT

Jonction HindIII : Rel. *S. equisimilis* (1.1e-9)

GAAATTATTACCAGCTCAAGCTCTTTTGGACCAAGTCGTGACTGGATTAATTTAGTTAAACCAATAAGGCTCGAAACAAATTAAGC
AATTCTTTAAAAACCAAGACAAAGAATTGTCGGTTAATAAAGGCCGTGAAATGTTGCAAGAAGCTTAACGGGCTCAAAAAAAAATGA
TAGGAATAATCTATCATCATAAAACAATCTAAATTTAGATTTGAAAAATACATAAACTATTAAATAGGAAATAATC
ACTAGGAAAGGATTAGTCCTCCCAAAACAACCACTTAGTAAGTCACCTATCAATATTGAGCGCAAACAACAGATAAATGTCTGCTTT
TATGTTTTTTANAACAGGCACTTTCTGAATTCTTTATAAGGTAGGTAATTTTAGCATAAATAAAAATTGACTAATTTANAAACTTAT
AAATTTCTAAAAATTATCTTTTTCAAAATATTCAACCATTGCATAGACTCCTACAAAAAATAGTAAAAAGAAAGTCCATGAATTGAT
AGCGTGTTTTCACCTCCCAAATGATGGTATGAAAAAGGGTTATTCCAAATATTATCANTAATGATAATAAAATAGAATTTCTAGGAT
TGGTTTCCTTACGTTAATAATTCTAAAACTAAAAAAAATAAAAACAGACT

R2.3

Jonction EcoRI : NS

GGTTTTTNNNNNNNNNTGACTTTATTTAGCTTAAGAGCCGAATGNTATAAACCTTGTATTTGATTTTNAAACTTTGCAACAGAACCC
TGAAAGTGATACATTTCTTTTCAAAAACTCCATTTGATTTCTCAATAAAAAATGTAAAATTTCCTACAAGATTTCCAGTAATGACAA
GCGCTAAGTCCTTTGAGTCATTTAAAATCTTTAACCAGCTATTGGAATTTAAAATATATTGTATCCCGGCTTCATCATTAAAAGTTA
GGATATGGGAAAATTGAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGGGCCCGGTACCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACG
CGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCT
TTCGCCAGGGGGATANACTGTAACATTCTCACGCATAAAATCCCCTTTCATTTTCTAATGTAAATCTATTACCTTATTATTAATTCA
ATTCGCTCATAATTAATCCTTTTTCTTATTACGCAAAATGGCCCGATTTAAGCACACCCTTTATTCCGTTAATGCGCCATGACAGCC
ATGATAATTACTAATACTAGGAAAAAANTTAATAAATACGTAACCAACATGATTAACAATTATTANANGTCATCGTTCAAAATGGTAT
GCGTTTTTGACACATC

FIGURE 5 (suite)

Jonction HindIII : GuaA. *B. subtilis* (2.4e-33)

NCCCNGNGTTTCCTTCCCCCNNNCTNTNTGGGATGNNNNTCCTTTTANTAAAAANCCTNGTATGGGGCCCCNAAACTNAGCAACANA
ACCTGTTTGGCAATATTTCACAGTAAATACAGACGTGAAATCAGTCGGTGTCATGGGAGACCAACGGACATATGACTATACATTAGC
CATCCGTGCCATCACTTCAATTGATGGGATGACAGCNNACTTTGCCCAACTTCCTTGGGATCTTCTCCANAAAATCTCAAAACGTAT
CGTCAATGAGGTTGACCACGTCNACCGTATCGTCTACGATATTACGANCAAACCACCAGCAACTGTTGAGTGGCANTACCAATAAAA
AAACTGATAGCAACTTACTGTTANCNGNNTCNNCNGTNATNAAAAATAAGAAAGCGTCAGTTNTAAACTGGCGCTTTTTGCTANCAA
GAAACNTGCCNGNATNTNNACAAAGGGAGGTAAGTNNCCNTACNAANTTAACATAGACAACCATTCCCTAAANGAAATATCNCTANT
CATTAGGTANANAAAGTNAAANATGAAAANCGCCATNNNTCNNTNTAACGCCCAANACTTNTATCTCACGTCTTGGTNATCCAATAC
CGGGGGATGANNAAANTAANCTTATCCTNTNCAAAAATGNANACTTNTTGAAACTCAACCCCNCGAGATGAATCCCCCCCCCCCCAA
CAAAGGGAAANATTCTNNANNACNGANAACTCCTATCCANACNANCTCTNGGGCCCGCCCCCCCTCCCANTNGCGGGGCTACCCC

R2.6

Jonction EcoRI : Hypothetical ABC transporter. *B. subtilis* (6.3e-22)

TNNNNANNNNNNNNTNAAGGATCCTTTTTNTTTTTTTGGGCCCCTTGGGCCCCTTTTNAAAATCAGAGGCCCNTGCGGACCAACCTT
CAAANAACATTTACTTTGTTGTCGTTAATATTGACCCCTTCATAATTGATTTCACCAGTTACGCGCGCTCCATCAATCGTATCATTC
ATTCGATTTAATGCACGCAGATAAGTCGATTTACCAGAACCAGAAGGGCCAATAAGTGCAGTTATTTCATTTTTGGGAAATGACATT
GTCACACCATGAATTGCTTCTTTTGTTCCATTATAGAAAACACGCAAATCATTGGTTGATAATGCTATTTCTTCTTTCTCAGGCACC
ATAATTTTGCGCTGGAGTCCAGTCATATGTTTGTTTGCCATAATTATTCTTTCTGTTTAAACTTATAAGTTTTTCTTAATTTGAAAN
AGGTTAATTTCTTGGTGAAATTCCTGCAGCCCGGGGGGATCCACTAGTTCTAGAAGCGGCCGCCACCGCGGTGGGATCCTCTANAAG
TCTAGGGACCTCTTTAGCTCCTTGGGAANCTGTCAGTTANTATACCTAAATAATTTATCTACATTCCCTTTAGTAACGTGTAACTTT
CCAAATTTACAAAAGCGACTCATANAATTATTTCCTCCCGTTAAATAATANATAACTATTAAAAATAGACAATACTTGCTCATAANT
TAACGGTACTTAAATTGTTTACTTTGGCGTGTTTCATTGCTTGATGAAACTGNATTTTTAATTAACCAGTTNACAANATTCCCCCAA
TTGAACCCTTTTTGAAANCAAAAC

Jonction HindIII : Hypothetical ABC transporter. *B. subtilis* (5.6e-56)

TNNNTNNNNNNNNNGTTAATGTCTATACGTCCTTAAGGGCCNNAGGGACNATATCCTTGTATTTGATTTCNTAAACTTTGCAACAGA
ACCCTTTGNAAGTTCGTAAGCAAATTGGGATGGTTTTTCAAAGACCCAATCCATTTCCTAAATCAATTTATGAAAATATTGCCTTCA
TTCATCGCCGCGATGGGGTGAGAGATAAGAAAAAATTGGACGAGATTGTTGAAACCTCACTGAAGCAAGCTGCTTTGTGGGAGCAAG
TCAAAGATAATCTTAATCAATCGGCTTTGGCTATGTCTGGCGGACAAGCACAGCGTTTGTGTATTGCACGTGCCTTGTCAGTAAAAC
CAGAAATTATCTTGATGGATGAACCGGCTTCTGCCCTTGACCCAATTTCAACAATGCAAATTGAAGAAACGATGATGGAACTTAAAG
AAAATTATACGATCATTATCGTGACTCACAATATGGCTCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGGGCCCGGTACCCAATTC
GCCCTATAGTGAGTCGTATTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAA
TCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGGGGGATAGACTGTAACATTCTCACGCCATAAAATCCCCTTTCATTTTCTAATGTTAA
TCTATTACC

R2.9

Jonction EcoRI : AhrC. *B. subtilis* (1.8e-18)

GCAGGAAATTAATCTTGAAGAAGATGAGCTTTTAGTTAATCGCCGTGAAAAATTAAATAATATAAAAAATATTGCGGATTCTCTAAT
ACGGCATATTTAGCACTAGAAGATGAAGACAACGACTATTCAAGCCTGAATAATATTCGGACGACAATGACCGAATTGGATAGAATG
GCAATTTTGATAAGGATTATCAAGAACTTGCTGACAAAACTGCTGAAAGTTATTATATATTAGAAGAAGTTGCCAATCAAATTCAAC
ATCATGAG

Jonction HindIII : AhrC. *B. subtilis* (2e-5)

ATTTCTGCTGCTTCAgTTTCTTCAGCCTGAAATTGGAGAATgTCACTTCTgTGGGCAAgTTCTTGTTCATTTgGTTGACGAATATTA
GTTGTTGCCGAAGATTTTTAAAGTggCAAATTTATTTGTGTAATTATTTTTAATGACTACAAAATTACATCTCCAATCTCATCCATA
AACGAAGATGACTTGTGGgATTCATCAGCTCTTGACTGACATGTTGAgCATGAATGTCTACTAAAAATTCTCCAATGTGACGAATCT
TGTTAggTTGCACATGTGgCCATTATTTCGACAGACAGAGCGACCAgTCGCAAAgTCACACGTCGCAAAATAAT

FIGURE 5 (suite)

R2.11

Jonction HindIII : *supE. L. lactis* (1.3e-70)

TCTGTCAGTAATATGAACGTgACAAATTGGTTGAAAAATGCTATGATTGAGAAAGAAAATTTTCAAAAATCAAAGATTAAGCACTTA
ATAGAGCTTAAAAAAACGATAAGGAGTTTGAGATGTCAAAGAAAAAAGATACAGAACTTGAAATCATTGATACAGCTGATGGAGTGT
ATCAAAAGTGGGAAAAAAACAA

R2.14

Jonction EcoRI : GuaA. *B.subtilis* (1e-28))

GgCTACGATATTACGAGCAAACCACCAGCAACTGTTGAGTGGCAATAGAATAAAAAAACTGATAGCAACTTACTGTTATCAGTTTTT
ATTAAAAATAAGAAGCGTTAGTTTAAACTGGCGCTTTgTGgTATCAAGAACATGCAAGATATTAAGAAGGAGGTAAGTACATAATAC
ATAGACAACATCTCCTAAAGAATATCATAATATTAGGgAAAAgAGTAAAAATGAAAGCGCTATAgTTCTATTAACGCAATACTTAAT
ATTAGC

Jonction HindIII : GuaA. *B.subtilis* (5e-2)

TCGTAGACGATACGGTTGACGTNGTCACCTCATTGACGATACGTGTTGAGATTTGTTGGAGAAGATCCCAAGGAAGTTGGGCAAAGC
TGCTGTCATCCCATCAATTGAAGTGATGGCACGGATGGCTAATGTATAGACATATGTCCGGTGGTCTCCCATGACACCGACTGATTC
ACGTCTGTATTTACTGTGAAATATTGNCAAACATCACGNACANGTCCTGAAGGAGCAATTTCTTCG

R2.15

Jonction EcoRI : NS

AATTNTATNTTATTNNNNGGGCCCNTTGGCCANNTTTAAAANANNATGNNANAACNTTGCAACAGAACCGTTGCTAAAATAGCGGGT
GTTAGTCCAGCAACTATCTACGTCTATTATAAAGATAAAGCTGATATGTTAAGTCAAATTTTGATTGGAGTTAAAGATATTCTGGAT
GAAGGGCAAAAGGAAATTATCCTCTCTGTTTCTGACCCACTTGAACAGTTCAAAAAATTACTTAGACATCTTATTGACAAGTGGACA
ACTTATCCCAAACATGCTATCTTTATGCGGGCAGCCCTTGAAAATCCAAGTGAAATAGCTCCTCATGGTATTGCTTATTCAAATAAC
GGGCCGAGGTCATCGTCGCACTTTATGATCGTCTTCTTGACTCTGGTAAAATTAAACCTCTCTCCCAACATCTTCTAATCAGTTGGT
GCAGGCGGAATTATGAATAACTTACTTTACCATGCACAGATGGGTACCCAACCTGACGATGCTGAAATCCAACAAATGATTGAACTT
TCTGTTGATGCCATTAANAAAAACCTCTAAAAATTTGATGTTGAACCCCAAAAGTTAGACTTTTTATCCAAGTTANAAATACTTGGT
TTTTTTATTTGTTCTTGAAACTCTTCCGATATTCAATCGGAGACAACCAGGATAGATTTTTCTTAATTCGGAA

Jonction HindIII : NS

TNATGTTTATATTAGCTTATGNGCCNGATTGATNATAAACCTTGTATTTGATTTTTAAACTTTGCAACAGAAACCTTAGCAACCTTA
GCAATTGAAAGTCCGACCAATCCTACTTCCTTGGTCAGTTGAAAAACAGCTTGTGTGATTGCCTCTTTTTTATTTTCATCAATTTTT
CTCATACTTATATTTTAAGTAAATGAACATTCATTTGTCAAGTCGCTTAGATTTTAGTTTCAGTAAAGTCAAATTTTAGCAATATTT
AAGAGAAACTTACTATACTATAGTTATTCCAATAAAATTTTTCATAAAAGTTTACTCCTAAACAAAAAAAGAGCGGCTGGTTACCGC
TCATTTTTTTATTCTATTTCAACTTTTTTGTAGACTTGAAAGATTCATAAGATAAACAAAGAGTAGGATTGAAAAGCAACTTCCTAA
AGACTTGTCAAAAAGAATCCTAAACCTAGTGTACGCCAAAGTCCTATAAAAGTTTCTGGCGATAGGGCCAATTTTAAGGAAACACCA
ACAAATATTCTTCCTAGAACGACTTCTAAAAACAAGTCATAAATATAAAGAAGCATAAAGCTAAAAGAGAGAAAGGGAGTTAATTTT
CCATTTTCGTAAACAAGACAAGATTATCCAAAGAATTNATAAAATTAGGAGGGTACTCGTCACTGGTTTTTGCACCC

R2.16

Jonction EcoRI : NS

ACGTNTNTTTTTATTCATTNGGCCCTTATTAATAAGACTTATNGANCAAAACTTTGCANCAGAAACCTTCTGATGAAAAGTTCTAGT
CCAGAATCACTGACTGACAAAAAAACTAGTTCAAGTTCGGAAATCAAAACGGACCAATCTGTCCCAACTTTTGATTTAGAAGAGTCA
GAAGGAAGTCCAACTACGAACACAAGTGTTATTAATAAAATTACCGAAAGTAGAAAAGATACAGAAGAAAACAATAGCATCAGCTCA
AAGTAAAGTTGATTCTAATAAATCTACTACTGTAAATTCAGCAAAAGAAGTGGATAAAAATCAACTAGTTGATGAAAACCCACTAAA
AGAGTCGTCACCTGATAAGTCAGCTGTTTCGGGCAAGCAGCTTCCAGTTGCTCCAGCAAATAATCAGGGAGAGCAGTGATAAAGCAG
CCAGTCCACAAAACATTTTACACATATTGCCTAATTTACCT\AAAAAAATACGATTAATAAAGTTGAGCCAGAGGATTCAAATTCAT

FIGURE 5 (suite)

R2.20

Jonction EcoRI : Hypothetical protein of *B. subtilis* (1e-4))

CTGATTTAAAAGCAACTTCTTTgGgGGCATCAATTAAATAAATAAGGTTTTTATCGGAATCAAGTTCTGCAACATACTTTTGGTTAC
CAATAGTGATATATTGGTCATCACTTGCATTTTTTAATATTTTTTTAATATCATCACGATTAATTACTTTGTCATTCCCTTTAAAAA
TCATATCAATAAAGGGATTAAACCATTCAGGCTCGAAGGTTTCATTATTGAAACGAATGACTCCAATTGGCATATTATCCAAAGTAG
gATTAAGTGAATTTTCTGCTTCATCATTGATTTTACGAATAAAATCTgGACGGCGCAACTGATAATTTCGGGTTTGAGATAGTAAGA
TGAGCGTAATCACAATATTCAAAATCAACAAATAAACCAAGATTGACCAACGAGTTGCTGAAGCATGGACAACTATGGTTTCAATGT
TTGAACAATCAACCATTATGACAATAATAGCAAGCGG

Jonction HindIII : Hypothetical protein of *B. subtilis* (8.5e-12)

ATAATTATGATGATGCAACTGAgTTGATTACTGATAGTGGTCGAgCAGCGATTAATAGTTTgATCGCATCATTTgTAGAAGAATTTG
CTGACAAGTATGGAATTTATCTCCGTCGAATAAGCAGCAGTCGACATTATTTCTCTGTGATTATCGTATTCTgGAAAAAATGATTAA
TGATAAATTCGCTGgTCTCAAAGAATTTAGAGAACTCACAGCTCAAAAAGAACTCCGGAGACACTCTCTgTCGGTGTGGgTTATGGG
TGGgATGATTCCCCggCCATCGGAAAAGTTGCCCgCAATgCCCTTGAGTTGgCTCAAGTACGCGGTGGTGC

FIGURE 5 (suite)

tktA

jonction Hind*III*

CACATTGCAGAACCATGACCAGCCGACAAGACAAAACGGTCACGATTTGACCATTTACGACTCGTTTGTGGGTTT
ACATTAAGAAACTTGCTCCAAAGTACATAAGCCATTGGGGCAGAGCCCATTGGAAGTCCAGGATGTCCTGAATTT
GCTTTGTGANTCGCATCTAATGATAGAGTACGAATCGTATTTACAGCCAATTGATCAGTAGTATCAAACATAAGA
TNTCTCCATATTTTTTATTTATACTCACATTATAACACAAGTTAGAAACGGTTTNCANTCTCTGAAATTAAAATC

Jonction EcoR*I*

AACAGAACCTGCAATGTTATATAGTTTGTTACACTTGGCAGGATATAATGTAACGACTGATGATTTAAAAGGTTT
CCGTCAATGGCAATCAAAAACACCAGGACATCCAGAAGTTAACCATACAGATGGTGTCGAAGCAACAACAGGTCC
TTTGGGACAAGGAATTGCCAATGCTGTTGGAATGGCAATGGCTGAGGCACATTTAGCTGCACAATATAATAAACC
TGGTTTTGATATTGTTGACCATTATACTTATGCCTTAAATGGTGATGGTGATTTANTGGAAGGTGTTTCACAAGA

guaA

Jonction Hind*III*

Séquence non obtenue

Jonction EcoR*I*

TTTCTGGGTCTGAAAGGCCAACAAGTTTGTCCATGAAACGTTTTTGAGCATCTACTTTGATGATATTAAGACCAN
ATTTTCCGCCCAATGTTTCCATGACTTGGTCAGCTTCGCCTTTACGAAGGAAACCGTGGTCAACAAAGATTGATG
TCAATTGGNCACCAATGGCACGTTGTAAAAGAACACCCACAACTGATGAATCTACACCGCCTGAAAGTCCAAGGA
GTAGTTTTTTGTCGCCAACTTTTTCACGAATATCTTTGATTTGCATATCAATGAAGTTTTCCATTGACCAGTTCC
CTTTGGCTCCACAGATGTTAAGCGCAAAGTTTCTGAGCATTTCTGTTCCGTGAACTGAATGACGAACTTCTGGGT
GAAAT

deoB

Séquence partielle

CCCCGTTTGCTTCTGTTCCTTTGTAAGAATCATCAGCAATTGGTATTCCGNCAAGATTGNCAAAATGCTTTTTTA
GCCATAAAATAGATTTTTCTTTCTAATTCTGTCAGTAAAATTGACTGACAGAAGCACTTTATTTTAAACTAATGCA
TCCAAGAATGATTCACCCGTTTGAGCTTTTTTAACAGAGAAGTTTTCAGCAATAGTTGCTGAAATGTCANCAAAA
TGTCCCACAGGTAAAACTTTAGGTTCTTTAAATGATTTAGAGAAAATTACGAGTGGAATATATTCACGAGTATGG
TCAGTTCCTACGTATGAAGGGTCATTCCCGTGGTCAGCAGTAATCATCAACAAATCATCTTCTTTCATTGCATCA
ATGATTTCTGGCAAGCGACCGTCAAAGTCTTCAATTGCTTTTCCGTAACCTTCAACATCGCGACGATGTCCATAT
TTCGCATCGAAATCAACTAAGTTTGTANAAGAAAATCCTTCAGTAAATTCAGTTTTCGTCATTGCTTTAAGTAGA
CGATCAACCCCATCCATGTCATTATGGTTATGACCCATATCATATNTAACACCTACTGTGTNGAAAATATCTGAA
ATTTTTCCGACTGAGTAAGTATCAATCCCTGCCTTGTAAAGTNTTTCTAATACAGTTTCAGCAAATGGTGAGAGC
GCATAGTCACGANGTCCATCAGTCCGNTCAAANTTTCCGGNTTCTCCAACATAANGGCGAGCGATGATTCGGCCA
ATCATGATACCAGAACCTTCTAGGGTAATTGAACGAACATATTCACANATTTTATAAAGTTCTTCACGAGAAATA
ACATCTTCATGTGCAGCAATTTGTAAAACAGGGTCAGCTGAAGTATNAATAATCAACTCTCCAGTTTCCAATTGA
CGAGGGNCGAAATCTTCAATGACCGCTGTCCCAGAATAAGGTTTATTCGCTTCACGAATGATTTTACGACCAGAA
AATTCCTCAATTTTTTCAAGTAAATCTTCTGGATATCCTTCTGGATAAGTTGGGAATGGCGTTTGAATATTCAAG
CCCATAATTTCCCAGTGCCCAGTCATTGTATCTTTACCTTTTGAAATTTCTTCAAGTTTTGTGACATAAGC

gppS ou *pnp*

Jonction Hind*III*

CCATAACGNACAACCACAGCTCCANTTGGTTGTGTNGCAACTTGCACCTGTNTCAACAGTTAAAGTTCGTCCTGC
AAATTCGATTGAAAATGTTTCTTTTGNCAATGTTATTCTCCTTGACTTGAAATGCTTAGAATTTTNTCTAACAGC
CCAGTCTCCTGCTTGTGAATTATTTTCAGTCTACGTNTNTCTAAACAAAACTCAAATTGTCATCACTGATTATTG
TGACAGTAANTTTTTNTCTGATGAGTGATTNTCTTNTCTGNCAGTAAACTTTGTGTTGACAAATACATCTGTGTA

Jonction EcoR*I*

CGTTATGGAGATACAACAGTTTTGNCAGCTGCTACAATGGGTAAAATGGCTACAGGTGATTTCTTCCCACTACAA
GTGAATTATGAAGAAAAAATGTATGCTGCAGGAAAATTTCCAGGAGGTTTTAACAAACGTGAAGCGCGTCCTTCA
ACAGATGCGACTTTGACAGCTCGTTTGATTGACCGTCCAATTCGTCCAATGTTTGCCGAAGGTTTTCGTAATGAA
GTGCAAGTAATCAATACTGTCCTTTCTTATGATGAAAATGCGTCTGGTCGTGTGGCAGCTATGTTTGGGTTCANC

trlI

Jonction Hind*III*

TTTANTACTATTAGATAAATAAATATACACGAAGGAGAGACGATGATCACATTCTATNCAGCACCCTCTTGTACA
AGCTGTAAGAAAGCTAAGACATGGCTTTCATATCACCATATCCCATTTAACGAAAGAAATCTCATCGCGGATCCT
TTATCACCCACAGAGATTAGCCAAATTTTACAAAAATGTGATGATGGTGTNGAAGGATTGATTTCAAGCAGANNC

FIGURE 6

CGTTGTGTGAAAACTTTAGGTGTTGATTGTGGAAGACATTTCACTTTCACAAGCAATTAACATCATTTCTGAAAA
TCCACAAATTATGCGTCGNCCAGTAATCATGGACGAAAAACGTCTTCATGTAGGTTATAACGAAGAAGAAATTCG
TGCAT

Jonction EcoR*I*

GTATTAAACATCAATGATTGTACAATTATACCATATTTATAGACTTAAAAAAAGACCTTTTCAAAGTTTTTTCAC
AAATTTTTTCAAACAGCAAAAGTAAAAAAAGTCACCTAAAATAGNGGCTTTTTTTATCATCTTAAATATTATAAT
GTTGCTTTTTCAACATTGAAGGATAAACATTTTTNGNCTTCTGTAACTCTCGTTTTNNGGCTTCAATATCATCTG
TAATTTCAACAGAAAAGTTTTCAAAGATTGTTCGTGATTCTTTGAAAATATATCCGCCGNTTTTCAAATCTTGTT
CATCGNCAAATACTGCTAAAATGATGTGACAATTTNTTGGAAAAAAGTATTCANAAAATAAGTNGGGATGTATTAN
NTATNCATTGAGGGTATTGGCCTTC

pstB

Jonction Hind*III*

TTATAACATAATGCCCCCTCAAAGGTCGCTTGATGACAGCGTTCTTATGTAAATGTTTTGTAAATAATACGGGAA
AATGCTCAATTCTTAGAGAATGAGCAGCTTCCTGTCTTTAGGGAAAGAATATGATGATATATTTAAAGCCCAATG
CTCAGTAAACCCTGTTTAAGTCCACCGAGCATNGATTTTATANAAAAGTAGCTGAGCATAAAATTTTAATTTATG
AAGAAGAAAATTTTTATTGCTTTGAATGATGCGATTAACCACTACTTCTTATACATAATTATTTTACTGACAAAC

Jonction EcoR*I*

TGTTATAATTAAGCTATGAAGAAGAAAATTTTTATTGCTTTGATGGCCAGTGTAAGTTTATTTACATTGGCAGCT
TGTGGTTCTGGAAATAAACAGGTCACAGCTGGTGGCTCAACTGCTTTGCAGCCAATGGTTGAACATGCTTCTATG
TCATATATGAAGCAAAATCCTGATGAAATTATCATGGTTCAAGGGGGCGGTTCTGGTGTTGGCTTGGCTCAAGTT
GCTGCTGGTTCTTTTCAAATTGGTAATTCTGATATTTNTGCCGAAGAAAAGTCAGGAATAGCGGNTGATAAAATT

FIGURE 6 (suite)

Gène ahrC (inactivé dans le mutant R2.9)

Séquence brin 1

CAGCAGTTTTTGTCAGCAAGTTCTTGATAATCCTTATCAAAATTGCCAATTCTATCCAATTGGGTCATT
GTCGTTCCGAATATTATTCAGGCTTGAATAGTCGTTGTCTTCATCTTCTAGTGCTAAATATGCCGTACT
TAGAGAATCCGCAATATTTTTTATATTATTTAATTTTTCACGGCGATTAACTAAAAGCTCATCTTCTT
CAAGATTAATTTCTGCTGGCTTCAATTTCTTCAGCCTGGAAATTGGAGAATTTCAATTCTTTGGGGC
AAATTCTTGTTCATTTTTTTGACGAATATTCAATTGTTGGCCGAAGATTTTTAAAGTTTTCAAATTTA
TTTTTGTATTATTTTTAATGACTTCAAAATTTTCATCTCCAAACTCATCCAATAAACGAAGATGACTT
TTGGGGATCATCAGTTCTTGACTGTCGT

Séquence brin 2 (complémentaire)

CTGGTCGCTCTGTCTGTCGAATTAATGGACAAATGGTCAATTTAACAAGACTTCGTCAAATTGGAGA
ATTTTTAGTAGACATTCATTCAACATGACAGTCAAGAACTGATGAATCCCAAAAGTCATCTTCGTTT
ATTGGATGAGTTTGGAGATGAAAATTTTGAAGTCATTAATAATTACAAAAATAAATTTGAAAACTT
TAAAAATCTTCGGCAACAATTGATTATTCGTCAAAAAAATGAACAAGGAATTTGCCCAAGA

Gène hpt (inactivé dans le mutant R1.19)

Séquence brin 1

CTTAGGAATTCTTCGCGGGTCAGTTCCTTTCTTAGCTGAACTAATCAAACATATTGATTGTCATCTTG
AAACTGATTTTATGACCGTATCAAGCTATCACGGAGGAACAAAATCTTCTGGTGAAGTAAAATTGA
TTTTAGACGTTGATACAGCGGTTAAAGGTCGTGAAATTTTGATTGTTGAAGATATTATCGACACAGG
TCGCACTTTAAAATATCTAAAAGAACTTTTGGAACATCGTGGAGCAAATGTAAAAATTGTTACGCT
TCTTGATAAACCAGAAGGAAGAATTGTTGAAATTAAACCAGATTATTCAGGATTTACCATTCCAAA
TGAATTTGTTGTTGGCTTTGGTTTAGACTACGAGGAAAACTACCGTAATCTTCCAgATGTCGGGGGG
GGATCCACTAGTTCTATAGCGGCCGCCACCGCGGTGGAGCTCCAGCTTTTGTTCCCTTTAGTGAGG
G

Séquence brin 2 (complémentaire)

CGACATATGGAAGATTACGGTAGTTTCTTCGTAGTCTAAACCAAAGCCAACAACAAATTCATTTG
GAATGCTAAATCCTGAATAATCTGGTTTAATTTCAACAATTCTTCCTTCTGGTTTATCAAGAAGCGT
AACAATTTTTACATTTGCTCCACGATGTTCCAAAAGTTCTTTTAGATATTTTAAAGTGCGACCTCTGT
CGATAATATCTTCAACAATCAAAATTTCACGACCTTTAACCGCTGTATCAACGTCTAAAATCAATTT
TACTTCACCAGAAGATTTTGTTCCTCCGTGATAGCTTGATACGGTCATAAAATCAGTTCAAGATGA
CAATCAATATGTTTGATTAGTTCAGCTAAGAAAGGAACTGACCCGCGAAGAATTCC

FIGURE 7

Gène relA (inactivé dans le mutant R2.2)

Séquence brin 1

CTCGAGGTCGACGGTATCGATAAGCTTGATATCGAATTCCTGCAGCCCTGAATTAGTCGAATTGCGC
GAAGAAGCAGGCGACTCAGCCGAAGATTTTGTTAAAGGAGTTCAAGAAGATATCTTATCAGACAAG
ATTTTATGTCTTTACTCCGAATGGTGAAGTCCAAGAACTCCCTAGAGGCTCTGGTCCAATTGACTTTC
CTTATGCGATTCACACTAAAGTTCGAGATCATGCGACGGGTGCTAAAGTAAATGGACGTATGAAAAC
CTTTATCTGTTCAATTAAAAACAGGGGACCGAGTTGAAATTATTACCAGCTCAAGCTCTTTTGGACC
AAGTCGTGACTGGATTAATTTAGTTAAAACCAATAAGGCTCGAAACAAAATTAAGCAATTCTTTAA
AAACCAAGACAAAGAATTGTCGGTTAATAAAGGCC

Séquence brin 2 (complémentaire)

GACGGCCTTTATTAACCGACAATTCTTTGTCTTGGTTTTTAAAGAATTGCTTAATTTTGTTTCGAGCC
TTATTGGTTTTAACTAAATTAATCCAGTCACGACTTGGTCCAAAAGAGCTTGAGCTGGTAATAATTT
CAACTCGGTCCCCTGTTTTTAATTGAACAGATAAAGGTTTCATACGTCCATTTACTTTAGCACCCGT
CGCATGATCTCCAACTTTAGTGTGAATCGCATAAGCAAAGTCAATTGGACCAGAGCCTCTAGGGAG
TTCTTGGACTTCACCATTCGGAGTAAAGACATAAATCTTGTCTGATAAGATATCTTCTTGAACTGCT
TTAACAAAATTTTCGGCTGAGTCGCCTGCTTCTTCGCGCAATTCGACTAATTCAGGGCTGCAGGAAT
TCGATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGGGCCCGGTACCCAATTCG

Gène guaA (inactivé dans les mutants R2.3 et R2.14)

Séquence brin 1

TCCAGGAACTCCAGAAGTCCAAGATGTTTTGATGAGCCATGGTGACCGTGTAACAGC
TATTCCTGAAGGTTTCCACGTTGTCGGAACTTCACCAAACAGTCCATTTGCTGCCGT
TGAAAACACTGAACGCAATTTGTACGGCATCCAATTTCACCCAGAAGTTCGTCATTC
AGTTCACGGAACAGAAATGCTCAGAAACTTTGCGCTTAACATCTGTGGAGCCAAAGG
GAACTGGTCAATGGAAAACTTCATTGATATGCAAATCAAAGATATTCGTGAAAAAGT
TGGCGACAAAAAAGTACTCCTTGGACTTTCAGGCGGTGTAGATTCATCAGTTGTGGG
TGTTCTTTTACAACGTGCCATTGGTGACCAATTGACATCAATCTTTGTTGACCACGG
TTTCCTTCGTAAAGGGCGANTGANCCAAGTCATGGAAACATTGGGCGGAAAATTTGG
TCTTAATATCATCAAAGTAGATGGCTCAAAAACGTTTCATGGACAAACTTGTTGGGC
CTTTCAGACCCAGAAAC

Séquence brin 2 (complémentaire)

CGNGTNTGAATTCGAGAGNAGCTTCTTATTTTTNTTTCTGTTAANTCACCANGGACAC
GATTGGCAAGTNCTGGCCCTGGGANAGGTTGACGCCAAACNTTTTCNTCAGGCATTA
AAAGTTGTGTTCCAAGCGNACGAACTTCATNTTTGAAAAGTGTGTTCAATGGTTCAT
TCAATTGGNATTGCNTGTNTTCTGGAAGTCCACCAACATTATGGTNTGACTTAATNG
TTTNAGCTGTATCTGTTCCTGATTAANTGACATANGTGTAAAGTGTTCCTNGANCAA
GGAAGTCAACTCCTNCTAAAATTTGNNTGCTTCATC

FIGURE 7 (suite)

R1.2

Jonction HindIII : D(p'T. *L. lactis* (5.9c-41)

ATCGTTGGAATCATCCTCCTTATTATCAAAAAACTATGTTGAAATTAATGGGAGATGTTCGTTAATT
AGTAAAGGAATGAAAAgACTATCTTGAGAGATAGGTTTTGTTGTATCTTTAAAATGACATTGTTGCC
CTGAGGTTACTCTTGTTAAATAATTTCACAACACAATCGTTTTTATTCGCGCTTACATTATGATAGA
ATAAAGTGTAACGTGATTTTAgATTATGTGCAGATGTTAGgGCCTGTGTTTAgACACTCAAAGACAT

R1.6

Jonction EcoRI : NS

TNNNNNNNTTAANNNNNNNNTCAATGGNNTNTATNGGNTGTNCCTTTTTAAAANNNGGCCCCTTTG
AANCCATCANAAAACNGGGCCCANAACCANTTTCAGTAAGAATGGAATCTATAGATTAACCCATGC
GCCAGTCGAGCAAATCTATTTGACTACTAATGCTTTAAAAATTGATAAAAATTAAAAAACGATTAT
TAATCGTTTTTTTATCTTATAATGAATTAAATAATTCTTGAATTGTTTCAAACTCATAGTCAGCAATG
GTTCCTTTTTCTGCCCCAATATAGGCTGTTTGAAGTCCTAAATCTTTAGCTGGCTTTATATCATGTTC
TAGTAAATCTCCAACCATTAAGGTTTCACTAGCTTTAAAATTTNCCTTGTTCAGTTAAATTTGTAAA
AGCACGCGCGTCTGGTTTTAAATAGCCTGTTTCTCCTGAAAATATAAACTGGAAATAATTCTTCAAC
ATTTGAACGCCGTAATTTCTCTCTTTGTTTCAACACGTCCACTATTACTTAATAGTGCAAGTTTGATT
TTTTTTGAAAGATTTTTCAAATTTTGAATGAAGTTGCTCATCAGGTTCTATCAACTCAAATAATCTGT
TCAAAAAATTTTTGAAAAAAGCCCTAANATAAATTCATCAATCTCCAAGTTCAAAATATTCGAAAA
TTCAAGCGTTAATCCTTTCTTCTCTTAAACTCTTCAATGGTCATCTGTCTTTGAATGAAACTTGC

Jonction HindIII : NS

GGTTTTTNNNNNNNNNTGACTTTATTTAGCTTAAGAGCCGAATGNTATAAACCTTGTATTTGATTTT
NAAACTTTGCAACAGAACCCTGAAAGTGATACATTTCTTTTCAAAAACTCCATTTGATTTCTCAATA
AAAAATGTAAAATTTCCTACAAGATTTCCAGTAATGACAAGCGCTAAGTCCTTTGAGTCATTTAAA
ATCTTTAACCAGCTATTGGAATTTAAAATATATTGTATCCCGGCTTCATCATTAAAAGTTAGGATAT
GGGAAAATTGAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGGGCCCGGTACCCAATTCGCCCTATA
GTGAGTCGTATTACGCGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGC
GTTACCCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGGGGGATANACTGTAACATTCTCA
CGCATAAAATCCCCTTTCATTTTCTAATGTAAATCTATTACCTTATTATTAATTCAATTCGCTCATAA
TTAATCCTTTTTCTTATTACGCAAAATGGCCCGATTTAAGCACACCCTTTATTCCGTTAATGCGCCAT
GACAGCCATGATAATTACTAATACTAGGAAAAANTTAATAAATACGTAACCAACATGATTAACAAT
TATTANANGTCATCGTTCAAAATGGTATGCGTTTTTGACACATC

FIGURE 8

R1.9

Jonction HindIII : Orotate phosphoribosyltransferase. *B. subtilis* (2.2e-9)

TAATATgTATCAGCAAACAgCAACTTCGCTGACAAAGATTTTTTAACTTCTATCAGTAAATTATGgTT
GCCAAGTTTCTTGATTTTCTTTGAATTTGTTGAGTAACTCTAGTTCTTCTTTGGTGACATATCCTGTT
CTgTAGCAATTTCAACAACTCAGAATAATGTGTCAGTGTCGACAATGTTGACATCGGCGTCAG
CAAATTTACTGCgCGCTTTCTCTAATgCATAAGTGAAAATGGCACCACACCAgGGACATCAGCGgCA
CACGTTCTGGGGGCGgGAgCGCTTCTAAGACAGACCCTCCAGTGGAAATCA

R1.10

Jonction EcoRI : NS

CCCTTTCACCTTTTNCGGGCCCNTGGGCCNCTTTTAAAAGACTTATCAGAAAAGNTGCAACAGAAC
CAAATTTTTTATTTCTTTTTCAGCAGATATCAGAGAAATTTGATATTTCAAACAGATAAATAATAAA
GCACCTACCAAGAAATATAAAGCTAATGAGGTTAATGTTCCAATTCCCAACAGGTGTGCAATACTT
GTACCCAAATCTGGAATAATCGAACCAATCAGCAATATAAGAGCTAAAATGAACCATTTTAACATA
TGTCTTATTTTCTGCTCTATCTTTACGAACCAAACGAATCGTATAGATAAAGAAGAAAGCTGCCAAA
ATAATTGCTAAGATACGAAGTTGAATAGGCATTACTTACTCTCCTTTCCTAATAACGAGCTCGCAAT
AATCGCCAAAGATACGCTTATCATATAACTTATCCCTTTTACCATGTTAATACTTGAAACACCAGTT
GTCCGCTCAAACATTTTTACACCCACCTCTTTGACACGAATGTTCTTAGAGAATAAATGCATGTAAC
TTTCAGGTTCTGGATATTGTCTTGGGTATCTCTTAACAAATTGCTCAATCACTTTACGGTTACCTGCG
CGATAACCACTAGTAACATCTTTGATTTTAATTTTTGAGGACATGTAAATGAGTTGAAGATAAAATT
CTTATTCCCATTTGACG

Jonction HindIII : NS

GTTNCACNTTCATGGGCCTCATGGCCCACTTCNATNTACTTNNNTTTANTACCTGNGCAACAGCAAC
CAAAAATTTAGTACAAGAGTTGTCCTTATTGAAAAAGAAGATTTCCGATAAAGATAAGGAAAATTA
AGAAATTATAAATACTAATAATAGAATAAGGTAGTAATGAATAAAGTCATCAAACATACTTTCGTC
ATATGTGCGTATATGCAATCTCCGTATTTAGAGGAAAGTATAAAATCAATTTTAGACCAAGGATCT
ATTAAAGAAGGAATATCAGAAGTGGTTTTATATACTTCTACTCCTAATGATTATATAGAAAATATTT
GTCATAAATATAATATCAAAATATTTATTGGTGAAGGTGGAGGCATTGGAGCAGATTGGAATGGAG
CTTTAGCGGCAGTTCAAACTAAATATGCTACAATTGTTCATCNAGACGATCTATATGATAAGAAAT
ATGGAGAAATGATAATTAATGATTTTGAGTCTCAAAAAGACCTCTAATATTGTTTTTACTGACTATTA
TGAAATTGATGAATACTCTAAACCTAGAAAAAGAAATATTAATTTAAAAATAAAAAGTTTAGGATT
AAAACTAATGTCTTTTTGGGAAAATAAAAAATATCNAAGAAGANTTTACTCTTTTGGTAATTTTATT
TGTTGCCCAGCTGTTT

R1.11

Jonction EcoRI : NS

TTCTGATGAAAGTTCTAGTCCAGAATCACTGACTGACAAAAAAACTAGTTCAAGTTCGGAAATCAA
AACGGACCAATCTGTCCCAACTTTTGgTTTAGAAGAGTCAGAAGGAAGTCCAACTACGAACACAAG
TGTTATTAATAAAATTACCGAAAGTAGAAAAGATACAGAAGAAACAATAGCATCAGCTCAAAGTA
AAGTTGATTCTAATAAATCTACTACTGTAAATTCAGCAAAAGAAGTGGATAAAAATCAACTAGTTG
ATGAAAACCCACTAAAAGAGTCGTCACCTGATAAGTCAGCTGTTTCGGGCAAGCAGCTTCCAGTTG
CTCCAGCAAATAATCAGGAGAGCAGTGATAAAGCAGGCAGTCCACAAAAACATTTTTACACAATAT
GGCCTAAT

FIGURE 8 (suite)

R1.13

Jonction EcoRI : NRAMP1. Mouse (1.6e-18)

CTTTCACGNCTCTTCGGGCCCAGTNNCCACTTTAAAAAGACTTATCNGANCAANTTNCAACAGAAC
NAGTTCGATTATTAGGAATAAATCCCTCAATAATTCCTTTCCAATCTGGATTGGATAAAGCAACTTG
ATAAGCAAATATTGCTAGAATAACTAGAATCAAACAAATAACCAAGGCTTCAATCTTACGGAAACC
AATTCTTGTCAGTAATAAAAGCAAAAAGACATCAAGGACTGTGATAAAAACAGCTAATATTAACGG
AATATTAAACAGAAGATATAAGGCAATAGCCGCACCGATGACTTCAGCAATATCAGTAGCCATGAT
TGCCAGTTCAGTTAAAATCCATNNTTNNNATACCCAGAGTCTTGCTGGTGCGCGCCCTGATAGCCTG
AGCTAAATCCATCTGGCTGACAATTCCTAATTTTGCTGACATATACTGAAGGAGCATTGCAATCAGA
CTGGACATCAGAATAACCGAAATCAGTAAGTATTGAAAGTTCTGCCCTCCAGTAATTGACGTTGAC
CAATTCCCAGGGTCCATGTNACCAACCGCGACCAGTGCACCTGGTCCTGAGTAAGTCAACAACATT
TTGAAAAAACCAACATTTTTTAGGCACTTCTACTGTCCCATTTATTTCCTCTAANGGATTTTCCATTCC
GTATGATAAATCAATCGATGTN

Jonction HindIII : NRAMP1. Mouse (2e-20)

TAATTGGGATNTTAGGNCCGATTNAGAAGATATAAAGCTTGNGTTTGATTTTTAAACTTTGCAACAG
AACCATCGAACTTTTTGCTTCCTCACCAACAGTAGCGGGGGATGTCGCCTTTAACAGGCGCATTAGG
AATTATTGGCGCTACGGTTATGCCTCATAATTTATATCTTCATTCTTCTATTTCACAAAGTAGAAAA
ATTAATCATCAAGATAAAAGTGATGTTGCCAGAGCAGTAAGATTCTCGACATGGGACTCTAATATT
CAGCTGACAGTCGCTTTTGTTGTAAATTCTCTTTTACTAATTATGGGTGTAGCGGTCTTTAAAACAG
GAGTAATTGATGATCCGTCATTCTTTGGTTTATACGATGCATTATCTAACCCTTCGGTTTTAAGTTAT
GGTCTTCCTTGCANACGTTGCAAAAACGGGTGCACTTTCAACCTTATTTGCCGTGGCTCTCCTTGCT
CTGGACAAAACTCAACCATTACTGGAACTTTAACAGGACAGGTTATTATGGAAGGATTTATTCCAT
ATTGAGAATGCCAATGTTGGGCAANAAGGTTGGTAACTCGCCTGCTATCGGTAGTTCCTGTCTTGAT
TTGTGTCTCTATGACTAGAGGACAAACTTTGAAAAGCTCAACATGAAGCAATAAATAATTTGATGA
TAATTCTCAAGTTTTTTCTAGCTTTTGCCCTTCCTTTTTCGATTATTCCATTGTTTAATGCTCNCTAATN
CAAGGAANAAATNGGGTGC

R1.15

Jonction EcoRI : Hypothetical protein. *B. stearothermophilus* (1.6e-46)

CCCCCAACTAGACTTCTTGCTGAGATTGACTCCGAGGGGTCTAGTTTTTTTTGTTTTTTTACTTTAATTA
ATTTTACTGACGGGTgCTGACATAACCGTCAGTAAAATTTgTGTTATTAAGAAAGTGTATCACATGAg
TCATATTGCTCTgTGTGAACCTCGgATCCATTTCAATACAGGAAATATTGCTCGTACCTGTGCAGCTA
CAAATACTGTTTTACATgTGATTGAACCTTggGggTTTGAAATTTCAGATAAACACCTCAAACGTGCT
GGTCTGGACTATTGGGATAAAGTAAATATTGTCTATCATAAAAATTTACAAGACTTTATGAACTCA
ATTGCTGACGGAGGCCAACTTTATTTGGTCAGTAAATTTGCAGAACACGTTTATTCTGATGTgGACT
ATTCTGATGATAAAAAAGACCACTACTTCTgGTTTGGGCCGTGAAGATACTGGACTACCTGAAGAAT
TTTGCACGAACACCGTGACGAATGTATCCGTATCCCAATGAATGACGAACACGTCCgCTCATTAAAT
CTTTCTTAACTGCGCATGCATGATCGTCTACGAAGCACTCAACCAACAAGACTCCTGCAGGCCCGG
GGGATCCACTAGTTCTTGAGCCGGC

FIGURE 8 (suite)

R1.18

Jonction EcoRI :NS

ATCAAAAGTTTTAgATGCCTAATAATACAAAAACACCTTACGGTGTTTTTTTTATTGAAATAAATAAG
AGATGACTTACTCTTATTTACTTAAATTGGTTA

Jonction HindIII : Hypothetical protein. *B. subtilis* (7e-30)

TTGGNGGGGGNNTTGNNATNCCTTANTNNNTNTNNGGCCCCTAGTNNCAAGTTTGAATATAAACCN
TGTATTGGGACNTTTAAACTTTGCAACAGAACCGCTCAGGGTCATAAACCACAAAGGCTTCTTTCCC
TGACATATTAGCAAAAGCCTTCATTGCCACTGCTGCCCCTAAAGCGTCCATATCTGTAAATCGATGA
CCCACGATAAAAACGTCTTCTGACTCAGCAATGATTGTCCGAAGGGCAGTTGAGATAGCCCGTGCT
CTTGTTCTACTTTTTTGAGTTCTACTTTCTGAATTTCCCCCAAAATAAACTGGACGAGCCTGCGGTGT
ATTTTCACGCAAAACAACCTGGTCACCACCGCGTACTTGAGCCAACTCAAGGTTATTGAGGGCAAC
TTTTCCGATGGTAGGAAAATCATTCCAACCATAAGCCACACCGATAGAAAGTGTCNACGGAATTTC
TTTTTGAGCTGAAAGTTCTCTAAATTCTTTGANAACAGCGAATTTATCATTAATCATTTTTTCNAGA
ATACNATAATCACAGAAAAAATAATGGG

R2.1

Jonction EcoRI : NS

NNATGGTCCTTTAGGATTCNTGGGGCCNAATTTTTGTAAGACTTAGGGCCNAATTTTNGGCCNCAGAA
ACCTTCTGANGCAAAGTTCTAGTCCAGAATCACTGACTGACAAAAAAACTAGTTCAAGTTCGGAAA
TCAAAACGGACCAATCTGTCCCAACTTTTGATTTAGAAGAGTCAGAAGGAAGTCCAACTACGAACC
AAGTGTTATTAATAAAATTACCGAAAGTAGAAAAGATACAGAAGAAACAATAGCATCAGCTCAAA
GTAAAGTTGATTCTAATAAATCTACTACTGTAAATTCAGCAAAAGAAGTGGATAAAAATCAACTAG
TTGATGAAAACCCACTAAAAGAGTCGTCACCTGATAAGTCAGCTGTTTCGGGCAAGCAGCTTCCAG
TTGCTCCAGCAAATAATCAGGAGAGCAGTGATAAAGCAGCCAGTCCACAAAACATTTTACACATAT
TGCCTAATTTACCTAAAAAAAAATACGATTAATAAAGTTGAGCCAGAGGATTCAAATTCATACTTAA
CAGAACAAAATCCGGCCCAGAATTTGAAAGAAATTCTGCCTATACTAAAAAACAGTCCGATAGATT
CAGCGAACATTGATCAAGGGAATAATTAAAAAAATATTAAAGTCCAATAAAGANGTTCAAAAGAG
TCAGTCACNACTTTCGAAAGATTTACCGCTAGCTTTAGATTCAGATAAAATCAGTAATGTTA

Jonction HindIII : Dhfr. *L. lactis* (10e-43)

AGAACCACAGGAAAGATTGAAACAAATTAATATAATTGATATCATACCACTTCTTTTTGCATTTGTA
AAGGAAAAACTTAAATTTTTTTATAAAAAACAAAATAATTGATTAAAAGGTGTACGGAGAACTGAA
CTTGTCAAAGCGAAAATAGCAAAATTTGCTATAATAGAAAAGTAAAAATCAATGANAGGGGTT
GCTATGATAATTGGAATATGGGCAGAANATGAGCAAGGACTTATCGGANAAGCTGACAAAATGCC
TTGGTCTTTACCTGCTGAACAAAAACATTTTAAAGNAAACAACCATGNAATCAAGTGATTTTGATG
GACGAAAAACCTTTGCAAGGGAATGAAACAAACGTNTTTGCCGGGGCANAAATAAGTATTATTTT
AACTCCGTGACGAAACTTATCAATCTGAAAAATGAAAAAAGTTCTCATCATGCACAGCCCTAAGGA
AAGTTCTGGATTGGTATTATAA

FIGURE 8 (suite)

R2.12

Jonction EcoRI : NS

GgTTTTAGGTTTATTGATTTTGATGATTGCTTGTCAATTCATCGATAATGAGCCTTTGGTTATgGAAA
CTAAAGTGAATCAATTTAATAAAGTTGAAACTTCTATCTTCGTTGTTTTGATGTTGTTAATGGCAGC
TTCTGTTTgTGGTTATGTGAATTTTTATCTTGCTGGAGCAATCGTTGCTCTAGTTGTGCTAATTTATCG
gCCGCGACTTTTTTAAAGGAATTGAgTATCATCTTTTATgTACTgCCATCTCTCCTTTggGATTGTGGGT
AATATCGCTAATATTCATGTGTTGACTGATTTTATCAGTAATACCTTAGTTGGACCACAGGCTTC

Jonction HindIII : NS

TGGGCCTTTATTTTANCTTAAGAGGCCNAATGANGATNCNCCTTGTATTTGATTTTNNAAACTTTGC
AACAGAACCCTAAAATCCATAAAGCCCCAGTTCCTTTGAAAAAGTCTAAATTTGTCAGAGGAACAC
CACCATGATGTGCCGCTACCTTATAAAACGAATAAAGATAGAGATTATGCGGATTTCCTTGCGGAA
GCAAGGCAGAACCGATATGACAAGCTGGAACAATTAAAGCTGCCCCAATATAAACTGATTTTCGAT
TTTTAATTTCTTTAGTAATCGCTAAATAGAGCGGTAAAACCGTCAAAATTGTTAAATCGTTTGTAAA
AAAAACGGCTAAAAAGAAAGGTANGTAGCGTCGTAAATCGAACAAGCTGACGCGTTGTTGTACTTC
TTTTGACTAAGGTCTGTCCCAAATACTGTAACAATCGTGTTCCTTAAAACCACCAATTACAAGCAT
CAATCCTGAAACCGTAACAATGACATGATAATTGAAAAAACGAGTTGTCACTCCACCCAAACTAAT
GGCAATAATTGCAATAATAAACGAAATCAGAAAAAACTTTGTCCACTAGAAACCAGTTTTTAATGG
GCGTCCANAATTTTTTTTTGGTATTCGCGCTGAGTANCTGAATGTTCCACTACTTCTCCTAAACTAGCC
ATNTAAAATTTTGGCACCCCNATAAATTATAACATCTAAAGAC

R2.13

Jonction HindIII : NS

CCCACNTTTTTNNNNNNNNNNGGGCCNTTTTTTNAAANNNNGGGCCCATTTNGAACCNCCTTGTA
TTTGANTTNCCNAACTTTGCAACAGNAACCCTAAAATCCATAAAGCCCCAGTTCCTTTGAAAAAGT
CTAAATTTGTCAGAGGAACACCACCATGATGTGCCGCTACCTTATAAAACGAATAAAGATAGAGAT
TATGCGGATTTCCTTGCGGAAGCAAGGCAGAACCGATATGACAAGCTGGAAACAATTAAAGCTGCC
CCAATATAAACTGATTTTCGATTTTTAATTTCTTTAGTAATCGCTAAATAGAGCGGTAAAACCGTCA
AAATTGTTAAATCGTTTGTAAAAAAAACGGCTAAAAAGAAAGGTAAGTTAGCGTCGTAANTCGAA
ACAAGCTGACGCGTTGTTNGTACTNCTTTGGACTAAGGTCTGTCCCAAATACTGTAACAATCCTGTT
TCCTTTAAAACCCCCCAATTACAACCATCAATCCTGAAAACCGTACCAATGAACTTGAATANTTGG
AAAAAAANCCNANTTGGTCNCTCCCCCCCCCAAACTAANTGGCAATAATTTGCANTTATTTAANCG
AATTCCNAAAAACTTTTGTCCCCCTAAAAACCCATTTTTTTAATGGGCCGTCCCAAATTTTTTNGGG
TTTTNCCCCCCCTGAANTTACCTGGAAATNTNCCCCNTTACNTNCCCCTAACCTANCCNTTTTTAAA
ATTTTTGNCCCCCCCCCAATTAATTTTTTTNNCCCTCTTAAAANAC

FIGURE 8 (suite)

R2.19

Jonction EcoRI : DcoB. *B. subtilis* (2.1c-19)

NTNNNNNNTNNNNNNNNNNACNNNTCTTACNCATATTTTGGGCCCCTTTGTGCCCCTTTAAAATAT
CAGAGAACNTTGCGGNACCAACCGATTTGTTGATGATTACTGCTGACCACGGGAATGACCCTTCAT
ACGTAGGAACTGACCATACTCGTGAATATATTCCACTCGTAATTTTCTCTAAATCATTTAAAGAACC
TAAAGTTTTTACCTGTGGGACATTTTGCTGACATTTCAGCAACTATTGCTGAAAACTTCTCTGTTAAA
AAAGCTCAAACGGGTGAATCATTCTTGGATGCATTAGTTTAAAATAAAGTGCTTCTGTCAGTCAATT
TTACTGACAGAATTAGAAAGAAAAAATCTATTTATGGGCTAAAAAAGCATTTTGCCAATCTTGCGG
GAATACCAATTGCTGNATGAATTCTTACAAAGGGAACAGNAAGCCAAACGGCGAAATTTTCAGCCA
GACTACTGTTATCTATTGCTATATGCAAGGTCGTTTTGTTAAACCAGATCTTACTTTTGATGAAATG
GTTGAAATTGGACAAAAAGGTTTGGAATAATAATCCAATGCCTAAAATGCAAAAATGGCTTTTCAA
AAAACTTTATCCAATGCAACTCAAAGGGTTTGAAAACGCTGGAAAAATTAAGTTCTTAACTTACTG
ACGAAAAATTCTGTCAGTAAATTTGATAATTATATTAAAAGAAAAGGAAATTAAAAATGCCAACAC
CACNTATCNAANCTCAAAAANGCGAAATCGCCNATAAAATTCTCCTTACCANGAAATCCACTTCCC
CCAAAATTTATC

Jonction HindIII : DcoB. *B. subtilis* (5.2c-44)

TTTTCCCCCCCCCGGGGCCCCTTCTNGGGANATAGGNCCGATTNAGAAGATATAAACCTTGTNTTTG
ATTTTTAAACTTTGCAACAGAACCAACAAATCATCTTCTTTCATTGCATCAATGATTTCTGGCAAGC
GACCGTCAAAGTCTTCAATTGCTTTTCCGTAACCTTCAACATCGCGACGATGTCCATATTTCGCATC
GAAATCAACTAAGTTTGTAAAAGAAAATCCTTCAGTAAATTCAGTTTTCGTCATTGCTTTAAGTANA
CGATCAACCCCATCCATGTCATTATGGTTATGACCCATATCATATTTAACACCTACTGTGTTGAAAA
TATCTGAAATTTTTCCGACTGAGTAAGTATCAATCCCTGCCTTGGTAAAGTTTTTCTAATACAGTTTC
AGCAAATGGTGGAGGAGCGCATAGTCACGACGTCCATCAGTCCGTTCAAAGTTTCCGGCTTCTCCA
ACATAAGGGGGGGAGCGAATGATTCGGCCAATCATGATACCAGAACCTTCTAGGGTTAATTGAACG
AACATATTCACAAATTTTATAAAGTTCTTCACGAGAAAATAACATCTTCATGTGCAGCAATTTGTTA
AAACAGGGTCNGCTGAAAGTTNTAAATAATCAACTCTCCANTTTTCCAATTGACGAGGGCCGAAAT
CTTCAATGACCGCTGTCCCAGAAATAAGGGTTTATTCGCCTTCNCGAAATGATTTTACGACCAAGAA
AATTCCCTCCATTTTTTCAAGTTAAATCTCTGGATNTCCTNCCNGGAAAAGTTGGN

FIGURE 8 (suite)

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

2753201
N° d'enregistrement national

FA 532263
FR 9610926

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendications concernées de la demande examinée
X	MOL GEN GENET 235 (2-3). 1992. 359-364. CODEN: MGGEAE ISSN: 0026-8925, XP002032525 NILSSON D ET AL: "ISOLATION OF PURINE AUXOTROPHIC MUTANTS OF LACTOCOCCUS -LACTIS AND CHARACTERIZATION OF THE GENE HPT ENCODING HYPOXANTHINE GUANINE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE."	1-10,13, 15
Y	* le document en entier *	11,12
X	JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 173, no. 16, Août 1991, pages 5129-5135, XP000674345 J. FOSTER AND H. HALL: "Inducible pH homeostasis and acid tolerance response of Salmonella typhimurium" * page 5132, colonne de droite - page 5133, colonne de droite, alinéa 2 *	1
A	ADVANCES IN MICROBIAL PHYSIOLOGY, vol. 37, 1995, pages 229-272, XP000674366 H. HALL ET AL: "Molecular responses of microbes to environmental pH stress" * page 262, alinéa 3 *	
Y	JOURNAL OF BACTERIOLOGY 178 (3). 1996. 931-935. ISSN: 0021-9193, XP000673892 MAGUIN E ET AL: "Efficient insertional mutagenesis in lactococci and other gram-positive bacteria." * le document en entier *	11,12

-/--

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)

C12N
C07K
C12R

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
6 Juin 1997	Van der Schaal, C

CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 03.82 (P04C13)

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

2753201
N° d'enregistrement national

FA 532263
FR 9610926

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	ARCHIVES OF MICROBIOLOGY 163 (5). 1995. 329-336. ISSN: 0302-8933, XP000672629 HARTKE A ET AL: "UV-inducible proteins and UV-induced cross-protection against acid, ethanol, H-20-2 or heat treatment in Lactococcus lactis subsp. lactis." * le document en entier * -----	

DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)

1

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
6 Juin 1997	Van der Schaal, C

CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 03.82 (P04C13)