

### B3. Mutations de l'ADN et variabilité génétique – partie 1

**On recherche l'effet d'un agent de l'environnement (les UV) sur l'ADN.** Pour cela, nous allons travailler sur la levure (champignon unicellulaire). Les levures se multiplient par mitose sur un milieu constitué de gélose : elles forment alors des colonies (= ensemble de cellules de mêmes caractéristiques) visibles à l'œil nu.

**Pour répondre à la question, on vous demande d'effectuer le protocole proposé et de bâtir un compte-rendu avec les consignes suivantes.**

**Communication des résultats à J0 :** question à résoudre et stratégie adoptée pour y répondre.

**Communication des résultats à J+7 :**

- **Reprendre** vos boîtes et **observer** les résultats (**ne jamais ouvrir les boîtes de Pétri**).
- **Rédiger** la suite du compte-rendu de l'expérience. Pour la présentation des résultats, il faut impérativement :
  1. **Dénombrer** le nombre total de colonies dans la boîte de Pétri (blanches + rouges) ;
  2. **Calculer** le pourcentage de colonies mutantes blanches dans chaque boîte par rapport au total des colonies (**présenter** au moins un calcul du pourcentage, et **indiquer** les différents résultats dans un tableau) ;
  3. **Réaliser** deux graphiques : pourcentage de colonies mutantes blanches en fonction du temps d'exposition aux UV et nombre total de colonies en fonction du temps d'exposition aux UV.
  4. **Exploiter** les résultats (analyse) et **réaliser** un bilan répondant à la question de départ.

#### Ressources complémentaires

**Matériel à votre disposition :** plaque chauffante, solution B diluée de levures **ade2<sup>-</sup>**, 1 compte-goutte stérile, râtaux stériles, 6 boîtes de Pétri stériles, masque, lampe à ultraviolets, **blouse, gants et lunettes de protection**.

**Travail à faire :** les levures **ade2<sup>-</sup>** forment des colonies de couleur rouge. Ce pigment rouge est synthétisé par le métabolisme de la levure. En effet, ces levures possèdent un allèle **ade2<sup>-</sup>** qui empêche la synthèse d'adénine (chaîne de biosynthèse interrompue), et qui provoque **l'accumulation d'un composé qui donne une couleur rouge aux levures** (page 36 du livre). On va étaler les levures **ade2<sup>-</sup>** sur un milieu nutritif gélosé, puis les irradier aux UV pendant une période variable. Ces levures seront ensuite placées à l'étuve à 28°C pendant quelques jours, afin qu'elles se multiplient et forment des colonies.

**Protocole et consignes de sécurité :** vous allez **manipuler** en conditions stériles. **Blouse obligatoire et cheveux attachés.**

- **Enlever** tout matériel inutile de votre paillasse. La **nettoyer** avec un chiffon imbibé d'eau de javel.
- **Vous laver soigneusement les mains** au savon puis **les passer à l'alcool** (quelques gouttes).
- **Allumer** la plaque chauffante.
- **Mettre** un masque et ne pas parler devant les boîtes ouvertes.
- **Éviter** les mouvements brusques.
- À partir de là, et durant toutes les manipulations, l'intégralité du matériel doit être ouvert **autour de la plaque chauffante et rester dans un rayon de 30 cm maximum** autour pour ne pas être contaminé par l'air non stérile environnant.

#### A. Mise en culture des levures sur la gélose.

1. **Au dos** de 6 boîtes de Pétri, **inscrire** au marqueur **le nom du binôme** et **le nom de la boîte : 0 ; 20 ; 40 ; 60 ; 80 ; 80 bis**.
2. À l'aide du compte-goutte stérile, **déposer** deux gouttes de solution B sur la gélose de l'une des boîtes de Pétri.
3. **Étaler** comme sur le modèle ci-dessous avec le râteau stérile puis refermer la boîte.



4. **Recommencer** les points 2 et 3 sur les autres boîtes en prévoyant **un nouveau râteau stérile pour chaque boîte**.

#### B. Irradiation aux ultraviolets.

**Vous allez utiliser une boîte à irradiation contenant une lampe UV. Vous devez porter des gants et les lunettes fournies. Il est important de débrancher la lampe avant chaque ouverture de la boîte. NE JAMAIS EXPOSER LA PEAU ET LES YEUX AUX UV.**

1. La boîte 0 ne sera pas irradiée (boîte témoin), la boîte 20 sera irradiée 20 s ; la boîte 40= 40s ; la boîte 60= 60 s ; la boîte 80= 80 s, la boîte 80 bis 80 s aussi, mais avec crème solaire ou lunettes de soleil.
2. Pour **irradier** vos boîtes (**mettre gants et lunettes de protection avant**) :
  - **Glisser** la boîte sous la lampe à UV débranchée puis **ôter** le couvercle et le poser à l'envers, juste à côté ;
  - **Rebrancher** la lampe à UV et chronométrer puis **débrancher** la lampe à UV pour pouvoir **retirer** les boîtes.

A la fin : **ranger** votre paillasse, **placer** les instruments dans l'eau de javel, se **laver** les mains, ne plus ouvrir les boîtes de Pétri.

		Auto-évaluation (TSFI)
C5	Mettre en œuvre un protocole dans le respect des consignes de sécurité	