

TP 04 VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE ET MUTATION DE L'ADN

Mise en situation et recherche à mener

Pendant la réplication de l'ADN surviennent des erreurs spontanées et rares. L'ADN peut aussi être endommagé en dehors de la réplication.

On cherche à déterminer si l'on peut établir un lien entre fréquence des mutations et l'action d'un rayonnement électromagnétique comme les ondes ultraviolettes.

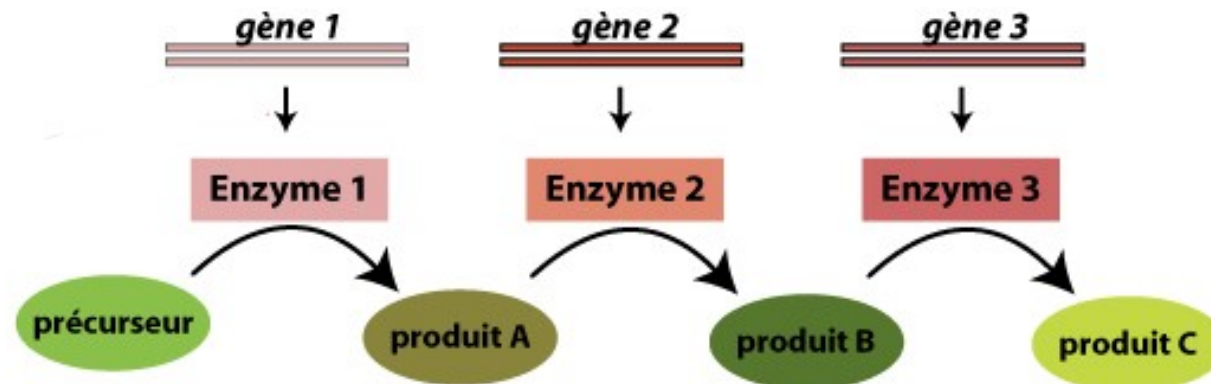
Ressources

Document n°1 : *Saccharomyces cerevisiae*.

Les levures *Saccharomyces cerevisiae* portant la mutation *ade2⁻* sont incapables de synthétiser elles-mêmes de l'adénine. Il faut leur fournir un milieu contenant de l'adénine. Malgré tout, la levure va utiliser la chaîne de biosynthèse (voir doc. 2) de l'adénine non fonctionnelle. Cela provoque l'accumulation d'un intermédiaire, l'A.I.R. Ce composé sera oxydé en un pigment qui donnera une coloration rouge aux levures. Les levures n'ayant pas de moyen de déplacement, elles restent sur place et forment une colonie lorsqu'elles se multiplient. Une colonie issue de la multiplication d'une levure *Ade2⁻* sera rouge.

Les levures *Ade2⁻* peuvent subir une mutation de manière à ne plus fabriquer l'AIR. Si ce composé n'est plus fabriqué, il ne peut plus être oxydé. Les colonies de levures issues d'un mutant de ce type seront blanches. Si trop de mutations s'accumulent, les levures ne peuvent en général plus se développer faute d'un métabolisme global non fonctionnel.

Document n°2 : Exemple d'une chaîne de biosynthèse



Étape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre un problème scientifique (durée maximale : 10 minutes)

Proposer une démarche d'investigation permettant de déterminer si la fréquence des mutations est augmentée par l'action des UVc.

Appeler l'examineur pour vérifier la proposition et obtenir la suite du sujet.

Étape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Mettre en œuvre le protocole afin d'établir l'influence de l'irradiation d'une culture de levures par des UVc.

Traiter les séquences nucléotidiques afin de relier « temps d'exposition aux UVc » et « taux de mutation ».

Appeler l'examineur pour vérifier les résultats et éventuellement obtenir une aide.

Étape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer

Sous la forme de votre choix, **traiter** les **données obtenues** pour les **communiquer**.

Appeler l'examineur pour vérification de votre production.

Étape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Exploiter les résultats pour permettant de déterminer si la fréquence des mutations est augmentée par l'action des UVc.

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel :

- 2 boîtes de pétri avec milieu complet
- Solution de levure Ade2
- 1 étaleur stérile
- 1 compte-gouttes stérile
- 1 bec électrique
- Bac contenant un liquide permettant d'aseptiser la paillasse
- Une boîte à UVc
- comptes gouttes stériles

Protocole

ATTENTION ! Pour votre sécurité et la réussite de l'expérience, respecter bien les conditions de travail suivantes :

- Porter une blouse en coton
- Passer les mains à l'alcool et aseptiser la paillasse
- Travailler uniquement dans une zone de stérilité lors de la manipulation des levures, des milieux et instruments stériles
- Ne pas toucher le milieu des boîtes de pétri avec les mains
- Toujours agiter une suspension de levures avant d'en prélever, car les levures sédimentent rapidement
- Éviter les mouvements brusques et de parler devant les boîtes ouvertes
- Placer les pipettes souillées dans un pot de javel

Étalement des suspensions de levures sur la gélose des boîtes de Pétri :

- **Verser** avec un compte-gouttes stérile, 0,1 ml (2 gouttes) de la suspension de levures ade2 sur une boîte de milieu.
- **Étaler immédiatement** avec un étaleur stérile d'un mouvement circulaire et répété, afin de répartir le mieux possible le liquide sur le milieu (**attention** à ne pas endommager la surface de la gélose).
- **Fermer** la boîte puis tracer 4 secteurs sur le fond de la boîte référencés : I, II, III et IV
- Penser à également **indiquer** les initiales du binôme pour retrouver la boîte facilement

Irradiation des boîtes aux UV C

- **Éteindre** la lampe
- **Introduire** les boîtes de pétri (maximum 3 à la fois...) gélose vers le haut
- **Enlever** le couvercle des boîtes (il est conseillé de laisser les couvercles à l'intérieur pour qu'ils restent dans des conditions de stérilité).
- **Remplacer** par un couvercle découpé présent dans l'enceinte en mettant l'ouverture sur le secteur I

Expositions aux UV

- **Vérifier** le positionnement de la bavette transparente et la fermeture de la porte battante avant chaque période d'irradiation
- **Démarrer** le chronomètre une fois la lampe allumée
- **Exposer** pendant **15 secondes** le secteur I
- **Tourner** le couvercle d'un quart de tour
- **Exposer** pendant **45 secondes** le secteur II
- **Tourner** le couvercle d'un quart de tour
- **Exposer** pendant **90 secondes** le secteur III
- **Tourner** le couvercle d'un quart de tour

Protocole :

Traiter à l'aide du logiciel ANAGENE le fichier « 1seq-mol.edi » contenant la séquence nucléotidique de levures Ade2- exposées +/- longuement à des UVc.

→ La conception graphique AO peut aider à argumenter la réponse au problème.