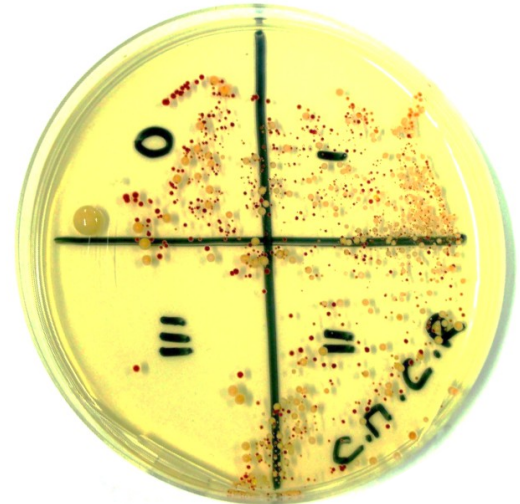


TP 04 VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE ET MUTATION DE L'ADN



Rappel 2nde

Différentes séquences peuvent exister pour un gène donné (= différence entre gène/allèles) .

Les différents allèles d'un gène présentent des séquences très similaires (=indice de la parenté des allèles d'un gène).

Ces différences appelées **mutation** proviennent d'une modification de la séquence du gène.

Objectif du TP

On cherche à montrer **l'effet** de l'irradiation d'une culture de levures par des UV.

À l'échelle globale (= effet sur la culture)

A l'échelle moléculaire (= effet sur l'IG)

TP <-->

TP 3 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 la fréquence des mutations est augmentée par l'action d'un rayonnement électromagnétique comme les ondes ultraviolettes.

Ressources

Document 1 : Le spectre électromagnétique

Pour des raisons historiques, les ondes électromagnétiques sont désignées par différents termes, en fonction des gammes de fréquence (ou de longueur d'onde). Par longueur d'onde décroissante, on trouve les ondes radio, les ondes radar, les ondes infrarouges, la lumière visible, le rayonnement ultraviolet, les rayons X et le rayonnement γ . Les rayons X permettent l'étude des cristaux et molécules par diffraction. Les ondes ultraviolettes ont des effets sur la peau (bronzage, coups de soleil, cancer de la peau).

Document 2 : Les levures.

Les levures *Saccharomyces cerevisiae* portant la mutation *ade2-* sont incapables de synthétiser elles-mêmes de l'adénine : elles ne peuvent pousser que sur un milieu supplémenté en adénine. Malgré tout, la levure va utiliser la chaîne de biosynthèse de l'adénine non fonctionnelle. Cela provoque l'accumulation d'un intermédiaire, l'A.I.R.. Ce composé va alors être oxydé en un pigment qui donnera une coloration rouge aux levures. Comme ce pigment est toxique, les levures ne pousseront pas aussi bien qu'en son absence.

Les levures n'ayant pas de moyen de locomotion, elles restent sur place et forment une colonie lorsqu'elles se multiplient. Cette souche de levures possède donc un intérêt : elle permet l'identification des levures *Ade2-* : Une colonie issue de la multiplication d'une levure *Ade2-* sera rouge et de plus petite qu'une obtenue avec une levure *Ade2+*.

Les levures *Ade2-* peuvent subir une mutation de manière à ne plus oxyder le composé de la chaîne de biosynthèse de l'adénine, l'AIR. Si ce composé n'est plus oxydé, il n'y a pas d'action toxique ni de coloration. Les colonies ainsi obtenues sont blanches et plus grosses. De même, une faible concentration en dioxygène empêche l'oxydation de l'AIR, les colonies *Ade2-* restent alors blanches.

Matériel disponible :

- Levures *Ade2-* ;

Matériel envisageable :

- de laboratoire (verrerie, instruments ...)
- d'observation (microscope, loupe binoculaire...)
- de mesure et d'expérimentation (balance, chaîne ExAO...)
- informatique et d'acquisition numérique

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.

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
- 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
- Eviter 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 :

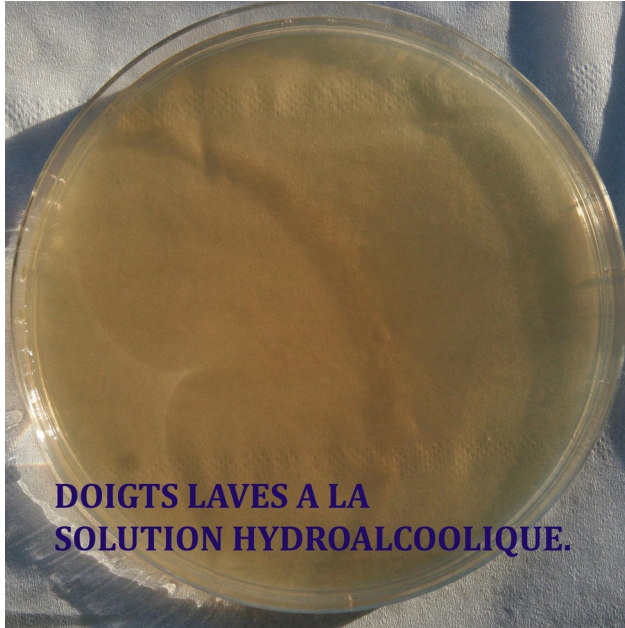
- **Verser** avec un compte-gouttes stérile, 0,1 ml (2 gouttes) de la suspension de levures ade2 sur une boîte de milieu.
- **Étaler immédiatement** avec un étaleur stérile d'un mouvement circulaire et répété, afin de répartir le mieux possible le liquide sur le milieu (**attention** à ne pas endommager 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

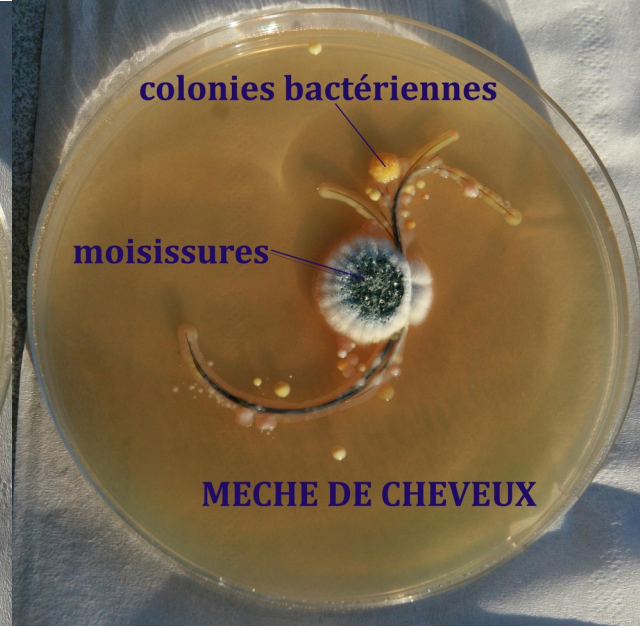
- **Vérifier** le positionnement de la bavette transparente et la fermeture de la porte battante avant chaque période d'irradiation
- **Démarrer** le chronomètre une fois la lampe allumée
- **Exposer** pendant **15 secondes** le secteur I
- **Tourner** le couvercle d'un quart de tour
- **Exposer** pendant **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
- **Exposer** pendant **120 secondes** le secteur IV
- Dans l'enceinte **enlever** le couvercle découpé, le **remplacer** par un couvercle entier puis sortir la boîte de Pétri de l'enceinte.



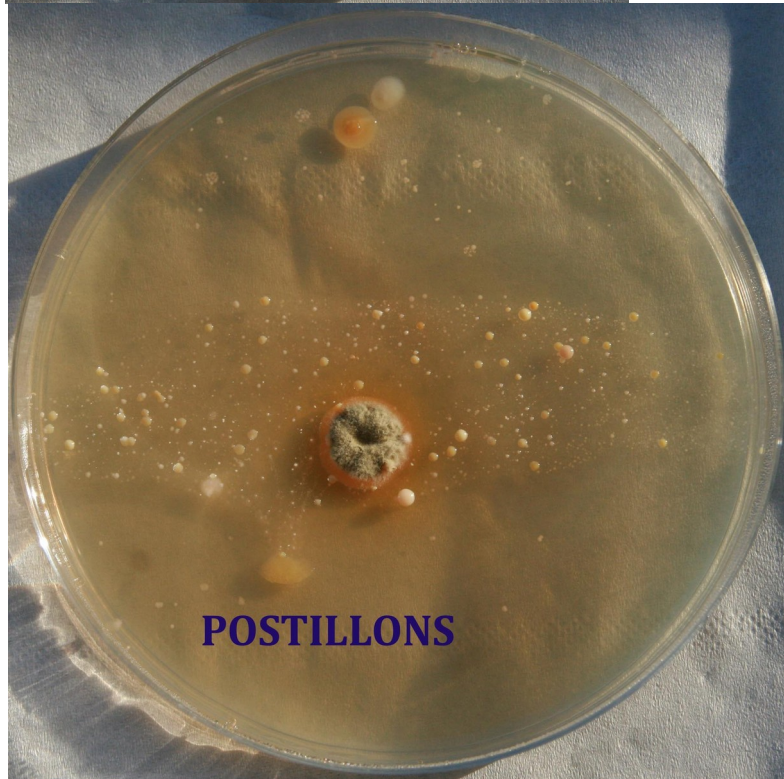
**DOIGTS LAVES A LA
SOLUTION HYDROALCOOLIQUE.**



DOIGTS NON LAVES



colonies bactériennes
moisissures
MECHE DE CHEVEUX



POSTILLONS

**ATTENTION
à L HYGIÈNE**



**DOIGTS PASSES SUR UN CLAVIER
D'ORDINATEUR.**

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

L'objectif est d'établir un lien entre
les facteurs de l'environnement est la modification d'un génotype.

Un graphique est envisageable...

COMPARAISON - CONVERSION AVEC ANAGENE Version 2

Les icônes de la barre d'outils																		Numerotation des éléments d'une séquence			
Fichier Edition Traiter Options Fenêtre Aide 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18																		50 60 AAGCAAGATAAT 189 192 1Th 1Al 1Pro 1Ser 1Thr Cliquer pour changer d'échelle		Echelle de repérage des nucléotides	
1. Banque de séquences 2. Thèmes d'étude 3. Programmes et documents 4. Voir le classeur 5. Enregistrer 6. Imprimer 7. Couper 8. Copier 9. Coller 10. Effacer 11. Convertir les séquences 12. Comparer les séquences 13. Action enzymatique 14. Graphique de ressemblance 15. Information sur ligne pointée 16. Code génétique 17. Grand curseur 18. Fermer toutes les fenêtres																		Cliquer sur l'échelle pour passer de l'échelle des nucléotides à celle des acides aminés. Utiliser le curseur Surligner pour sélectionner la partie de la séquence choisie. Cliquer sur l'icône « grand curseur ». Bulles d'aide Une bulle d'aide s'affiche sur l'objet pointé par le curseur de la souris			
Editer une séquence										Sélectionner une séquence											
Sélectionner cette séquence dans l'un des répertoires d'Anagène : - Banque de séquences - Thèmes d'étude - Programmes et documents ou par «Fichier / Ouvrir / sauve»										Hb A nucléique Hb A protéique Sélection : 1/2 lig Cliquer sur le bouton de sélection. La séquence sélectionnée s'inscrit sur fond blanc. On peut sélectionner plusieurs séquences. La flèche rouge indique la ligne pointée, sur laquelle il est possible d'obtenir des informations et que l'on peut déplacer à l'aide des flèches grises, haut - bas.											
Convertir une séquence										Comparer des séquences											
Menu «traiter / convertir ces séquences». Pour traiter une séquence, elle doit être au préalable sélectionnée.										ATTENTION : pour comparer, la séquence de référence est toujours celle qui est placée en premier. Menu «traiter / comparer les séquences» ou «convertir ces séquences». Pour traiter une séquence, elle doit être au préalable sélectionnée. La comparaison des séquences ne peut se faire que sur des séquences de même nature. Les flèches grises haut-bas permettent de placer la séquence de référence. Deux comparaisons possibles : - La comparaison par alignement permet de comparer avec discontinuité, en éliminant les décalages résultant de délétion(s) ou d'insertion(s), les valeurs affichées sont des ressemblances (identités), - La comparaison simple permet de comparer point par point des séquences sans aucun alignement, les valeurs affichées sont des différences.											
Informations sur la ou les séquence(s) sélectionnée(s) Menu «informations / sur la ligne pointée» pour obtenir des informations sur la sélection : soit d'une ligne, soit de toutes les lignes en cliquant d'abord devant « traitement ». Attention : les pourcentages obtenus portent soit sur des différences soit sur des ressemblances.																					
Créer des séquences Menu «Fichier / créer». Choisir le type de séquence et le nommer. Taper ou choisir dans la fenêtre d'«édition de séquences», votre séquence.																					

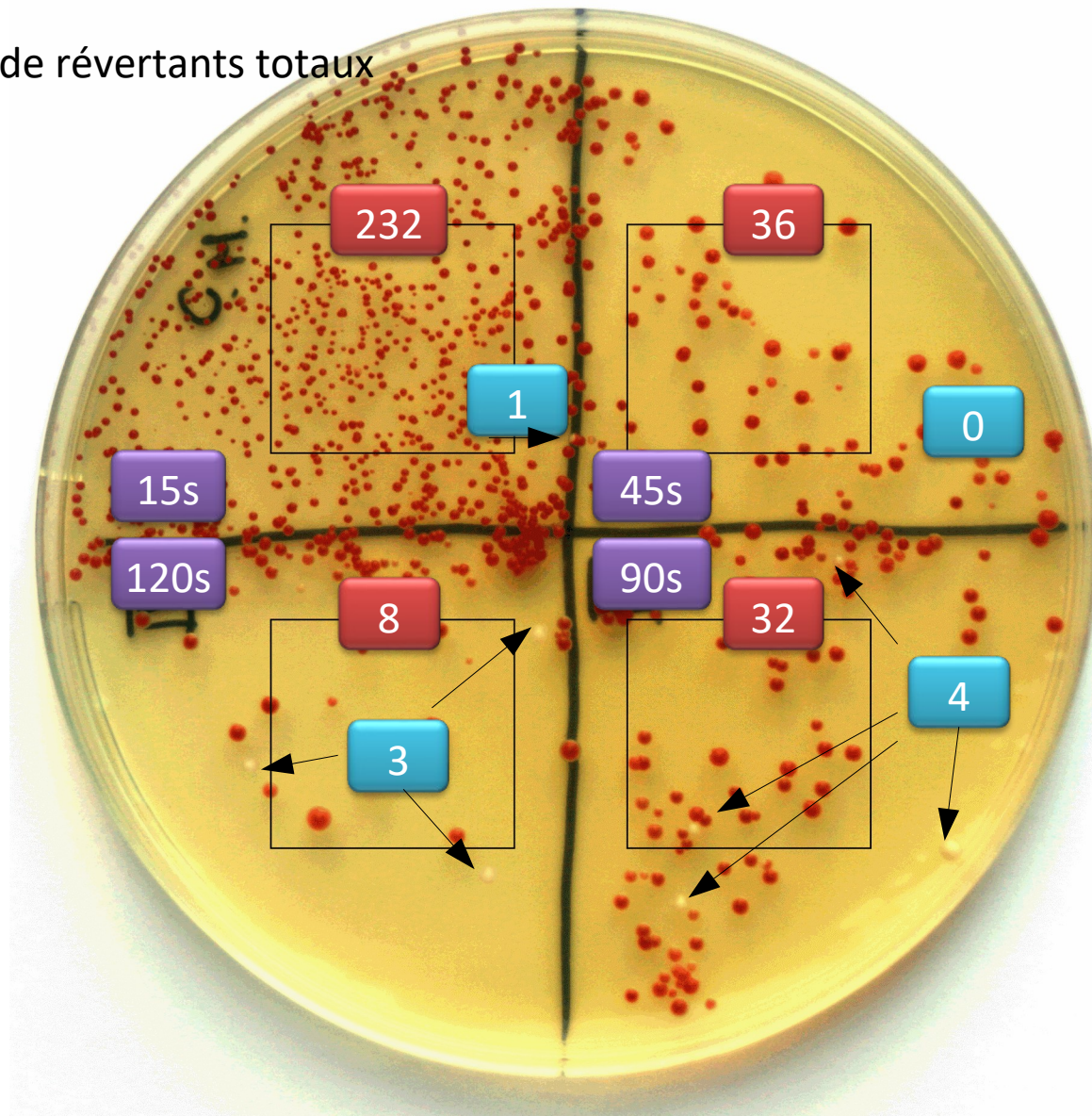
- BLOUSE
- PAS DE DÉPLACEMENT (sauf pour l'irradiation)
- PARTAGE DU TRAVAIL = COOPÉRATION

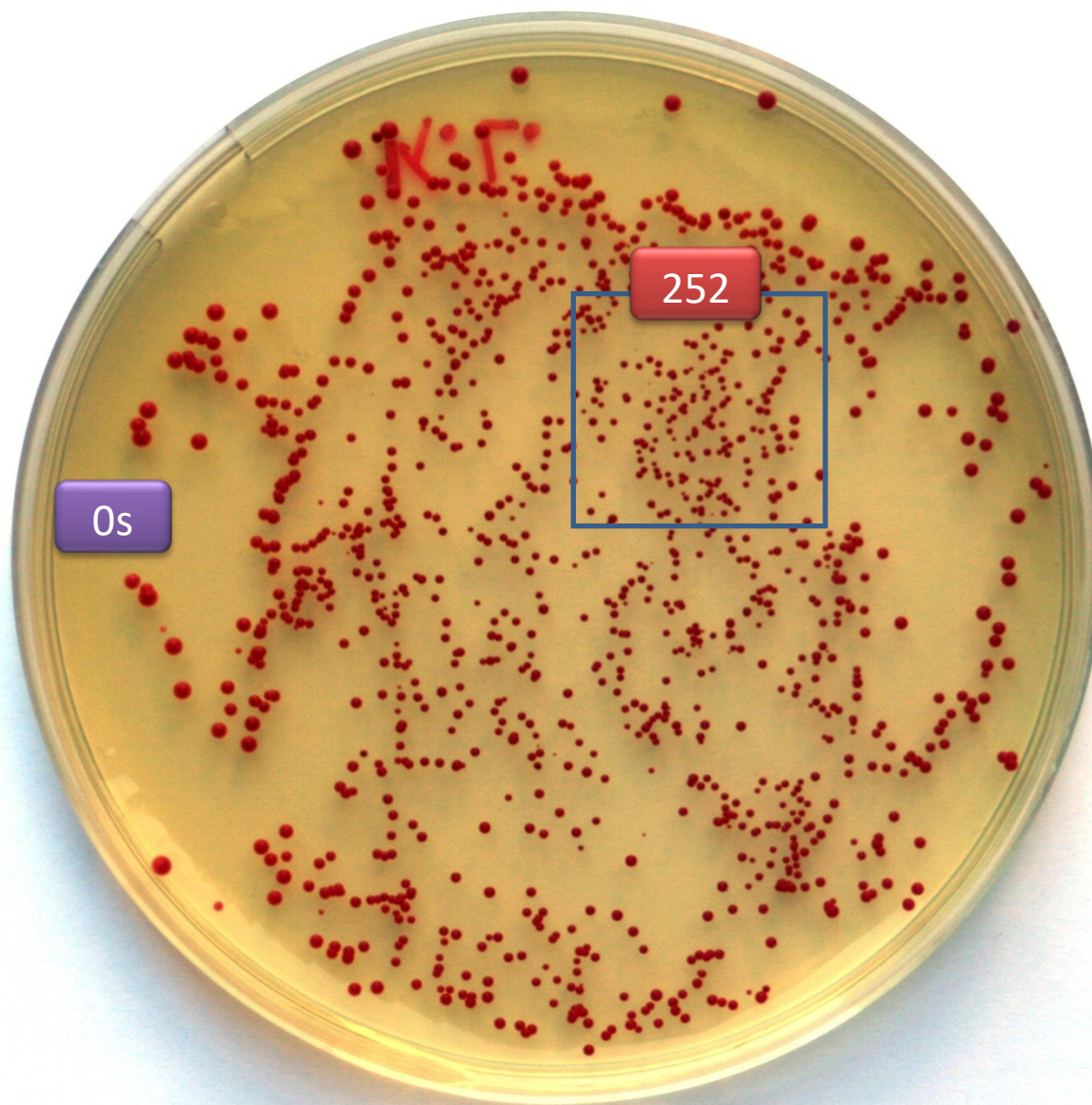
232

Nombre de colonies par unité de surface décidée

3

Nombre de révertants totaux





252

0s