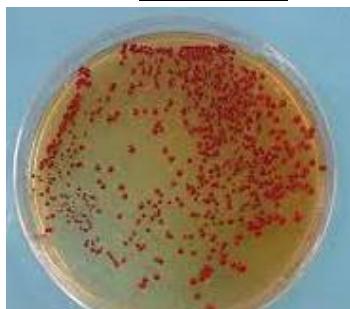




**Contexte :** Lors de l'interphase, la réplication permet de fournir 2 copies identiques de l'ADN. Des erreurs peuvent néanmoins se produire ; ce sont les mutations.

**Document 1 : La souche Ade2- de *Saccharomyces cerevisiae* (Levure de boulanger).**



## Colonies de Ade2 - dans une boite de Pétri

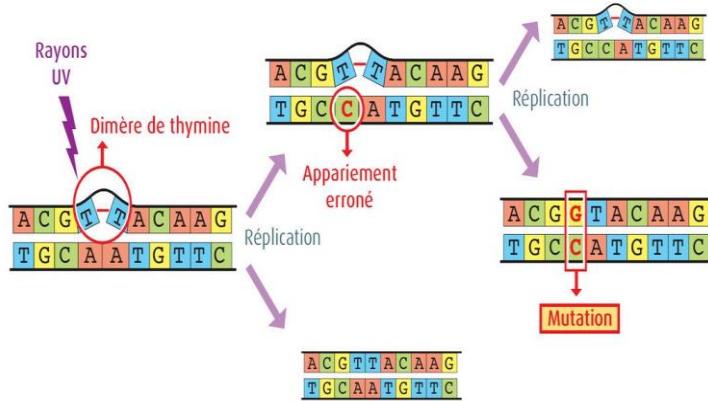
Sur un milieu de culture qui leur est adapté, les levures de boulanger (*Saccharomyces cereviciae*) se multiplient **par mitoses successives** et forment ainsi des colonies de plusieurs milliers de levures. Ces colonies sont alors **visibles à l'œil nu**. Chaque colonie constitue alors **un clone cellulaire**, c'est-à-dire un ensemble de cellules génétiquement identiques.

Les levures de boulanger étudiées appartiennent à la souche ADE2- qui se caractérise une couleur rouge. Les levures « ADE2-» portent l'allèle « ADE2-» du gène ADE2. La présence de cet allèle entraîne l'accumulation, au sein des cellules, d'un composé dénommé « AIR », responsable du pigment rouge.

Des levures rouges de la souche ADE2- peuvent être **affectées par des mutations** : si l'une d'elles empêche l'accumulation de la molécule AIR, ces levures Ade2- mutées vont former **des colonies de couleur crème**.

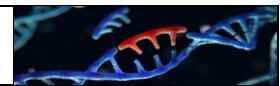
## **Document 2 : Les agents mutagènes.**

**L'exposition aux rayons Ultraviolets** induisent la formation de liaisons entre deux thymines adjacentes. Ces dimères de thymine déforment la double hélice **et font barrage à la plupart des ADN polymérasées lors de la réPLICATION**, induisant la mort de la cellule. Certaines ADN polymérasées parviennent à les franchir, mais elles commettent des erreurs d'appariement plus fréquentes, **aboutissant à des mutations potentielles**. Les ultraviolets sont donc appelés **agents mutagènes : substances favorisant l'apparition de mutation.**

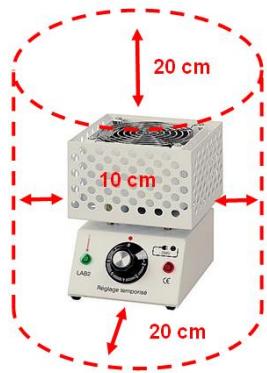


#### **Partie A : S'approprier un contexte et réaliser une manipulation**

**A partir des documents et du matériel de TP présent sur votre pailasse, proposez une stratégie permettant de mettre en évidence expérimentalement l'effet d'un agent mutagène sur l'ADN.**



### Partie B : Protocole expérimental



Pour la réussite de ce TP, il faut veiller à travailler dans des conditions stériles afin que le milieu de culture ne soit pas contaminé par des cellules extérieures.

- Pour la préparation des boîtes de Pétri, toutes les manipulations doivent être réalisées dans la zone stérile, c'est-à-dire à moins de 30 cm de la source de chaleur (bec électrique).
- Pour le déplacement des boîtes jusqu'à l'intérieur de la lampe à UV, les couvercles doivent être placés sur les boîtes.
- Veillez à ne pas circuler dans la classe. Limitez au maximum les projections de salives pendant la manipulation, donc restez silencieux.
- Ne pas toucher le milieu des boîtes de pétri avec les mains et bien les laver en fin de séance : on ne contrôle jamais totalement ce que l'ont fait pousser sur un milieu complet...

#### Avant de manipuler !

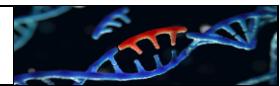
Chaque binôme doit tester 2 durées d'irradiations différentes. Vous devez, dans un premier temps, vous répartir les tâches au sein de la classe afin de pouvoir ensuite partager tous les résultats. Temps à tester : T=0, T= 30 sec, T= 60 sec, T= 90 sec, T = 120 sec.

Temps choisis pour le binôme : -----

1. Mettez votre blouse, attachez vos cheveux s'ils sont longs.
2. Nettoyez minutieusement la paillasse à l'alcool. Ne pas mettre d'alcool sur le bec électrique.

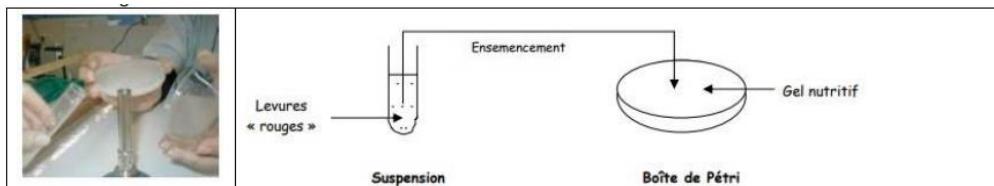
#### Tableau d'attribution des binômes :

Temps d'exposition (secondes)	0	20	40	60	80
Binômes					

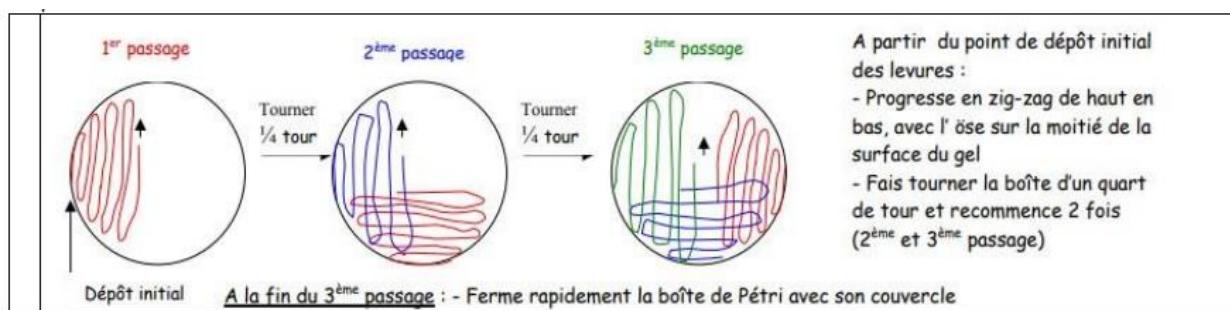


### Etape 1 : Ensemencement des boîtes de Pétri avec la souche de levure Ade2-

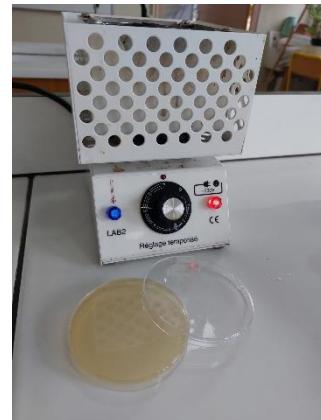
1. Allumez le bec électrique pour créer la zone de stérilité (passez progressivement du thermostat 1 à 7).
2. **Les boîtes de pétri sont des environnements stériles. Ne les ouvrir qu'à la dernière minute.** Notez votre nom de manière lisible sur la tranche du couvercle de votre boîte de pétri, **ainsi que la durée d'exposition.**
3. Agitez la suspension de levures puis prélevez 1ml de la solution (avec la pipette plastique stérile). Déposez ce prélèvement sur la boîte de pétri.



4. Étalez l'échantillon sur toute la gélose avec l'étaleur stérile en suivant le protocole ci-dessous.



5. Inclinez la gélose à 45° et pipetez l'excédent de liquide. Jetez ensuite la pipette et son contenu dans le bêcher de javel). **Mettez vos instruments utilisés dans l'eau de javel pour désinfection.**
6. Laissez sécher la gélose ensemencée pendant 10-15 minutes à l'envers comme sur la photographie ci-contre.

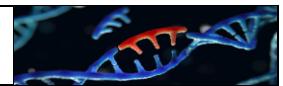


### Etape 2 : L'irradiation des boîtes de Pétri

L'enceinte UV est à manipulée avec l'aide du professeur. Elle a été allumée une heure avant l'utilisation et reste allumée durant toute la manipulation. L'énergie débitée est ainsi constante.

1. Se munir de gants, de lunettes anti-UV.
2. Insérez la boîte de pétri ensemencée dans la lampe à UV. Otez immédiatement le couvercle et le placez sur le dos (l'intérieur du couvercle est donc exposé aux UV. Déclencher immédiatement le chronomètre.
3. Une fois le temps écoulé, replacer rapidement le couvercle sur la boîte puis retirer la boîte de l'enceinte à UV.
4. Placez la boîte fermée dans le bac prévu à cet effet. La boîte de pétri sera ensuite placée à l'étuve à 28°C pendant 48h.

**Fin du TP :** Les instruments utilisés doivent être placés dans le bêcher contenant de la javel. La paillasse doit être lavée à l'alcool. Lavez-vous les mains soigneusement avec du savon.



**COMPTE rendu : Protocole expérimental.**

**Protocole :** Sous forme de schéma, détaillez votre protocole expérimental.