

## Atelier 2

### Fiche protocole

Vous disposez d'une **suspension de levure (*Saccharomyces cerevisiae*)** provenant de boîte de culture de la souche Ade 2.

- **Préparer un environnement stérile**

- Mettre la blouse, bien se laver les mains au savon, mettre des gants, porter un masque.
- Placer le bec électrique au centre de la table puis l'allumer. Quand l'appareil est chaud laver la table au produit désinfectant. L'environnement est alors stérile dans un rayon de 30 cm autour du bec électrique.
- Attention aux déplacements d'air (pas de mouvements brusques, ne pas parler en direction du bec, pas d'éternuement)

- **Ne jamais ouvrir une boîte de pétri en dehors de l'environnement stérile.**

- Toutes les manipulations se font dans la zone stérile
- Ecrire sur le fond de la boîte en la retournant crème solaire à tester et vos initiales.

- **Préparation du film alimentaire recouvert de crème solaire**

- Découper un carré de film alimentaire d'environ 20cm de côté. Tracer le cercle correspondant à la boîte de pétri avec un marqueur. Mettre le film alimentaire à plat sur la table.
- Recouvrir le cercle tracé sur le film alimentaire de crème solaire (mettre une épaisseur constante et uniforme)
- Garder votre film alimentaire sur la table.

- **Repiquage des souches de levures Ade 2**

Toutes les manipulations se font dans la zone stérile et à aucun moment la gélose ne doit être percée.

Vous disposez d'un tube contenant une suspension de levures de type Ade 2.

- Placer la boîte de Pétri à côté du bec électrique, ôter le couvercle.
- Homogénéiser (c'est-à-dire secouer doucement la suspension pour bien mélanger le liquide).
- Déposer à l'aide de la pipette pasteur 2 gouttes de la suspension sur la gélose.
- L'étaler sur l'ensemble de la gélose à l'aide du râteau stérile.
- placer le film recouvert de crème solaire sur la boîte **attention !!! coté crème solaire vers le haut**

## Mettez vos lunettes anti UV

- **Irradiation des souches de levures**

- En zone stérile placer la boîte de Pétri dans l'enceinte d'irradiation.
- Irradier la boîte pendant 30 sec (chronométrer rigoureusement le temps)
- A votre place, toujours en conditions stériles, ôtez le film de crème et remettre le couvercle de la boîte.
- Ramener la boîte sur le bureau du professeur en la retournant (couvercle vers le bas, pour éviter que la condensation tombe sur les levures)
- Ranger soigneusement votre poste. (nettoyage pinceau, verre de montre avec crème et tout ramener sur le chariot)

Les boîtes sont ensuite placées à l'étuve pendant 5 jours à 30°C puis conservées au réfrigérateur.

Le temps d'incubation des levures étant long, il faudra donc attendre le prochain TP pour pouvoir exploiter vos résultats.

### Suite du TP

-Et pour finir un peu de révision...

Utiliser le logiciel anagène pour déterminer où se trouve la mutation du gène *ade2* responsable de la couleur blanche des levures.

On vous propose d'étudier les 2 allèles, l'allèle 1 correspond aux colonies rouges et l'allèle 2 aux colonies blanches. (le fichier est dans vos documents/devoir/MmeVieillard/ade2

Effectuer une comparaison par alignement avec discontinuité

Préciser où se situe exactement la mutation. Répondre sur votre cahier

