

Matériel

- Plan de travail : STERILE au début de la séance (stérilisé à l'eau de Javel) : à ne pas contaminer.
- Tube de suspension de Levures (souche rose Ade2–mutante) STERILE → Déjà sur la table stérile
- Boîtes de Pétri avec milieu de culture gélosé STERILE → Déjà sur la table stérile
- Râteau ensemencneur – STERILE → Déjà sur la table stérile
- Pipette Pasteur – STERILE → Déjà sur la table stérile
- Lampe à U.V. → Paillasse du professeur.
- Eau de Javel / Gel hydroalcoolique
- Pince en bois
- Feutre

Avant la manipulation

ATTENTION : Faire pousser des Levures n'est pas un acte dangereux mais le milieu de culture utilisé convient très bien à d'autres microbes dont certains peuvent être pathogènes. Pour cette raison, la manipulation doit se faire dans des conditions les plus stériles possibles en suivant ces règles simples :



- N'ouvrir les tubes ou la boîte qu'au dernier moment
- Se déplacer au minimum, ne pas faire de courant d'air, pas d'excitation ou d'agitation
- Ne pas tousser, rire, parler et souffler près du plan de travail
- Utiliser un masque pour éviter de contaminer par les mouvements respiratoires
- Les cheveux sont attachés et emballés dans une charlotte (si disponible : facultatif)
- Le plan de travail et le matériel ont été stérilisés à la javel
- Les mains devront être désinfectées au gel hydroalcoolique (et on ne touche plus à ses cheveux, mains ...)
- Anticiper chaque geste pour éviter de se retrouver dans une situation contaminante.

Mise en culture des levures

- Avant tout, annoter votre boîte de Pétri sur le « fond » (les couvercles peuvent être échangés).
⇒ Inscrire vos noms et la durée d'exposition aux U.V. (qui vous sera attribuée par le professeur).
- Agiter la suspension de Levures (celles-ci se déposent au fond du tube)
- Ouvrir le tube de levure sans faire entrer d'air et sans toucher le bord du tube
- Prélever un peu de la suspension avec la pipette Pasteur
- Déposer 0,1 mL soit 2 gouttes au centre de la boîte de pétri.
- Etaler la goutte avec le râteau ensemencneur de façon aussi uniforme que possible (comme de la pâte à crêpe sur une poêle) TRES DOUCEMENT (gélose fragile)
- Refermer la boîte rapidement (mais calmement).

Exposition aux UV

ATTENTION : Les UV utilisés dans cette expérience sont très efficaces pour muter l'ADN (longueur d'onde spécifique : 254 nm) et ils sont très concentrés (forte intensité) !!!



- Attendre votre tour pour venir à la paillasse du professeur.
- Enlever le couvercle de la boîte de Pétri et placer la boîte sous la lampe à UV.
- Garder le couvercle orienté vers le bas, sans le poser pour ne pas le contaminer.
- Préparer le chronomètre
- Allumer la lampe et l'éteindre au bout du temps prévu pour votre boîte.
- Sortir la boîte de Pétri de l'enceinte à U.V. et refermer rapidement (mais calmement) le couvercle puis déposer votre boîte dans le bac prévu à cet effet.
- Ranger votre paillasse