

Etude d'un cas de modification génétique chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*

Document ressource 1

Les levures sont des êtres vivants unicellulaires appartenant au règne des champignons.

Le document projeté à l'écran présente deux boîtes de colonies de levures, une avec des **colonies** (points) de couleur rouge et une avec des colonies de couleur crème.

Toutes ces levures appartiennent à la même souche nommée Ade1.

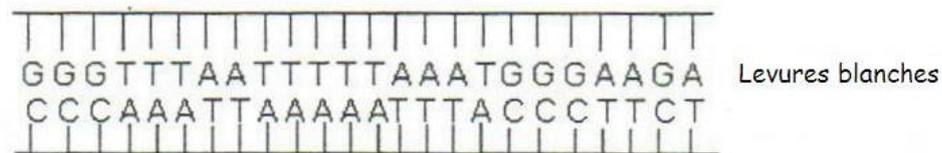
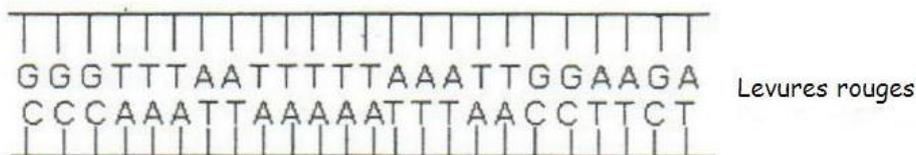
Document ressource 2 :

Les **UV** sont des longueurs d'onde lumineuse parfois dangereuse en cas d'exposition répétée au soleil.

Elles sont responsables de l'augmentation de la pigmentation en été en synthétisant de la mélanine. C'est le bronzage.

Mais une trop forte irradiation peut provoquer la **mort des cellules** de la peau et au niveau moléculaire, provoquer des **mutations dans l'ADN** de ces cellules.

Document ressource 3 fragment du gène dirigeant la synthèse de pigments des levures Ade1



Matériel:

Souches de levures Ade1 en suspension

Boîte de pétri avec milieu nutritif solide et complet

Matériel d'ensemencement de levures sur milieu solide (rateau, pipette)

Bec électrique, papier absorbant, alcool (= milieu stérile)

Boîte à UV

Gants et lunettes de protection

Armoire de culture (37°C)

Compétences	Activités	Eval
C3.2 Pratiquer une démarche expérimentale C3.3	1. Proposer une hypothèse expliquant la différence entre les levures rouges et blanches.	A B C D
	2. Proposer une manipulation afin de tester votre hypothèse. (<i>1 seul paramètre doit varier, témoin, conditions de l'expérience</i>)	A B C D
C4 Manipuler	3. Suivre le protocole fourni en respectant les consignes de sécurité et de stérilité sous peine d'avoir des résultats illisibles.	A B C D
C5.2 Présenter la démarche et les résultats C5.4	4. Proposer une présentation scientifique qui rendra visible les variations chiffrées	A B C D
	5. Rédiger une conclusion argumentée pour expliquer la différence entre les levures rouges et blanches. (<i>J'observe que, je sais que, j'en déduis que</i>)	A B C D

Tableau des résultats de comptage des colonies rouges et blanches après mise en culture pendant 1 semaine à 30°C.

Temps d'exposition aux UV (en secondes)	Nombre de colonies blanches	Nombre de colonies rouges	Nombre total de colonies	% de colonies blanches
0	0	3000		
30	17	1733		
60	28	597		
90	10	115		
120	9	51		
150	4	16		

Tableau des résultats de comptage des colonies rouges et blanches après mise en culture pendant 1 semaine à 30°C.

Temps d'exposition aux UV (en secondes)	Nombre de colonies blanches	Nombre de colonies rouges	Nombre total de colonies	% de colonies blanches
0	0	3000		
30	17	1733		
60	28	597		
90	10	115		
120	9	51		
150	4	16		

Tableau des résultats de comptage des colonies rouges et blanches après mise en culture pendant 1 semaine à 30°C.

Temps d'exposition aux UV (en secondes)	Nombre de colonies blanches	Nombre de colonies rouges	Nombre total de colonies	% de colonies blanches
0	0	3000		
30	17	1733		
60	28	597		
90	10	115		
120	9	51		
150	4	16		

Le but est de montrer l'effet mutagène des UV et d'expliquer l'origine de la diversité de couleurs chez la levure, ie en généralisant l'origine de la diversité allélique chez une même espèce.

Démarche expérimentale détaillée

Hypothèse : on suppose que la différence de couleur entre les levures de la même souche est due à une mutation (substitution d'un G par un T chez les levures blanches dans le doc 3)

Protocole : Faire se développer des levures dans une boîte de Pétri à température ambiante (témoin) et faire se développer ces mêmes levures dans une boîte de Pétri à température ambiante mais après exposition aux UV.

On s'attend à voir des colonies rouges dans la première boîte et apparaître des colonies blanches dans la 2^{ème}/ disparition de colonies dans la 2^{ème}.

Calcul des pourcentages, réalisation d'un graphique évolution du pourcentage de colonies blanches en fonction du temps du nb total de colonies en fonction du temps.

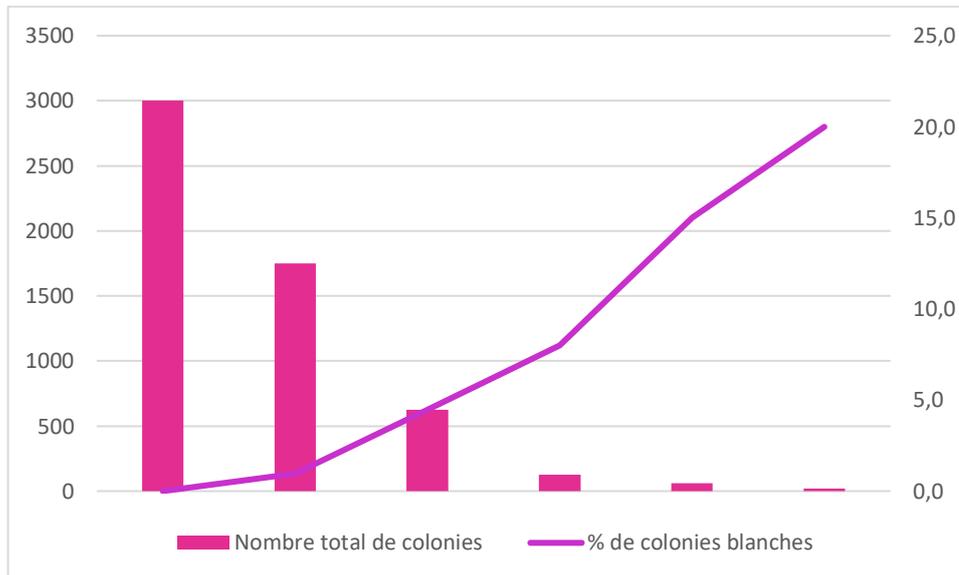


Tableau des résultats de comptage des colonies rouges et blanches après mise en culture pendant 1 semaine à 30°C.

Temps d'exposition aux UV (en secondes)	Nombre de colonies blanches	Nombre de colonies rouges	Nombre total de colonies	% de colonies blanches
0	0	3000	3000	0,0
30	17	1733	1750	1,0
60	28	597	625	4,5
90	10	115	125	8,0
120	9	51	60	15,0
150	4	16	20	20,0

Conclusion :

On observe que plus le temps d'exposition aux UV est long plus le taux de mortalité des levures augmente et plus le % de levures blanches augmente.

On sait que les UV ont un pouvoir mutagène provoquant la mort cellulaire et des mutations dans l'ADN.

On sait aussi que les levures blanches diffèrent des rouges par une mutation dans leur séquence génétique (substitution).

On peut donc en déduire que les UV ont provoqué une mutation dans la séquence génétique du gène du pigment à l'origine de la couleur. Plus la durée d'exposition est grande plus la fréquence d'apparition des mutants augmente effet mutagène des UV. La mutation s'est transmise ensuite par la reproduction aux générations suivantes.

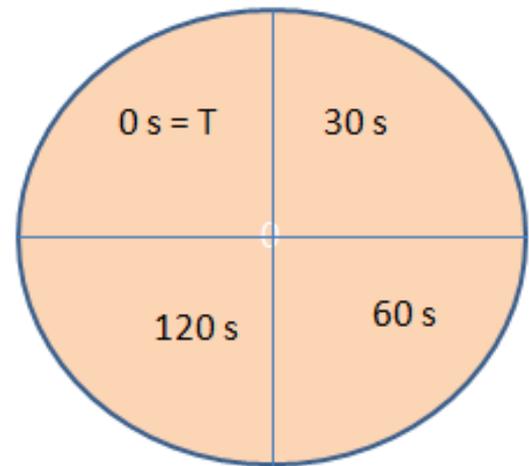
La variation génétique est à l'origine de la diversité des individus au sein d'une même espèce.

PROTOCOLE

❖ Mise en culture des levures

Ecrire sur le bord de la boîte les noms du binôme et classe.

Sous la boîte : au feutre, partager la boîte en 4 quarts et écrire les durées d'exposition aux UV. Voir schéma ci-contre.



Bien agiter la suspension de levures (elles sédimentent vite)

Il faut travailler le plus possible dans des conditions stériles pour éviter la contamination des milieux de culture par d'autres microorganismes.

Pour cela lire le protocole avant de commencer sa mise en œuvre.

- Brancher le bec électrique.
- Ouvrir une boîte de Pétri en posant le couvercle à l'endroit (sans le retourner)
- Déposer au centre de la boîte 2 gouttes de suspension de levures.
- Etaler immédiatement les cellules avec un étaleur stérile à la surface de toute la gélose sans la perforer.

Recouvrir très vite la boîte

❖ Exposition aux rayons ultraviolets

Les binômes peuvent travailler par deux, chacun ayant une boîte.

Utiliser le couvercle de l'enceinte UV permettant de compartimenter la boîte de Pétri en 4, juste avant de placer votre boîte sous la lampe à UV.

Ouvrir le volet et y placer votre boîte.

Refermer le volet et déclencher le chronomètre dès que la lampe s'allume.

Ouvrir le volet dès que le temps est écoulé.

Faire tourner le couvercle de la boîte d'un quart de tour et recommencer.

Temps d'exposition aux UV
1 ^{er} quart = Témoin : 0 seconde
2 ^{ème} quart : 30 secondes
3 ^{ème} quart : 60 secondes
4 ^{ème} quart : 120 secondes

Dès que l'exposition aux UV est terminée, replacer immédiatement le premier couvercle sur votre boîte et la placer à l'envers dans l'étuve, pendant une semaine.