Évolution du vivant

Effet des mutations sur le métabolisme cellulaire

Réf :
108 022
108 023
117 069

Kit levure *S.cerivisiae ADE2*

Version : 1111

1 Composition du kit

Chaque kit est composé au moins d'une boîte souche de *S.cerevisiae ADE2* pour repiquage, de 20 pastilles d'adénine et du milieu de culture YPG pour 36 boîtes de Pétri de 55 mm de diamètre.

Trois kits de levure sont proposés. Ils diffèrent uniquement sur le conditionnement du milieu de culture des levures.

- **Réf. 117 069 :** Le milieu de culture est déjà coulé dans les boîtes de Pétri. Stockage à 4°C couvercle vers le bas.
- **Réf. 108 022 :** Le milieu de culture est prêt à être coulé dans les boîtes de Pétri. Stockage à température ambiante.
- **Réf. 108 023 :** Le milieu de culture est à préparer (format déshydraté) puis à couler dans les boîtes de Pétri. Stockage à température ambiante.

La boîte souche se conserve plusieurs jours dans un local frais.
Un kit est prévu pour 18 binômes.

Matériel complémentaire à prévoir :
- Incubateur
- Tube stérile
- Pipette pasteur stérile
- Inoculateur stérile
- Étaleur stérile
- Ensemenceur stérile
- Pince stérile
- Bec électrique (pour zone de stérilité)
- Vortex

Un kit spécifique est proposé (réf. 543 005) contenant tout le petit matériel stérile spécifique.

2 Principe

La levure *S.cerevisiae ADE2* est une levure qui présente une mutation auxotrophe à l'**adénine**, c'est-à-dire qu'elle est incapable de synthétiser ce composé. Or l'adénine est indispensable au bon fonctionnement de cet organisme.

Cette levure ne peut donc pas se développer sur milieu minimum. Sur milieu complet de type YPG, les levures *ADE2* amorcent la chaîne de réactions qui conduirait à la synthèse de l'adénine. Mais la mutation de ces levures touche un gène codant pour une enzyme permettant la synthèse de l'adénine. En l'absence de cette enzyme, la chaîne de réactions s'arrête et le dernier composant formé est la molécule de phosphoribosyaminoimidazole qui s'accumule dans les cellules. Cette molécule, au contact de l'air, est de couleur rouge d'où la couleur des colonies de levures se développant sur milieu YPG.

Un apport d'adénine sous forme de pastille va permettre d'éviter cette accumulation de phosphoribosyaminoimidazole, les levures se développant seront alors de couleur blanche.

On observe donc 2 phénotypes différents en fonction de l'environnement pour une même souche.

3 Préparation des milieux

Réf. 108 022 : Le milieu en bouteille est à réchauffer dans un micro-onde 4 à 5 min (750 W) ou au bain-marie. Dévisser légèrement le bouchon avant le réchauffage. Au micro-onde, remuer régulièrement et vérifier toutes les 45 secondes, la liquéfaction progressive du milieu.

Réf. 108 023 : Le milieu de culture est déshydraté, un flacon permet de reconstituer 500 mL de milieu. Verser le mélange en poudre dans un flacon de 500 mL, ajouter le volume d'eau correspondant, agiter jusqu'à complète dissolution. Autoclaver 20 minutes à 120 °C. Attention au risque de brûlures à la sortie des flacons de l'autoclave, utiliser le matériel de protection adéquat (gant anti-chaleur).

Une fois les boîtes de Pétri coulées, laisser refroidir jusqu'à la prise complète de la gélose, puis stocker ensuite à 4 °C couvercle en bas.

4 Mise en place

Préparation enseignant :
- Coulage du milieu dans les boîtes de Pétri (selon le kit)
- Repiquage des levures souches

Avant d'ouvrir la boîte de Pétri contenant les levures souches, veillez à nettoyer le poste de travail à la javel, les mains à l'alcool, porter une blouse. Tout le matériel au contact des levures et des boîtes de Pétri doit être stérile.

Un bec électrique de microbiologie permettant de créer une zone de stérilité est à envisager pour éviter toutes contaminations. Il est préférable de travailler dans cette zone de stérilité pour toutes les manipulations ci-dessous.

Ouvrir la boîte de *S.cerevisiae* et récupérer quelques colonies de levures à l'aide d'un inoculateur stérile. Mettre en suspension ces colonies dans un tube stérile avec 4 mL d'eau stérile. Agiter cette solution au vortex, elle doit être légèrement trouble.

Prélever 0,5 mL de cette solution avec une pipette Pasteur stérile. Rajouter 20 mL d'eau stérile à ce prélèvement. Agiter de nouveau cette solution. C'est cette solution qui va être déposée sur les boîtes de Pétri.

Préparation élève :
Chaque binôme dispose de 2 boîtes.
- A partir de la solution préparée précédemment, déposer 2 gouttes de solution (à l'aide d'une pipette Pasteur stérile) de levure au centre d'une boîte de Pétri.
- Utiliser l'étaleur stérile de façon circulaire afin de répartir les levures sur tout le diamètre de la boîte.
- Laisser sécher les boîtes une dizaine de minutes à température ambiante.
- A l'aide d'une pince stérile, positionner la pastille d'adénine au centre d'une des 2 boîtes. Chaque binôme prépare une boîte sans pastille et une avec.
- Mettre les boîtes de Pétri (couvercle vers le haut) dans un incubateur à 28 °C.
- Les résultats seront visibles dès le 5ème jour.

En l'absence d'incubateur, laisser les boîtes de Pétri à température ambiante durant 2 jours de plus.

Elimination des boîtes :
- Ne pas jeter les boîtes à la poubelle, il faut détruire les cultures par stérilisation auparavant,
- Après l'observation, placer les boîtes dans de l'eau de javel diluée pendant 48h.

Vous pouvez également utiliser un autoclave (120 °C pendant 20 minutes).

5 Service après vente

Pour toute question, veuillez contacter :

JEULIN - SUPPORT TECHNIQUE
Rue Jacques Monod
BP 1900
27019 EVREUX CEDEX France

0 825 563 563 *
** 0,15 € TTC/ min à partir d'un poste fixe*

Assistance technique en direct

Une équipe d'experts à votre disposition du Lundi au Vendredi (8h30 à 17h30)

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge immédiatement votre appel pour vous apporter une réponse adaptée à votre domaine d'expérimentation : Sciences de la Vie et de la Terre, Physique, Chimie, Technologie .

Service gratuit *

0825 563 563 *choix n° 3.* ******

** Hors coût d'appel : 0,15 € ttc / min. à partir d'un poste fixe.*

*** Numéro valable uniquement pour la France métropolitaine et la Corse.*

Pour les Dom-Tom et les EFE, utilisez le + 33 (0)2 32 29 40 50

Direct connection for technical support

A team of experts at your disposal from Monday to Friday (opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request immediatly to provide you with the right answers regarding your activity field : Biology, Physics, Chemistry, Technology .

Free service *

+ 33 (0)2 32 29 40 50**

** Call cost not included*

*** Only for call from foreign countries*

Aide en ligne :

www.jeulin.fr

Rubrique FAQ

JEULIN

Rue Jacques-Monod,
Z.I. n° 1, Netreville,
BP 1900, 27019 Evreux cedex,
France

Tél. : + 33 (0)2 32 29 40 00
Fax : + 33 (0)2 32 29 43 99
Internet : www.jeulin.fr - support@jeulin. fr

Phone : + 33 (0)2 32 29 40 49
Fax : + 33 (0)2 32 29 43 05
Internet : www.jeulin.com - export@jeulin.fr

SA capital 3 233 762 € - Siren R.C.S. B 387 901 044 - Siret 387 901 04400017