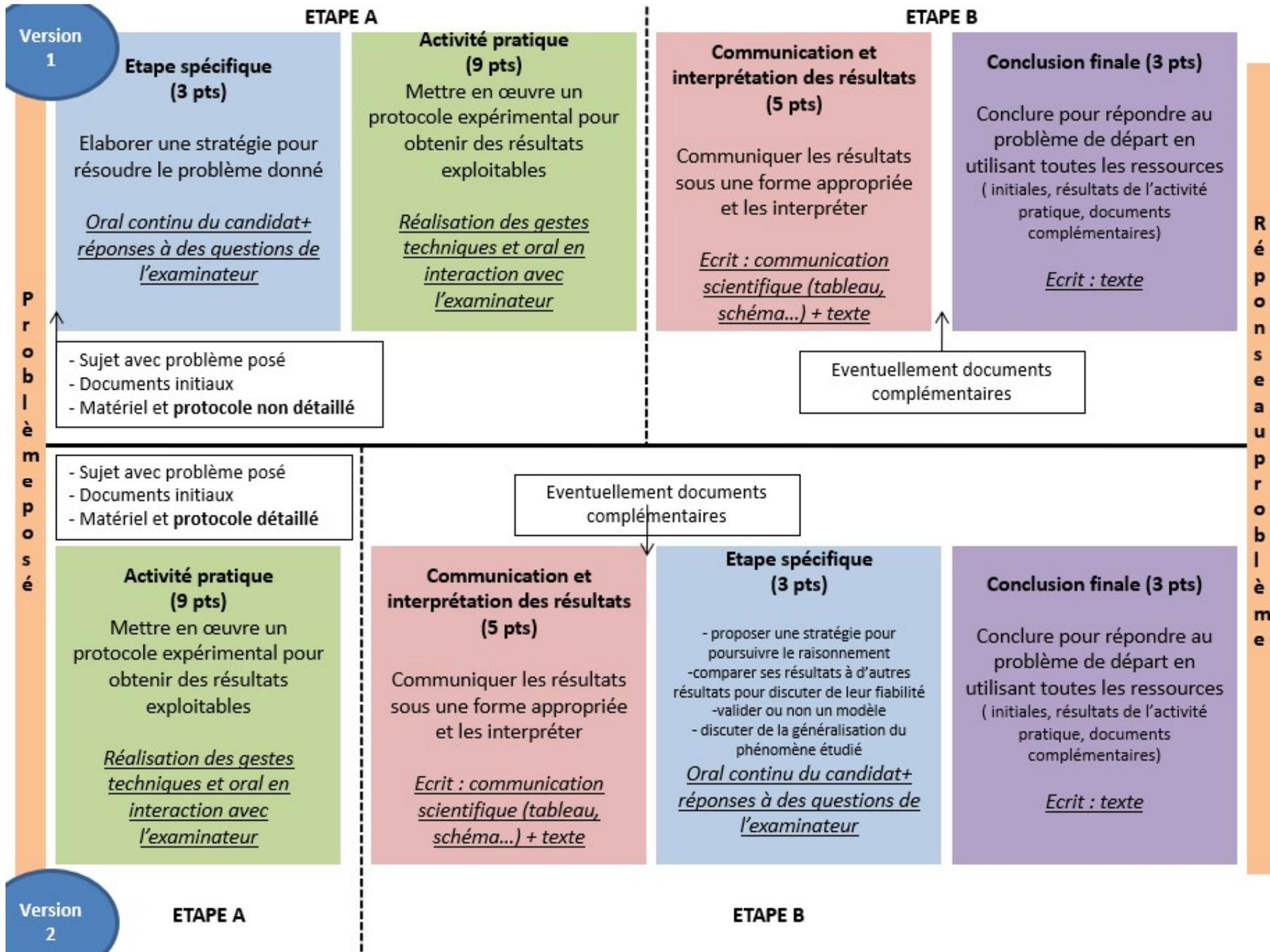
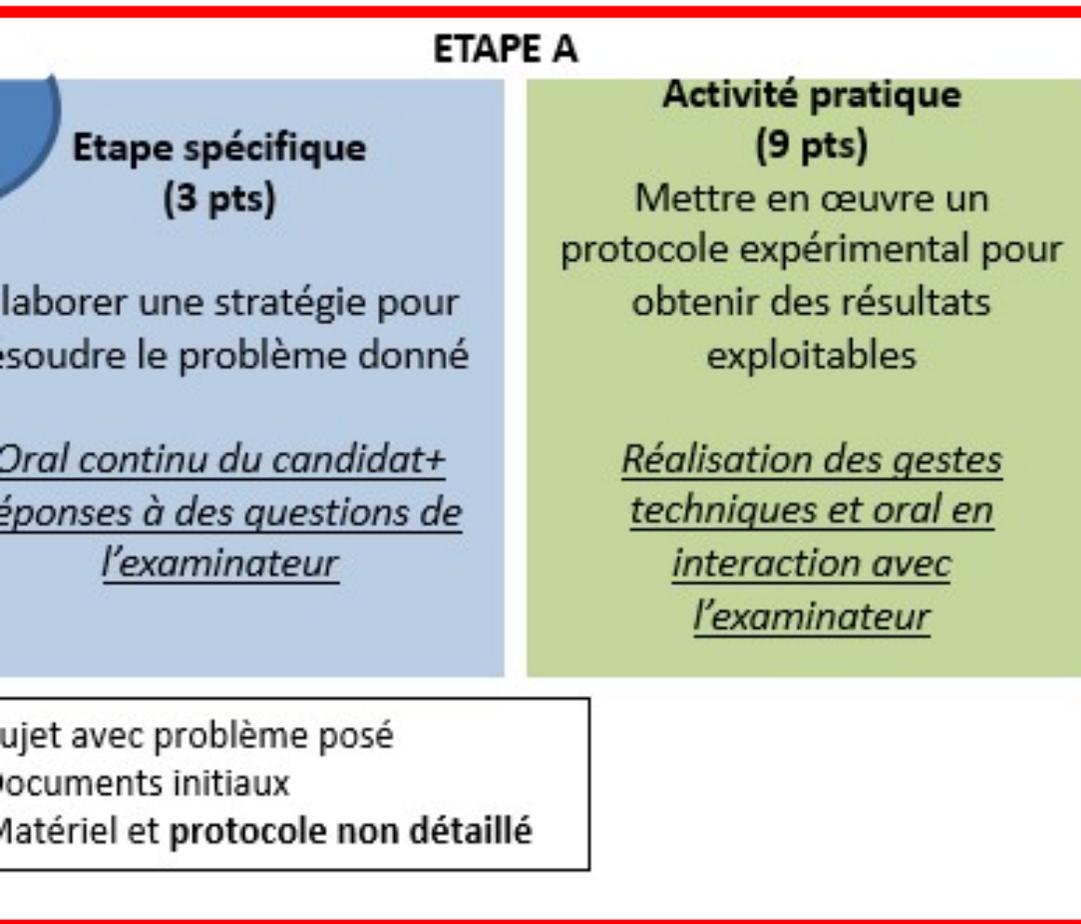
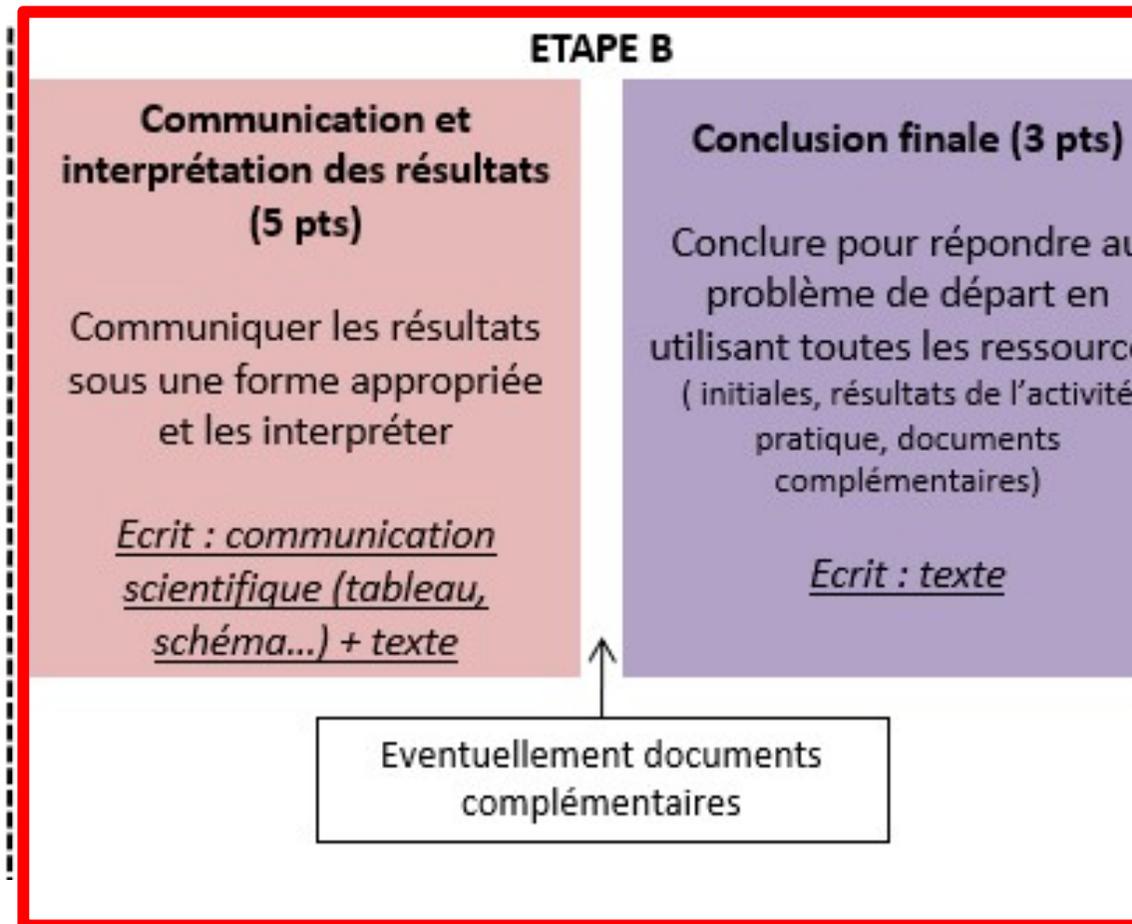


**Travail sur l'ECE :  
TP mutagenèse des  
levures**





**Aujourd'hui**



**Prochaine séance**

## Mise en situation et recherche à mener

Si les mutations peuvent se produire de façon spontanée dans toutes les cellules, il existe des agents mutagènes qui augmentent leur probabilité d'apparition. Les ultraviolets en sont un exemple.

**On souhaite montrer que l'effet mutagène des UV est dose dépendant, c'est-à-dire que plus la dose d'UV reçue est importante plus la fréquence des mutations est grande.**

## Ressources

### Deux souches de levure

Les levures sont des organismes unicellulaires que l'on peut cultiver sur des milieux nutritifs dans des boîtes de Pétri, à conditions de les placer dans une étuve à la température favorable de 30°C.

Une levure invisible à l'œil nu au moment du dépôt, peut former en se multipliant (en une semaine environ) une colonie de levures identiques de forme circulaire observable à l'œil nu.

Il existe des colonies de couleur rouges et des colonies de couleur blanche.



Une culture de levures blanches : chaque levure déposée a formé en une semaine une colonie visible à l'œil nu.

Une culture de levures rouges



### La boîte à UV



Une boîte à UV est une enceinte dans laquelle on peut soumettre les levures à des rayonnements UV. Cette boîte est protégée de façon à ce que le manipulateur ne soit pas exposé aux UV.

*NB : la longueur d'ondes des UV utilisée (qui détermine leur « puissance ») est invariable.*

Les mutations peuvent être létales (= provoquer la mort) pour la cellule ou peuvent modifier l'information portée par un gène. Elles sont alors à l'origine d'un nouvel allèle à l'origine d'une nouvelle version du caractère. Par exemple, des mutations peuvent transformer des levures de couleur blanche en levures de couleur rouge et vice versa.

## Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

### Matériel :

une souche de levures rouge  
des boîtes de pétri contenant un milieu nutritif sur lequel peuvent se développer les levures  
une étuve à 30°C reproduisant les conditions favorables au développement des levures  
matériel nécessaire pour réaliser des prélèvements et réaliser des mises en culture (tube d'eau stérile, compte-goutte, ensemenceur)  
une boîte à UV  
crayon  
fiche technique "*travailler en conditions stériles*"  
fiche technique "*réaliser un ensemencement*"  
logiciel de comptage et fiche technique

**Afin de déterminer** si l'effet mutagène des UV est dose dépendant :

A l'aide de la fiche "*réaliser un ensemencement*", mettre en culture des levures rouges dans différentes conditions

***Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.***

### Sécurité (logo et signification)



Comburant



Cancérogène,  
tératogène

### Précautions de la manipulation



**ATTENTION** de ne pas se brûler  
Bien respecter **les consignes d'utilisation de la boîte à UV** (cf. fiche sur la boîte)

### Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (s'il disponible)



**Etape A : Proposer une stratégie et mettre en œuvre un protocole pour résoudre une situation problème**  
(durée recommandée : 40 minutes)

**Proposer une stratégie** de résolution réaliste, à partir des ressources, du matériel et du protocole d'utilisation proposés.

**Présenter et argumenter** votre stratégie à l'oral.

**Préciser le matériel** dont vous aurez besoin pour mettre en œuvre votre stratégie.

**Mettre en œuvre votre protocole** pour obtenir des résultats exploitables.

*Si besoin et à tout moment et au plus tard après 15 minutes, **appeler l'examineur pour modifier à l'oral, votre stratégie.**  
**Appeler l'examineur pour vérifier les résultats** de la mise en œuvre du protocole.*

**P**  
**r**  
**o**  
**b**  
**l**  
**è**  
**m**  
**e**  
**p**  
**o**  
**s**  
**é**

**Etape spécifique (3 pts)**

Elaborer une stratégie pour résoudre le problème donné

Oral continu du candidat + réponses à des questions de l'examineur

- Sujet avec problème posé
- Documents initiaux
- Matériel et protocole non détaillé

**Vous devez préciser :**

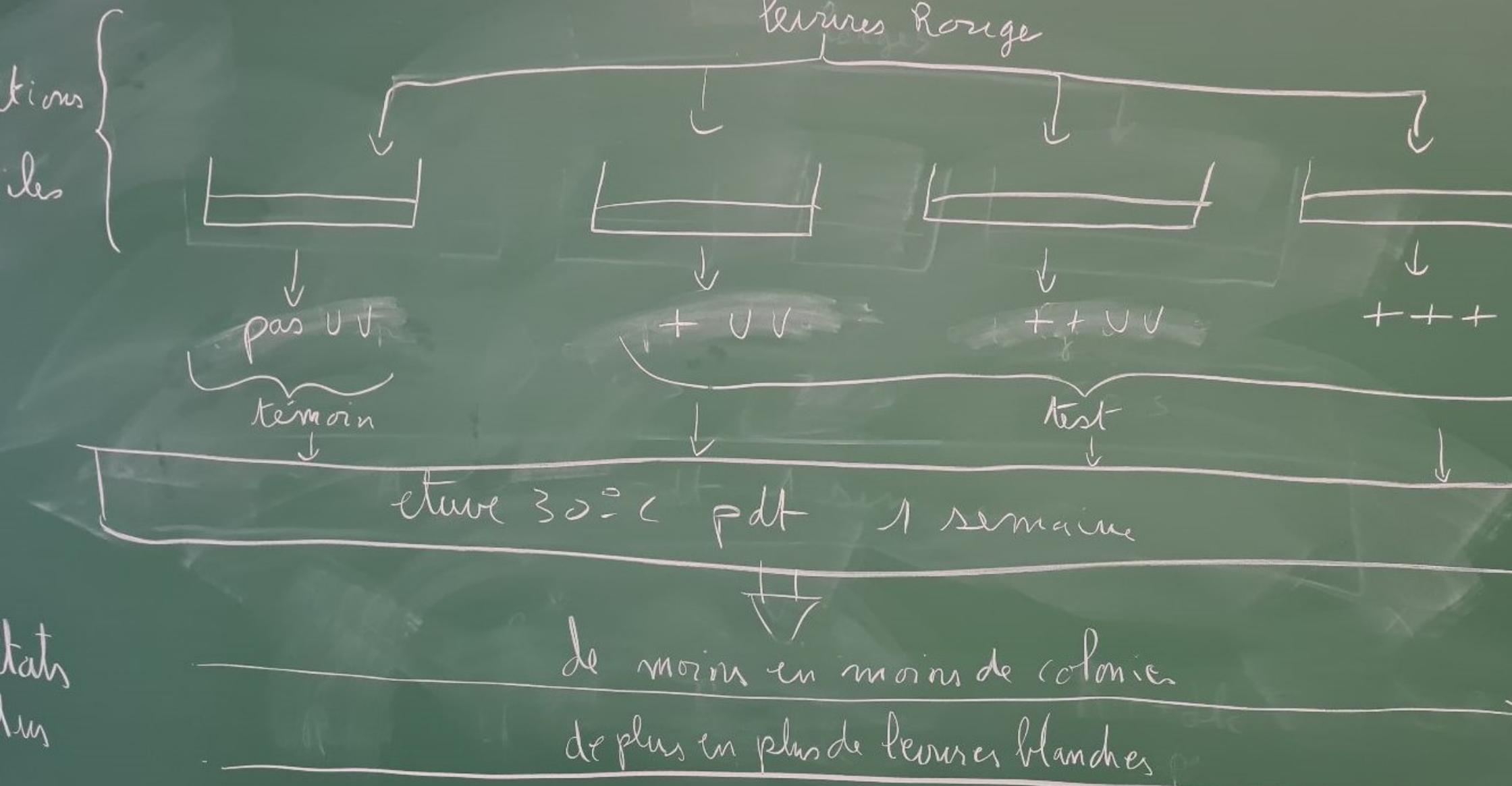
**- Ce que vous allez faire comme manipulation**

**- Comment vous allez le faire : penser aux témoins !**

**Vous pouvez (devez parfois) demander du matériel supplémentaire si c'est pertinent (par ex pour réaliser le témoin).**

**- Comment les résultats obtenus vont vous permettre de répondre à la question posée : Prévoir les résultats possibles et les conclusions qui en découleraient**

**Ex : si on obtient ....., alors .....**



Travailler en conditions stériles

Ensemencer des levures

## Mise en situation et recherche à mener

Si les mutations peuvent se produire de façon spontanée dans toutes les cellules, il existe des agents mutagènes qui augmentent leur probabilité d'apparition. Les ultraviolets en sont un exemple.

**On souhaite montrer que l'effet mutagène des UV est dose dépendant, c'est-à-dire que plus la dose d'UV reçue est importante plus la fréquence des mutations est grande.**

## Ressources

### Deux souches de levure

Les levures sont des organismes unicellulaires que l'on peut cultiver sur des milieux nutritifs dans des boîtes de Pétri, à conditions de les placer dans une étuve à la température favorable de 30°C.

Une levure invisible à l'œil nu au moment du dépôt, peut former en se multipliant (en une semaine environ) une colonie de levures identiques de forme circulaire observable à l'œil nu.

Il existe des colonies de couleur rouges et des colonies de couleur blanche.



Une culture de levures rouges



Une culture de levures blanches : chaque levure déposée a formé en une semaine une colonie visible à l'œil nu.

### La boîte à UV



Une boîte à UV est une enceinte dans laquelle on peut soumettre les levures à des rayonnements UV. Cette boîte est protégée de façon à ce que le manipulateur ne soit pas exposé aux UV.

*NB : la longueur d'ondes des UV utilisée (qui détermine leur « puissance ») est invariable.*

Les mutations peuvent être létales (= provoquer la mort) pour la cellule ou peuvent modifier l'information portée par un gène. Elles sont alors à l'origine d'un nouvel allèle à l'origine d'une nouvelle version du caractère. Par exemple, des mutations peuvent transformer des levures de couleur blanche en levures de couleur rouge et vice versa.

## Mise en situation et recherche à mener

Les mutations peuvent se produire de façon spontanée dans toutes les cellules, il existe des agents mutagènes qui augmentent leur probabilité d'apparition. Les ultraviolets en sont un exemple.

**Vous souhaitez montrer que l'effet mutagène des UV est dose dépendant, c'est-à-dire que plus la dose d'UV reçue est importante plus la fréquence des mutations est grande.**

## Consignes

**Phase A : Appropriation du contexte, proposition d'une stratégie et activité pratique (durée recommandée : 40 minutes)**

**Proposer une stratégie de résolution** afin de montrer que l'effet mutagène des UV est dose dépendant

*Appeler l'examineur pour formaliser votre proposition à l'oral.*

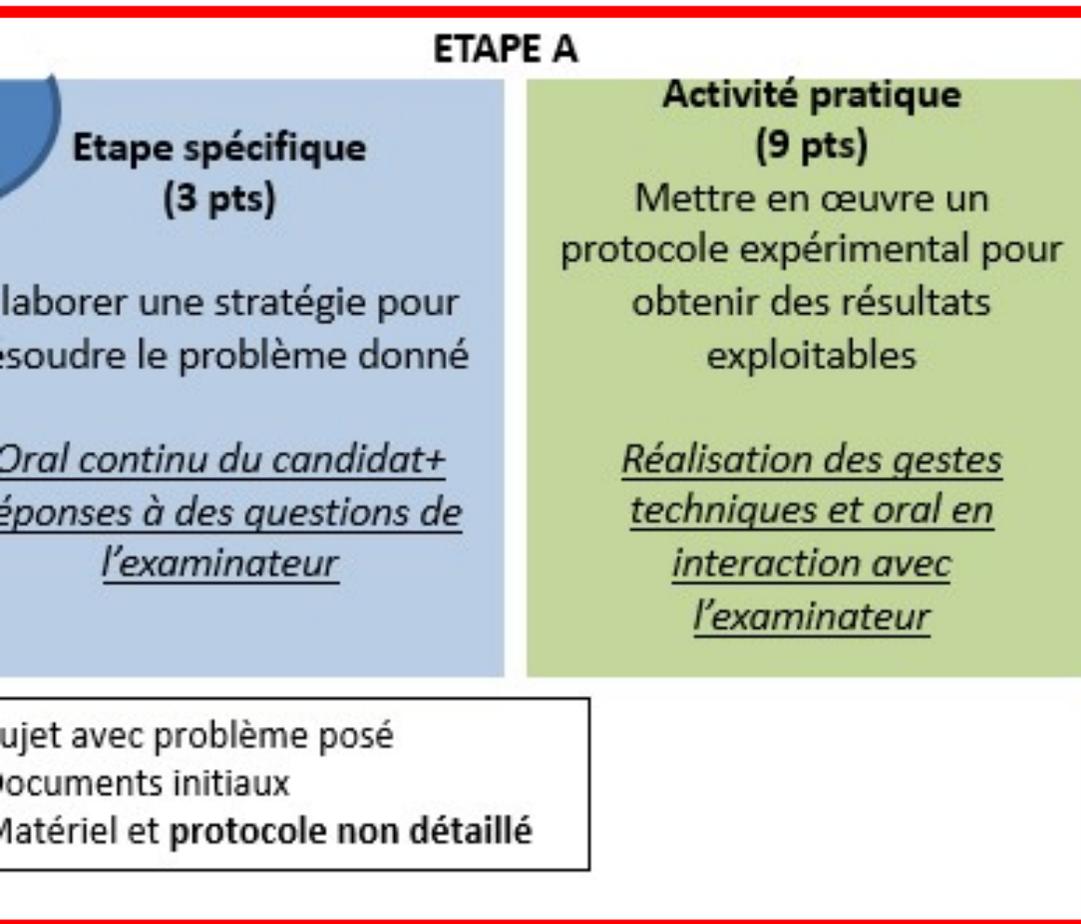
**Mettre en œuvre le protocole.**

**Phase B : Présentation et interprétation des résultats ; conclusion (durée recommandée : 20 minutes)**

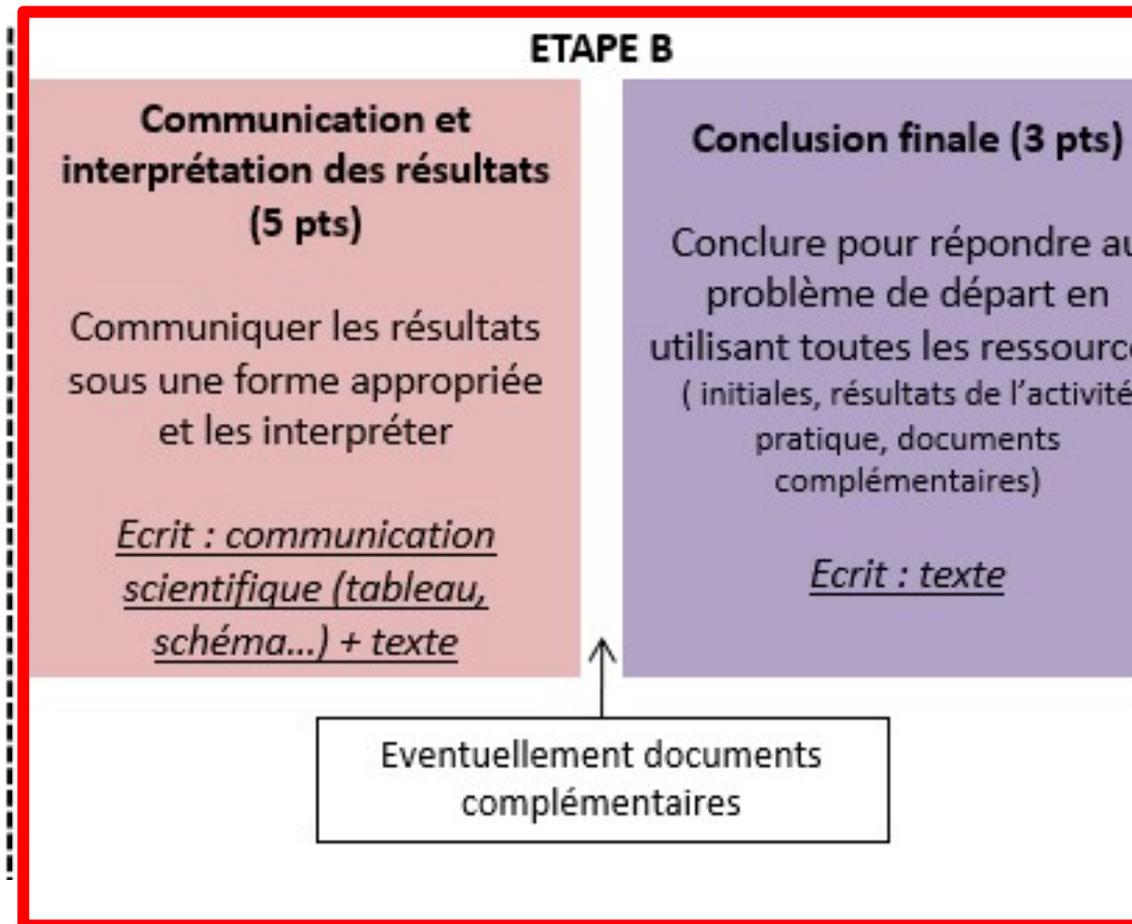
**Présenter et traiter les résultats obtenus**, sous la forme de votre choix et les **interpréter**.

*Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examineur pour vérifier votre production*

**Conclusion**, à partir de l'ensemble des données, si l'effet mutagène des UV est bien dose dépendant.

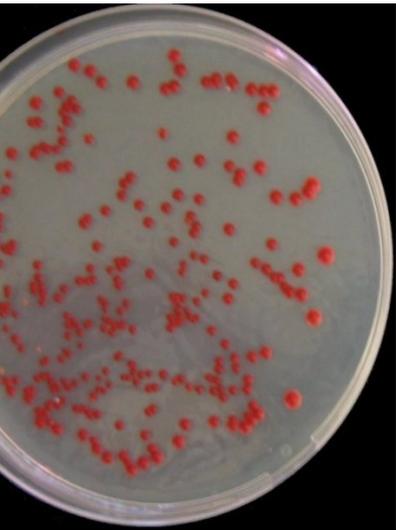


**Séance précédente**



**Aujourd'hui**

# oites de résultats (en lien sur le cahier de texte



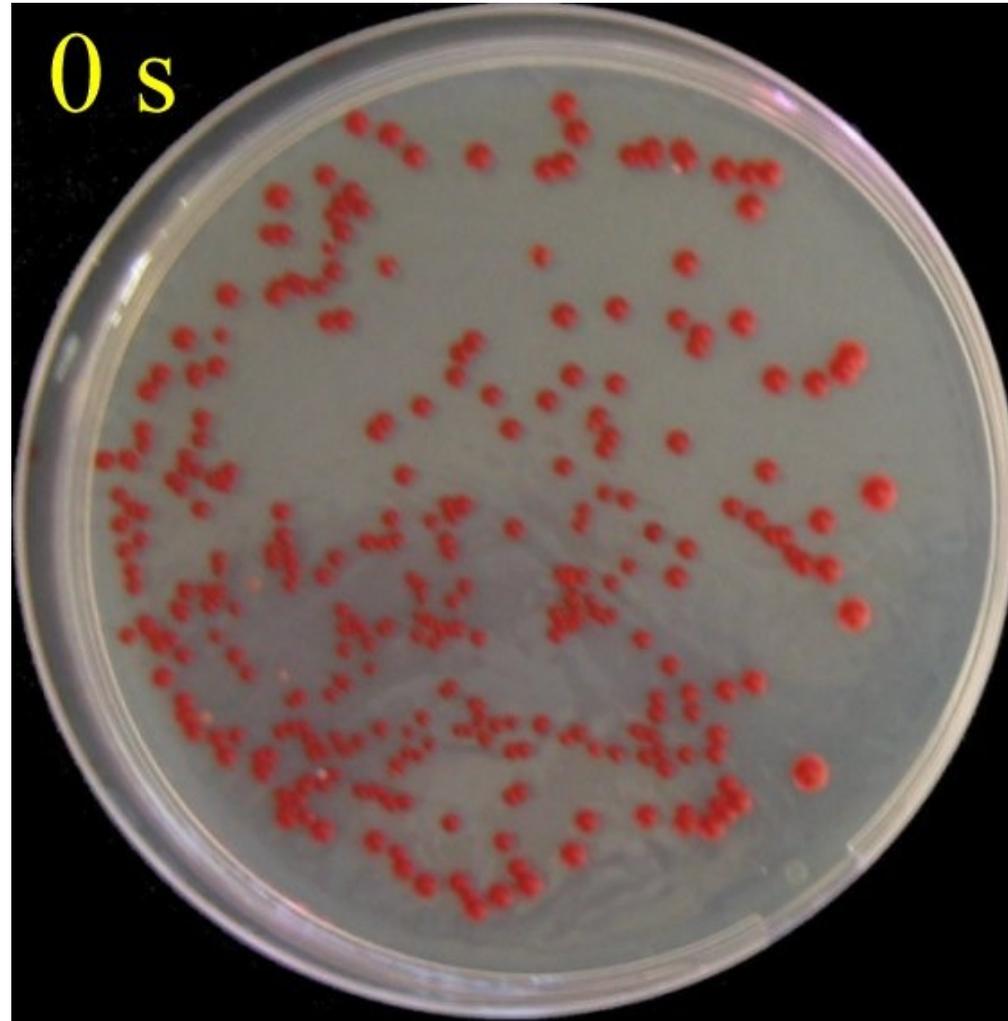
1. Ouvrir une photographie

MESURES AVEC MESURIM 2011

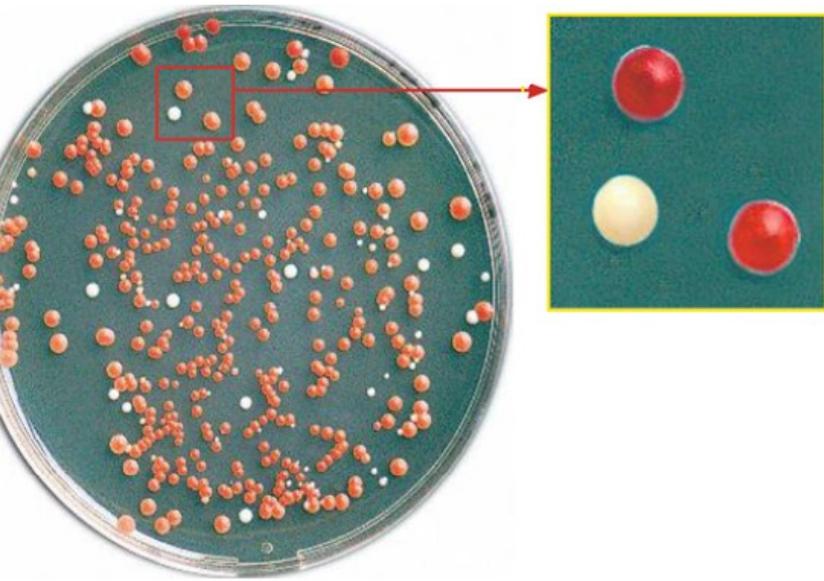
Principaux menus		Ajuster l'affichage avant/pendant une mesure ou un comptage
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menu «Image/Zoom»</li> <li>- Ajuster le niveau de zoom selon l'observation souhaitée (global/détail) L'ajustement conserve tout élément placé sur l'image (ligne, points de comptage...)</li> </ul>
		Créer une échelle
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menu «Image/Créer/Modifier l'Échelle» et cocher «Échelle à définir», OK</li> <li>- Choisir une couleur et le type d'échelle, Suite</li> <li>- Tracer une ligne avec le curseur de la souris sur une partie de l'image de calibrage dont la dimension est connue et reporter en haut dans les cases correspondantes, sa valeur et son unité, OK.</li> <li>- Cocher «Ajout temporaire». Choisir un Nom pertinent, OK.</li> </ul>
Faire une mesure :  et Choisir le type de mesure :		
Mesurer les dimensions d'un objet connaissant l'échelle	Mesurer des angles	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sélectionner l'image, puis «Image/Créer/Modifier l'Échelle»</li> <li>- Cocher «Échelle déjà mémorisée» et choisir le nom de l'échelle à utiliser</li> <li>- Tracer une ligne à la souris sur la partie de l'objet à mesurer : la mesure s'affiche en bas à droite.</li> </ul>	<p>Tracer à la souris deux segments en partant du sommet de l'angle à mesurer, des flèches apparaissent à l'opposé du sommet. La valeur de l'angle s'affiche en bas de l'écran.</p> <p><i>La valeur affichée est celle de l'angle compris entre le premier et le deuxième segment dans le sens trigonométrique.</i></p>	
Mesurer une surface (2 méthodes)		
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menu «Image / délimiter des zones »</li> <li>- Choisir le nombre de secteurs (itérations) à estimer.</li> <li>- Choisir pour chaque secteur un outil de couleur  et d'épaisseur  adaptées.</li> <li>- Mettre un point sur les différentes zones correspondant à un même secteur (type de roche, de minéral...), choisir une nouvelle couleur pour un deuxième secteur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menu «Choix/Outil de mesure / Surface »</li> <li>- Pour les surfaces disséminées (ex minéraux) Cocher «étendre la classification à tous les pixels» : le résultat s'affiche pour chaque élément en % de la surface totale de l'image ou en unité de surface si l'échelle a été définie.</li> <li>- Pour de grandes surfaces : cocher « Inclure » / « Alignement sur la couleur de la zone cliquée » / « étend les conditions » puis cliquer sur la zone de l'image à mesurer et sur « Mesurer ».</li> <li>- La zone mesurée apparaît en jaune, plus ou moins homogène. Cliquer de nombreuses fois sur le bouton « Agrandir les intervalles » puis sur « Mesurer » jusqu'à inclure tous les pixels voulus dans la mesure. La valeur de la surface à noter apparaît en % en bas de la fenêtre de mesure. Cliquer sur « RAZ » avant une autre mesure.</li> </ul>	
Compter des objets et présenter graphiquement les résultats		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compter des objets</li> <li>- Cliquer «Outils/Comptage», choisir dans la fenêtre flottante le nombre de séries à compter ; des couleurs par défaut sont attribuées à chaque série. Remplacer si nécessaire les numéros par des noms plus évocateurs</li> <li>- Cocher la ligne 1 et repérer dans l'image un objet appartenant à la classe 1</li> <li>- Cliquer sur l'objet, un point de la couleur de la classe s'affiche sur l'objet en même temps qu'il est comptabilisé dans le tableau.</li> <li>- Faire de même avec les autres objets de la série</li> <li>- Utiliser la même méthode pour les autres lignes.</li> <li>- Pour effacer un point cliquer dessus puis cliquer «oui» dans la fenêtre «Avertissement».</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Construire un graphique</li> <li>- Cliquer «Outils/Tableau» et cocher la première ligne.</li> <li>- Reporter les valeurs du compteur dans le tableau (en X le n° des séries et en Y le nombre d'objets comptabilisés)</li> <li>- Double-cliquer sur le graphique pour modifier sa présentation.</li> <li>REMARQUE : Il est possible d'enregistrer le tableau en fichier texte pour le traier dans un tableur (Excel ou OpenOffice) et construire un histogramme.</li> </ul>	

2. Réaliser un comptage

# TP : effet des UV sur des levures



# TP : effet des UV sur des levures



15 s d'exposition



30 s d'exposition

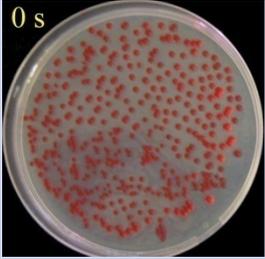
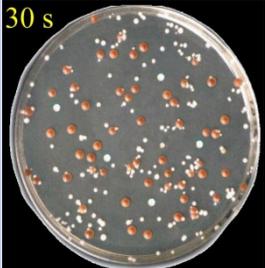
**diminution du nombre de colonies**  
**apparition de colonies mutées**



60 s d'exposition

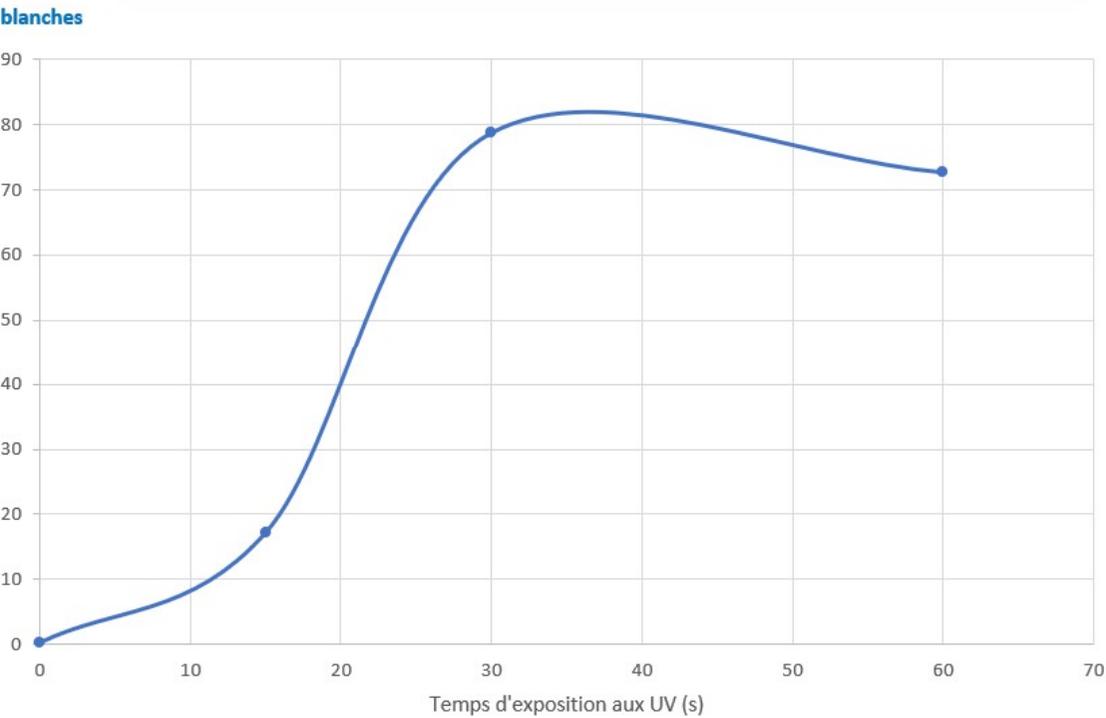
**TP : effet des UV sur des levures**

Tableau présentant les résultats de l'expérience d'irradiation de levures rouges

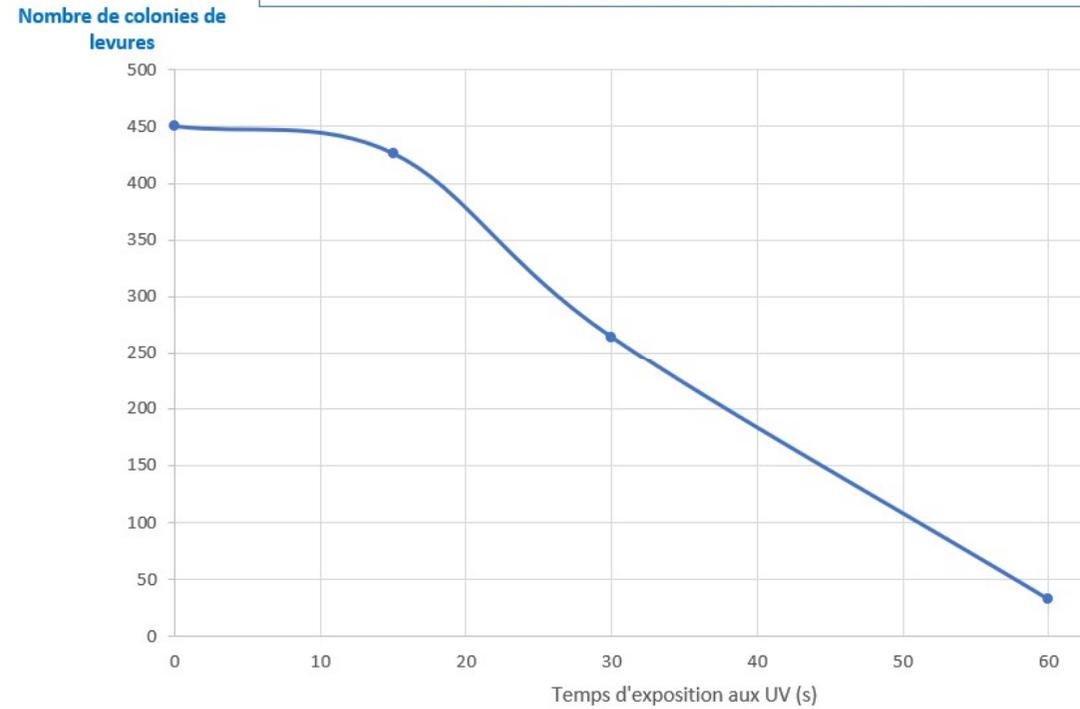
Temps d'exposition aux UV	Nombre total de colonies	% de colonies blanches (mutantes)
0s 	450	0,22
15s 	426	17,13
30s 	264	78,78
60s 	33	72,73

## TP : effet des UV sur des levures

Graphique montrant l'évolution du pourcentage de levures mutantes en fonction du temps d'irradiation



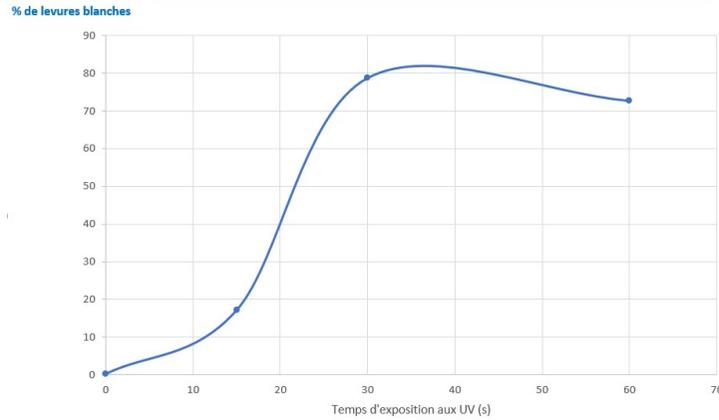
Graphique montrant l'évolution du nombre de colonies de levures en fonction de la durée d'irradiation



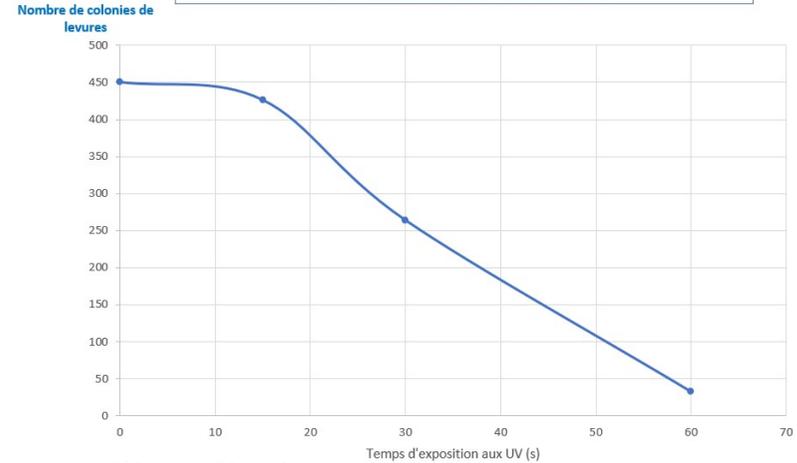
**Graphiques présentant les résultats de l'expérience d'irradiation de levures rouges**

## Exploitation des résultats

Graphique montrant l'évolution du pourcentage de levures mutantes en fonction du temps d'irradiation



Graphique montrant l'évolution du nombre de colonies de levures en fonction de la durée d'irradiation



### Graphiques présentant les résultats de l'expérience d'irradiation de levures rouges

Les levures rouges ont étéensemencées. **Je vois** que la proportion de levures blanches augmente avec la durée d'irradiation **or je sais** que des mutations peuvent modifier la couleur des levures, **j'en déduis** que plus le temps d'irradiation est important, plus la fréquence des mutations qui modifient la couleur des levures augmente.

**Je vois** que la mortalité des levures augmente avec la durée d'irradiation **or je sais** que de nombreuses mutations sont létales et provoquent la mort des cellules. **J'en déduis** que le nombre de mutations provoquant la mort de la cellule a augmenté avec la durée d'irradiation

**Conclusion :** L'expérience réalisée a permis de montrer que des temps d'exposition croissants aux UV entraînent une augmentation de la fréquence de **différentes mutations chez la levure** (mutations modifiant la couleur des levures, mutations létales). On peut donc conclure que **plus la dose d'UV augmente, plus la fréquence des mutations augmente => l'effet mutagène sur les cellules de levure est bien dose dépendant**

**Remarque critique :** la légère diminution du pourcentage de levures blanches pour une irradiation de 60 s est due au fait que le nombre total de colonies est très faible dans cette boîte. Les résultats ne sont donc pas significatifs pour cette boîte. Il faut vérifier que cet effet dose dépendant se retrouve bien chez d'autres organismes pour pouvoir généraliser

# TP : effet des UV sur des levures

Comparaison des séquences du gène :

Affichage des séquences

1 10 20 30 40 50 60 70 80 90

▲

▶ Souche sauvage ◀ ▶ 0 ATGGATTCTAGAACAGTTGGTATATTAGGAGGGGGACAATTGGGACGTATGATTGTTGAGGCAGCAAACAGGCTCAACATTAAGACGGTAA

◀ Souche Ade 2 ◀ ▶ 0 ATGGATTCTAGAACAGTTGGTATATTAGGAGGGGGACAATTGGGACGTATGATTGTTGAGGCAGCAAACAGGCTCAACATTAAGACGGTAA

▼ Sélection : 0/2 lignes ◀

103

100

\*\*\*\*\*

AGATGCTGAAAAT

-----

T

substitution

1717, ...

1710 1720 1730 1740 1750 1760 1770

\*\*\*\*\*

ACAAAGTATTGGGTTTTCCATTTCGTCTTGAAGTCGAGGACTTTGGCATACGATGGAAGAGGTA

-----

délétion