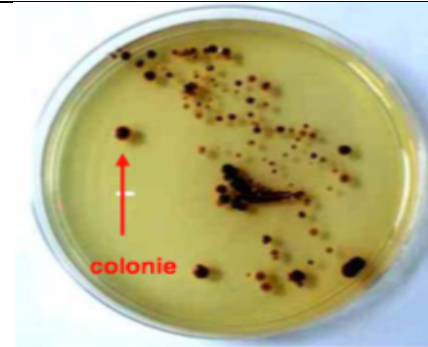


Les levures sont des champignons unicellulaires que l'on utilise fréquemment dans notre alimentation (pour faire « lever » la pâte par exemple). L'industrie agroalimentaire en a sélectionné de nombreuses souches, chacune ayant ses propres caractéristiques, par exemple la forme des colonies* (qui peut être variable selon les espèces : sphérique, ovoïde, en bouteille etc...) mais surtout par leur capacité à réaliser certaines réactions chimiques.

Chez la souche de **levure ade2**, il existe deux phénotypes alternatifs** en ce qui concerne la couleur de la colonie : certaines colonies sont de couleur rouge, d'autres, de couleur crème. Le caractère « couleur de la colonie » dépend de l'expression de plusieurs gènes. Dans ce TP, nous nous intéresserons plus particulièrement au gène ade2.

*Une colonie regroupe de très nombreuses levures ayant la même information génétique car issues de la multiplication d'une levure initiale par mitoses successives.

**Les phénotypes alternatifs correspondent à plusieurs variantes d'un même caractère.



Colonies de la souche ade2-
(colonies rouges)

Objectif : On cherche à expliquer l'influence d'un facteur environnemental (Les ultraviolets) sur le caractère « couleur des colonies » de levures de la souche Ade2

Matériel à disposition :

- Bec électrique
- Boîtes de Pétri contenant un milieu nutritif gélosé
- Pipette Pasteur stérile
- Suspension de levures
- Lampe à U.V
- Logiciel ANAGENE

Annexes :

- Protocole expérimental mutagenèse
- Fiche guide du logiciel ANAGENE

Partie 1 : Concevoir une stratégie et mettre en œuvre un protocole expérimental

Consignes :

- 1) Sur votre fiche compte rendu, rédigez une proposition de stratégie (= une démarche d'investigation) afin de montrer l'impact des ultra-violets sur le développement de la souche Ade2. Aidez vous de la fiche méthode fournie.
- 2) Suivre le protocole fourni en annexe. Veillez scrupuleusement à respecter les consignes de sécurité en ce qui concerne la manipulation en milieu stérile afin d'obtenir les résultats escomptés.

Cette étape est notée par votre enseignant

Les résultats de votre expérience seront disponibles d'ici 5 jours, vous les exploiterez donc au prochain TP. En attendant passez à la partie 2 du TP.

Partie 2 : Les différents types de mutations


Pour identifier les différentes mutations possibles dans les séquences d'ADN au cours de la réplication, nous allons travailler sur l'exemple du gène codant pour la synthèse de la chaîne bêta de la globine (l'une des chaînes de l'hémoglobine).

Pour comparer les allèles de ce gène, on utilise un logiciel de traitement de séquences nucléotidiques : **ANAGENE**.

Certaines séquences variantes de ce gène sont responsables de maladies génétiques graves : les thalassémies qui sont caractérisées par un défaut de fabrication de l'hémoglobine.

On comparera la séquence de l'allèle « normal » de ce gène (chez un individu sain) avec les différentes séquences d'allèles responsables de certaines thalassémies.


Consignes :

- 1) **Ouvrir** le logiciel ANAGENE (dossier logiciel sur le bureau)
- 2) **Cliquez** dans la barre de tâche sur : banque de séquences 
- 3) Pour ouvrir les séquences de l'allèle « normal », **cliquez successivement** sur :
 - Chaîne bêta
 - Séquence normales
 - Bétacod adn puis OK

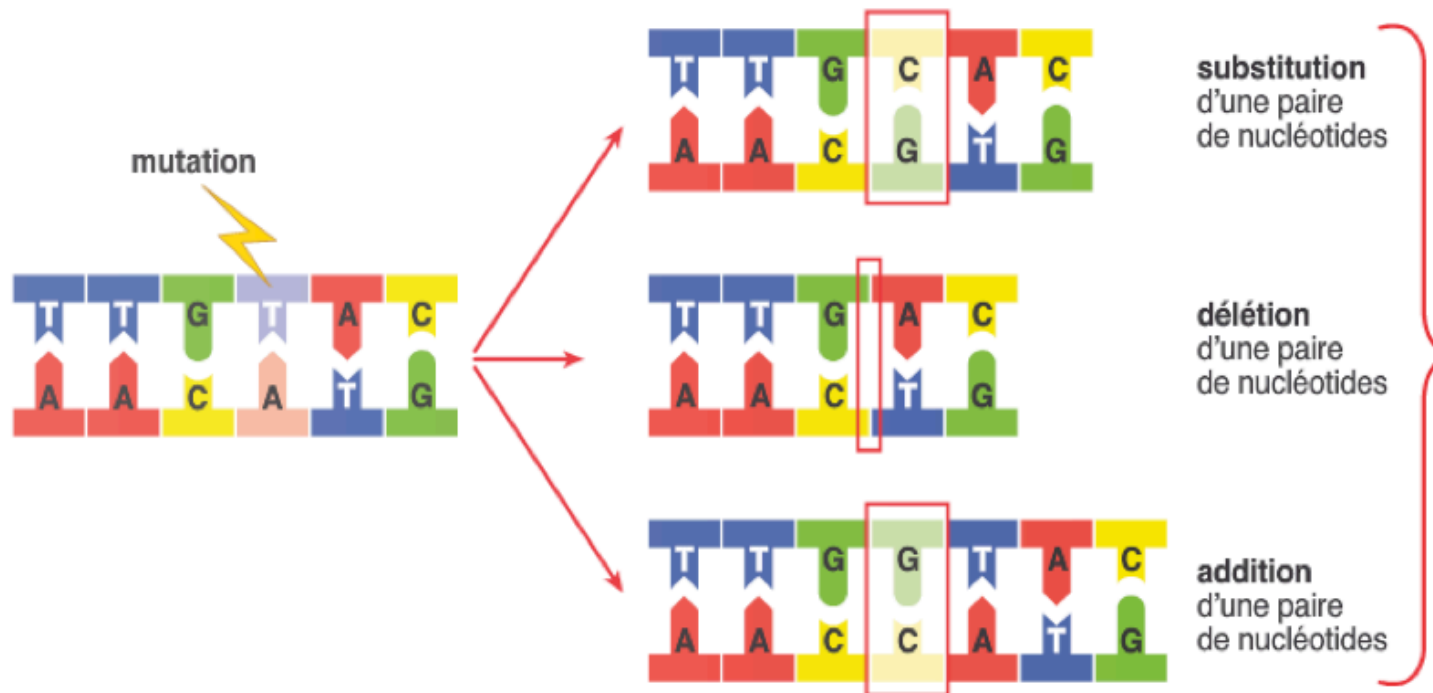
4) Pour **ouvrir** les séquences des allèles mutés :

- Retournez dans banques de séquences
- Chaîne hémoglobine
- Chaîne bêta
- Séquences mutées – Thalassémies
- Sélectionner tha1cod.adn, tha2cod.adn...jusqu'à tha8cod.adn puis OK

5) Pour **comparer** l'allèle « normal » aux allèles mutés du gène :

- Dans la fenêtre apparue « affichage des séquences », sélectionner « alignement avec discontinuité » 
- Une fenêtre de comparaison s'affiche : un – signifie que le nucléotide observé est identique à celui de l'allèle de référence (allèle sain).

6) A partir de l'ensemble des données obtenues **ET** du document 1 ci-dessous, **remplir** le tableau 1 de votre fiche compte rendu afin de déduire les différents types de mutations qui ont pu affecter le gène de la bêta globine.



Document 1 : fragilité de la molécule d'ADN