

TP 03 Protocole Effets d'un agent mutagène sur les levures

Vous déposerez toutes vos affaires sous la paillasse.

ATTENTION, pour votre sécurité et la réussite de l'expérience, respecter bien les conditions de travail suivantes :

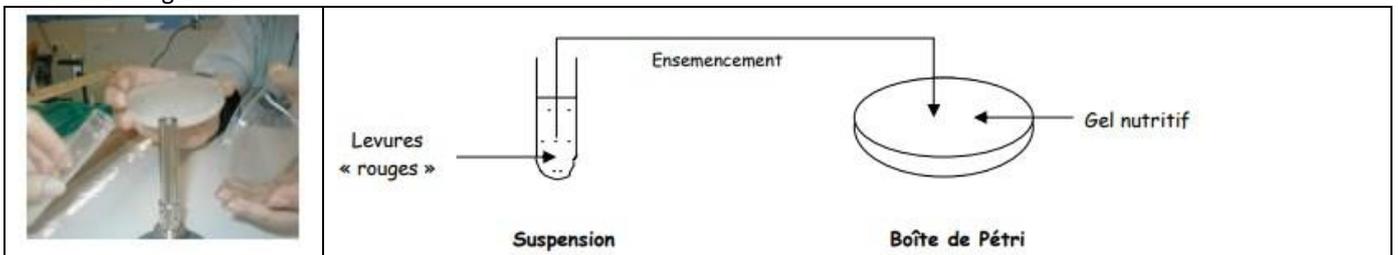
- Ne pas toucher le milieu des boîtes de pétri avec les mains et bien les laver en fin de séance : on ne contrôle jamais totalement ce que l'ont fait pousser sur un milieu complet...
 - Toujours agiter une suspension de levure avant d'en prélever car les levures sédimentent rapidement
 - Prendre l'habitude de noter au marqueur indélébile le contenu des boîtes et les initiales du binôme qui a manipulé
 - Ne pas contaminer l'espèce étudiée avec des souches externes et ne pas polluer l'environnement avec les expériences menées sur la souche étudiée :
 - o Nettoyer la paillasse à l'alcool ou à l'eau de javel
 - o Passer les mains à l'alcool
 - o Porter une blouse en coton
 - o Travailler dans une zone de stérilité lors de la manipulation des levures, des milieux, et instruments stériles, dans un diamètre de 35 cm autour de la flamme d'un bec électrique.
 - o Utiliser des instruments et des milieux stérilisés
 - o Placer les pipettes souillées dans un pot de javel
- et ne pas parler pour éviter toute contamination de l'air, ne pas faire de gestes brusques, ne pas porter les mains à la bouche**

ATTENTION : Une fois qu'un instrument ou un milieu stérile est entré en contact avec une cellule, le sol, une main, le col d'un tube, une solution ..., il est contaminé.

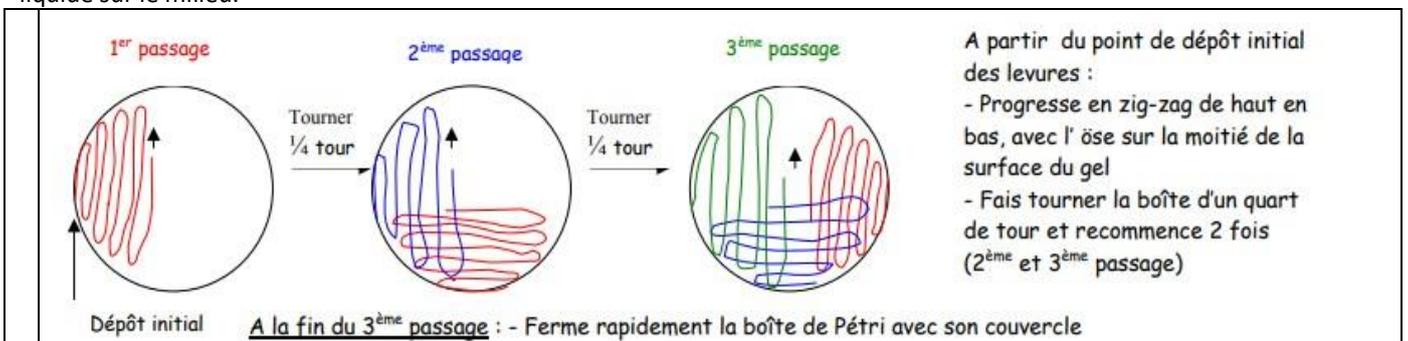
MANIPULATION:

1) Étalement des suspensions de levure sur la gélose des boîtes de Pétri :

- Verser avec un compte-gouttes stérile 0,1 mL (2 gouttes) de la suspension préalablement agitée sur une boîte de Pétri contenant la gélose.



- Etaler immédiatement avec un étaleur stérile d'un mouvement circulaire et répété, afin de répartir le mieux possible le liquide sur le milieu.



ATTENTION : Ne pas soulever la gélose lors de l'étalement.

- Noter cette boîte t=0, elle ne sera pas exposée aux UV.
- Penser à indiquer les initiales du binôme pour retrouver la boîte facilement.
- Déposer avec un autre compte-gouttes stérile, 0,1 mL (2 gouttes) de la suspension préalablement agitée sur une autre boîte de Pétri gélosée.
- Etaler immédiatement avec un autre étaleur stérile comme décrit ci-dessus. Mettre immédiatement le couvercle
- Noter la boîte t=15s, ou t=30s, ou t=60s, ou t=120s (selon le temps que vous a indiqué le professeur). Ce sera le temps d'exposition aux UV.
- Penser à indiquer les initiales du binôme pour retrouver la boîte facilement.

2) Exposition aux UV

- Les boîtes sont alors prêtes à être exposées au UV : pour cela enlever le couvercle puis le remettre après l'exposition.