

## 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 :**

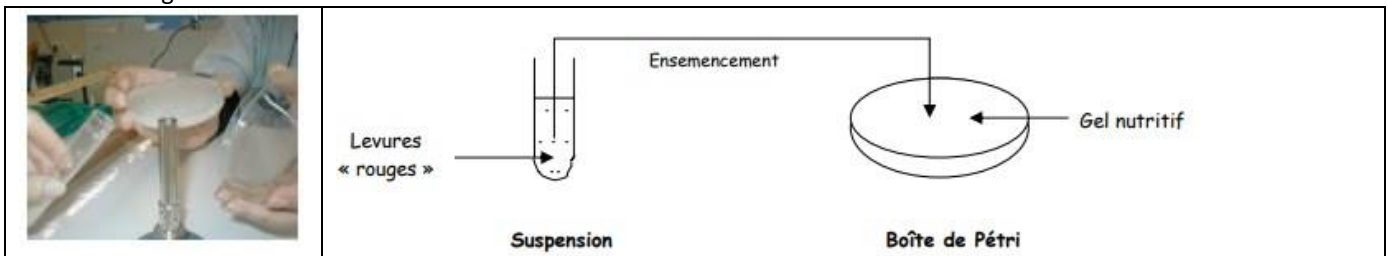
- Ne pas toucher le milieu des boîtes de pétri avec les mains et bien les laver en fin de séance : on ne contrôle jamais totalement ce que l'ont fait pousser sur un milieu complet...
  - Toujours agiter une suspension de levure avant d'en prélever car les levures sédimentent rapidement
  - Prendre l'habitude 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.**

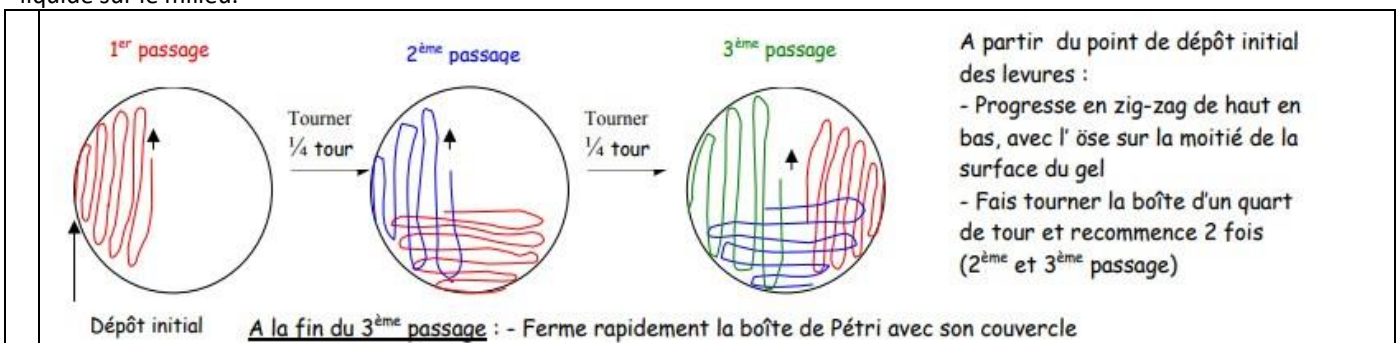
### MANIPULATION:

#### 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.