Université des Frères Mentouri Constantine1 Enseignante responsable :

Faculté des sciences de la nature et de la vie MEZIANI Meriem

Département de Microbiologie

Filière **: M1 Mycologie et Biotechnologie Fongique**

Matière : Génétique moléculaire des microorganismes.

Année universitaire : 2019-2020

**TP3 : Réparation des mutations provoquées par les rayons ultraviolets**

**But :** Le but c’est de comparer entre la réparation en phase obscure et la réparation en phase claire après mutagénèse de la levure *Saccharomyces cerevisiae* par les rayons ultraviolets.

**Mode opératoire :**

* Préparer un inoculum liquide de *Saccharomyces cerevisiae* levure boulangère (culture jeune)
* Préparer des dilutions décimales jusqu’à 10-5.
* Etaler 0.1ml de la dernière dilution 10-5 ou 3 gouttes à l’aide d’une pipette Pasteur sur gélose Sabouraud.
* Préparer 9 boites de Pétri (même dilution et même volume pour tous les ensemencements).
* Exposer 6 boites ouvertes aux UV pendant la durée qui correspond à 50% de survie de la population (voir les résultats du TP2 de la courbe de survie).
* Garder 3 boites non irradiées comme témoins.
* Envelopper les trois boites témoins et trois des six boites irradiées dans le papier aluminium. Les trois autres boites restantes ne seront pas enveloppées.
* Incuber toutes les boites (irradiées et témoins) dans l’étuve contenant une lampe à lumière blanche pendant 5 jours à 30°C.

**Lecture :**

* le comptage des colonies se fait à l’aide d’un compteur de colonies
* Tracer un tableau des résultats.
* Calculer la moyenne (nombre) des colonies des 3 boites pour :
* Les boites irradiées enveloppées
* Les boites irradiées exposées à la lumière blanche
* Les boites témoins

**Résultats et interprétation :**

 On observe que :

* Le nombre le plus élevé est dans les boites témoins, ensuite dans les boites incubées en phase claire en présence de la lumière blanche et enfin dans les boites irradiées enveloppées. Cela s’explique par le principal effet des rayons UV (dimérisation des bases pyrimidiques essentiellement les thymines adjacentes) et la réparation de cette mutation par le microorganisme et le rôle de la lumière blanche dans la stimulation de l’enzyme photolyase responsable de la réparation de cette mutation dont ce mécanisme s’appelle photoréversion.