

Protocole de TP

Mettre en évidence des caractéristiques phénotypiques d'un clone

► **Matériel nécessaire :**

- matériel pour stériliser la zone de travail (Javel, bec électrique, savon)
- boîtes de Petri avec milieu nutritif
- levures *ade2*- en suspension
- micropipette
- râteau stérile
- ruban adhésif étirable
- étuve

► **Protocole :**

A. PRÉPARER UN ENVIRONNEMENT STÉRILE

1. Après avoir nettoyé la paillasse à l'eau de Javel, placer le bec électrique en son centre puis l'allumer.
2. Quand l'appareil est chaud, relaver la paillasse à l'eau de Javel.
L'environnement est alors stérile dans un rayon de 30 cm (sur le plateau).
3. Bien se laver les mains au savon.
4. Placer les instruments que vous utiliserez dans la zone stérile (si besoin les stériliser à l'alcool auparavant)

Attention aux déplacements d'air (porter un masque, pas de mouvements brusques, ne pas parler en direction du bec, pas d'éternuement).

2. REPIQUER DES SOUCHES DE LEVURES *ade2*-

Toutes les manipulations se font dans la zone stérile et à aucun moment, la gélose ne doit être percée.

1. Placer les boîtes de Petri à côté du bec électrique, couvercle vers le haut.
5. Juste avant le prélèvement, remettre les levures en suspension en agitant délicatement le récipient contenant les levures, pour bien séparer les cellules.
6. Déposer à l'aide de la micropipette automatique 100 μ L de suspension sur la boîte de Petri.
7. L'étaler délicatement sur l'ensemble de la boîte à l'aide du râteau stérile.
Le râteau reste fixe, c'est la boîte que vous devez faire tourner.
8. Refermer immédiatement la boîte.
9. Sceller les boîtes de Petri à l'aide d'un ruban adhésif étirable.
10. Les placer à l'étuve pendant 7 jours à 25° C.