

Kit dérivation génétique

Réf. DERIV1-DERIV2

A RECEPTION DU COLIS :

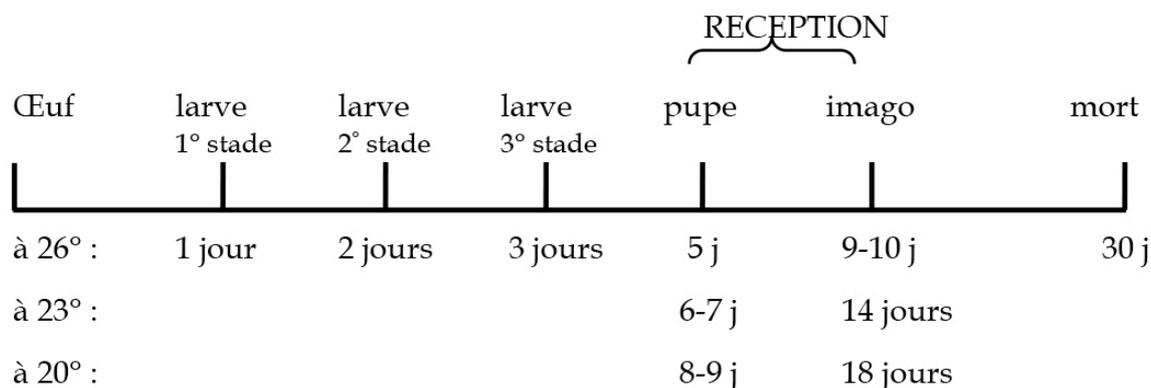
☒ **Vérifier la composition** du colis indiquée en page 2

☒ **Stockage** et maturation des élevages :

Ne pas placer les tubes au réfrigérateur (les larves pourraient être tuées), suivre les conseils de maturation ci-dessous :

Les tubes sont expédiés avec des larves au stade du passage pupa-adulte. La vitesse à laquelle va s'effectuer ce phénomène dépend principalement de la température à laquelle vont être stockés les tubes.

A titre d'exemple :



Ces chiffres sont indicatifs car il existe une variabilité au sein de chaque souche ainsi qu'entre différentes souches et génotypes.

De plus, nous avons laissé les pontes s'effectuer durant plusieurs jours avant d'ôter les parents. Les larves n'ont donc pas toutes le même âge.

D'une manière approximative, les mouches vont éclore dans une période de :

8 à 20 jours à dater de la réception, si elles sont mises à 20°

4 à 8 jours, si elles sont mises à 26°.

Afin d'avoir le maximum de drosophiles, il est conseillé de les garder 15 jours à 20° (ou 7 jours à 26°) après la date de réception.

Les drosophiles vivent environ 3 semaines après l'éclosion.

COMPOSITION DU COLIS :

OPTION N°1 :

DERIV1

- 1 Tube de drosophiles sauvage
- 1 Tube de drosophiles yeux White
- 1 Tube de drosophiles yeux rouge vif
- 1 Tube de drosophiles yeux marron

OPTION N°2 :

DERIV2

- 1 Tube de drosophiles sauvage
- 1 Tube de drosophiles corps ébène
- 1 Tube de drosophiles ailes vestigiales
- 1 Tube de drosophiles ailes vestigiales et corps ébène

OPTION N°3 :

DERIVMED

- 40 tubes vides (avec bouchons)
- 4 flacons de cultures (avec bouchons)
- 1 sachet de milieu déshydraté (qsp 40 tubes et 4 flacons)

OPTION N°4 :

DERIVMAT

- 2 éthériseurs
- 1 flacon de 10 ml de Flynap

MATERIEL NECESSAIRE :

- Loupe binoculaire
- Pinceau
- Entonnoir en matière plastique
- Ethériseur
- Flynap pour endormir les drosophiles

Note : L'éther est fortement déconseillé.

OBJECTIFS COGNITIFS :

Dans une population de grande dimension, les fréquences des allèles sont généralement stables. La dérive génétique est une modification aléatoire de la diversité des allèles. Elle se produit de façon plus marquée lorsque l'effectif de la population est faible.

PRINCIPE DE LA MANIPULATION :

Chaque groupe d'élèves sélectionne au hasard 25 drosophiles parmi une population hétérogène composée de 500 à 1000 drosophiles :

Afin de faciliter le travail en atelier et l'échange entre les élèves d'une même classe suggérés par le nouveau programme de seconde, nous avons choisi de proposer deux exemples d'étude :

- La couleur des yeux
- La taille des ailes et la couleur du corps

Les élèves endorment les drosophiles et sélectionnent complètement au hasard 25 drosophiles. Les drosophiles sélectionnées sont mises en culture dans des tubes.

Le reste de la population est mis en culture dans un flacon de milieu en plastique de milieu (entre 250 et 750 drosophiles en fonction du nombre initial).

Après 20 jours de culture à 20°C, la génération suivante est née. La nouvelle génération et les parents sont transvasés dans un nouveau tube de milieu et mis en culture pendant 10 jours à 20°C.

Note : Entre 23 et 28°C, le temps d'obtention de la génération suivante est plus court (environ 15 jours).

Lorsque le tube est bien grouillé, on élimine les drosophiles vivantes et on attend que la génération suivante naisse pour pouvoir comparer la diversité phénotypique (ou allélique) entre la population isolée et la population de plus grande dimension après deux générations.

OBSERVATION DES DROSOPHILES :

Une fois endormies ou mortes (en fonction du temps passé au contact du Flynap) les mouches peuvent être répandues sur une surface blanche (carreau de faïence ou, à défaut, papier). Manipuler les drosophiles délicatement avec un pinceau fin, plume ou pince pour les orienter afin de déterminer sexe et phénotype.

Les mouches endormies peuvent se réveiller. Il suffit de les replacer quelques dizaines de seconde dans l'éthériseur. Observez la totalité de la descendance et pas seulement les premières mouches écloses, car les femelles naissent les premières.

Les drosophiles sauvages :

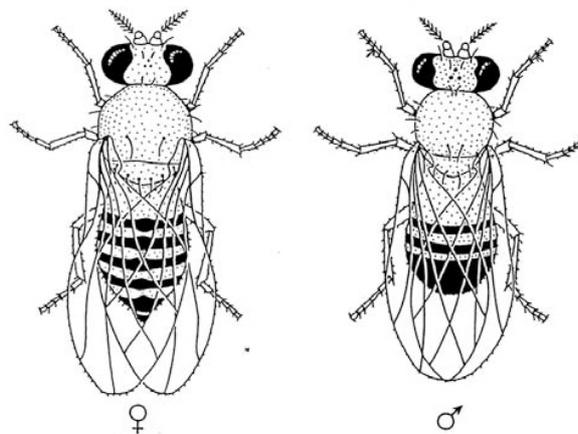
Apprendre à repérer les différents organes à l'aide du schéma ci-dessous que les élèves légendront (annexe 3), apprendre également à distinguer les mâles des femelles :

- organes sexuels : avec la forme de l'abdomen, c'est le détail qui permet de les distinguer le plus facilement. Placer la mouche sur le dos : La plaque génitale (à l'extrémité de l'abdomen) est très colorée (rouge brun à brun foncé) alors que la plaque vaginale ne l'est pas.

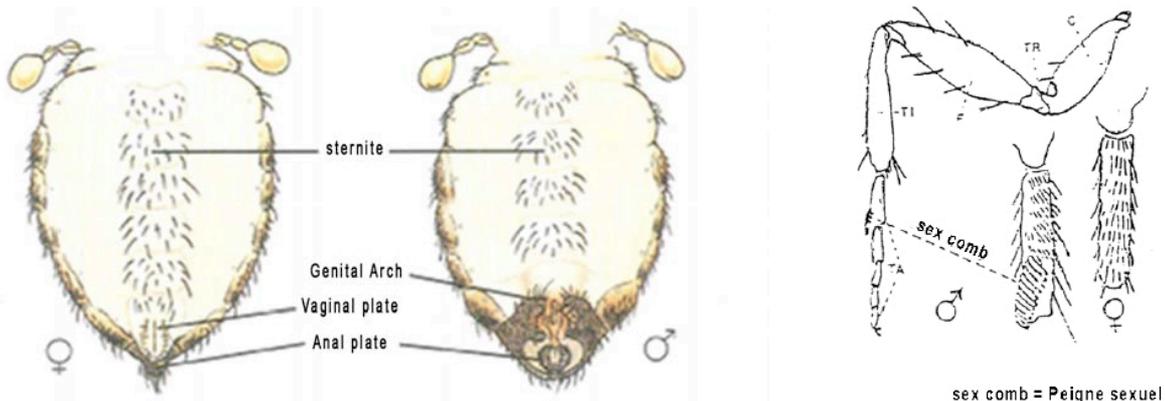
- différence de taille : les femelles sont légèrement plus grandes que les mâles.

- différence dans la forme et la couleur de l'abdomen. Vu dorsalement, l'abdomen de la femelle est de forme pointue, avec des segments terminaux gris assez clair. L'abdomen du mâle, plus arrondi, a des segments terminaux gris très foncé.

- présence de « peignes sexuels » chez le mâle seulement. Il s'agit d'une touffe de poils noirs, au niveau métatarse - 1er article du tarse de la paire de pattes antérieures. Ce critère est particulièrement utile chaque fois que la différence de coloration ou de forme de l'abdomen entre mâles et femelles n'est pas clairement perceptible (individus à peine éclos, mutants de coloration du corps, mutants plus ou moins déformés).
Mouches adultes (D'après T.H. Morgan)

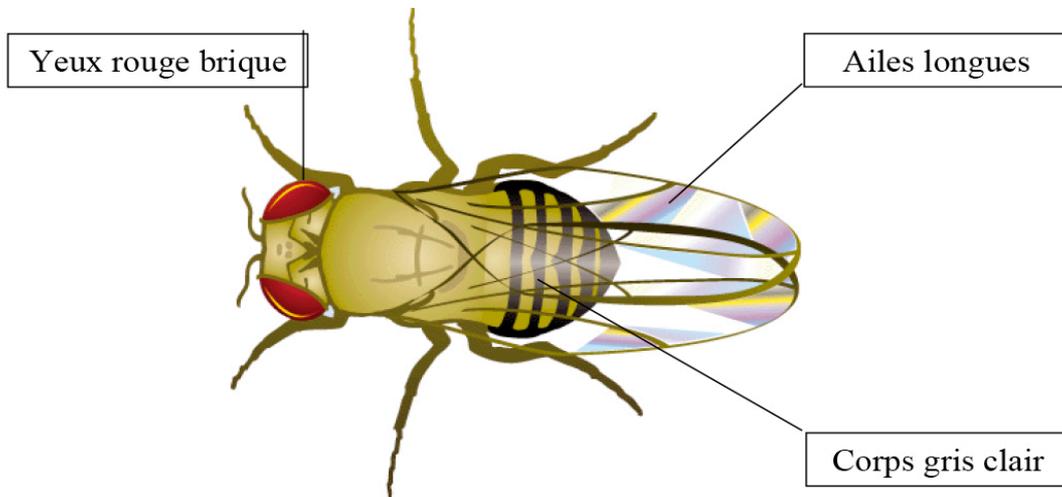


Abdomen (d'après Bridge)



Drosophiles mutées :

Une mutation sera définie comme une modification par rapport au phénotype sauvage.



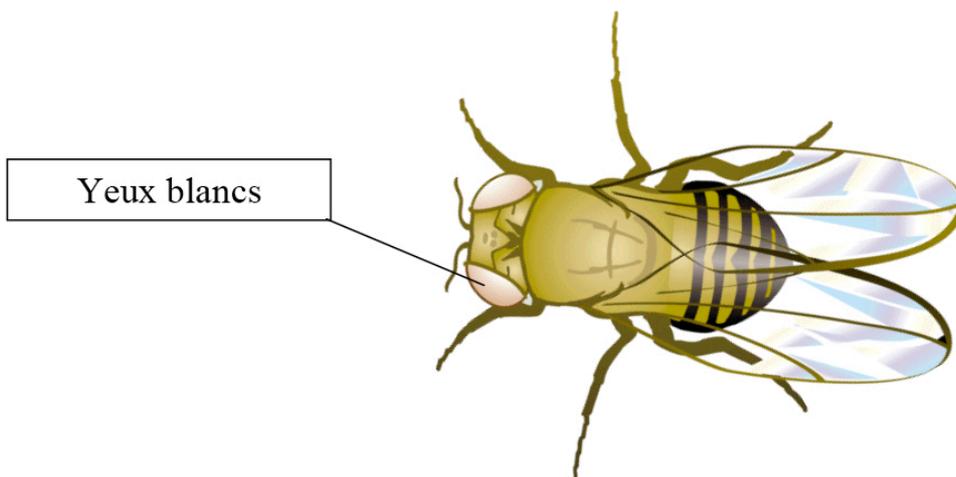
a) La mutation White :

Cette mutation entraîne la modification de la couleur des yeux : la drosophile produit une matière organique rouge qui colore son œil. Les mouches White sont caractérisées par l'absence de ce pigment.

C'est une mutation ponctuelle (modification d'un caractère).

Tous les descendants présentent la même mutation : elle se transmet de génération en génération.

La mutation est localisée sur le chromosome sexuel X.



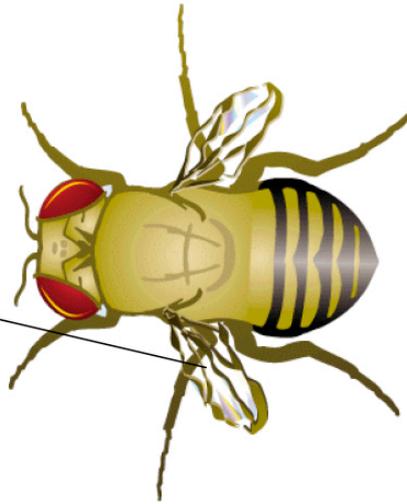
b) La mutation Vestigiale :

La drosophile produit une substance qui rigidifie les nervures de ses ailes. Dans le cas de la mutation Vestigiale, les mouches présentent des ailes chiffonnées (dus à l'absence de production de cette substance rigidifiante) et sont incapables de voler.

C'est une mutation ponctuelle également.

La mutation est localisée sur le chromosome II.

Ailes chiffonnées



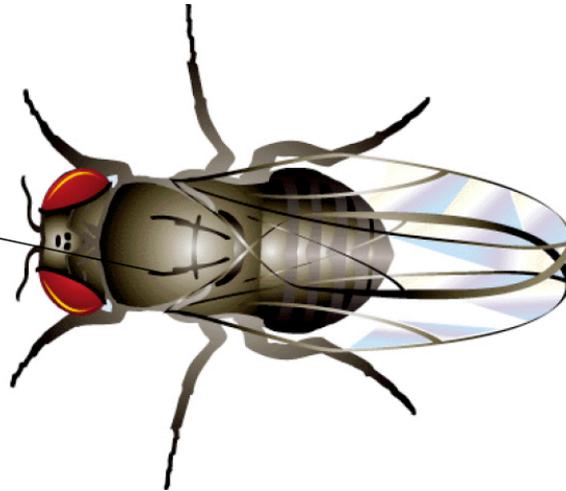
c) La mutation Ebony :

La drosophile Ebony possède un corps de couleur presque noire due à l'accumulation d'un pigment normalement synthétisé par la drosophile sauvage.

C'est une mutation ponctuelle également.

La mutation est localisée sur le chromosome III.

Corps Ebène



d) La mutation Scarlett :

La drosophile Scarlett possède des yeux de couleur rouge vif.

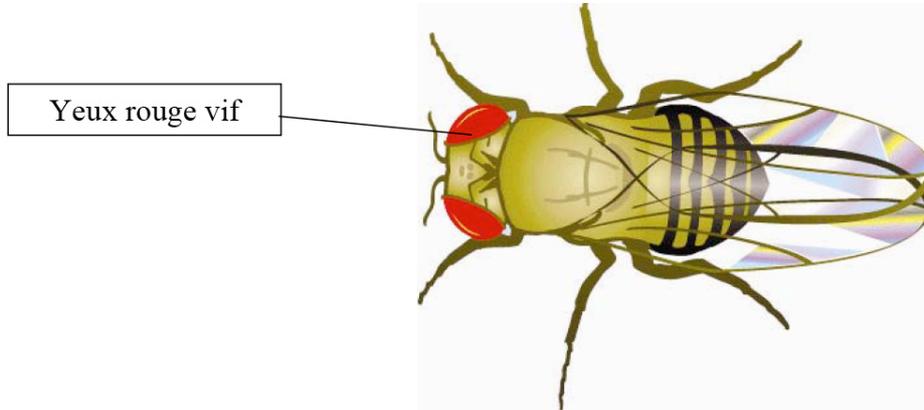
La couleur rouge brique des yeux de la drosophile est obtenue par le mélange de deux pigments brun et rouge vif.

C'est une mutation qui inhibe la synthèse d'un pigment brun qui est responsable de la couleur rouge vif des yeux de cette drosophile.

C'est une mutation ponctuelle (modification d'un caractère).

Tous les descendants présentent la même mutation : elle se transmet de génération en génération.

La mutation est localisée sur le chromosome III.



e) La mutation Brown :

La drosophile Brown possède des yeux de couleur marron.

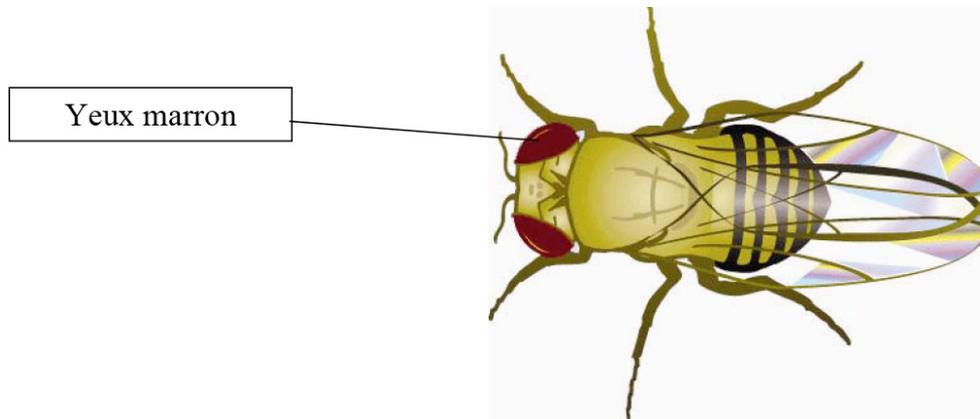
La couleur rouge brique des yeux de la drosophile est obtenue par le mélange de deux pigments brun et rouge vif.

C'est une mutation qui inhibe la synthèse d'un pigment rouge vif qui est responsable de la couleur marron des yeux de cette drosophile.

C'est une mutation ponctuelle (modification d'un caractère).

Tous les descendants présentent la même mutation : elle se transmet de génération en génération.

La mutation est localisée sur le chromosome II.



PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE :

Pour la préparation du milieu, suivre les instructions fournies avec le milieu :

Le milieu déshydraté est prêt en moins de deux minutes :

1 dose de milieu + 1 dose d'eau + 1 pincée de levures.

Préparer le milieu de culture la veille et conserver au réfrigérateur.

Sortir les tubes du réfrigérateur 30 minutes à 1 heure avant la manipulation.

La manipulation se déroulant en deux séances, nous vous conseillons de

préparer la quantité de milieu adapté pour chaque séance :

1ère séance : 10 tubes et 1 flacon par sujet d'étude (si vous avez sélectionné les deux sujets d'étude ou si vous avez sélectionné deux fois le même sujet, il faudra préparer 20 tubes et 2 flacons).

MANIPULATION

1) Première séance : Prélèvement des mouches, création des populations

Préparer un éthériseur (voir annexe 2).

Vider le contenu des quatre tubes de l'option 1 et/ou de l'option 2 (en fonction du ou des sujets d'étude choisis) dans un éthériseur.

Pour éviter la fuite des drosophiles, tapoter le fond du tube sur la table pour faire tomber les mouches au fond du tube, enlever le bouchon et retourner rapidement le tube sur l'éthériseur.

Boucher ensuite l'éthériseur et laisser les drosophiles s'endormir.

Lorsque la totalité des drosophiles ont cessé de bouger, transvaser les drosophiles dans une dizaine de coupelles et laisser les élèves prélever au hasard avec un pinceau 25 drosophiles et les mettre en culture dans des tubes de milieu.

Regrouper les drosophiles non sélectionnées dans un flacon de culture.

Chaque groupe d'élève se retrouve alors avec un tube contenant 25 drosophiles alors que le professeur a un flacon de culture contenant plus de 200 drosophiles.

2) Culture

Après avoir noté les initiales des binômes sur les tubes, placer tubes et flacons à l'étuve entre 23 et 28°C.

A défaut d'étuve, placer les drosophiles à température ambiante (20°C minimum).

Si les cultures sont réalisées dans une étuve, nous vous conseillons de placer une coupelle d'eau à côté des tubes afin que l'atmosphère soit humide et que les tubes ne s'assèchent pas.

Durée de culture :

15 jours à 23-28°C

20 jours à 20°C

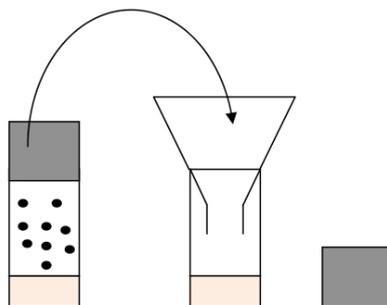
Pendant ce délai, les drosophiles vont se reproduire, pondre et la nouvelle génération va naître et se mélanger aux parents.

3) Deuxième séance : Transvasement des drosophiles dans un milieu de culture neuf

Pour chaque tube de culture :

Transvaser la totalité des drosophiles dans un tube de milieu neuf en utilisant un entonnoir en matière plastique.

Pour éviter la fuite des drosophiles, préparer le tube de milieu neuf en plaçant un entonnoir sur le tube, tapoter le fond du tube contenant les drosophiles sur la table pour faire tomber les mouches au fond du tube, enlever le bouchon et retourner rapidement le tube sur l'entonnoir.



Faire de même pour le flacon de culture.

4) Culture

Après avoir noté les initiales des binômes sur les tubes, placer tubes et flacons à l'étuve entre 23 et 28°C. A défaut d'étuve, placer les drosophiles à température ambiante (20°C minimum).

Si les cultures sont réalisées dans une étuve, nous vous conseillons de placer une coupelle d'eau à côté des tubes afin que l'atmosphère soit humide et que les tubes ne s'assèchent pas.

Durée de culture :

7 jours à 23-28°C

10 jours à 20°C

Pendant ce délai, les drosophiles vont se reproduire et pondre.

Une fois que le milieu est bien grouillé par les larves, éliminer les drosophiles vivantes (parents + première génération) et laisser les drosophiles naître.

Note : Les drosophiles peuvent être éliminées en les transvasant dans un éthériseur et en les laissant plus de 20 minutes au contact des vapeurs de Flynap.

Les drosophiles doivent naître après 5 à 10 jours.

5) Observation

Une fois la deuxième génération de drosophiles née, les élèves vont observer et compter les drosophiles de chaque phénotype.

Les résultats de chaque binôme pourront être comparés aux résultats des autres binômes ainsi qu'aux résultats du flacon contenant la plus grande population.

Afin d'observer les mouches, il est nécessaire de les endormir (ou de les tuer) avec du FLYNAP dans un éthériseur. L'étape difficile consiste à ouvrir le tube sans que les mouches s'envolent.

L'astuce utilisée pour tout transvasement est de taper le fond du tube sur un torchon plié afin de faire tomber les mouches sur la gélose.

Lorsque plus aucune mouche ne vole, ôter très vite le bouchon et le retourner sur un éthériseur.

Taper l'ensemble modérément (pour ne pas faire tomber la gélose) afin de faire passer les mouches au travers de l'entonnoir dans l'éthériseur.

Pour les endormir, verser du FLYNAP sur le coton de l'éthériseur et fermer l'ensemble avec le bouchon et le tourillon fourni.

Une fois que plus aucune mouche ne bouge, l'éthériseur peut être ouvert et l'observation peut commencer.

👁️👁️ **ATTENTION** 👁️👁️, les mouches non endormies sont très vives !

Note : Il est possible d'endormir les mouches directement dans le tube de culture, mais les mouches endormies risquent alors de se coller les ailes sur la gélose humide et ne pourront donc plus être prélevées. Il faut alors coucher le tube durant l'action du FLYNAP.

Il est également possible d'utiliser un tube vide ou un erlen vide avec un entonnoir à la place de l'éthériseur.

L'utilisation d'éther est fortement déconseillée.

6) Exemple de résultats

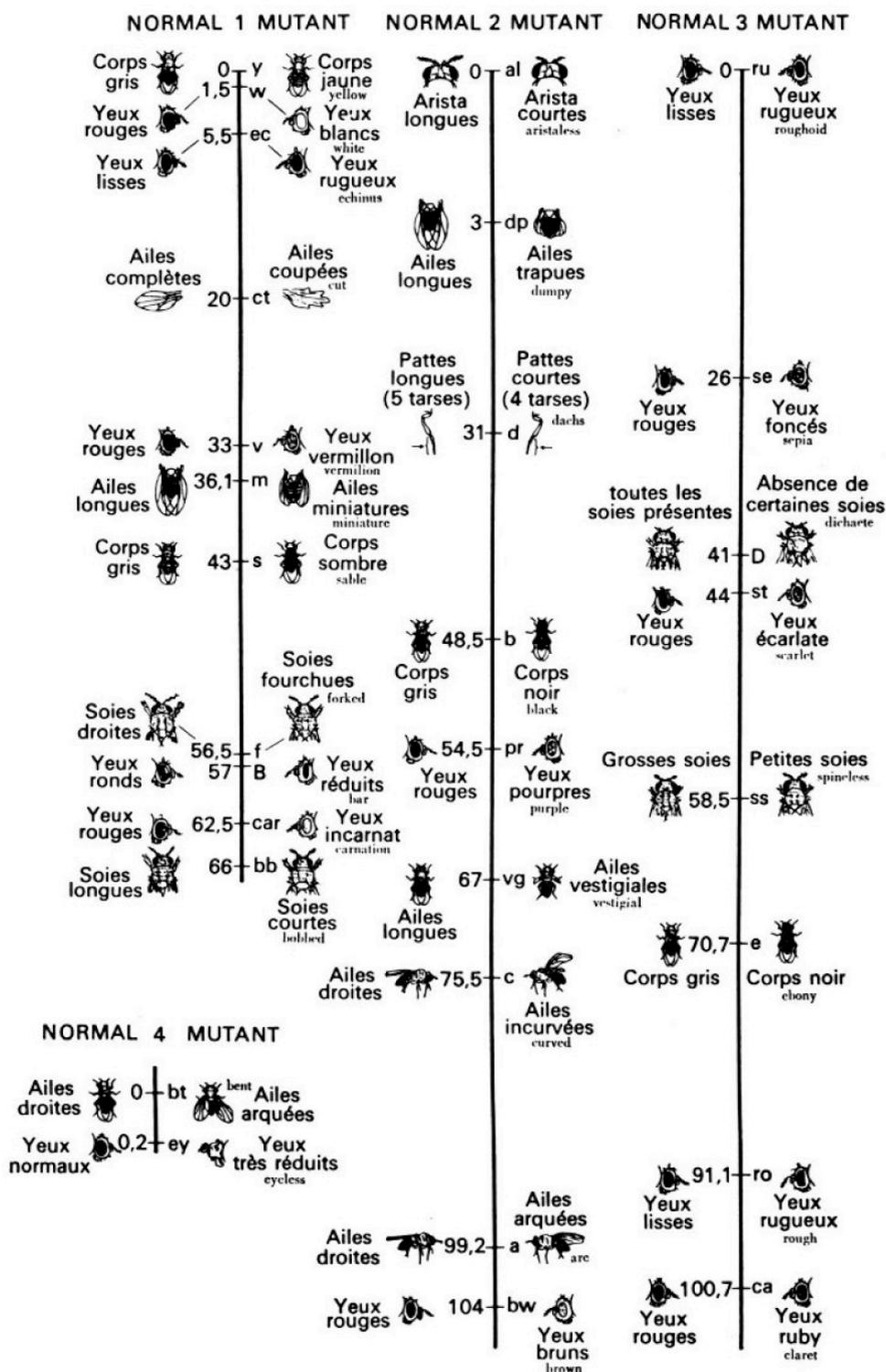
Option DERIV1 :

	Flacon	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4
Sauvage	39%	64%	80%	65%	96%
Yeux rouge vifs	10%	24%	0%	21%	0%
Yeux marrons	25%	10%	3%	3%	4%
Yeux blancs	26%	2%	17%	11%	0%

Option DERIV2 :

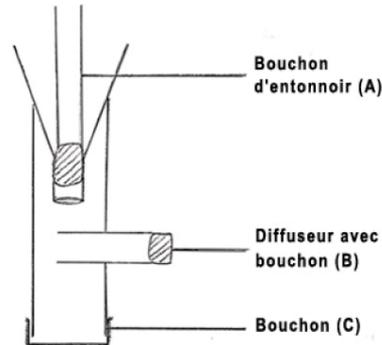
	Flacon	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4
Sauvage	95%	84%	86%	92%	95%
Corps ebony	2%	11%	13%	8%	2%
Ailes vestigiales	3%	5%	0%	0%	3%
Corps ebony - Ailes vestigiales	0%	0%	1%	0%	0%

ANNEXE 1 : CARTE GENETIQUE



Une portion de la carte génétique de *Drosophila melanogaster*.

ANNEXE 2 : ETHERISEUR



1) Préparation de l'éthériseur :

Son étanchéité lui confère une utilisation possible pendant une dizaine d'heures. Il est donc conseillé de préparer à l'avance les éthériseurs sous une hotte ou dans une pièce bien ventilée.

Poser le bouchon (A) (côté plastique) dans l'entonnoir, en tournant $\frac{1}{2}$ tour dans le sens des aiguilles d'une montre. Un trait d'étanchéité continu est formé entre l'entonnoir et son bouchon.

Oter le bouchon du tube diffuseur (B).

Prélever entre 0,25 et 0,5ml de flynap à l'aide d'un compte-goutte (1 ou 2 graduations) et les mettre dans le tube diffuseur. Reboucher aussitôt.

L'éthériseur est prêt à être utilisé.

Le compte-goutte peut être remplacé par une seringue de 5 ou 10ml.

Ne pas utiliser de pipette.

2) Utilisation :

Oter le bouchon (A) de l'éthériseur au dernier moment puis aussitôt taper latéralement avec une main sur le tube de mouches à endormir pour les faire descendre au fond du tube.

Oter le bouchon des mouches et retourner le tube sur l'entonnoir de l'éthériseur.

Taper verticalement l'ensemble éthériseur-tube retourné sur un torchon ou un cahier pour assourdir les chocs.

Lorsque toutes les mouches sont tombées, reboucher l'éthériseur avec le bouchon (A) et continuer à taper doucement l'éthériseur, 2-3 fois afin de faire tomber les mouches.

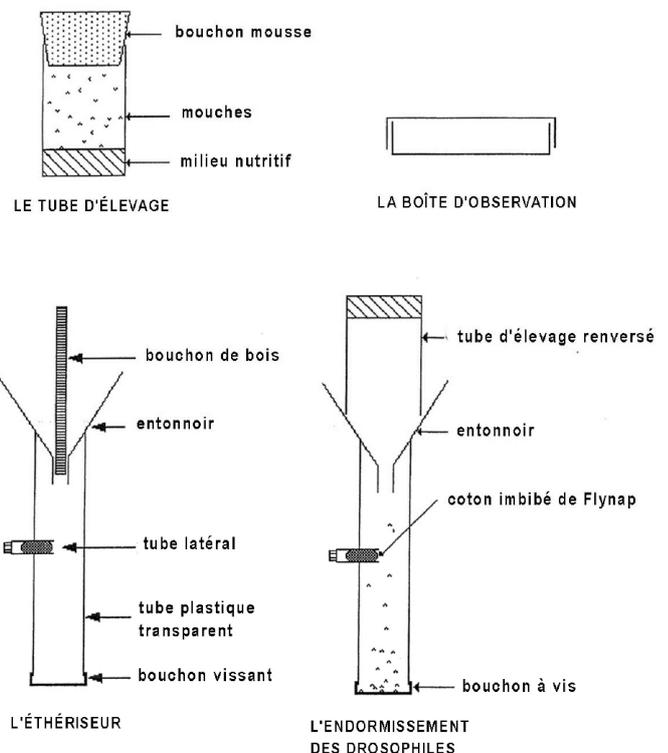
Observer le moment où plus aucune mouche ne se déplace. Attendre 30 à 50 secondes après ce moment puis en maintenant l'éthériseur vertical (entonnoir en haut) dévisser le bouchon (C) contenant toutes les mouches endormies.

Poser aussitôt l'éthériseur sur la paillasse afin que le flynap ne diffuse pas dans la pièce.

Transvaser les mouches endormies sur un carré de faïence ou une autre surface d'observation.

Reboucher aussitôt l'éthériseur.

Réalisées vite et correctement, ces opérations permettent une utilisation de l'éthériseur pendant plusieurs heures avec une perte très limitée de flynap.



ANNEXE 3 : SCHEMA A LEGENDER

