

Kit effet des mutations sur la drosophile

Réf. KEMD

A RECEPTION DU COLIS

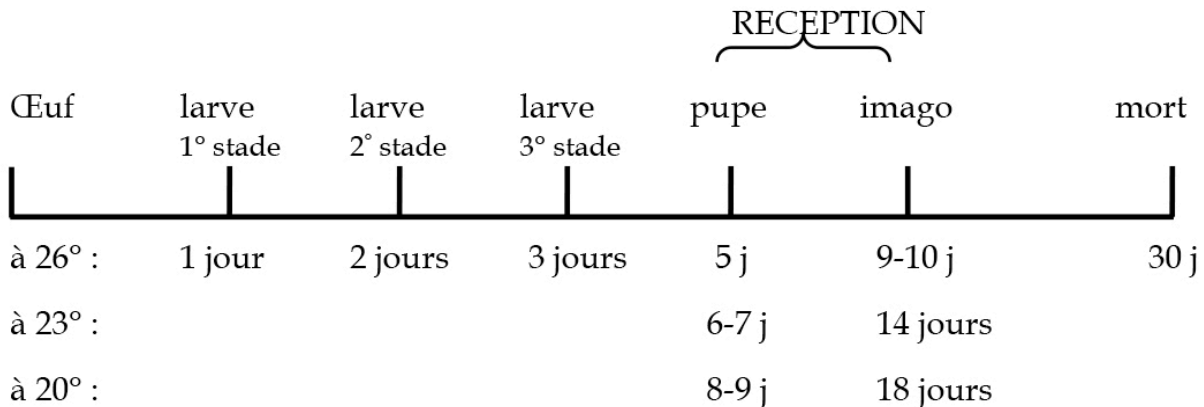
☒ **Vérifier la composition** du colis

☒ **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 pupe-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

- 1 tube contenant des larves de drosophiles sauvage (noté +)
- 1 tube contenant des larves de drosophiles aux yeux blancs (noté W)
- 1 tube contenant des larves de drosophiles aux ailes vestigiales (noté Vg)
- 1 tube contenant des larves de drosophiles au corps ébène (noté Eb)

MATERIEL NECESSAIRE

- Loupe binoculaire
- Pinceau
- Éthériseur
- Flynap pour endormir les drosophiles

Note : L'éther est fortement déconseillé.

MATERIEL RECOMMANDE

Étuve pour effectuer la maturation des tubes

OBJECTIFS COGNITIFS

Observer l'effet de mutations sur les chaînes de biosynthèse de la drosophile.

Informations sur le rôle des gènes :

- l'observation d'une mutation ponctuelle informe sur le rôle du gène muté.

Utilisation d'une loupe binoculaire

MANIPULATION

1) Prélèvement des mouches

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.

2) Observation des mouches

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.

Commencer par observer les mouches sauvages :

Apprendre ainsi 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 :

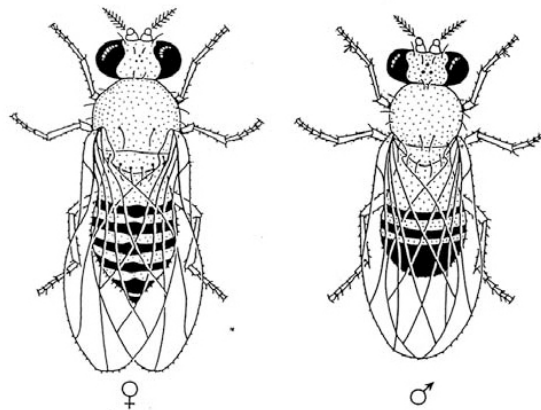
- organes sexuels : avec la forme de l'abdomen, c'est le détail qui permet de les distinguer le plus facilement. Placer la mouche sur le dos :
La plaque génitale (à l'extrémité de l'abdomen) est très colorée (rouge brun à brun foncé) alors que la plaque vaginale ne l'est pas.

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

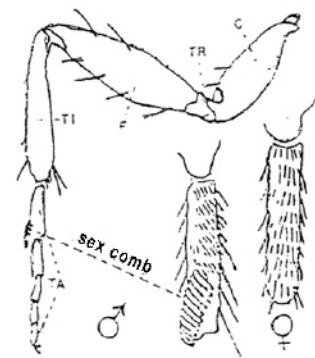
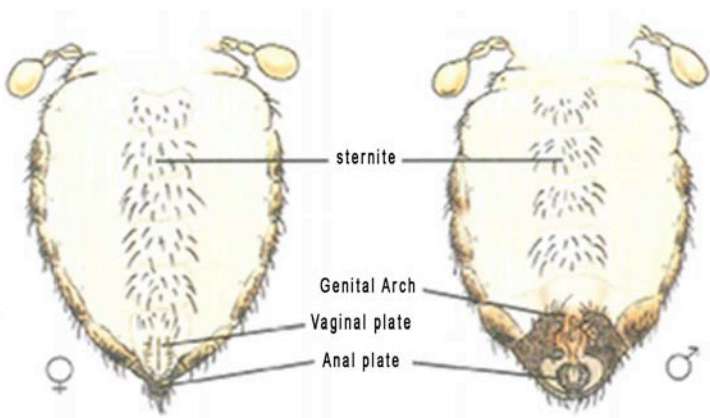
- différence dans la forme et la couleur de l'abdomen. Vu dorsalement, l'abdomen de la femelle est de forme pointue, avec des segments terminaux gris assez clair. L'abdomen du mâle, plus arrondi, a des segments terminaux gris très foncé.

- 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)



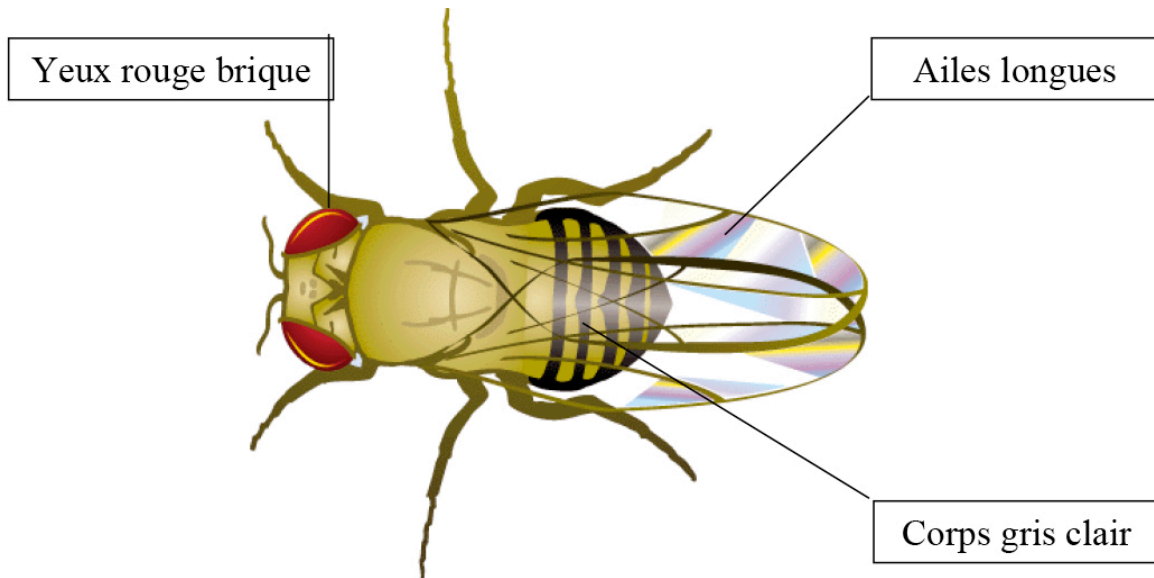
Et
Abdomen (d'après Bridge)



sex comb = Peigne sexuel

Observer ensuite les trois autres phénotypes :

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



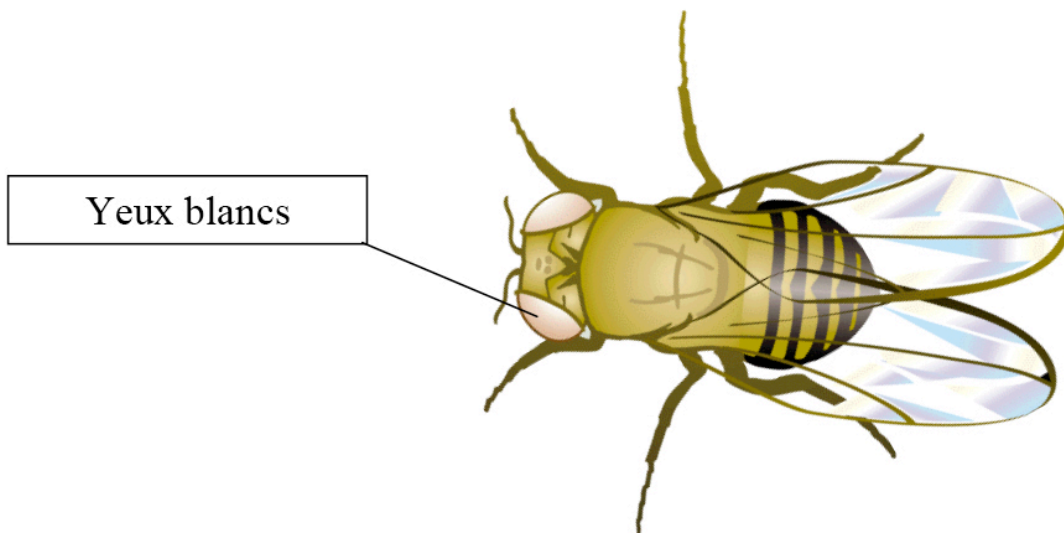
a) La mutation White :

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.

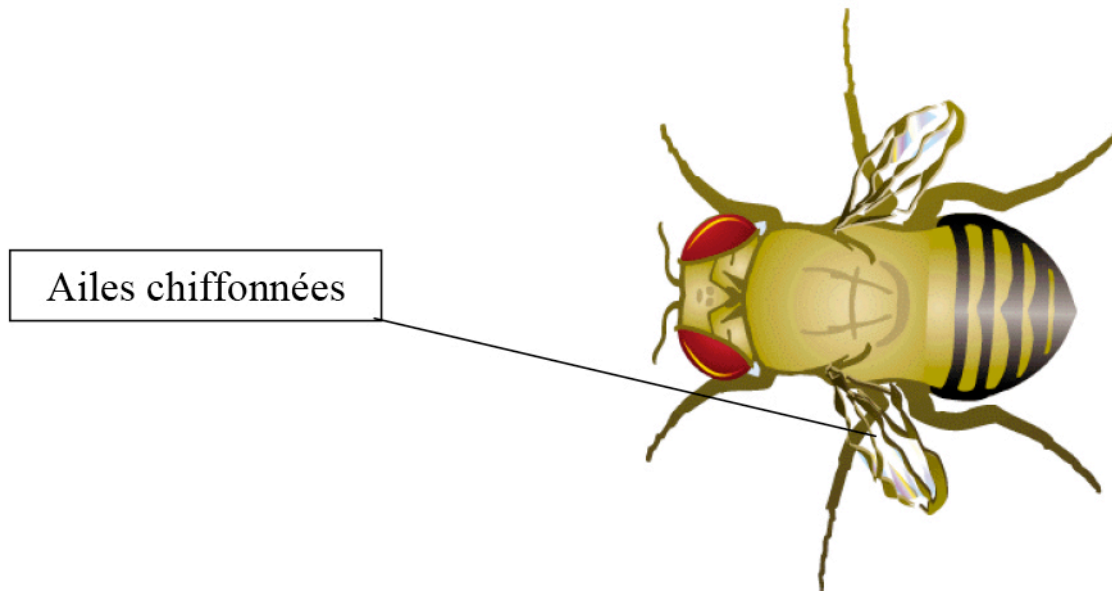


b) La mutation Vestigiale :

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.



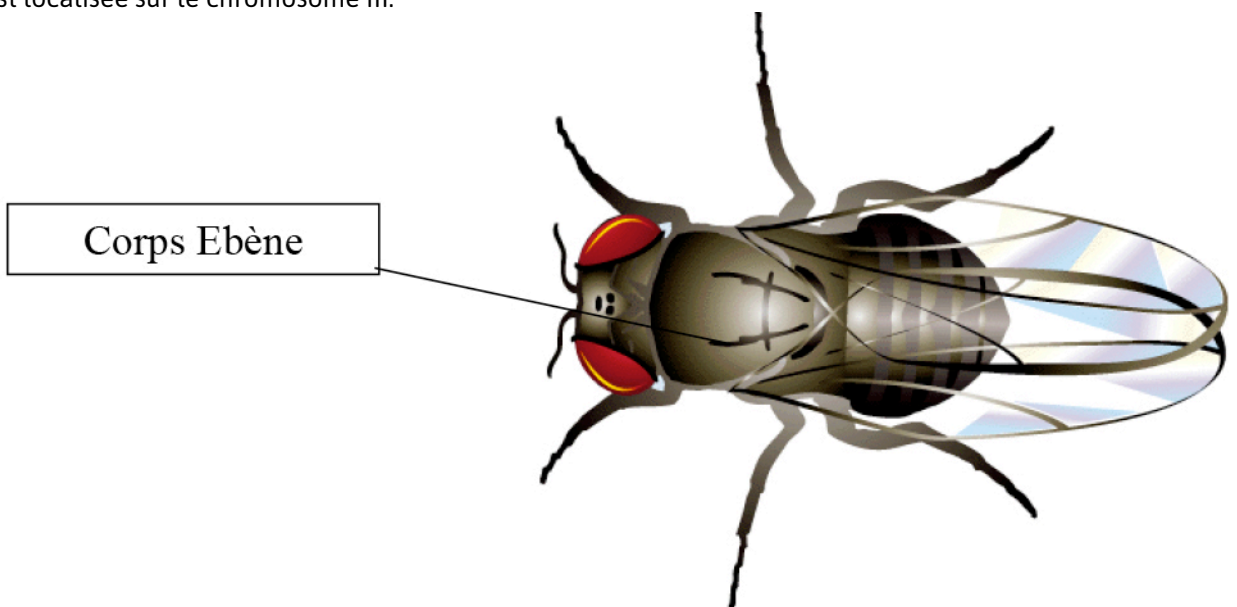
Ailes chiffonnées

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.

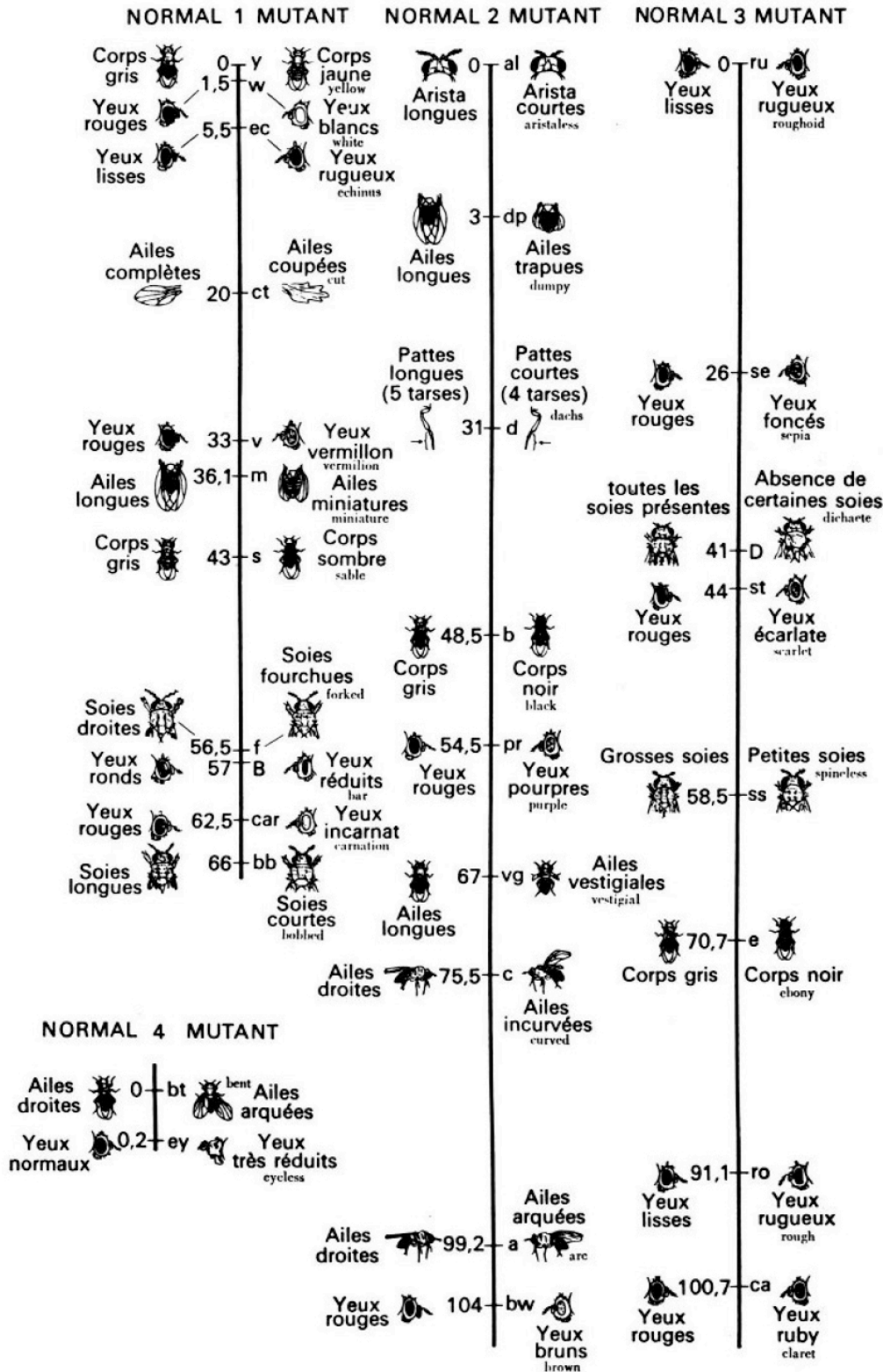
C'est une mutation ponctuelle également.

La mutation est localisée sur le chromosome III.



Corps Ebène

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.

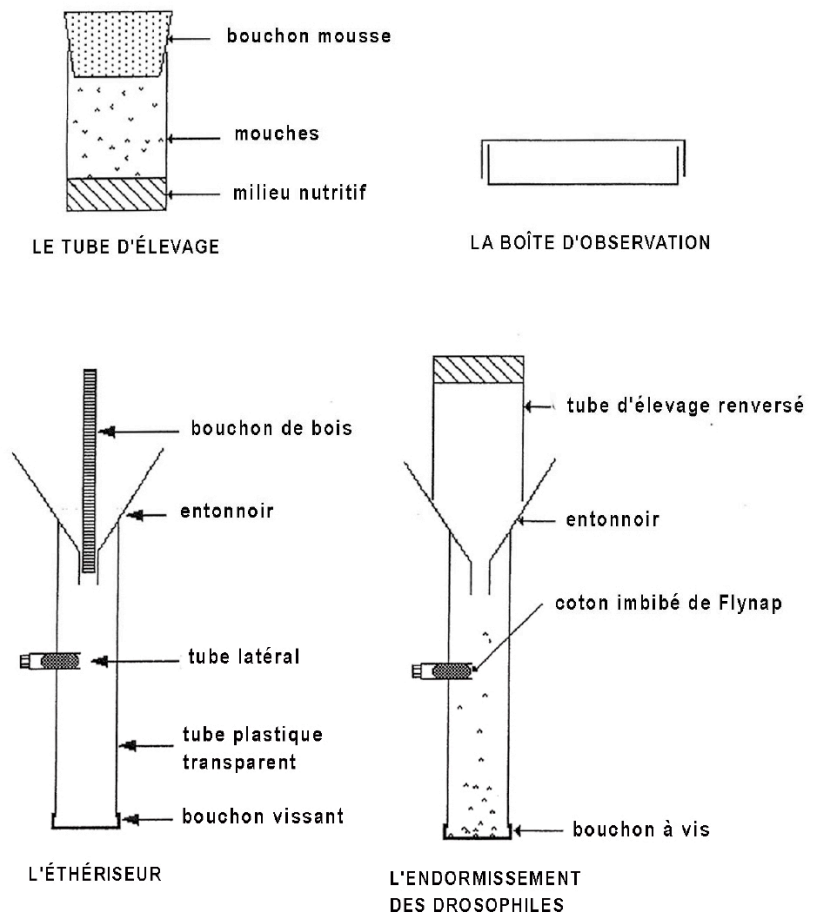
Observer le moment où plus aucune mouche ne se déplace. Attendre 30 à 50 secondes après ce moment puis en maintenant l'éthériseur vertical (entonnoir en haut) dévisser le bouchon (C) contenant toutes les mouches endormies.

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

