

Éléments de correction TP2 : Influence des rayonnements UV sur la mutagenèse du gène ADE2 chez la levure

1. Exploitation des résultats expérimentaux :

<i>Temps Exposition UV</i>	<i>Nombre De colonies Rouges</i>	<i>Nombre De colonies Blanches</i>	<i>% R/B</i>
<i>0 s</i>	279	0	100,00
<i>15 s</i>	314	60	83,96
<i>30 s</i>	52	191	21,40
<i>60 s</i>	14	2	87,50

Tableau de comptage du nombre de colonies de levure

<i>Temps Exposition UV</i>	<i>Surface (cm2) Des colonies Rouges</i>	<i>Surface (cm2) De colonies Blanches</i>	<i>% R/B</i>
<i>0 s</i>	12,200	0,000	100,00
<i>15 s</i>	10,320	1,820	85,01
<i>30 s</i>	4,292	4,205	50,51
<i>60 s</i>	3,153	0,578	84,51

*Tableau de comptage de levure en fonction
de la surface colonisée*

a. Résultats obtenus par comptage des colonies

Interprétation :

- À **0 s**, toutes les colonies sont rouges : le gène *ADE2* fonctionne normalement.
- À **15 s**, l'apparition de colonies blanches indique que les UV provoquent des mutations.
- À **30 s**, la proportion de colonies rouges chute fortement : la fréquence de mutation est maximale.
- À **60 s**, le nombre total de colonies devient très faible : les UV ont un **effet létal**, éliminant une grande partie des levures avant qu'elles ne puissent former des colonies.

Les UV ont donc un **double effet** :

- **Mutagène** à dose modérée
- **Létal** à forte dose

b. Résultats obtenus par mesure de surface des colonies

Interprétation :

- Les résultats confirment la tendance observée par comptage.
- À **30 s**, les surfaces rouges et blanches sont quasiment équivalentes, traduisant une forte fréquence de mutations.
- À **60 s**, la surface totale est faible, ce qui confirme une forte mortalité cellulaire.

c. Comparaison des deux méthodes

- Le **comptage des colonies** est simple mais devient peu fiable lorsque :
 - les colonies sont nombreuses,
 - elles sont très petites ou fusionnées.
- La **mesure de surface** permet une estimation plus globale et est souvent **plus fiable** lorsque les colonies sont nombreuses ou hétérogènes.

La mesure de surface apparaît comme la méthode la plus robuste, notamment pour les expositions intermédiaires.

2. Origine génétique des modifications observées

Affichage des séquences

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
Ade2Allele1.adn	ATGGATTCTAGAACAGTTGGTATATTAGGAGGGGGACAATTGGGACGTATGATTGTTGAGGCAGCAACACAGGCTCAACATTAAGACGGTAATACTAGATGCTGAAAATTCTCCTI											
Ade2Allele2.adn	ATGGATTCTAGAACAGTTGGTATATTAGGAGGGGGACAATTGGGACGTATGATTGTTGAGGCAGCAACACAGGCTCAACATTAAGACGGTAATACTAGATGCTTAAAATTCTCCTI											
Pro-Ade2Allele1.adn	MetAspSerArgThrValGlyIleLeuGlyGlyGlyGlnLeuGlyArgMetIleValGluAlaAlaAsnArgLeuAsnIleLysThrValIleLeuAspAlaGluAsnSerProI											
Pro-Ade2Allele2.adn	MetAspSerArgThrValGlyIleLeuGlyGlyGlyGlnLeuGlyArgMetIleValGluAlaAlaAsnArgLeuAsnIleLysThrValIleLeuAspAla											

Sélection : 0/4 lignes

Comparaison simple

	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110
Traitement	Comparaison simple de séquences d'ADN											
Ade2Allele1.adn	ATGGATTCTAGAACAGTTGGTATATTAGGAGGGGGACAATTGGGACGTATGATTGTTGAGGCAGCAACACAGGCTCAACATTAAGACGGTAATACTAGATGCTGAAAATTCTCCTI											
Ade2Allele2.adn	-----T-----											

Sélection : 0/3 lignes

a. Comparaison des séquences du gène ADE2 (logiciel Anagène)

- La comparaison entre les séquences **ADE2 normal** et **ADE2 muté** met en évidence :
 - une **substitution de nucléotide** au niveau d'une paire de bases impliquant deux thymines,
 - compatible avec la formation d'un **dimère de thymine**, lésion typique provoquée par les UV.

b. Conséquences sur la protéine ADE2

- La traduction de la séquence mutée montre une **modification de la séquence en acides aminés** de la protéine ADE2 par un **codon STOP** (TAA) issu de la mutation.
- Cette modification altère la structure de l'enzyme, en arrêtant précocement la chaîne des acides aminés.
- L'enzyme devient **non fonctionnelle**.

c. Lien génotype – phénotype

- Gène **ADE2** fonctionnel → enzyme active → synthèse normale de l'adénine → **colonies rouges**.
- Gène **ADE2** muté → enzyme inactive → accumulation d'un pigment blanc → **colonies blanches**.

Les UV provoquent donc des mutations de l'ADN qui modifient la protéine et entraînent un changement de phénotype.

3. Bilan général de l'activité

- Les **rayonnements UV** sont des **agents mutagènes** capables de modifier la séquence de l'ADN.
- L'augmentation du temps d'exposition aux UV :
 - augmente la **fréquence des mutations** jusqu'à un certain seuil,
 - puis provoque une **mortalité cellulaire importante**.
- Une mutation du gène **ADE2** entraîne :
 - une modification de la protéine,
 - une perte de fonction enzymatique,
 - un changement de phénotype observable (couleur des colonies).