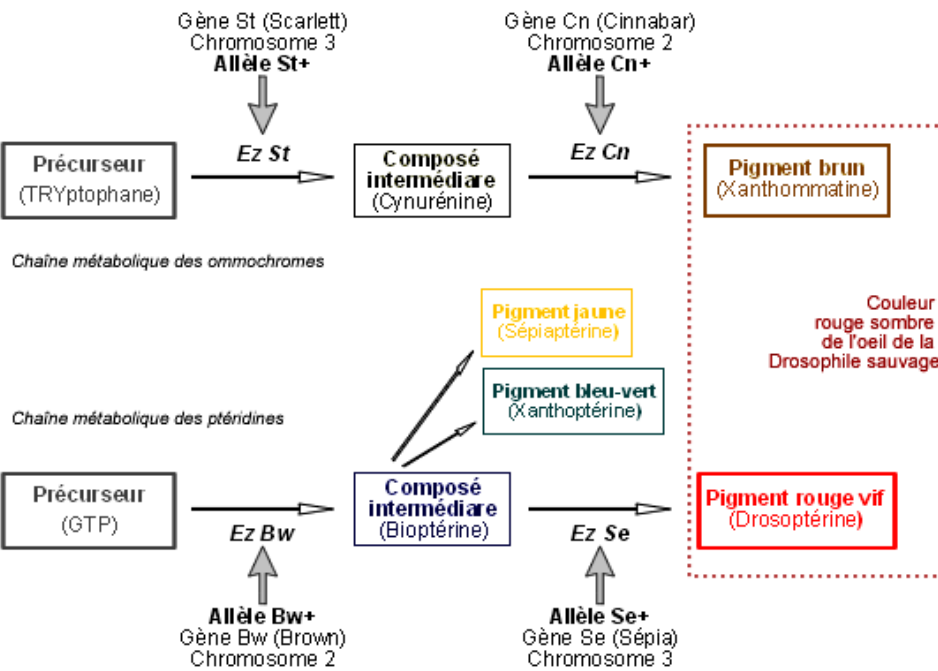


Etude de la pigmentation des yeux de la Drosophile

Fiche laboratoire

La couleur rouge sombre des yeux de la Drosophile sauvage est due à la présence simultanée dans l'oeil d'un pigment brun et d'un pigment rouge vif.
La production de ces pigments est réalisée au cours de 2 chaînes métaboliques parallèles :



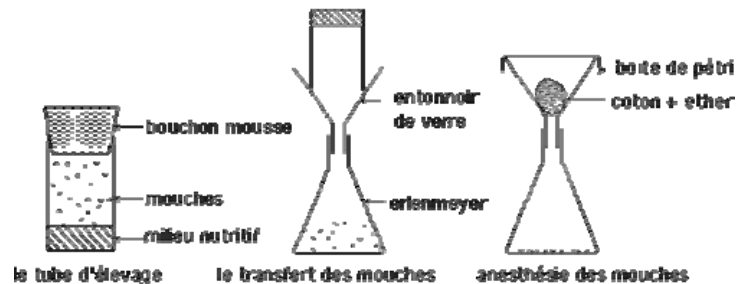
Certaines drosophiles mutantes sont incapables de produire un ou plusieurs pigments. Lorsqu'une drosophile ne peut pas synthétiser le pigment brun, ses yeux sont rouge vif ; si elle ne peut produire le pigment rouge vif, ses yeux sont bruns ...

Les enzymes qui catalysent les synthèses des pigments dépendent chacun de l'expression d'un gène. Chaque gène présente 2 allèles, l'un sauvage (noté Bw+ St+ Se+ ...), gouvernant la synthèse d'une enzyme fonctionnelle, l'autre muté, (noté Bw- St- Se- ...), gouvernant la synthèse d'une enzyme non fonctionnelle.

On nomme les mutants en se référant à la couleur de leurs yeux. Par exemple, le phénotype d'un mutant aux yeux bruns est noté [Bw-] ; l'enzyme correspondant sera aussi nommée Bw (bien qu'il catalyse une réaction de la chaîne de synthèse du pigment rouge vif manquant) ...

Prélèvement des mouches

Pour ouvrir le tube d'élevage sans que les mouches s'envolent, taper la base du tube afin de faire tomber les mouches sur le fond ; ôter très vite le bouchon et retourner le tube sur un entonnoir posé sur un autre tube dit d'endormissement. Taper l'ensemble modérément afin de faire passer les mouches au travers de l'entonnoir dans le tube d'endormissement. Verser de l'éther sur un coton, ôter l'entonnoir et boucher le tube d'endormissement avec le coton.



Observation des mouches

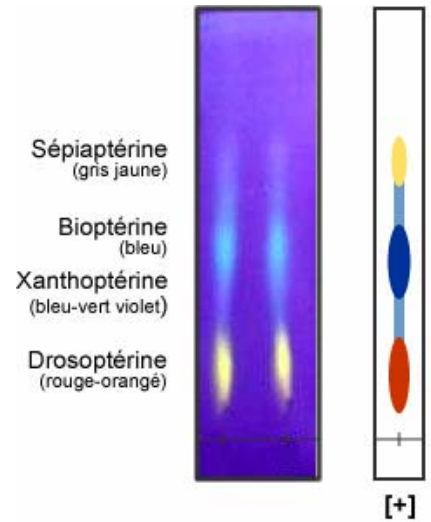
Manipuler délicatement les mouches avec un pinceau fin ou une pince, pour les orienter afin de déterminer sexe et phénotype. Observer les mouches dans un verre de montre sous la loupe binoculaire (fond blanc ou noir)

Dimorphisme sexuel	Différents stades de développement
<p>Dimorphisme sexuel</p> <p>femelle mâle</p> <ul style="list-style-type: none"> Présence de peigne (touffe de poils) sur la 1^{re} paire de pattes du mâle Différence de taille : mâle plus petit Différence de forme et de pigmentation de l'extrémité de l'abdomen 	<p>Différents stades de développement</p> <p>Oeuf, Larve 1, Larve 2, Larve 3, Pupa, Imago</p> <p>Étiquettes anatomiques : Filament suspenseur, Cone micropylaire, Oeuf, Tête, Thorax, Balancier (a₂), Aile (a₁), Costale, Radiales, Médiane, Ocelle, Œil composé, Antenne, Palpe (mx₁), Labre + épip., Labium, Corps spongieux, Stigmate ant., Pièces chitineuses, Glande salivaire, Stigmate post., Anus.</p>

Chromatographie des pigments des yeux de la Drosophile

Les composés intermédiaires de la chaîne de synthèse du pigment rouge vif peuvent être révélés par chromatographie.

- Sur le gel de chromatographie, positionner, à l'aide d'un crayon papier gras, des points de dépôts distants d'environ 1cm
- Prélever quelques mouches et les tuer à l'éther.
- Avec des pinces fines, positionner une mouche, la tête au dessus d'un point de dépôt et écraser la tête avec l'extrémité d'une baguette de verre. Laisser sécher le dépôt et recommencer, sur le même point avec une mouche du même phénotype
- Procéder de même sur les autres points de dépôts avec d'autres phénotypes
- Positionner le gel dans la cuve à chromatographie de manière à ce qu'il plonge dans le solvant et que la ligne de dépôt soit au dessus du niveau du solvant. Reboucher la cuve et la recouvrir de papier aluminium.
- Laisser migrer le solvant jusqu'à ce qu'il atteigne l'extrémité supérieure du gel (environ 1h)
- Retirer le gel, le déposer sur une feuille de papier filtre et recouvrir le tout de papier aluminium. Laisser sécher.
- Observer le chromatogramme sous une lampe UV.



Equipement de chromatographie : cuves, solvant (1V ammoniac 29% + 1V isopropanol), gels de silice (sensible aux UV), papier buvard, papier alu, baguette de verre, lampe à U.V, sèche-cheveux.

Réalisation de croisements

Placer dans un flacon d'élevage quelques mâles d'une souche avec quelques femelles vierges de l'autre souche. Un tube de croisement doit contenir une quantité équivalente de mouches mâles et femelles (15 femelles et 10 mâles par tube conviennent pour un résultat optimum). Si la femelle n'est pas vierge, les résultats du croisement sont faussés. Attention, la femelle ne le reste que 6 heures après sa naissance si elle se trouve en présence de mâles !

Analyser les résultats des croisements, 15 jours plus tard.

Exemple de calendrier de croisement

J	Isolement des mâles et des femelles vierges / Réalisation du croisement
J+5 à J+7	Les mouches pondent / Enlever les parents pour éviter le mélange de génération
J+12 à J+15	Naissance de la génération F1 - Pour obtenir une génération F2, il suffit de laisser les mouches issues de F1 ensemble dans un nouveau milieu ...
J+17 à J+20	Les mouches pondent / Enlever les parents pour éviter le mélange de génération
J+24 à J+30	Naissance de la génération F2

Elevage des mouches

Flacons stérilisables (≈ 50 mL, Ø 3 à 4 cm) + bouchon de mousse ou coton

Milieu nutritif :

Farine de maïs 76 g ; Saccharose 98 g ; Levure sèche 20 g ; Agar 15 g ; ED 750 mL

Bien mélanger les différents constituants dans un ballon et chauffer doucement. Porter et maintenir à ébullition pendant une demi-heure. Remuer souvent. Couler le milieu encore chaud dans les flacons stériles sur une épaisseur de 2 cm et laisser refroidir. Incorporer un antifongique quelconque ou autoclaver (20 min à 121 °C). Boucher les flacons. Le milieu de culture se conserve bien au réfrigérateur.

Oeuf	Larve 1	Larve 2	Larve 3	Pupe	Imago	mort
à 26°	1 j	2 j	3 j	5 j	9-10 j	30 j
à 23°				6-7 j	14 j	
à 20°				8-9 j	18 j	



Fournisseur de souches de Drosophiles : SORDALAB