



■ Kit fourni par Sordalab

<http://www.sordalab.com/catalogue/produit.php?numprod=2539>

■ Matériel disponible

- Souche de levure de couleur rouge ;
- Fragments d'ADN bactérien (plasmides) contenant l'information pour que les levures deviennent blanches (il s'agit d'une construction artificielle permettant de visualiser si le transfert a eu lieu ou non) ;
- Trois microtubes à fonds coniques ;
- Deux boîtes de Petri (avec un milieu riche en adénine) ;
- Acétate de lithium (0,1M) ;
- Solution tampon (337 μL de polyéthylène glycol + 570 μL de DTT (dithiothreitol) + 1 120 μL d'acétate de lithium 1M) ;
- Bain-marie ;
- Centrifugeuse ;
- Bec électrique (pour travailler en milieu stérile) ;
- Outils stériles (cure-dents, étaleurs...).

■ Protocole expérimental

Préparation des levures

- Prélever, à l'aide d'un cure-dent, un peu de levures rouges fraîches ; les suspendre dans un microtube dans 1 mL d'acétate de lithium et les incubent 10 min à 30 °C ;
- Centrifuger pendant 5 min à 3 000 trs / min et enlever délicatement le surnageant (ne pas perdre le culot) ;
- Resuspendre le culot avec 1 000 μL de tampon puis répartir en deux fois 500 μL dans deux microtubes à fond conique.

Mise en contact avec l'ADN bactérien libre

- Dans l'un des deux microtubes, ajouter 2 μL d'ADN bactérien libre ;
- Incuber les deux microtubes 45 min à 42 °C, puis les centrifuger pendant 5 min à 3 000 trs / min et éliminer les surnageants ;
- Resuspendre dans 100 μL d'eau stérile.

Mise en culture des levures

- Étaler le contenu de chacun des deux tubes sur deux boîtes de Petri ;
- Incuber les boîtes, 7 jours à 28 °C, en les plaçant couvercles vers le bas ;
- Observer les résultats.