



























Aide à l'utilisation de Drososfly

EXEMPLE DE PROTOCOLE

Les **drosophiles** sont de petites mouches (3 à 4 mm) qui possèdent à l'état sauvage un **corps gris**, des **yeux rouges** et des **ailes normalement développées**. Ces mouches sont très prolifiques : 5 ou 6 couples de mouches introduits dans un flacon permettent d'observer trois semaines plus tard plusieurs centaines de descendants. Il est donc possible d'obtenir rapidement des populations suffisamment importantes pour qu'une étude statistique soit réalisable. L'observation attentive des individus permet de repérer de nombreuses **mutations** portant sur la taille des ailes, la couleur du corps, des yeux... Il est facile de suivre la transmission de ces mutations au fil des générations. Les mâles se distinguent facilement, par leur morphologie extérieure, des femelles ce qui facilite la réalisation des croisements.

Chez la drosophile, un **gène VG** régit la longueur des ailes. L'**allèle vg⁺** détermine une aile de **taille normale (aile longue = phénotype sauvage)** et l'**allèle vg** une aile **vestigiale (aile courte et déformée)**. **Remarque** : le caractère **sauvage** est toujours désigné par le **signe +** au niveau de l'allèle. Le signe + ne signifie en aucun cas une quelconque dominance du caractère même si le caractère sauvage est souvent dominant. Cet exemple détaille la procédure à suivre pour réaliser une expérience de croisement simple à l'aide de Drososfly. À chaque étape est désigné un document qu'il convient de lire attentivement :

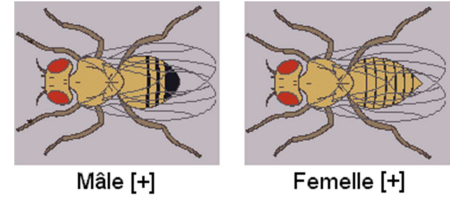
	Supposons que vous souhaitez réaliser le croisement de mouches mâles vg [ailes vestigiales], avec des mouches femelles de la souche sauvage [ailes longues] : DOCUMENT 1
	Commencez par préparer au moins trois flacons d'élevage, en les garnissant de milieu nutritif : il vous faut deux flacons pour réceptionner les mouches des deux souches pures initiales, et un troisième pour effectuer le croisement proprement dit. Vous devez donc d'abord effectuer la préparation du milieu, puis couler celui-ci dans les flacons : DOCUMENT 4
	Commandez les deux souches pures. Le petit téléphone symbolise le fait que si vous voulez réaliser des expériences véritables, vous pourrez effectivement commander des souches pures de drosophiles (auprès d'un service de génétique universitaire, par exemple), et ces souches vous seront expédiées par simple colis postal : DOCUMENT 3
	Sautez deux jours, en utilisant le bouton calendrier. Un message vous avertit de l'arrivée des mouches. Dès leur réception, installez ces mouches homozygotes dans leurs flacons respectifs (chaque souche dans un flacon différent).
	Chaque flacon d'élevage est transféré de l'incubateur à la paillasse par glisser-lâcher. On y transfère la souche choisie, également par glisser-lâcher. Prenez bien soin de marquer chacun des flacons d'un petit texte explicatif, afin de pouvoir les reconnaître aisément par après (bouton "stylo") : DOCUMENT 5
	Amenez le flacon contenant les mouches aux ailes vestigiales sur la paillasse. Éthérisez-les. Si l'éthérisation s'est déroulée correctement, la fonction loupe est activée automatiquement : DOCUMENT 6
	Sous la loupe, sélectionnez quelques mâles. Quand vous quittez la fonction "loupe binoculaire", un message du système vous informe de ce que des mouches sont en attente de transfert dans une petite boîte. Ce sont vos mâles [ailes vestigiales]. Pointez le flacon choisi pour le croisement : les mâles sélectionnés y sont transférés.
	Éthérisez à présent les mouches [sauvages]. Sélectionnez quelques femelles. Transférez ces femelles dans le flacon qui contient déjà les mâles [ailes vestigiales]. N'oubliez pas de marquer le flacon, et vérifiez le réglage de température de l'incubateur : les indications qui suivent correspondent à une température d'élevage de 25°C.
	Sautez quatre ou cinq jours. Éliminez tous les imagos (les adultes) présents dans le flacon : ils auront eu largement le temps de s'accoupler et de pondre, et vous ne pouvez pas les laisser dans le flacon jusqu'à l'émergence de la génération suivante, sinon vous ne disposerez plus d'aucun moyen pour distinguer les parents de leur progéniture : DOCUMENT 5
	Sautez encore quelques jours. À partir du 10 ^e jour suivant la mise en place des géniteurs dans le flacon, les premiers individus de première génération (F1) apparaissent. D'autres continueront à apparaître encore pendant quatre ou cinq jours. Observez-les, puis éliminez-les : DOCUMENT 5
	Sautez encore deux jours. Vérifiez le contenu du flacon : il ne devrait pas contenir de nouveaux imagos, puisque la F1 a été entièrement éliminée, et qu'il est encore trop tôt pour l'émergence de la génération F2 : DOCUMENT 5
	Sautez encore quelques jours. les premiers imagos de la génération F2 devraient commencer à apparaître à partir du 20 ^e jour. Éthérisez-les et observez-les soigneusement. C'est en général cette seconde génération F2 qui est la plus intéressante à analyser. Comptez tous les phénotypes présents, et n'oubliez pas de noter vos observations !

													
Visualiser la paillasse (ramener la paillasse à l'avant plan)	Commander des drosophiles	Ouvrir l'incubateur	Activer la loupe binoculaire	Préparer la nourriture, remplir les flacons	Effectuer un saut temporel	Consulter l'historique (compte rendu des opérations effectuées)	Consulter la galerie de photos	Consulter le système de documentation et d'aide	Visionner les démonstrations animées	Prendre l'éthériseur et la bouteille d'éther	Éliminer les mouches échappées	Marquer un flacon d'élevage	Nettoyer un flacon d'élevage

DOCUMENT 1 : QUELQUES SOUCHES DE DROSOPHILES

SOUCHE "SAUVAGE"

On appelle ainsi la souche de référence. C'est la drosophile telle qu'on peut la rencontrer dans la nature, avec ses longues ailes, son corps de couleur crème, et ses gros yeux de couleur rouge brique. Le mâle se distingue aisément de la femelle par son abdomen plus court, plus arrondi, et noir ; ses pattes antérieures portent chacune une petite brosse minuscule appelée peigne sexuel (Veuillez consulter la galerie de photos incluse dans le logiciel pour en savoir davantage). Les deux illustrations ci-contre représentent : à gauche un mâle, et à droite une femelle.



AUTRES SOUCHES = MUTANTS

Les caractères que nous avons mentionnés ci-dessus (ailes longues, corps beige, yeux rouges...) sont par convention désignés dans nos textes comme étant les caractères de référence ou caractères [sauvages] ou [+]. Les autres souches que nous allons utiliser sont en effet considérées chacune comme des mutants. Toutes les combinaisons de caractères vous sont montrées au moment du choix des souches en fonction des sélections que vous faites.

DOCUMENT 2 : MANIPULATION ET OBSERVATION DES MOUCHES :

La présente simulation ne permet de manipuler que les adultes : les œufs, larves et pupes sont inaccessibles. Les flacons d'élevage sont conservés en permanence dans un incubateur thermostaté. Pour transférer un flacon de l'incubateur à la paillasse, il suffit d'effectuer une opération de glisser-lâcher à l'aide de la souris (pointer le flacon choisi, cliquer à l'aide du bouton gauche, maintenir ce bouton enfoncé et déplacer le pointeur de la souris jusqu'au rectangle gris sur la paillasse. Relâcher le bouton). L'une des premières opérations que vous devrez effectuer consistera à commander un certain nombre de souches pures chez un fournisseur spécialisé. Dès leur arrivée (elles sont livrées par colis postal), on les installe dans des flacons qui auront été préparés à cet effet. Les mouches à manipuler devront au préalable être anesthésiées. Lorsqu'elles seront endormies, on pourra alors les observer, les compter, sélectionner certaines d'entre elles pour préparer un croisement, etc. Les mouches ne survivent qu'un maximum d'environ 30 jours à l'état adulte. Dans un flacon surpeuplé, elles vivent moins longtemps. Les flacons ne peuvent contenir plus de 250 mouches à la fois : Si vous désirez des populations plus nombreuses, il faudra mener le même croisement en parallèle dans plusieurs flacons.

DOCUMENT 3 : COMMANDE DE SOUCHES PURES

Le petit téléphone vous met en communication avec votre fournisseur de drosophiles. Toutes les souches fournies seront constituées de souches pures (drosophiles homozygotes). La plupart des croisements "classiques" se font entre la souche [sauvage] et une souche "mutante" qui diffère de la souche sauvage par un ou plusieurs caractères. La souche [sauvage] est celle qui vous est proposée par défaut. Pour la sélectionner, il vous suffit donc de cliquer directement sur le bouton "Ajouter à la commande". Pour sélectionner une autre souche, vous choisissez un ou plusieurs caractères morphologiques mutants dans les options qui vous sont proposées, puis vous cliquez à nouveau sur le bouton "Ajouter à la commande". Le phénotype correspondant à votre sélection est en permanence reconstitué sous vos yeux. Si vous vous êtes trompé, vous pouvez recommencer à tout moment en utilisant le bouton d'annulation. Lorsque vos choix sont bien arrêtés, cliquez sur le bouton "Enregistrer la commande" pour que celle-ci soit effective. Le système vous avertit que les mouches commandées vous seront fournies après un délai de livraison de deux jours. Il vous faudra donc effectuer un saut temporel avant de recevoir vos drosophiles. N'oubliez pas qu'il vous faudra préparer des flacons d'élevage pour les accueillir.

DOCUMENT 4 : RECETTE POUR LA PRÉPARATION DE LA NOURRITURE :

Dans 500 g d'eau distillée (ou déminéralisée), démarrer le chauffage et commencer à mélanger. Délayer 56 g de semoule de maïs, 38 g de sucre, 3 g de levure séchée (en poudre), et 4 g d'Agar-agar. Porter ce mélange à l'ébullition, et maintenir l'ébullition pendant au moins 10 minutes. Arrêter le chauffage

Ajouter alors rapidement 2,5 g d'alcool éthylique (ou 6 g d'eau de vie à 40°), 2,5 ml d'acide acétique (ou 25 g de vinaigre ordinaire), et une pincée (0,5 g) de Nipagine. Ce dernier produit est un fongicide, utilisé ici pour réduire le risque d'envahissement par les moisissures (son nom technique est : parahydroxybenzoate d'éthyle).

Dans la simulation, les choses sont un peu plus simples que dans la réalité. La fenêtre qui apparaît comporte tous les éléments nécessaires pour que vous puissiez tester la recette proposée ci-dessus. Vous devez appliquer cette recette correctement pour pouvoir ensuite remplir les flacons comme indiqué ci-après.

Remplissage des flacons

Il s'agit d'une opération extrêmement simple : vous amenez les flacons vides l'un après l'autre sur la paillasse (par glisser-lâcher au départ de l'incubateur), et puis vous cliquez sur le bouton pour y transférer le milieu nutritif que vous avez préparé au préalable. Les flacons se remplissent automatiquement, et ils se ferment d'un gros tampon d'ouate (lequel permet une aération convenable). Préparez ainsi un certain nombre de flacons. Il vous en faudra un pour chacune des souches pures de drosophiles que vous désirerez conserver, et vraisemblablement plusieurs pour chacune de vos expériences d'hybridation.

DOCUMENT 5 : TECHNIQUE GÉNÉRALE D'ÉLEVAGE

Pour réaliser un croisement de drosophiles, il suffit d'installer quelques mâles d'une souche et quelques femelles d'une autre souche, dans un même flacon d'élevage nouvellement préparé. Ces géniteurs primordiaux seront désignés dans la terminologie classique par le symbole P (pour "parents"). Après trois ou quatre jours, il faut les retirer du flacon, de manière à ne pas les confondre avec leurs descendants lorsque ceux-ci seront apparus.

La première génération fille qui apparaît sera désignée par le symbole F1.

Si on laisse les individus de la génération F1 s'interféconder et se reproduire, on obtiendra après quelque temps une deuxième génération, désignée F2. Mais avant cela, et comme on l'a fait pour les parents, il est nécessaire d'écarter ou d'éliminer les individus F1, 4 ou 5 jours après leur apparition, afin d'éviter qu'ils ne se mélangent avec leurs propres descendants F2.

Calendrier type pour la réalisation d'un croisement :

Jour 0 :	mise en place des géniteurs
Jour 4 :	retrait des géniteurs
Jour 10 :	apparition des premiers imagos F1
Jour 16 :	observation et retrait de tous les imagos F1
Jour 20 :	apparition des premiers imagos F2
Jour 25 :	observation des imagos F2



Remarque importante :

Dans la présente simulation, toute femelle transférée d'un flacon dans un autre est considérée par le logiciel comme étant vierge au moment de son transfert.

DOCUMENT 6 : ÉTHÉRISATION DES MOUCHES

En principe, il faut toujours endormir les mouches pour pouvoir les observer. Pour anesthésier les mouches, on sature de vapeurs d'éther l'atmosphère d'un petit récipient sur lequel on place ensuite un entonnoir. Le flacon contenant les mouches est alors retourné sur l'entonnoir, et le tout est secoué doucement : les mouches tombent dans le récipient inférieur et s'endorment. On peut alors les trier en vue d'un transfert, les compter, etc.

Procédure :

Cliquer sur les boutons  . Le premier fait apparaître le flacon éthériseur avec son entonnoir. Le second fait apparaître une petite bouteille compte-gouttes contenant de l'éther.

Cliquer sur le bouchon de la bouteille compte-gouttes. La bouteille s'ouvre, et le compte-gouttes proprement dit se positionne au-dessus du flacon. Cliquer sur la poire du compte-gouttes pour faire tomber une ou deux gouttes d'éther. Il ne faut pas en mettre davantage, sous peine de faire périr les mouches ! En effet, l'éther endort les mouches quand elles en respirent sous forme gazeuse, mais il les tue si elles entrent en contact avec lui sous sa forme liquide.

Cliquer à nouveau sur la bouteille d'éther, pour la refermer.

Cliquer sur l'entonnoir, pour le mettre en place sur le flacon éthériseur.

Si ce n'est pas déjà fait, transférer le flacon d'élevage (celui dont on veut examiner les mouches) sur la paillasse.

Cliquer sur le bouchon d'ouate du flacon d'élevage pour provoquer son ouverture. Attention : à partir de ce moment des mouches peuvent s'enfuir !

Cliquer sur le corps du flacon d'élevage pour provoquer son retournement sur l'entonnoir de l'éthériseur.

Attendre que les mouches tombent et s'endorment. On peut alors les observer à la loupe binoculaire et les manipuler.