

Mise au point milieu de culture bioluminescence

Informations

- Alan KERNANEC, Steve HUBERT
- alan.kernanec@sorbonne-universite.fr ; steve.hubert@sorbonne-universite.fr
- FabManagers espace Biologie/Chimie
- 10/2023

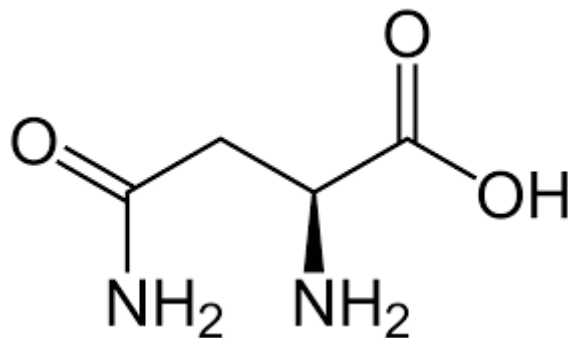


Contexte

Afin de tenter de réduire le coût de revient d'un milieu de culture spécifique à une souche de bactérie bioluminescent nous avons cherché à optimiser la quantité des certains constituants.

La 1ère publication du protocole de culture datant des années 1910 (*La Vie et la Lumière* ; Raphaël Dubois ; Félix Alcan Paris, 1914), certains produits sont disponibles avec un niveau de pureté non accessible à l'époque qui justifie de nouveaux essais.

Nous nous sommes penchés en particulier sur un acide aminé de ce milieu qui représente à lui seul près de la moitié du coût final : l'asparagine.

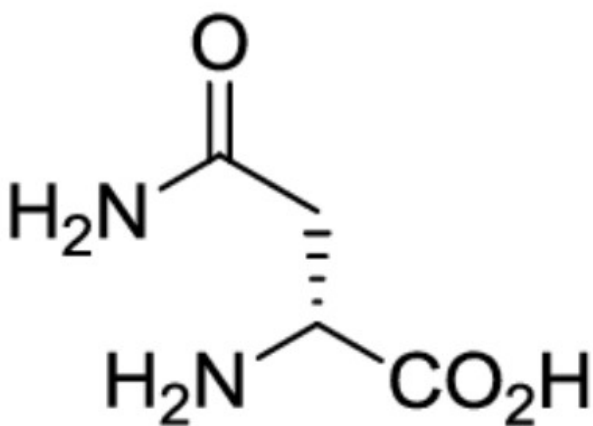


Objectifs

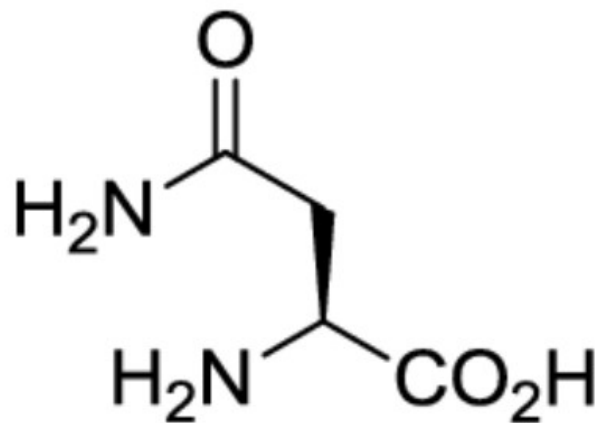
Tester des milieux à différentes concentrations décroissantes d'asparagine pour déterminer jusqu'où il est possible de réduire tout en maintenant la bioluminescence optimum.

En réalité il est probable que seule la L-asparagine soit utilisable par les organismes bioluminescents, la D-asparagine restant inutilisée dans le milieu.

Or dans les années 1910 si l'asparagine était déjà disponible avec un très bon niveau de pureté, il n'est pas précisé si la différence était faite entre ses deux formes énantiomères. L'optimisation peut être envisagée de ce côté.



D-asparagine



L-asparagine

Consommables

- souche de cellules bioluminescente
- yeast extract (0,75g)
- glycérol (0,75mL)
- asparagine (1g)
- NaCl (7,5g)
- eau distillée 250 mL
- divers (aluminium, coupelles de pesée, anses...)

Matériel et Machines utilisés

- erlenmeyer de 25 mL (x14), erlenmeyer 250 mL (x2)

- autoclave de paillasse (cycle 121°C/20min)
- balance de précision
- papier pH
- pipetman 200µL, 1000µL

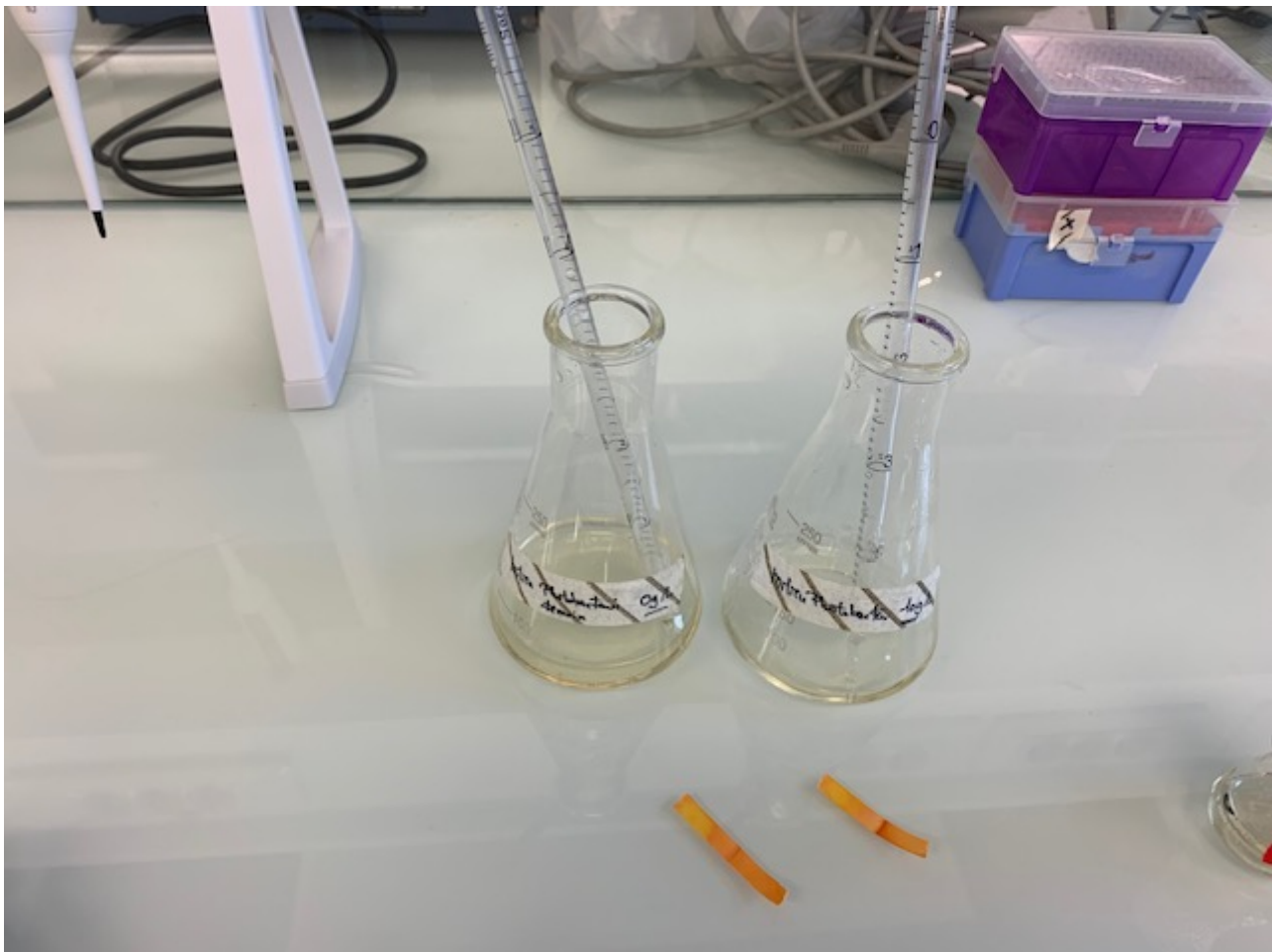
Protocole

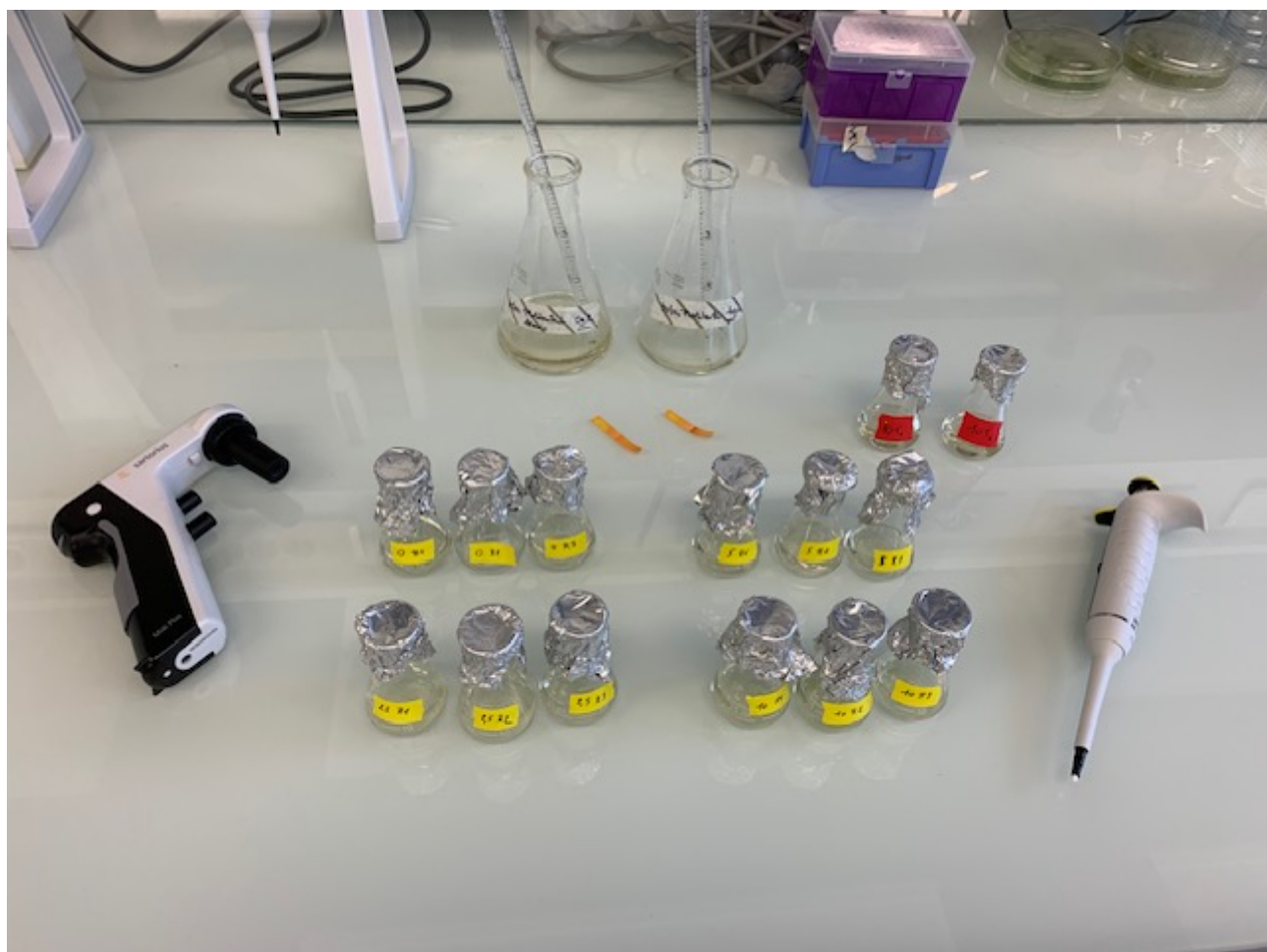
Nous allons tester 4 concentrations différentes soit de 4 séries de triplicats (12 échantillons) suivis sur 48h.

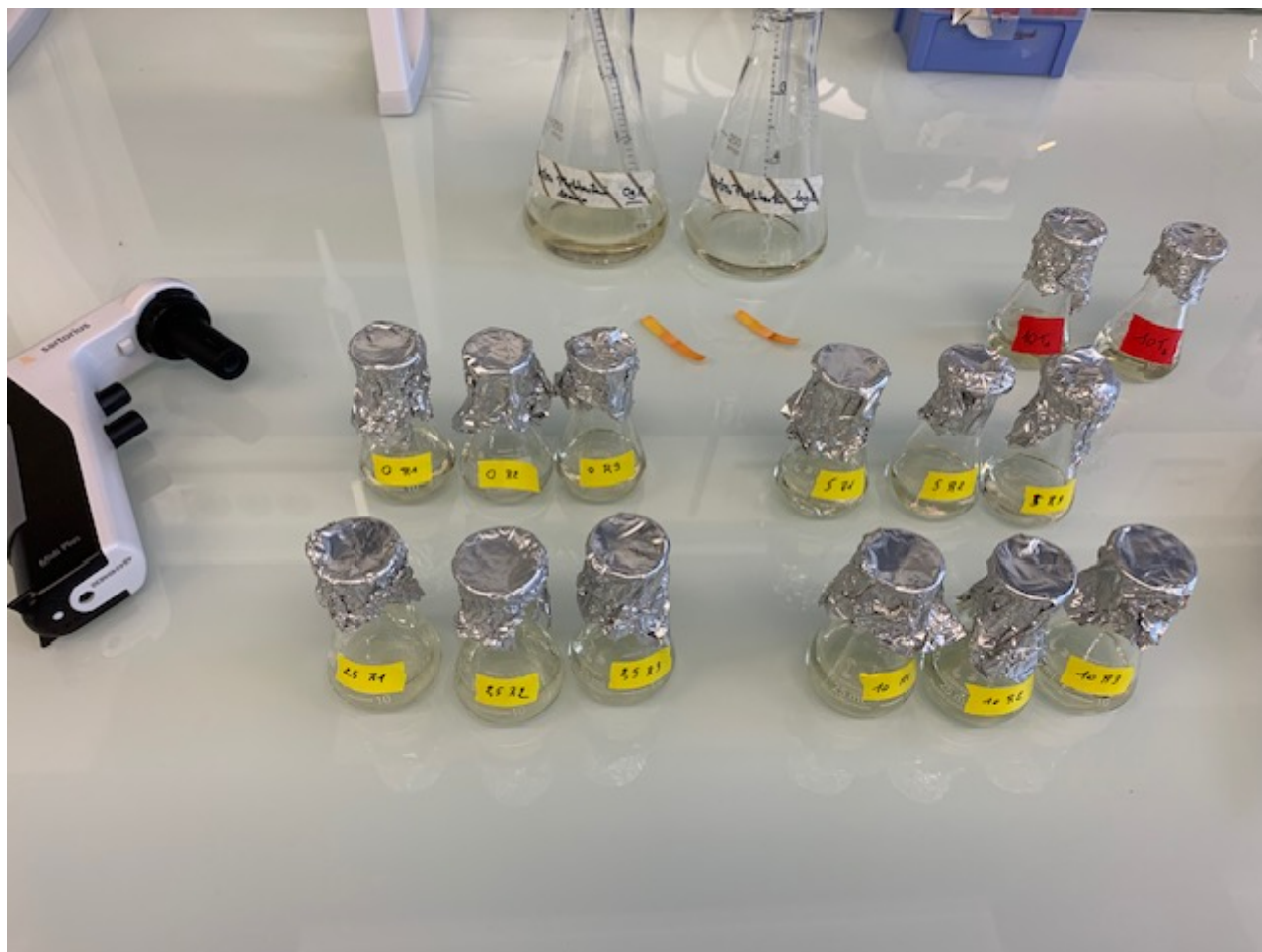
1/Préparation et stérilisation de 2 solutions-mères :

-1 erlenmeyer contenant 100 mL à 10g.L-1 de L-asparagine

-1 erlenmeyer contenant 150mL à 0g.L-1 de L-asparagine

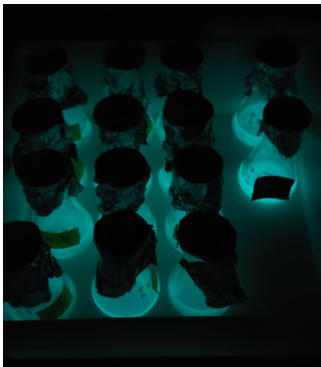








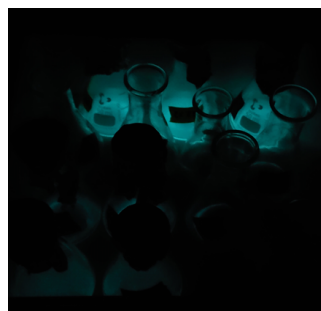
Observation :

Avec les concentrations de 0 ; 2,5 ; 5 ; 10 et 2 témoins

Date	12/10/23 à 9h30	13/10/23 à 9h45	14/10/23 à 9h30
			

Par la suite, nous avons fait un autre dosage avec les concentration de 0 ; 0,5 ; 1 et 2,5

Date	17/10/23 à 12h30	17/10/23 à 17h	18/10/23 à 9h30
------	------------------	----------------	-----------------



Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
11/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	-	+++	**
16h	2,5	-	-	-
	5	-	-	-
	10	-	-	-
	Témoin	-	-	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
11/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+	+++	+++
17h	2,5	+	+	+
	5	+	+	+
	10	+	+	+
	Témoin	-	-	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
12/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+++	+++	+++
9h30	2,5	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++
	10	+++	+++	+++
	Témoin	+++	+++	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
12/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+++	+++	+++
12h	2,5	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++
	10	+++	+++	+++
	Témoin	+++	+++	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
12/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+++	+++	+++
14h	2,5	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++
	10	+++	+++	+++
	Témoin	+++	+++	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
12/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+++	+++	+++
16h	2,5	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++
	10	+++	+++	+++
	Témoin	+++	+++	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
13/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+	+	+
9h45	2,5	++	++	++
	5	++	++	++
	10	++	++	++
	Témoin	++	++	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
13/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+	+	+
14h	2,5	++	++	++
	5	++	++	++
	10	++	++	++
	Témoin	++	++	/
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
14/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+	+	+
9h30	2,5	+	+	+
	5	Très faible	Très faible	Très faible
	10	Très faible	Très faible	Très faible
	Témoin	Très faible	Très faible	/

Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
16/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	-	-	-
16h30	0,5	-	-	-
	1	-	-	-
	2,5	-	-	-
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
17/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+++	+++	+++
12h30	0,5	+++	+++	+++
	1	+++	+++	+++
	2,5	+++	+++	+++
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
17/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+++	+++	+++
15h30	0,5	+++	+++	+++
	1	+++	+++	+++
	2,5	+++	+++	+++
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
17/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	+++	+++	+++
17h	0,5	+++	+++	+++
	1	+++	+++	+++
	2,5	+++	+++	+++
Date	Quantité de solution en g/L	Intensité lumineuseuse		
18/10/2023		R1	R2	R3
Temps en heure	0	**	**	/
9h30	0,5	+	+	/
	1	/	/	/
	2,5	+++	+++	+++

Revision #1

Created 19 May 2024 11:23:15 by Ouerfili Chaima

Updated 19 May 2024 11:23:15 by Ouerfili Chaima