

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

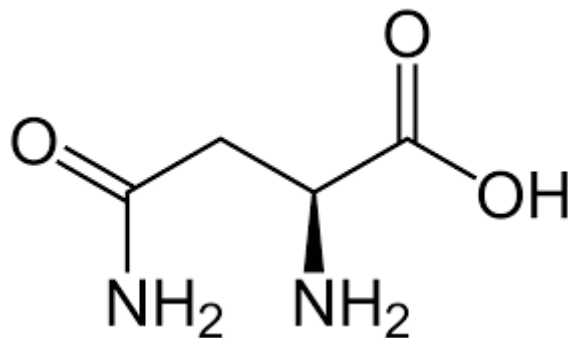


Contexte

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.

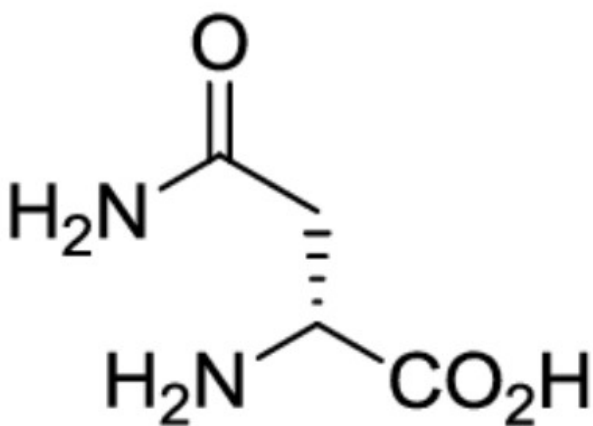


Objectifs

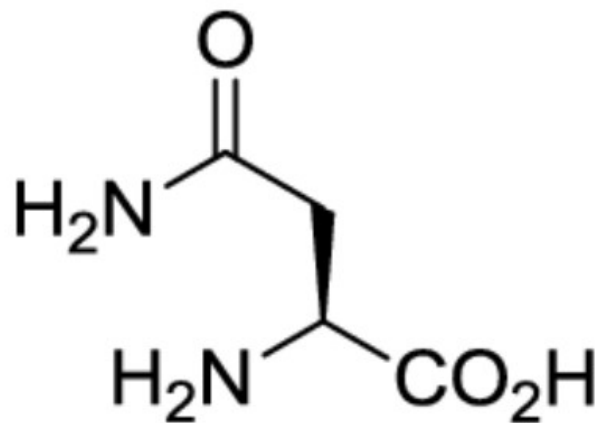
Tester des milieux à différentes concentrations décroissantes d'asparagine pour déterminer jusqu'où il est possible de réduire tout en maintenant la bioluminescence optimum.

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

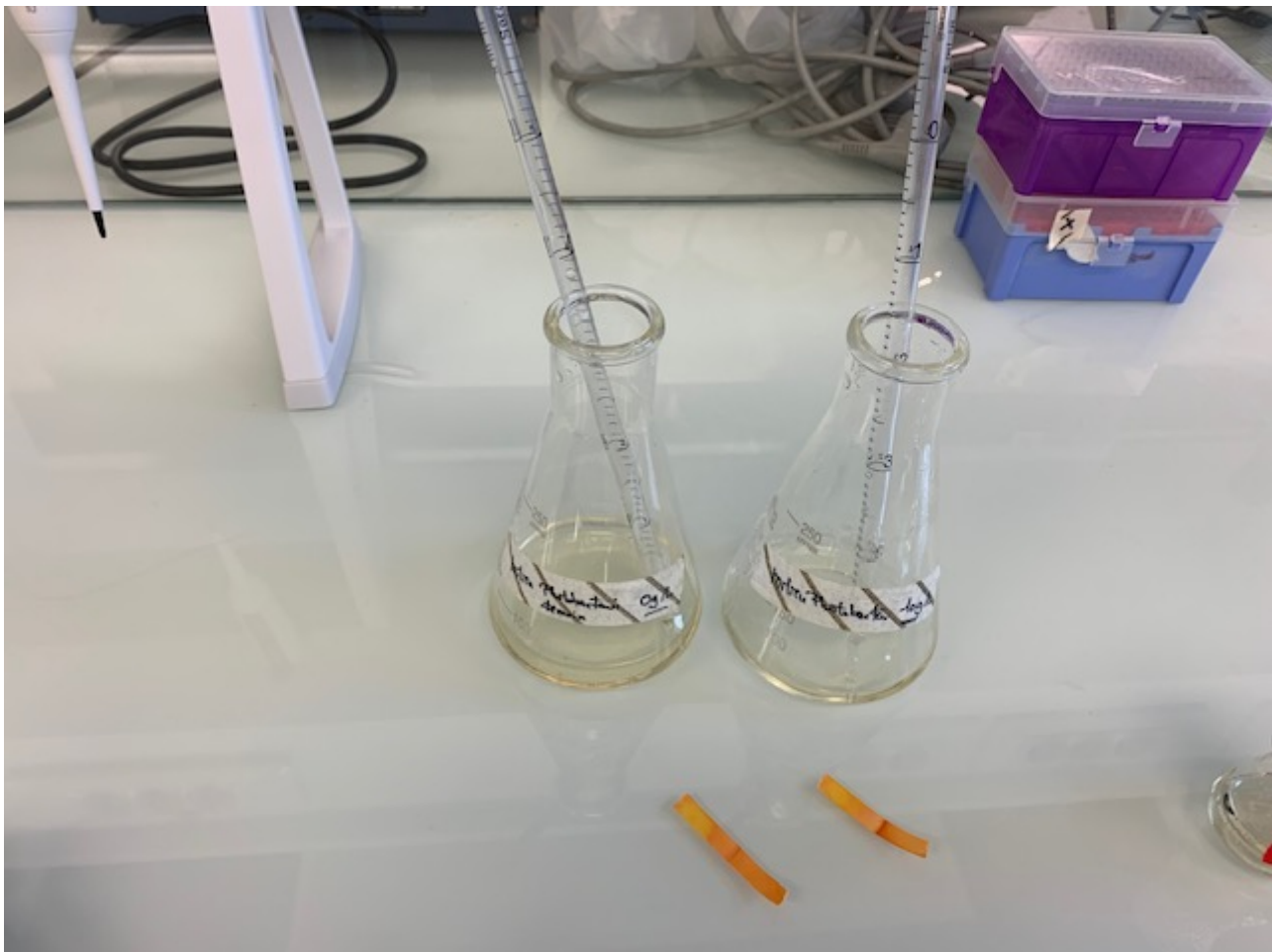
Protocole

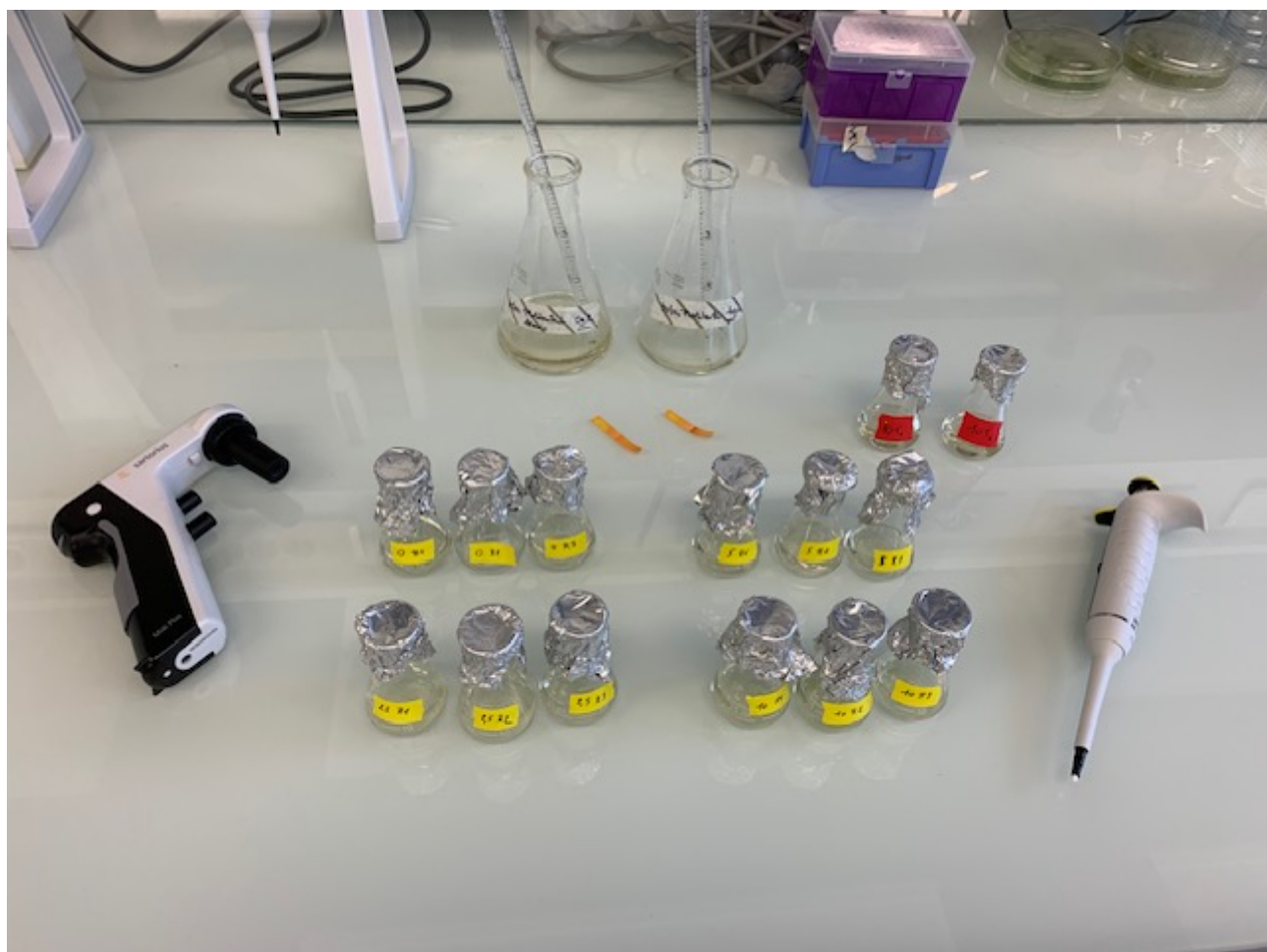
Nous allons tester 4 concentrations différentes soit de 4 séries de triplicats (12 échantillons) suivis sur 48h.

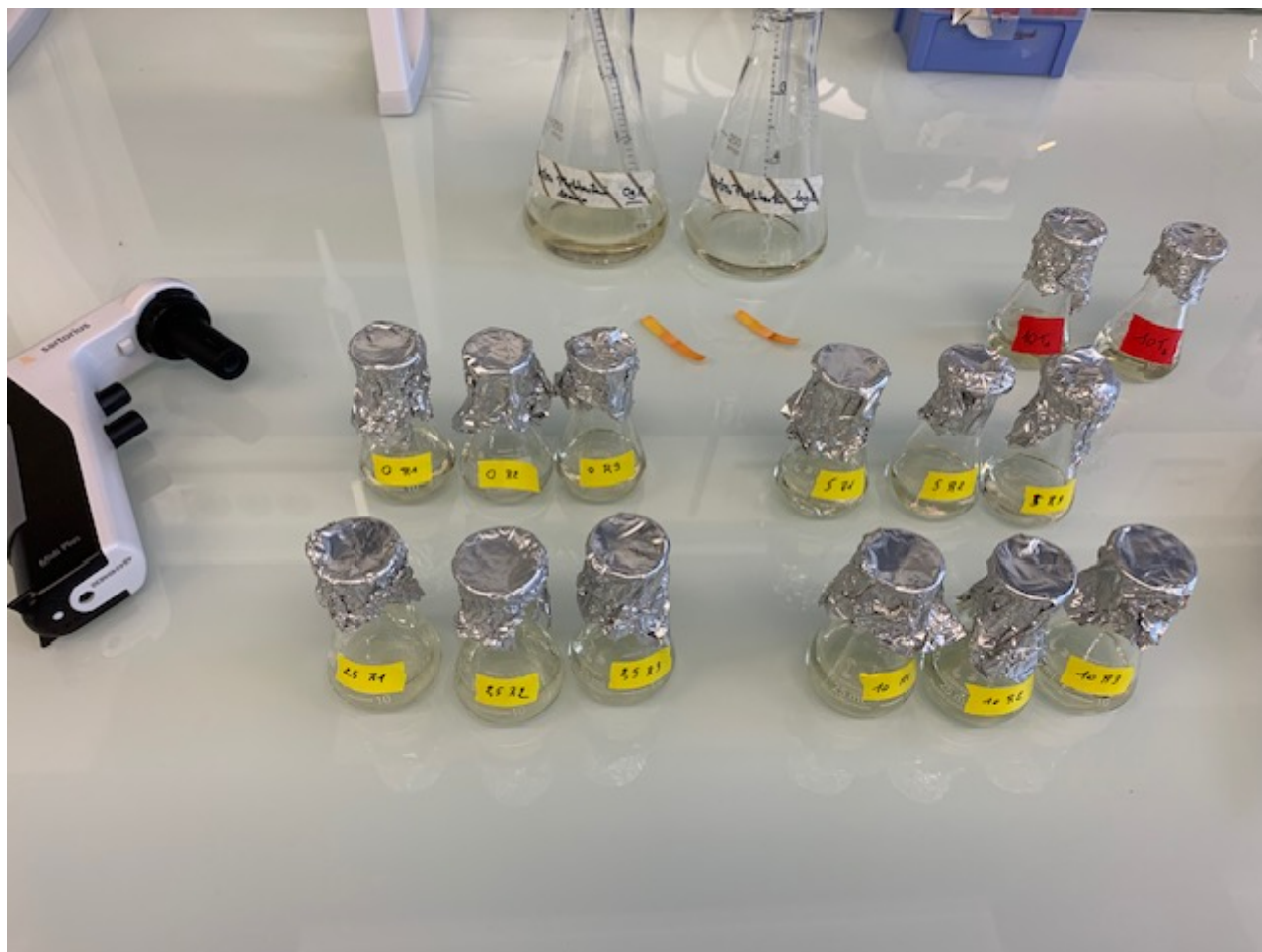
1/Préparation et stérilisation de 2 solutions-mères :

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

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

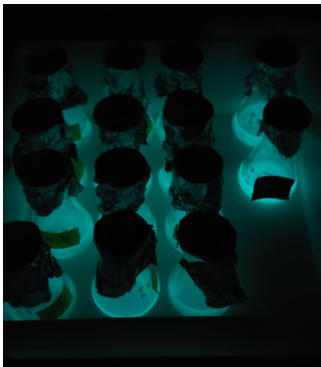








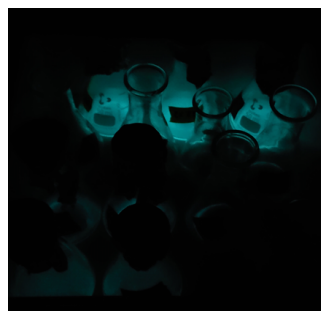
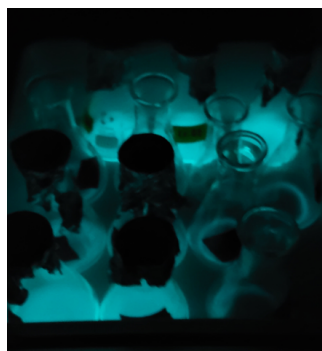
Observation :

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 |
|------|------------------|----------------|-----------------|
|------|------------------|----------------|-----------------|



Résultats :

| 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 #13

Created 10 October 2023 13:48:21 by Steve Hubert

Updated 21 October 2024 13:01:08 by Kernanec Alan