

La coniugazione nei lieviti

a cura di V. Soglio

I ceppi di lievito usati nei laboratori di ricerca sono generalmente aploidi, in quanto strumenti più versatili per le analisi genetiche. Talvolta si rende necessario produrre dei ceppi diploidi incrociando due ceppi aploidi con mating type opposto, 'a' e 'alpha'. Questo tipo di incrocio non è altro che il meccanismo di riproduzione sessuale dei lieviti e prende il nome di coniugazione (in inglese mating). Essa avviene nel giro di qualche ora ed è possibile osservare al microscopio ottico i cambiamenti morfologici a cui le due cellule vanno incontro.

Obiettivo

Osservare al microscopio la coniugazione nei lieviti.

Procedimento

1. Toccare con uno stuzzicadente una colonia di lievito aploide con *mating type* 'a' e fare uno striscio su una nuova piastra con terreno solido YPD (vedi protocollo 'Preparare il terreno di coltura per i lieviti').
2. Toccare con uno stuzzicadente una colonia di lievito aploide con *mating type* 'alpha' e fare uno striscio sulla stessa piastra, vicino al precedente.
3. Usando uno stuzzicadente pulito passare sopra ai due strisci fatti in modo tale da mescolare le cellule dei due opposti *mating type*.
4. Incubare la piastra a 30°C per 3-4 ore.
5. Ponendo direttamente la piastra sotto il microscopio ottico a un ingrandimento di 40x osservare le cellule in coniugazione.

Osservazioni

- A una prima osservazione poco attenta due cellule che si preparano alla coniugazione potrebbero sembrare cellule gemmanti, ma non è così: sono cellule polarizzate. Esse, in risposta ai feromoni prodotti e rilasciati dalla cellula di *mating type* opposto, vanno incontro a questo cambiamento morfologico che le porta a orientarsi una verso l'altra. Quando le due cellule si incontrano, fondono le loro pareti e membrane e i due nuclei aploidi danno origine a un unico nucleo diploide.

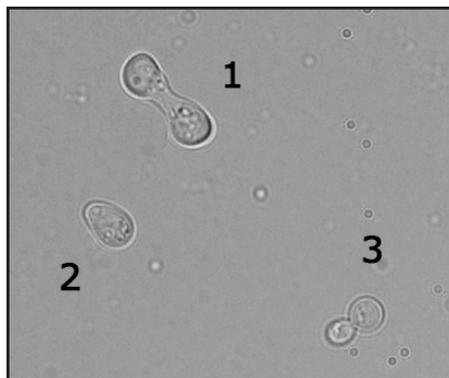


Figura 1 (40x)
Lievito durante la coniugazione: in alto due cellule fuse insieme (1), sotto una cellula polarizzata (2), più in basso una cellula gemmante (3).



Tempo previsto

10 minuti per l'allestimento
3-4 ore per la coniugazione
20 minuti per l'osservazione

Materiali e reagenti

- ✓ Piastra con colonie di lievito aploide con *mating type* 'a'
- ✓ Piastra con colonie di lievito aploide con *mating type* 'alpha'
- ✓ Piastre con terreno solido YPD
- ✓ Stuzzicadenti (sterili)

Strumentazione

- ✓ Microscopio ottico

- Le cellule polarizzate sono note con il termine inglese 'shmoos', dal nome di alcuni personaggi di un famoso fumetto americano di Al Capp (figura 3).

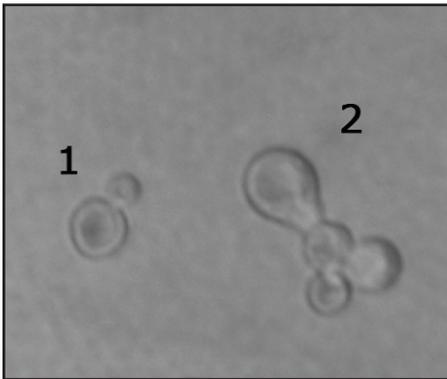


Figura 2 (40x)
Lievito gemmante (1) e lievito shmoos (2).

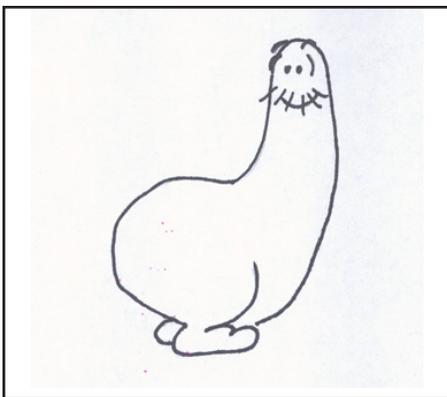


Figura 3
Nel disegno il personaggio dei fumetti Shmoos.