



BIO-INFORMATIQUE: EDITEUR DE PLASMIDES ET INSERTION DE GENE



Travaux des Actions Académiques Mutualisées

Niveau

- Terminale STL-Biotechnologies

Thème du programme

- **TSTL Biotechnologies, Initiation à la biologie moléculaire et au génie génétique > Sensibilisation à l'environnement de travail et aux exigences spécifiques à la pratique de la biologie moléculaire**

Situations pédagogiques

- **AT de Biotechnologies : génie génétique**

Liens internet

- <http://www.biology.utah.edu/jorgensen/wayned/ape/>
- http://genome-www.stanford.edu/vectordb/vector_descrip/COMPLETE/PUC18.SEQ.html
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/J00265.1>
- http://highered.mcgraw-ill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter14/animation_quiz_2.html
- http://highered.mcgraw-ill.com/sites/0072556781/student_view0/chapter14/animation_quiz_1.html

Compétences B2i

- **Domaine 1 : s'approprier un environnement informatique de travail.**
- **Domaine 3 : créer, produire, traiter, exploiter des données.**

Matériels TICE

- Un poste PC par binôme
- Une connexion internet
- Logiciel de traitement de texte

Mots clés

- **Bio-informatique, plasmide, enzymes de restriction, gènes, carte de restriction, électrophorèse, insertion de gène d'intérêt, sélection des bactéries transformées...**

Approfondir



Votre avis nous intéresse, merci de répondre à notre enquête concernant ce scénario.

Elève, cliquer **ici**.

Professeur, cliquer **ici**.



Activité 1: Réaliser la carte du plasmide pUC18

Objectifs

- Utiliser un logiciel de biologie moléculaire
- Localiser les gènes

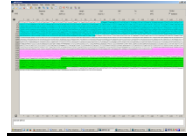
Durée conseillée

- 45 minutes

Consignes

- Cliquer sur l'image pour accéder au logiciel en ligne
- Répondre aux questions ci-dessous en utilisant comme support de réponse un document de type traitement de texte.

Logiciel ApE:



Plasmide pUC 18

```
tgcgcgcttt  
caatgataac
```



UTILISATION D'UN LOGICIEL

1. Télécharger le logiciel ApE.exe à partir du lien ci-dessus.
2. Récupérer la séquence du plasmide pUC 18. Copier-coller la séquence nucléotidique dans la fenêtre du logiciel. Préciser la nature circulaire de la séquence en cliquant sur le bouton « circular » puis ajouter un titre dans la zone commentaire.
3. Localisation de gènes dans le plasmide.
 - a. En utilisant l'indicateur de bornes dans « Edit », « select from to », sélectionner la zone allant de 469 à 146 et cliquer sur « feature » puis « new feature ». Cette zone correspond au gène Lac Z. Mettre un titre à cette séquence et l'identifier à l'aide d'une couleur. Cocher « rev.com » pour indiquer l'orientation inverse de ce gène.
 - b. Faire de même avec le gène de la résistance à l'ampicilline dont la localisation est 2486-1626.
 - c. Puis faire de même avec l'origine de réplication Ori de localisation 1465-867
4. Coupure par des enzymes de restriction
 - a. Afin d'afficher les sites de restriction des enzymes suivantes : EcoRI, EcoRV, BamHI, PstI, cliquer sur le sélecteur d'enzymes et cliquer sur le nom de ces enzymes.
 - b. Une fois les opérations terminées, on peut afficher la carte du plasmide à l'aide de l'icône « Map graphic ». Copier-coller cette carte sur un document de traitement de texte.



Activité 2: Introduction d'un gène d'intérêt dans le plasmide

Objectifs

- Utiliser un logiciel de biologie moléculaire
- Comprendre l'insertion d'un gène d'intérêt et la sélection des bactéries transformées

Durée conseillée

- 1h15 minutes

Consignes

- Cliquer sur les images pour accéder aux documents.
- Répondre aux questions ci-dessous en utilisant comme support de réponse un document de type traitement de texte.

Logiciel ApE:



Gène de l'insuline

tggcgcg

Animation 1:



Animation 2:



QUESTIONS

1. Quelles enzymes de restriction possèdent un site de coupure sur le plasmide ? Préciser la localisation de ces sites.
2. Dans le logiciel ApE, cliquer dans Enzymes puis « Digestion » : on obtient alors un profil électrophorétique. Combien obtient-on de fragments de restriction ? Justifier ce nombre à l'aide de la carte du plasmide.
3. Quelle est la taille de chaque fragment obtenu ? Justifier la migration différentielle de ces fragments.
4. Les enzymes de restriction reconnaissent une séquence de plusieurs nucléotides. Donner la séquence de coupure reconnue par l'enzyme EcoRI. S'agit-il d'une séquence palindromique ? Au niveau de quel nucléotide coupe l'enzyme ?
5. Récupérer dans Genbank la séquence du gène de l'insuline humaine en format FASTA. Copier-coller la séquence nucléotidique dans une nouvelle fenêtre du logiciel.
6. Ajouter la séquence « AATTC » au début du gène et « G » à la fin du gène.
7. Insérer l'ensemble au niveau du site de coupure d'EcoRI du plasmide pUC18.
8. Réaliser une nouvelle digestion du plasmide transformé uniquement par EcoRI.

Afin de répondre aux questions suivantes, utiliser les animations 1 et 2.

9. Afficher la carte du plasmide et le copier-coller dans un document de traitement de texte. Est-ce que tous les gènes sont intacts suite à cette insertion ?
10. Grâce à une recherche sur internet, expliquer à quoi sert le gène Lac Z.
11. Quel est l'intérêt d'utiliser l'X gal comme substrat et non du lactose ?
12. Comment peut-on sélectionner les bactéries qui ont intégré le plasmide pUC18 natif ?
13. Dans le milieu de culture gélosé, de l'X gal a été ajouté : on obtient des colonies bleues et des colonies blanches. Quelles sont les colonies issues des bactéries qui possèdent le plasmide pUC18 recombiné avec le gène de l'insuline ?