

Cellule ADN et unité du vivant - Classe de Seconde

Progression scientifique

3 chapitres sur une durée de 11 semaines :

- La cellule fonde l'unité et la diversité du vivant.
- Universalité et variabilité de la molécule d'ADN.
- Parenté et diversité des organismes.

Un premier chapitre a permis de constater que les vertébrés possédaient un plan d'organisation semblable et que celui-ci se mettait en place très tôt. L'observation des premiers stades de développement des vertébrés, étendue à ceux de l'oursin par exemple a permis de raviver la notion d'ancêtre commun des Êtres Vivants déjà vue en 4^{ème}.

Un problème peut alors être dégagé :

« **Comment la diversité du Vivant apparaît-elle à partir d'un ancêtre commun ?** »

Dans un second chapitre, la mise en évidence des deux grands types de métabolismes est reliée aux structures des cellules chlorophylliennes et non-chlorophylliennes. On montre que l'activité des cellules est sous le contrôle de l'information génétique dont le support est la molécule d'ADN.

La transgénèse permet de montrer que la molécule d'ADN est universelle et que la séquence de nucléotides au sein d'un gène constitue le message.

Un nouveau problème peut se poser. On constate que les individus présentent des caractères propres.

Comment cette diversité des êtres vivants se met-elle en place ?

Le troisième chapitre montre que les mutations sont à l'origine des nouveaux allèles, que celles-ci peuvent être transmissibles ou non et que l'environnement peut en augmenter la fréquence. L'exemple des mutations au niveau des gènes homologues, vient appuyer la notion d'évolution puisqu'elles entraînent une modification du plan d'organisation des êtres vivants.

La séquence proposée se situe dans le 3^{ème} chapitre de ce thème.

Programme de la partie étudiée

Universalité et variabilité de la molécule d'ADN.

La transgénèse repose sur l'universalité de la molécule d'ADN en tant que support de l'information génétique.

Chaque chromosome contient une molécule d'ADN qui porte de nombreux gènes.

L'ADN est formé de deux chaînes complémentaires de nucléotides (A, T, C, G). La séquence des nucléotides au sein d'un gène constitue un message.

Les allèles ont pour origine des mutations qui

Ne sont pas au programme :

- Les expériences historiques sur la structure et les fonctions de l'ADN.
- La structure détaillée des nucléotides.
- La réplication de la molécule d'ADN.
- Les mécanismes de l'expression génétique et le code génétique.
- Les différents types de mutations (ponctuelles et chromosomiques).

modifient la séquence de l'ADN. Les mutations introduisent une variabilité de l'information génétique. Les conséquences des mutations sont différentes selon qu'elles touchent les cellules somatiques ou germinales.

Accompagnement :

A l'universalité de la molécule d'ADN dans le monde vivant s'ajoute sa variabilité. Cette variabilité a pour origine des modifications au hasard de la séquence d'ADN (mutations) qui peuvent avoir des conséquences sur l'activité cellulaire et sur l'organisme tout entier. L'étude des mutations est limitée à leur mise en évidence à partir d'un changement phénotypique héréditaire.

L'étude de leur origine ne serait pas compréhensible en absence de toute connaissance sur la réplication et, de même, la description détaillée des différents types de mutations n'a pas de sens en l'absence de connaissances sur le code génétique. On notera à cette occasion qu'au sein d'une espèce, la séquence des nucléotides de l'ADN de chaque individu est unique. Elle trouve son application dans le génotypage des individus. Le taux de mutation peut-être augmenté par certains agents de l'environnement. C'est le cas des rayonnements ultraviolets (UV) qui entraînent des lésions de l'ADN et qui sont à l'origine de très nombreux cancers de la peau.

L'effet mutagène des UV peut être mis en évidence à l'occasion d'expériences sur la levure. C'est l'occasion de rappeler l'importance de la couche d'ozone dans l'absorption des UV et de faire la relation avec la partie Sciences de la Terre du programme.

TP influence de l'environnement sur la fréquence des mutations

Activité de motivation :

Cette activité va permettre de poser le problème et d'amener l'hypothèse et ses conséquences vérifiables.

Une semaine à l'avance deux boîtes de Pétri sontensemencées avec des levures rouges, l'une est exposée au soleil et l'autre est laissée à l'obscurité.

Les élèves constatent que :

- Dans la boîte à l'obscurité les colonies sont en grande majorité roses, il y a très peu de colonies blanches.
- Dans la boîte exposée au soleil, il y a des colonies blanches en plus grand nombre, parmi les roses.

Les prérequis sont réactivés et un dialogue enseignant-élèves s'instaure :

- *Les mutations ont été étudiées dans les cours précédents :*

- Les mutations entraînent une variabilité de l'information génétique.
- Les mutations peuvent modifier les phénotypes (exemple de la drépanocytose)
- les mutations sont rares, aléatoires.
- les mutations peuvent être transmissibles, si elles touchent les cellules germinales.

- *Le cas de personnes atteintes de cancers de la peau a été vu au cours précédent, les élèves ont constaté que plus elles restent exposées aux UV, plus leurs cellules vont subir des mutations.*

Dialogue :

- Que peut-on dire du patrimoine génétique de ces deux sortes de colonies blanches ou roses ? (Elles ont un patrimoine génétique différent !)
- On a mis les mêmes levures au départ, pourquoi, a-t-on des levures avec un patrimoine génétique différent ? (Certaines ont pu subir une mutation)
- Qu'est-ce qui a pu les faire muter ? (Les rayons du soleil)
- Que trouve-t-on dans les rayons du soleil ? (Des UV)

Problème :

Comment le nombre des nouveaux phénotypes de levure donnant des colonies blanches a-t-il pu augmenter dans les boîtes exposées au soleil ?

Hypothèse : Le nombre de colonies blanches a augmenté sous l'effet des rayons ultra-violet qui ont pu provoquer des mutations de l'information génétique.

Conséquence vérifiable :

- si...alors on supprime les UV, il y aura peu de colonies blanches de levures.
- si...alors si on augmente la durée d'exposition de mes levures aux U.V alors le nombre de colonies blanches va augmenter.

Activité de recherche et de validation de l'hypothèse

Pour mettre à l'épreuve l'hypothèse il faut vérifier les conséquences :

- soit on peut prendre en compte une boîte de levures exposée aux UV et son témoin mis à l'obscurité (1ère conséquence) ;
- soit on fait varier le temps d'exposition, et chaque groupe de deux élèves ne réalise qu'une seule expérience (2ème conséquence), c'est la proposition faite ici.

1. Elaboration du protocole expérimental par les élèves :

Supports :

- Une liste de matériel est inscrite sur le tableau.
- Un kit est présent devant eux. :
 - une suspension de levure
 - une boîte avec lampe à U.V.
 - des compte-gouttes stériles
 - des étaleurs stériles
 - 5 boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé complet.
- Un transparent du tableau est projeté.

Tâche de l'élève :

- Individuellement : le tableau ci-dessous est rempli sur une fiche.
- Par groupe de 3 élèves, les idées sont mises en commun et ce qui est important est souligné en rouge
- Groupe demi-classe mise en commun : un rapporteur de chaque groupe se propose et vient remplir une partie du tableau
- Des précisions sont apportées par l'enseignant, en particulier sur les conditions expérimentales :
 - travailler dans des conditions stériles.
 - mettre à l'obscurité pour supprimer les d'UV.
 - prévoir un milieu nutritif pour assurer leur nutrition.
 - attendre que les levures se multiplient à la température adéquate.

Un protocole peut être distribué (voir annexe 1).

Quel est le fait que vous cherchez à vérifier lors de cette expérience ?	
Quel sera le facteur variable de votre expérience ?	
Quelles sont les autres conditions de l'expérience ?	
Quel paramètre allez-vous mesurer en fin d'expérience ?	
Quelle expérience témoin prévoyez-vous ?	
Indiquez les étapes de l'utilisation du matériel proposé.	

2. Evaluation formative (objectif technique)

Elle est distribuée avant la manipulation.

Elle est réalisée individuellement.

Elle est accompagnée de cette consigne : lisez rapidement ces critères de réussite, lorsque vous estimerez que vous avez réalisé le travail demandé, mettez une croix dans la case oui ou non.

Critères de réussite de la manipulation	oui	non
La paillasse est bien rangée et désinfectée.		
Les mains ont été désinfectées.		
Les boîtes ont été marquées (nom du groupe, numéro et durée d'irradiation prévue).		
Les suspensions de levures ont été agitées avant utilisation.		
Les ustensiles stériles sont sortis de leur emballage au dernier moment et n'ont pas été posés sur la paillasse.		
Les boites sont fermées rapidement après ensemencement.		

3. Manipulation

La manipulation est réalisée par groupe de 3 élèves, puis une remontée collective de l'évaluation est faite.

4. Résultats obtenus

Voici un exemple des résultats obtenus.

Temps d'exposition	Nombre total de colonies	Nombre de colonies blanches	% de colonies blanches
0	3100	6	0.2
15	1700	13	0.7
30	520	7	1.34
1 mn	40	3	7.5
2 mn	7	1	14

Le nombre de colonies de levures mutées (blanches) sera exprimé en pourcentage du nombre total de colonies.

$$X = \frac{\text{(nombre de colonies mutée dans la boîte x 100)}}{\text{nombre total de colonies dans la boîte}}$$

5. Exploitation des résultats

- Oralement on constate que l'hypothèse est validée : quand on augmente la durée d'exposition aux UV, le % de colonies mutées est plus important. La fréquence des mutations sera d'autant plus importante que l'individu aura été exposé plus longtemps à l'agent mutagène.

6. Conclusion

- On peut répondre au problème posé au départ : Comment les nouveaux phénotypes de levure donnant des colonies blanches ont-ils pu augmenter dans l'une des boîtes ? Le nombre de colonies blanches a augmenté car les rayons ultraviolets ont augmenté le nombre de mutations de l'ADN des levures rouges. Le nouveau phénotype levures blanches est devenu plus abondant.

Annexe 1

PROTOCOLE

☞ **Rappel** : l'ensemencement des boîtes de Pétri doit se faire en conditions stériles : désinfecter la paillasse et se laver les mains à la Javel, travailler dans les 15 cm d'un bec Bunzen, éviter de parler.

Matériel :

- deux étaleurs stériles, deux compte-gouttes stériles.
- un becher pour les ustensiles usagés.
- 5 boîtes de Pétri avec un milieu gélosé complet.
- un tube A (suspension de levures à 10^6 cellules/ml).
- un tube B (suspension de levures à 10^5 cellules/ml).

Manipulation :

- ❑ Repérer les boîtes de Pétri SANS LES OUVRIR à l'aide d'un stylo marqueur sur le fond de celles-ci. Noter le nom du groupe.
Une boîte sera marquée **0** et ne sera pas soumise aux UV, c'est la boîte témoin. Les autres boîtes seront marquées **1, 2, 3** et **4**, elles subiront des temps d'irradiation différents (voir ci-dessous).
- ❑ Agiter le flacon **B**. Ouvrir la boîte **0** en posant le couvercle à l'envers sur la paillasse. Ouvrir le flacon **B** au voisinage de la flamme.
- ❑ Avec un compte-gouttes, verser 2 gouttes de la solution **B** sur la gélose puis étaler le liquide avec l'étaleur stérile d'un mouvement circulaire afin de bien répartir la solution sur la gélose qui ne doit plus paraître humide. Refermer rapidement la boîte.
- ❑ Placer compte-gouttes et étaleur dans l'eau de Javel, ils ne seront plus utilisés.
- ❑ Procéder de la même façon avec la solution contenue dans le flacon **A** pour les quatre autres boîtes, avec le deuxième compte-gouttes et le deuxième étaleur. Refermer les boîtes qui sont prêtes à être irradiées.

□ Irradiation: ☠

- Eteindre la lampe
- Ouvrir la porte de la boîte d'irradiation
- Placer la boîte **1** sous la lampe
- Enlever le couvercle et le placer à coté de la boîte (**face interne au dessus**)
- refermer la porte
- Allumer la lampe le temps nécessaire
 - 15 secondes pour la boîte 1
 - 30 secondes pour la boîte 2
 - 1mn pour la boîte 3
 - 2 mn pour la boîte 4
- Eteindre la lampe
- Ouvrir la porte, refermer la boîte de Pétri, la sortir et la scotcher
- Procéder ainsi pour les autres boîtes en respectant le temps d'irradiation.

Les boîtes seront incubées 1 semaine à température ambiante, couvercle vers le bas.