

11: Construction d'une molécule d'ADN

L'ADN est le support de l'information génétique de tous les êtres vivants. Nous pouvons le voir comme une très longue échelle en spirale constituée de nombreux éléments. Chacune des deux chaînes en périphérie est une succession de sucres et de groupes phosphate maintenues ensemble grâce à quatre bases ou nucléotides distincts : l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) et la thymine (T). Une adénine s'appariera toujours avec une thymine tandis qu'une cytosine s'appariera avec une guanine. Nous parlons ici de complémentarité des bases nucléotidiques. Cette dernière détermine l'arrangement en double-hélices de la molécule d'ADN dans l'espace.

Thèmes : ADN, structure, ADN polymérase, complémentarité des bases.

Construction d'une molécule d'ADN

Pour que des enfants ou des étudiants construisent une longue molécule d'ADN, nous avons cherché quel support était le plus adapté pour eux. Nous avons opté pour les flocons de Playmais. Une boîte de Playmais (Fig. 1) contient des centaines de petits flocons faits à partir de maïs, donc recyclable et non nuisible pour l'environnement. Malgré son apparence amusante et enfantine, il s'agit là d'un support intéressant pour plusieurs raisons. Ils sont sans risque pour les jeunes enfants et très aisés à manipuler (une éponge humide suffit). De plus, ils sont légers, malléables et très faciles à se procurer.

Du fait que cela ne prendra pas beaucoup de temps pour construire la molécule d'ADN en elle-même, les professeurs auront tout le temps de poser les bases théoriques nécessaires à la compréhension de ce qui est à la base du vivant.



Fig. 1 - Une boîte de Playmais contient plus de 500 flocons de couleurs. Elle peut être commandée directement sur le site officiel www.playmais.com ou alors achetée dans un magasin de jouets (King Jouet...).

Matériel

Une boîte de Playmais et une éponge humide sont le seul matériel requis. Chaque couleur de flocon représente un composant donné de la molécule d'ADN (Fig. 2) comme cela est indiqué dans le tableau suivant.

| Couleur du flocon | représente |
|-------------------|------------------|
| Vert | A |
| Bleu | C |
| Jaune | G |
| Rouge | T |
| Blanc | Désoxyribose |
| Gris | Groupe phosphate |

Dans le séquençage de l'ADN par la méthode Sanger, les quatre bases sont détectées grâce à l'utilisation de fluorophores et sont représentées comme des pics de différentes couleurs pouvant être interprétés pour la détermination de la séquence en bases d'une molécule d'ADN (Fig. 3). Normalement, la courbe représentant la guanine devrait être jaune mais pour une question d'aisance de lecture, celle-ci est dessinée noir.



Fig. 2 - De gauche à droite, les flocons représentent les bases (rouges, bleus, verts et jaunes), les groupes phosphate (gris) et les désoxyriboses (blancs).

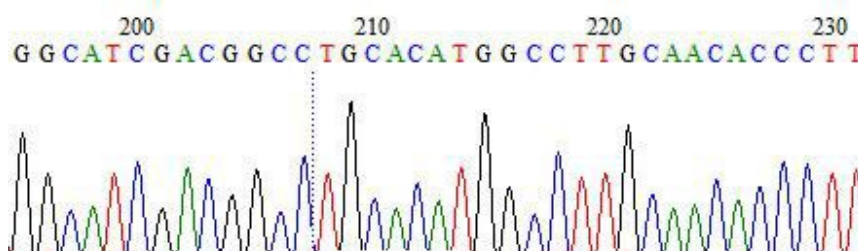


Fig. 3 - Exemple d'un séquençage selon la méthode Sanger. La séquence en bases est représentée en haut du graphique.

Méthodes

Nous allons présenter ici deux façons de construire la molécule d'ADN. La première possibilité est la plus simple et s'adresse préférentiellement aux classes d'enfants plus jeunes. En effet, cette méthode les encourage à comprendre le concept structurel de l'ADN sans entrer dans les détails du processus biologique réel de formation de l'ADN. La deuxième possibilité exposée au point 2, quant à elle, permet aux étudiants plus âgés d'intégrer la notion de polymérisation de l'ADN.

1. Méthode simple

1.1 Construction du squelette de phosphates et de sucres



La première étape de la construction est l'assemblage des deux chaînes latérales de la molécule à l'aide de groupes phosphate (flocons gris) et de désoxyriboses (flocons blancs) (Fig. 4A).

Pour cela, prendre un flocon et l'humidifier à chaque extrémité en le pressant légèrement sur l'éponge humide (Fig. 4B).

Le flocon est alors prêt à être collé à deux autres flocons à chacune de ses extrémités humides (Fig.

4C). Il suffit alors de répéter cette opération pour chaque flocon que vous voulez intégrer pour former une chaîne.

Nous obtenons deux chaînes d'environ dix flocons chacune sur lesquelles les bases nucléotidiques seront collées à l'étape suivante. Notez qu'il est préférable de ne pas faire de trop longues chaînes latérales du fait que nous allons devoir appliquer une légère torsion lors de l'ajout des bases. Cette torsion doit donc rester modérée pour que lors de l'assemblage des chaînes latérales, la molécule ne casse pas.

Fig. 4 - Construction du squelette de phosphate et de sucres. (4A) La première étape de la construction requiert une éponge humide et des flocons pour les chaînes latérales. (4B) Humidifier l'extrémité de chaque flocon en les pressant légèrement sur l'éponge. (4C) Coller les deux extrémités à assembler par pression pour obtenir le début de la chaîne latérale. (4D) Répéter cette technique pour finalement obtenir les deux chaînes latérales (composées d'une dizaine de flocons) nécessaires pour faire la molécule d'ADN.

1.2 Assemblage des bases complémentaires

La deuxième étape de notre construction vise à assembler les bases de façon complémentaire, soit d'apparier un A avec un T d'une part et un C avec un G d'autre part (Fig. 5A). Une fois cet assemblage effectué, les paires de bases seront ajoutées au groupe désoxyribose d'une chaîne latérale l'une après l'autre à la manière d'une spirale autour de la chaîne (Fig. 5B). Si nous voulons respecter la structure réelle de l'ADN, chaque tour d'hélice devra compter dix paires de bases.



Fig. 5 - Complémentarité des bases et assemblage final de la molécule. (5A) Appariement d'un A avec un T et d'un C avec un G. (5B) Ajout des paires de bases en spirale aux désoxyriboses des chaînes latérales. (5C) Assemblage de la deuxième chaîne latérale au reste de la molécule d'ADN.

1.3 Assemblage final de la molécule

La dernière étape de notre construction consiste à assembler la deuxième chaîne latérale à la structure que nous avons réalisée précédemment. Si cette étape est réalisée correctement, nous devrions obtenir une molécule qui suit le modèle de la double hélice (Fig. 5C) En pratique, les étudiants peuvent travailler en binôme et rassembler leur travail à la fin de leur séance de travaux pratiques.

Au final, vous obtenez une molécule d'ADN pouvant atteindre la longueur que vous désirez (Fig. 6). Cette image a été prise le 13 juin 2009 pour le 450^e anniversaire de l'Université de Genève. A cette occasion, l'équipe BiOutils a animé un stand dédié à la construction d'une molécule d'ADN géante par des enfants de 8 à 12 ans.



Fig. 6 - Exemple d'une molécule de 30m de long construite par des enfants lors du 450^e anniversaire de l'Université de Genève. Pour un aperçu d'images supplémentaires de cet événement, veuillez consulter le lien suivant :

<http://medweb2.unige.ch/bioutils/archives2009.php>.

2. Méthode avancée

2.1 Construction des unités constitutives de l'ADN

Un désoxynucléotide est une unité constitutive de l'ADN composée d'un groupe phosphate, d'un désoxyribose et d'une base. Pour construire cette unité, vous aurez besoin d'assembler les flocons selon la méthode décrite dans la section 1, comme montré dans la Fig. 7A. Lorsque vous avez construit plusieurs nucléotides avec les bases disponibles, vous serez en mesure de construire les brins d'ADN.

2.2 Construction des brins d'ADN

Pour construire le premier brin d'ADN, ajouter chaque unité l'une après l'autre afin d'obtenir un long squelette de sucres et de groupes phosphate combiné aux bases formant ainsi une double hélice droite (Fig. 7B).

2.3 Construction du brin complémentaire à la façon d'une polymérase

Maintenant, les étudiants vont agir comme s'ils étaient une ADN polymérase pour construire le brin complémentaire. Les étudiants vont fixer une unité après l'autre au brin préalablement assemblé. Prenez soin de respecter la loi de la complémentarité des bases (Fig. 7C) !

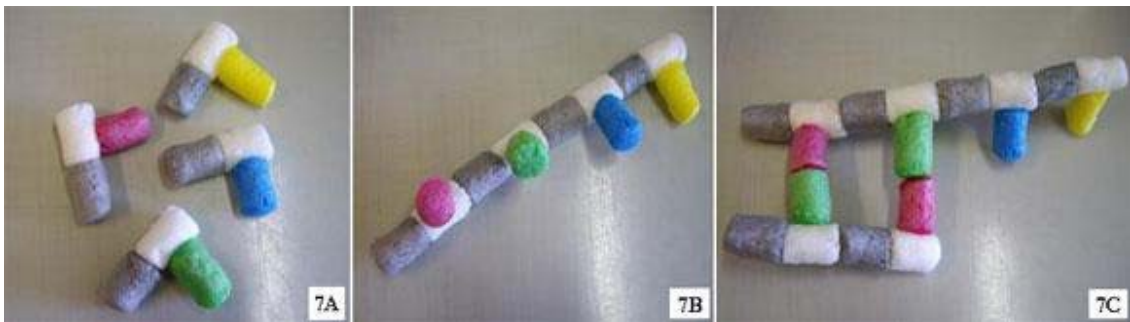


Fig. 7 - (7A) Une unité constitutive de l'ADN ou nucléotide comprend un groupe phosphate, un désoxyribose et une base. (7B) Assemblage des unités en un brin d'ADN. (7C) Construction du brin complémentaire avec les nucléotides restants.

Conclusion

En utilisant cette technique simple et interactive, les élèves seront en mesure de comprendre les notions liées à la structure de l'ADN. Cela semble être un moyen satisfaisant d'illustrer un cours abordant le support de la vie. De plus, manipuler la molécule d'ADN permet aux élèves de mieux assimiler ce concept, ce qui sera utile pour la compréhension des mécanismes faisant intervenir l'ADN (réplication, transcription...) abordés plus tard.