

26 : Transfo-couleur

Cette expérience a été mise en place avec l'aide du Dr. Erik Gullberg de l'Université d'Uppsala en Suède, qui nous a gracieusement fourni les souches utilisées pour cette activité.

Cette expérience est un complément à l'expérience [4. Transformation bactérienne](#).

Bactéries pigmentées : Pour cette alternative, nous allons utiliser différents plasmides spécialement conçus pour induire la production d'un pigment, une chromoprotéine, rendant la colonie bactérienne colorée. Chaque plasmide contient une origine de réplication (ori) un gène de résistance à un antibiotique, la kanamycine (Kan), et un gène codant pour une chromoprotéine.

Le gène de résistance à la kanamycine code pour une enzyme qui inactive l'antibiotique, ainsi, seules les bactéries transformées avec l'un des plasmides seront capable de croître sur un milieu contenant l'antibiotique.

L'EXPERIENCE

Dans cette expérience, nous allons utiliser trois différents plasmides exprimant trois différentes chromoprotéines. Les gènes codant pour les chromoprotéines ont été initialement isolés de coraux marins.

Chromoprotéine bleue (plasmide pBO5) : Le gène *amilCP* codant pour cette chromoprotéine provient du corail *Acropora millepora*. Cette protéine a une absorbance maximum à 588 nm conférant une coloration bleue/violette.


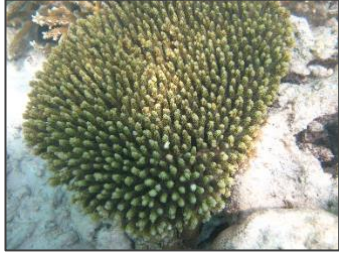
Chromoprotéine rouge (plasmide pBO6) : Le gène *mRFP1*, donnant une coloration rouge, a été isolé de *Discosoma sp.*, une espèce de coraux provenant de l'océan indien.

Chromoprotéine jaune (plasmide pBO7) : Egalement issu du corail *Acropora millepora*, le gène *amilGFP* code pour une protéine donnant une forte coloration jaune quand il est exprimé.

Acropora millepora (pigment bleu)



<http://www.reeffrontiers.com/archive/index.php/t-13518.html>

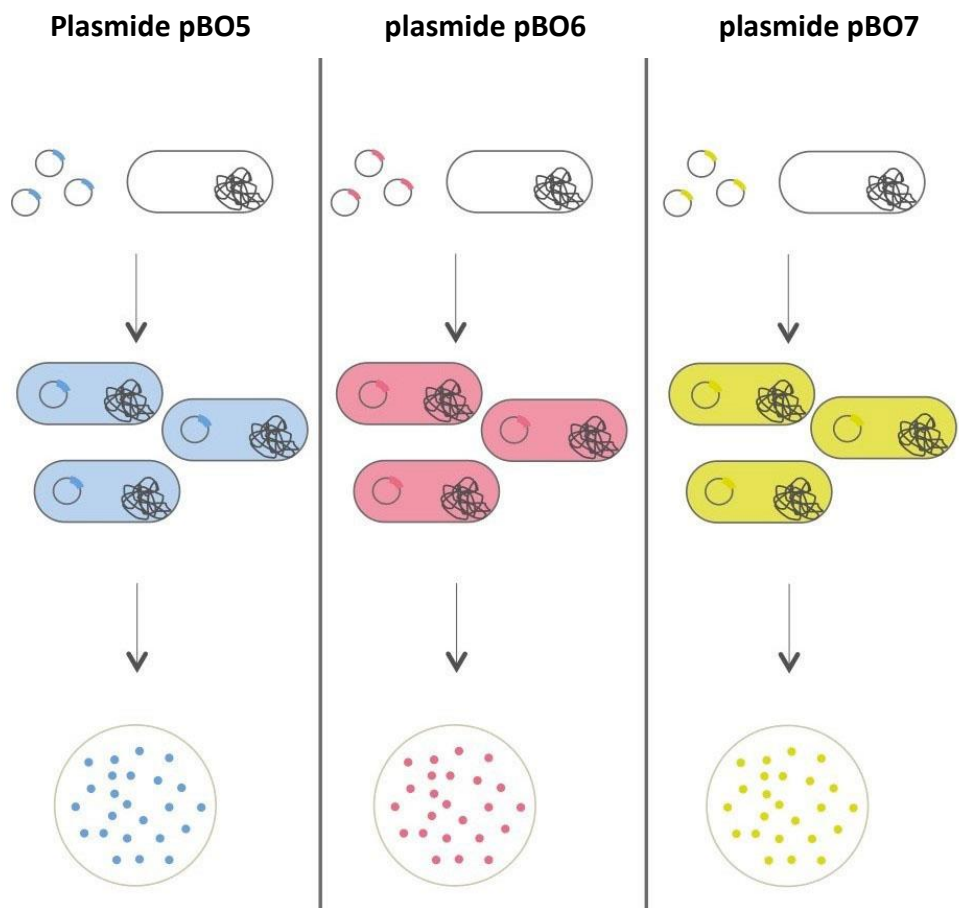
Discosoma sp (pigment rouge)	 <p data-bbox="815 421 1259 450">https://es.wikipedia.org/wiki/Discosoma</p>
Acropora millepora (pigment jaune)	 <p data-bbox="815 721 1353 750">https://fr.wikipedia.org/wiki/Acropora_millepora</p>

PROTOCOLE

1/3 de la classe va utiliser le plasmide pBO5, 1/3 de la classe le plasmide pBO6 et 1/3 de la classe le plasmide pBO7.

Transformation

- Prendre deux tubes de cellules compétentes et les noter + et –
- Ajouter 8 µl du plasmide dans le tube marqué +
- Mettre les deux tubes sur la glace pendant 15 minutes.
- Incuber les tubes deux minutes à 42° (choc thermique)
- Replacer ensuite les tubes dans la glace durant 5 minutes
- Ajouter 1ml de LB dans chaque tube et incuber à 37° durant 30 minutes.
- Déposer et étaler comme suite :
 - 0.1 ml du tube + sur une boîte LB + Kan
 - 0.1 ml du tube + sur une boîte LB
 - 0.1 ml du tube – sur une boîte LB + Kan
 - 0.1 ml du tube – sur une boîte LB
- Centrifuge le reste du tube + 30 secondes à vitesse max pour faire tomber les cellules.
- Enlever 0.7 ml de surnageant
- Resuspendre le culot avec le reste du surnageant et étaler ces 0.1 ml sur une boîte LB+ Kan
- Mettre les boîtes à 37° pendant 24h.



POUR ALLER PLUS LOIN (Matériel en option)

Le Bio-art est une évolution relativement récente de l'art contemporain. Les artistes utilisent les ressources offertes par les biotechnologies, tel que la culture de cellules, l'imagerie à résonance magnétique ou encore la fluorescence, pour créer des œuvres autour de thèmes parfois très controversés. Vous trouverez quelques exemples d'œuvre de la bio-artiste Marta de Menezes sur ce [lien](#).

A l'aide des trois souches de bactéries pigmentées, créez vos propre bio-œuvres. Pour cela :

- Prendre trois tubes eppendorf que vous noterez respectivement rouge, jaune et bleu.
- Mettre 500ul d'eau dans chacun des tubes eppendorf
- A l'aide d'une anse, prélever une colonie rouge et la resuspendre dans le tube "rouge". Faites de même pour les deux autres.
- Prendre une boîte de pétri et à l'aide d'un écouvillon stérile, dessiner ce qu'il vous plaira.
- Une fois votre dessin terminé, incuber la boîte 24h à 37° et admirer le résultat !

Note : Utiliser un écouvillon par tube.

Exemple de résultats

