



Expérience 3 : migration de l'ADN sur FlashGel



Objectif

- Se familiariser avec la génétique
- Manipuler de l'ADN
- Comparer des fragments d'ADN à l'aide de la méthode de l'électrophorèse



Prérequis

Le vivant, la cellule, les niveaux d'organisation, la molécule d'ADN (quoi, où, comment), les gènes, les chromosomes et l'information héréditaire.



Forme de travail

Groupes de 4



45'



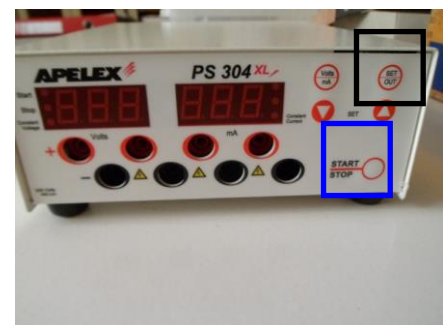
Matériel (fourni dans la valise)

- Générateur
- Cuve FlashGel
- Micropipettes
- Marqueurs de taille
- Une cassette FlashGel
- Supports à Eppendorf
- Microcentrifugeuse
- Cônes pour micropipettes
- Plusieurs Eppendorfs avec échantillons d'ADN : gène a normal (a_N), gène a muté (a_m), gène b normal (b_N), gène b muté (b_m).
Le gène a peut être le gène BRCA1, le gène b peut être le gène p53.



Remarques

- Une cassette de FlashGel peut s'utiliser deux fois. Pour ce faire, il faut laisser migrer les échantillons tout en bas du gel, puis réutiliser les puits de chargement.
- Ne pas secouer les Eppendorf, car le liquide risque de rester bloqué sur la paroi de l'Eppendorf, si c'est le cas, il faut utiliser la microcentrifugeuse pour faire redescendre le liquide.
- Pour allumer le générateur, appuyer sur le bouton noir à l'arrière pour le faire fonctionner, puis « set » (encadré noir) et finalement start (encadré bleu). Il est possible que le générateur dans la valise soit légèrement différent de celui de cette photo. L'utilisation reste la même. Consultez les fiches à disposition dans la valise



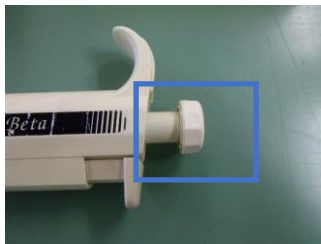


Expérience 3 : migration de l'ADN sur FlashGel

Remarques (suite)



- Pour prélever un liquide avec la micropipette :
 - 1) Tourner la roulette jusqu'au dosage désiré/ demandé.



- 2) Poser un cône autour de la micropipette, en clipsant la micropipette dans le cône à l'aide du porte Eppendorf. Il ne faut pas appliquer le cône avec les doigts.



- 3) S'assurer que le cône est bien mis.
- 4) Appuyer jusqu'au premier cran sans toucher le liquide (vide d'air).
- 5) Plonger dans le liquide, puis relâcher le cran : le liquide est maintenant dans la micropipette.
- 6) Faire sortir le liquide de la micropipette : appuyer jusqu'au 2ème cran



Sécurité

Cette activité ne représente pas de danger.



Expérience 3 : migration de l'ADN sur FlashGel



Déroulement

Avant l'expérience

Au préalable l'enseignant aura préparé des petits tubes Eppendorf de 6 microlitres contenant l'ADN qu'il souhaite que ses élèves chargent : soit a_N ou a_m OU b_N ou b_m.

Rappel théorique niveaux organisation/ ADN/ information héréditaire et explication du but de la leçon. Rappel de l'implication de la version mutée des gènes P53, BRCA1 et BRCA2 dans l'augmentation du risque de développer certains cancers, dont le cancer du sein.

Formation des groupes et tirage au sort des rôles (les cartes se trouvent dans le protocole des élèves)

Présentation et explications du principe très général des enzymes de restriction et de l'électrophorèse.

Pour expliquer ce que fait une enzyme, l'utilisation du PowerPoint est conseillée. Les explications doivent être adaptées au type de classe mais idéalement les élèves devraient comprendre qu'on s'intéresse aux séquences de nucléotides. Dès qu'une enzyme reconnaît une séquence de nucléotides particulière, c'est-à-dire un enchaînement de billes de couleur spécifique, elle coupe.

Distribution d'un Eppendorf contenant l'un des 4 profils aux patients des différents groupes.

Remarques d'ordre et de sécurité. Bien insister sur le fait que le matériel est cher, en particulier les micropipettes. La manipulation des micropipettes sera expliquée aux techniciens durant l'expérience.

Durant l'expérience

Début du jeu de rôle : les patients prennent connaissance du consentement d'analyse et le signent si ceci n'a pas déjà été fait lors de l'expérience 2. Ils posent leurs éventuelles questions au médecin.



Documents :

- Cartes conceptuelles élèves
- Fiches de synthèse
- Cartes des rôles à découper dans le protocole des élèves pour l'expérience 3
- Présentation Powerpoint



Documents :

- Protocole élèves de l'expérience 3



Expérience 3 : migration de l'ADN sur FlashGel



Déroulement

Durant l'expérience (suite)

Les techniciens/-ennes reçoivent l'Eppendorf contenant l'ADN prêt à charger. L'enseignant leur explique comment procéder et tenir les micropipettes : toujours les tenir verticalement, comme un bâton de ski. Pendant ce temps (10-15'), à l'aide de la lettre d'information pour le consentement éclairé et des fiches de synthèse, le médecin se prépare à expliquer au/à la patient/-e et à son ami/-e les bases théoriques d'une analyse génétique ainsi que ses objectifs. Le/la patient/-e et son ami/-e rédigent une question à poser au médecin. L'échange a lieu entre les deux parties.

Ensuite, toute la classe assiste au chargement des échantillons d'ADN :

1) Commencer par introduire le marqueur de taille dans le premier puit afin de montrer au reste de la classe le fonctionnement des micropipettes. Les élèves qui ne sont pas dans le rôle du technicien peuvent s'entraîner à manier les micropipettes avec de l'eau si l'horaire le permet.

2) L'enseignant explique l'utilité du marqueur aux élèves, puis les techniciens viennent introduire l'ADN avec les micropipettes dans les puits. Sur une feuille de papier, ils représentent le gel avec les puits numérotés. Après chaque dépôt, le/la technicien/-ne inscrit sur la feuille à quel patient correspond l'échantillon déposé sur le gel. Il faut attribuer un numéro à chaque patient pour garantir l'anonymisation des résultats : seuls les médecins et les techniciens ont accès aux résultats des patients.

L'enseignant peut mentionner aux élèves qu'il aurait été plus juste de mettre les profils des patients à côtés des profils connus sur la cassette mais que pour des questions de place et d'organisation, les profils connus sont donnés dans le protocole des élèves pour pouvoir ensuite les comparer avec les profils des patients présents sur la cassette.

3) Durant la migration de l'ADN (environ 10'), les groupes mènent le débat concernant la médecine personnalisée. L'enseignant répond aux questions éventuelles des élèves.

4) Une fois la migration terminée, les médecins et les techniciens restent afin d'analyser le profil de leur patient à l'aide de l'image dans leur protocole. Le jeu de rôle se termine sur l'annonce confidentielle du résultat à chaque patient (s'ils ont souhaité le connaître), à savoir s'ils sont porteurs d'un gène muté pouvant être impliqué dans le cancer du sein.



Documents :

- Protocole élèves de l'expérience 3
- Fiches de synthèse
- Consentement éclairé (à la fin de l'activité 2)



Expérience 3 : migration de l'ADN sur FlashGel



Déroulement

Après l'expérience

Eventuellement prise de photos

A la fin de l'expérience, cônes et Eppendorf se mettent dans la poubelle biologique.

Mise en commun des résultats d'expériences des patients/-es qui ont donné leur accord pour partager leurs données génétiques avec la communauté scientifique et/ou avec des compagnies d'assurance. Mise en commun des réflexions menées durant le débat.

Institutionnalisation : Il est essentiel de mentionner aux élèves que le diagnostic ainsi effectué propose le résultat sous forme de probabilités. Il s'agit d'un pourcentage de risque, en fonction d'un profil génétique établi sur de larges populations, de développer un cancer dans le futur. De plus, l'environnement peut très fortement influencer sur ces prédictions. Les causes environnementales jouent un rôle très important dans le développement de cancer. L'enseignant peut faire un retour sur les principales causes environnementales des cancers (tabac, exposition au soleil, ...)



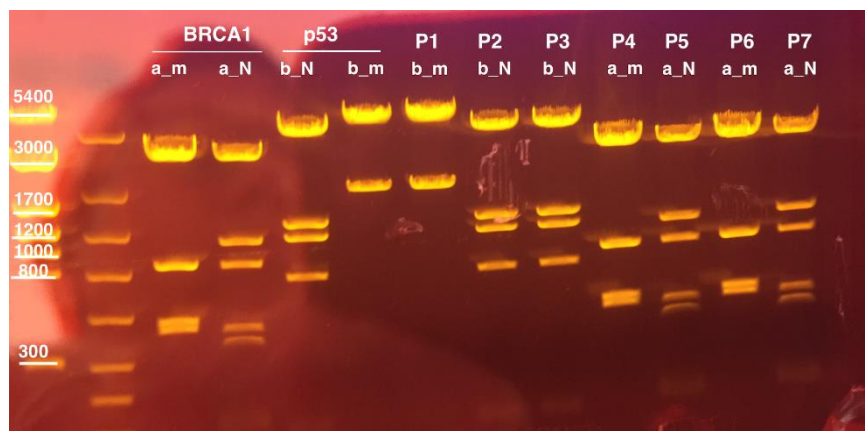
Documents :

- Cartes conceptuelles élèves
- Fiches de synthèse
- Présentation Powerpoint



Résultats attendus

Les différents fragments d'ADN ont migré sur le Flash Gel vers le pôle positif (bas du FlashGel) en fonction de leur taille : les fragments les plus gros migrent moins loin que les fragments les plus petits. La disposition de ces fragments permet de distinguer les profils.



De la gauche vers la droite : marqueur de taille, les 4 profils des gènes a et b normaux et mutés, et les profils des patients 1-7. En comparant le profil des patients avec ceux des gènes normaux/mutés, il est possible d'établir le diagnostic.