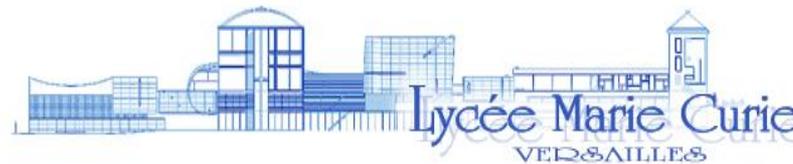


PROJET DE BIOLOGIE SYNTHETIQUE

**Présentation des résultats du
travail effectué au lycée
Marie Curie Versailles**

Classe de première STL

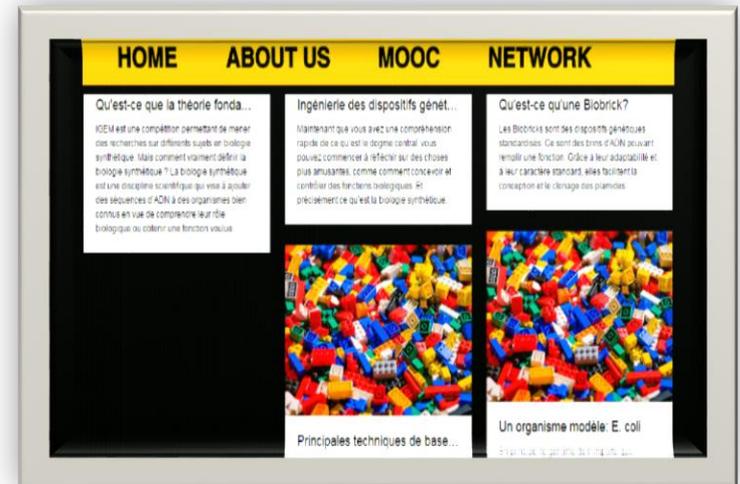
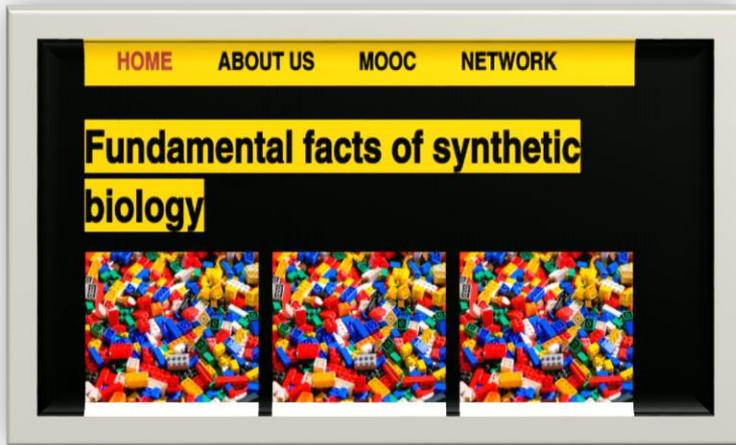


Présentation du travail préliminaire et des manipulations

- Claire-Aline FRESCAL
 - Sophie MAETZ

Travail sur les vidéos du MOOC

<http://igemhs.wix.com/mooc>



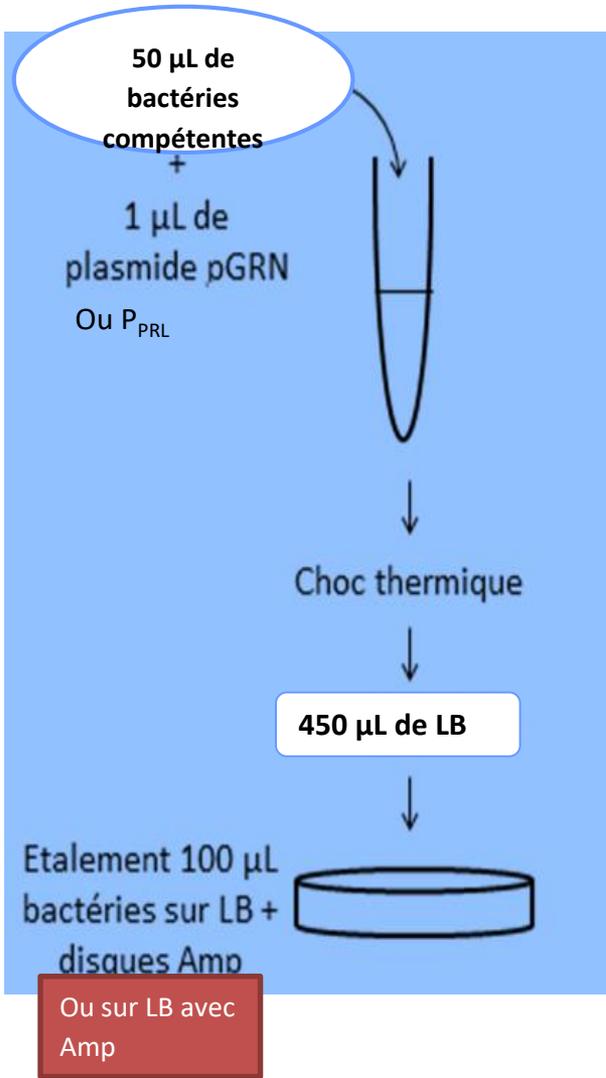
OBJECTIFS : Présenter et approfondir les notions de base nécessaires au projet .

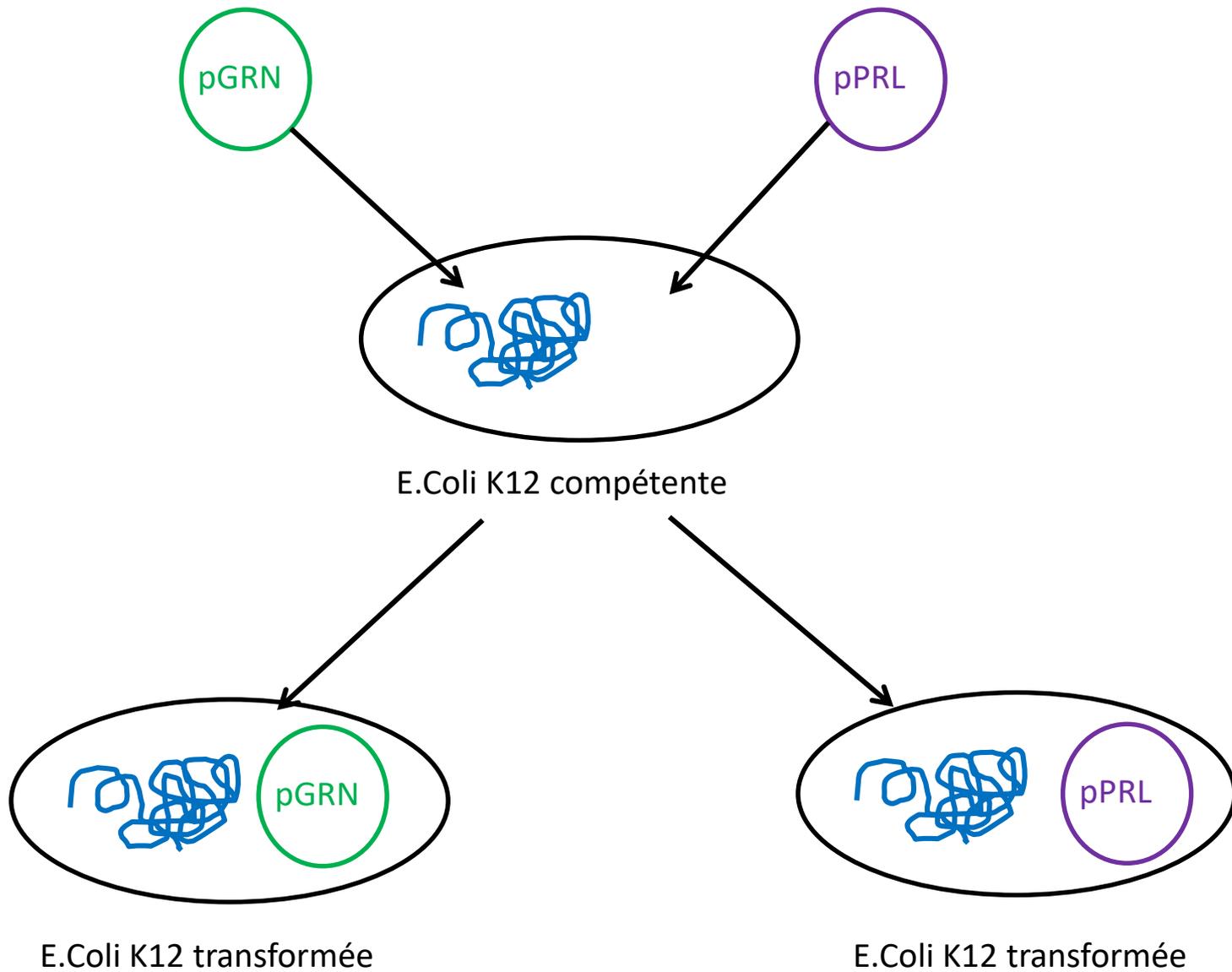
Présentation de 4 films du MOOC sur les concepts de base

- Qu'est ce que la théorie fondamentale de la biologie moléculaire?
- Ingénierie des dispositifs génétiques.
- Qu'est ce qu'une biobrick?
- Un organisme modèle : *E.coli*

Manipulations

- **Transformation**
 - d'une souche de E.coli K12 compétente
 - par les plasmides **pGRN** et **pPRL**.

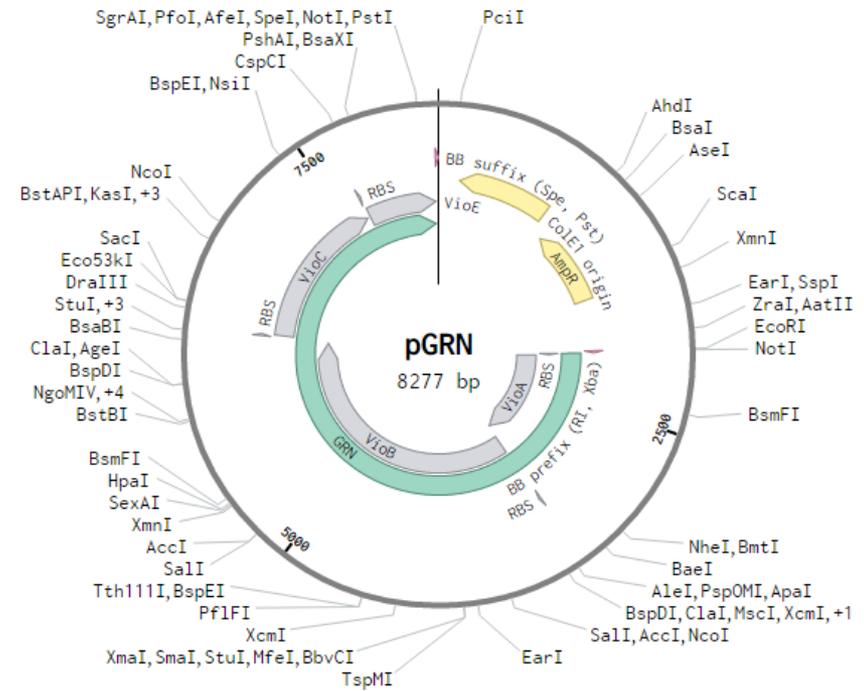
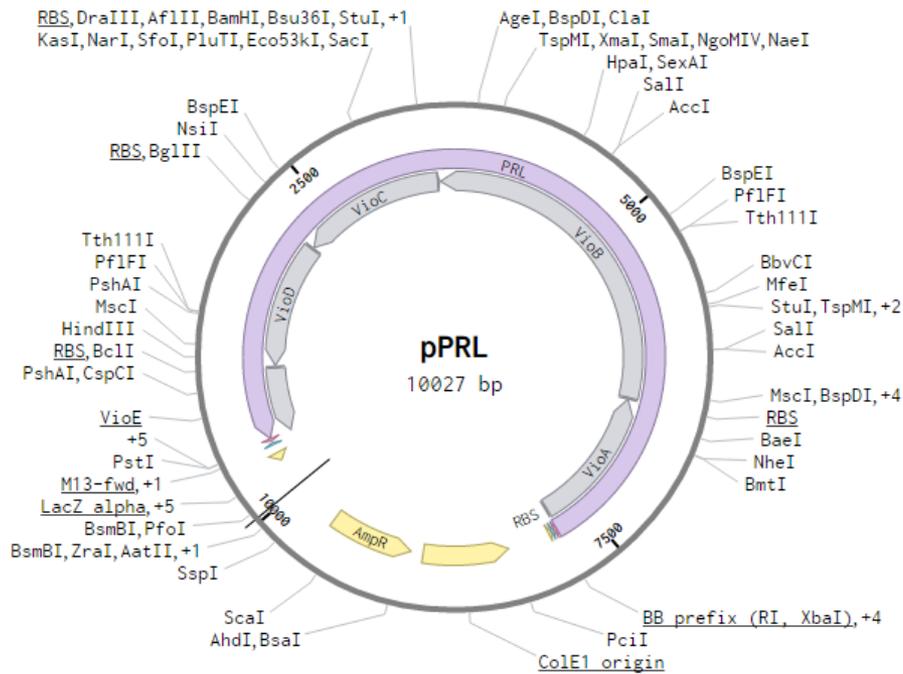




Présentation des résultats

- Erwann MEYNADIER
 - Tanguy PINSON

Transformation des plasmides



Interprétation des élèves

Une bactérie transformée doit changer de couleur, violette pour **pPRL** et verte pour le **pGRN**, elles sont capables de cultiver en présence de l'ampicilline.

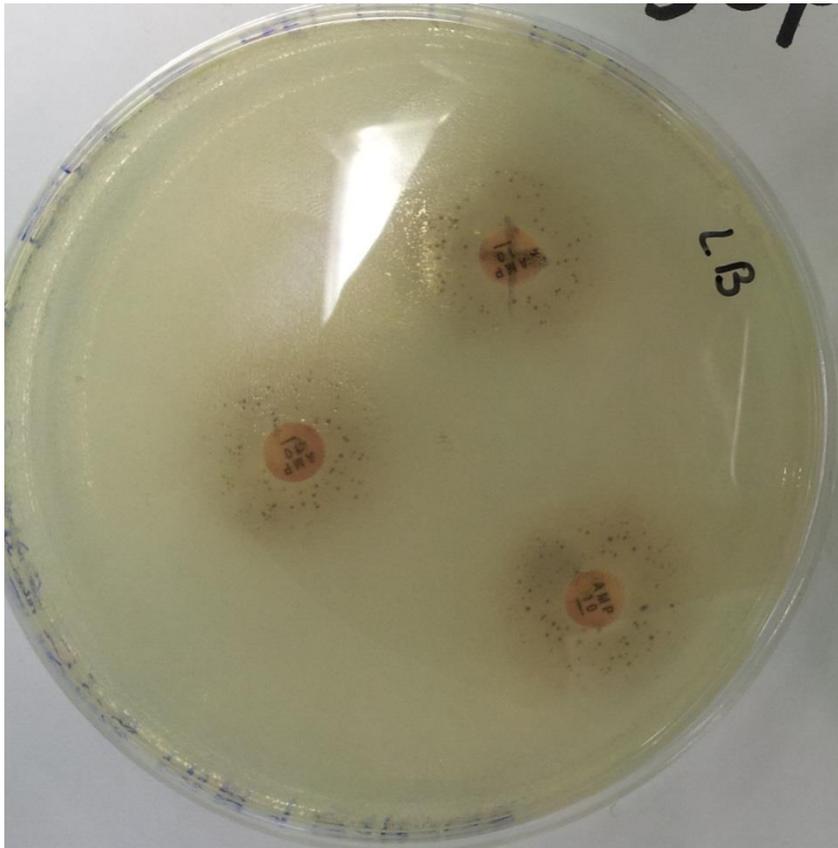
Les bactéries non transformées sont blanches, et n'ont pas la résistance à l'antibiotique.

Résultats de l'application de l'antibiotique

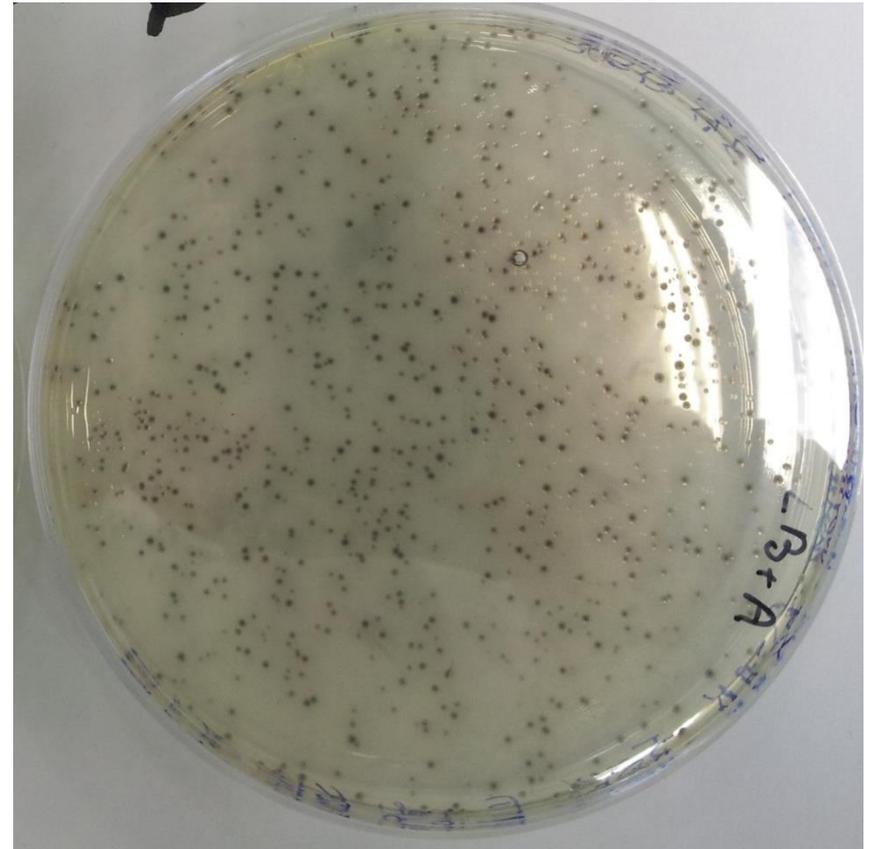
1 microlitre d'ADN +

pGRN: volume de bactéries compétentes de 50 μ L et volume de LB de 450 μ L

LB solide+3 disques d'ampicilline



LB solide contenant l'ampicilline



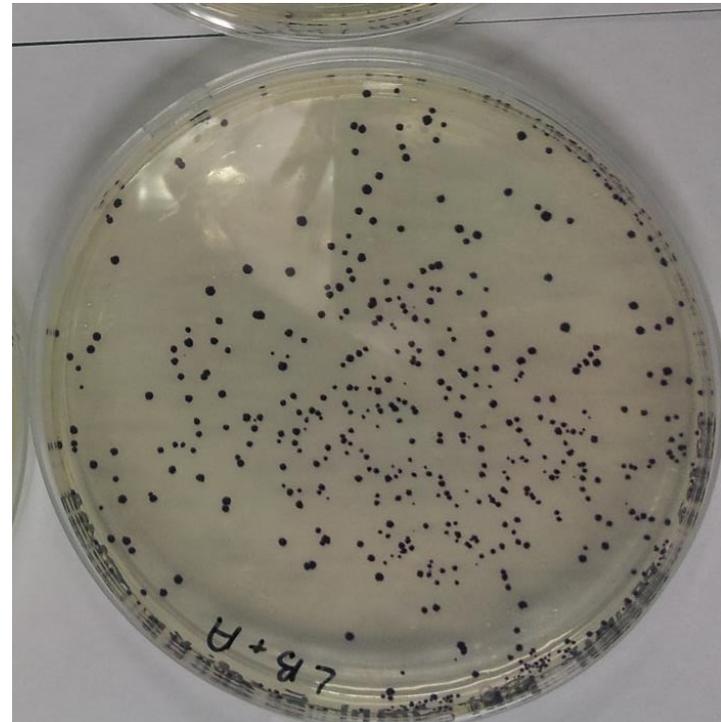
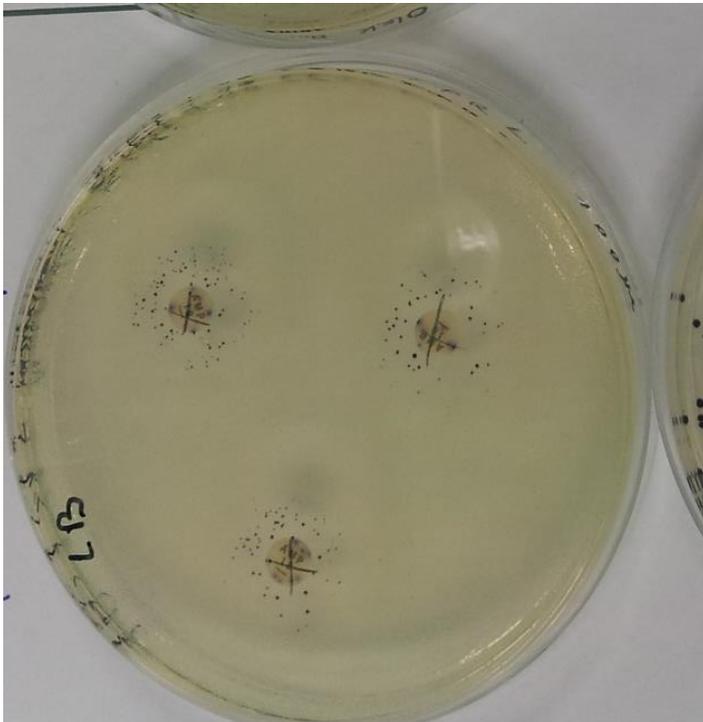
Résultats de l'application de l'antibiotique

1 microlitre d'ADN +

pPRL: volume de bactéries compétentes de 50 μ L et volume de LB de 450 μ L

LB solide+3 disques d'ampicilline

LB solide contenant l'ampicilline



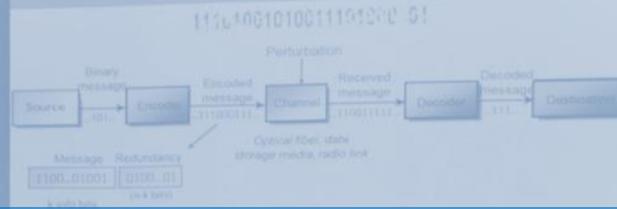
Proposition de témoin

Réaliser l'ensemble de la manipulation en remplaçant le plasmide par 1 μL d'eau

Résultat attendu : absence de culture

Cela permettrait de vérifier que c'est bien le plasmide qui est responsable de la résistance à l'ampicilline et de la couleur de la colonie

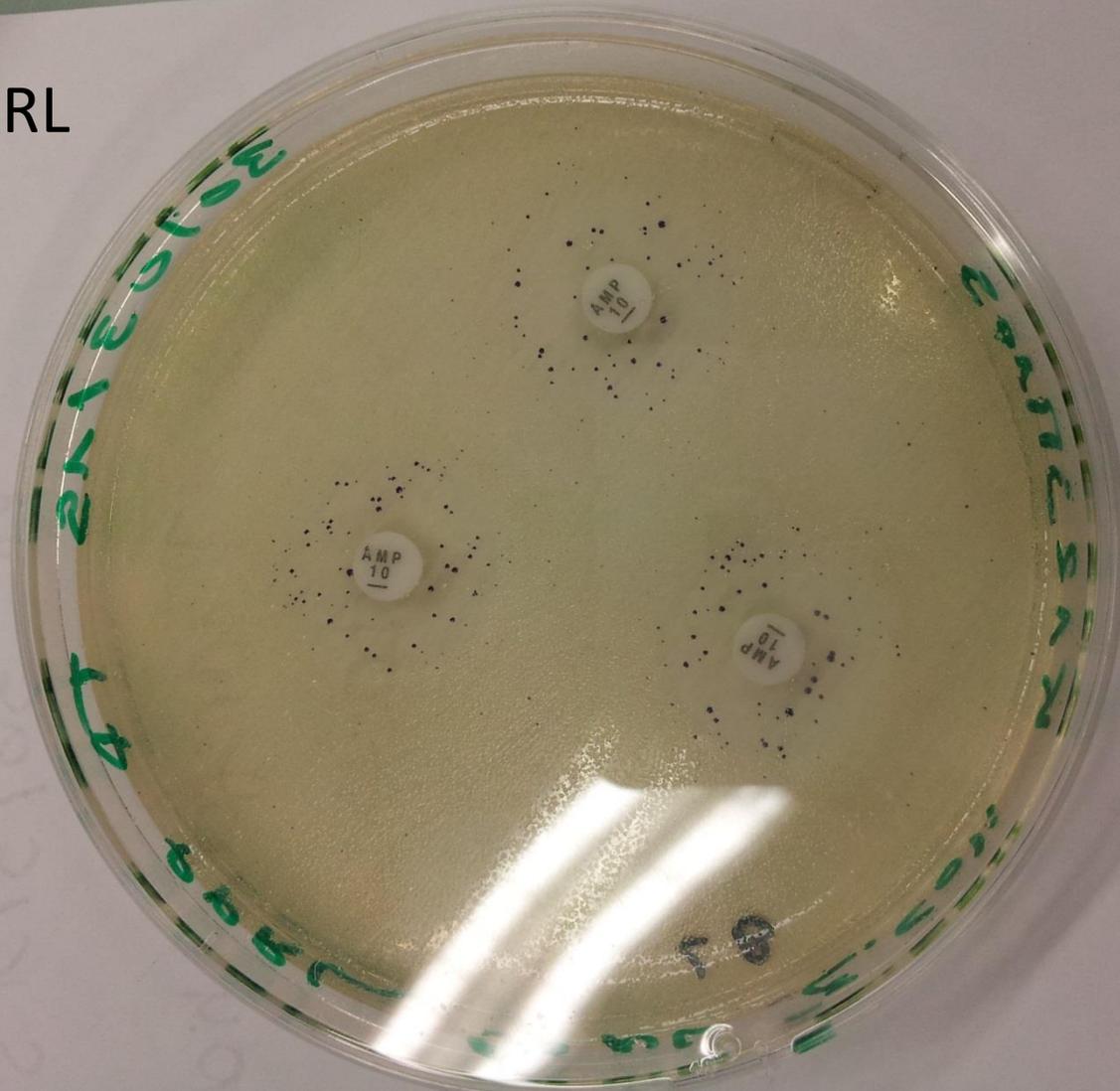
Channel coding principle



Newsdays, most communication technologies call for channel coding

OBSERVATIONS

P
PRL



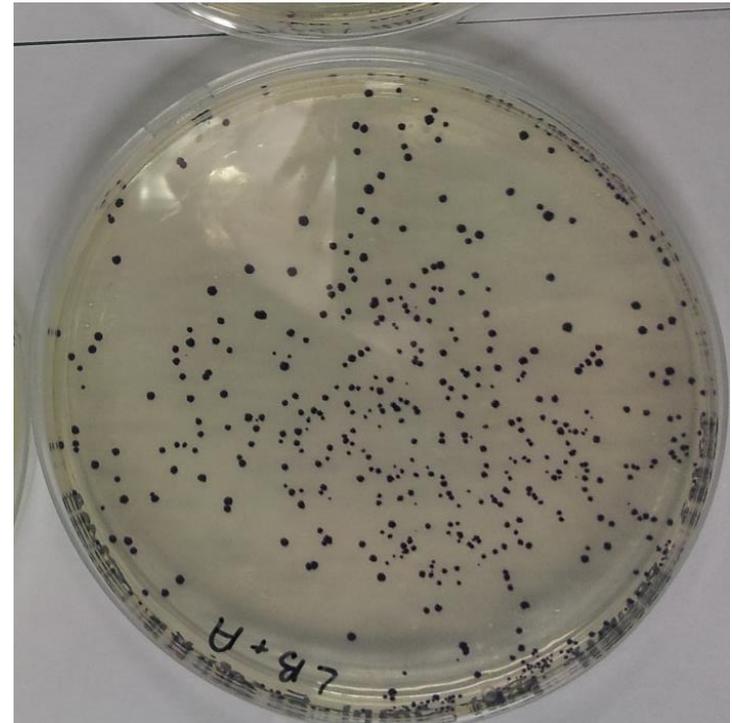
ORAL

Autour du disque d'antibiotique, on peut voir que les bactéries ont cultivés (elles sont vertes ou violettes), il y a un cercle.

- Les bactéries colorées cultivent en majorité là où il y a l'antibiotique mais on peut aussi en voir parmi les colonies blanches
- Les colonies blanches ne sont pas dans la zone d'inhibition (endroit où l'antibiotique a diffusé autour du disque).
- Dans la zone d'inhibition il n'y a que les bactéries transformées car les autres ne peuvent pas cultiver, elles sont sensibles à l'antibiotique.
- En dehors de la zone d'inhibition on peut voir qu'il y a une grosse majorité de colonies blanches (les bactéries sensibles à l'antibiotique, c'est-à-dire non transformées), il peut y avoir quelques colonies colorées (ce sont des bactéries transformées car elles sont colorées mais on ne sait pas si elles sont résistantes, on pense que oui...)
- Toutes les bactéries n'ont pas été transformées

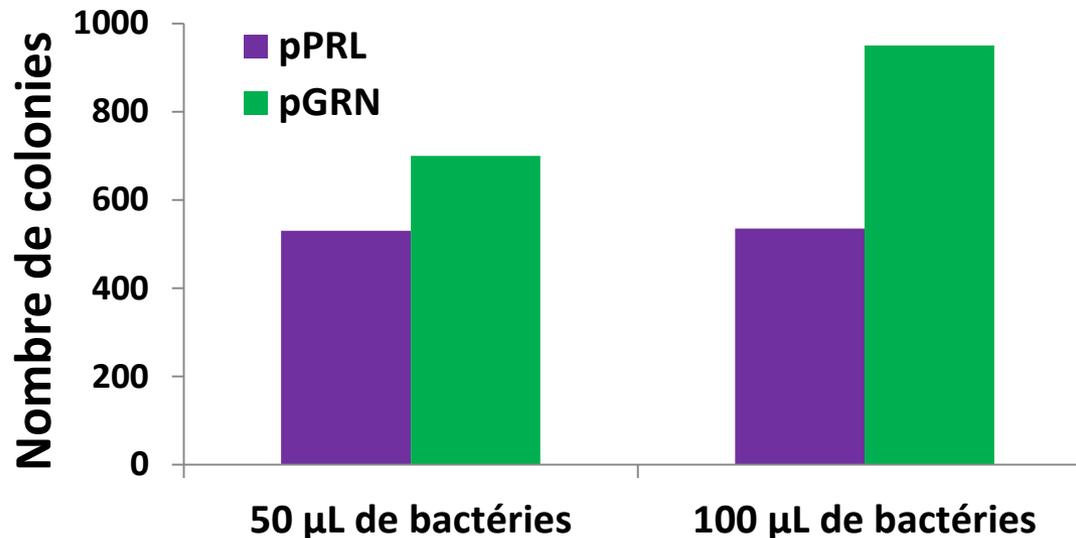
Observations des élèves

- On peut observer que les bactéries ont été transformées par le plasmide car elles cultivent en présence d'ampicilline
- Les colonies vertes ou violettes sont les bactéries qui ont été transformées.



pGRN est plus efficace pour la transformation

Le volume de bactéries compétentes avec le plasmide (1 μ L) a-t-il un impact?
Y-a-t-il une différence de « rendement » entre les deux plasmides?



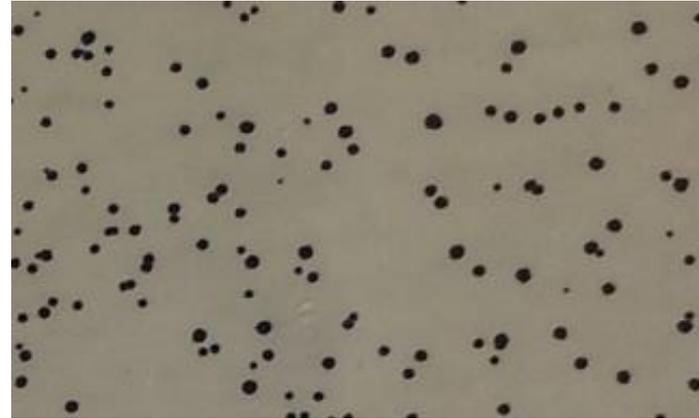
	50 μ L de bactéries	100 μ L de bactéries
P PRL	530 colonies	535 colonies
P GRN	700 colonies	950 colonies

Dégradation de l'antibiotique

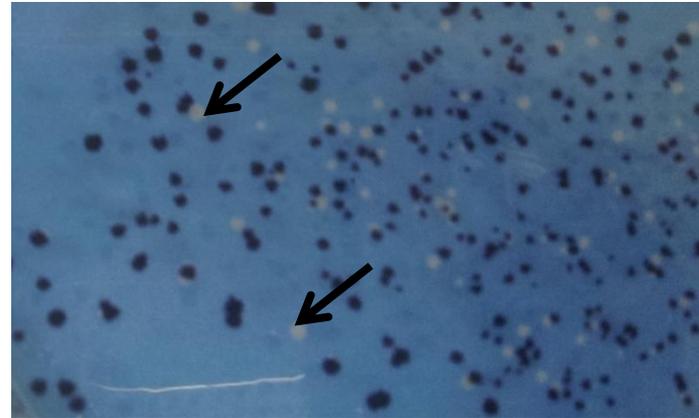
pGRN

pPRL

24 heures



48 heures



HYPOTHESES

- Lorsque les colonies violettes se développent, elles dégradent l'antibiotique contenu dans le milieu LB.
- En effet, elles sécrètent une enzyme la β lactamase qui détruit l'ampicilline, c'est leur mécanisme de résistance à cet antibiotique
- Par conséquent, la concentration en ampicilline diminue et au bout de 48h, les bactéries non transformées (qui ne sont donc pas résistantes et qui donnent des colonies blanches) peuvent cultiver

Qu'est ce que l'ampicilline?

L'**ampicilline** est une aminopénicilline et un antibiotique à spectre large.

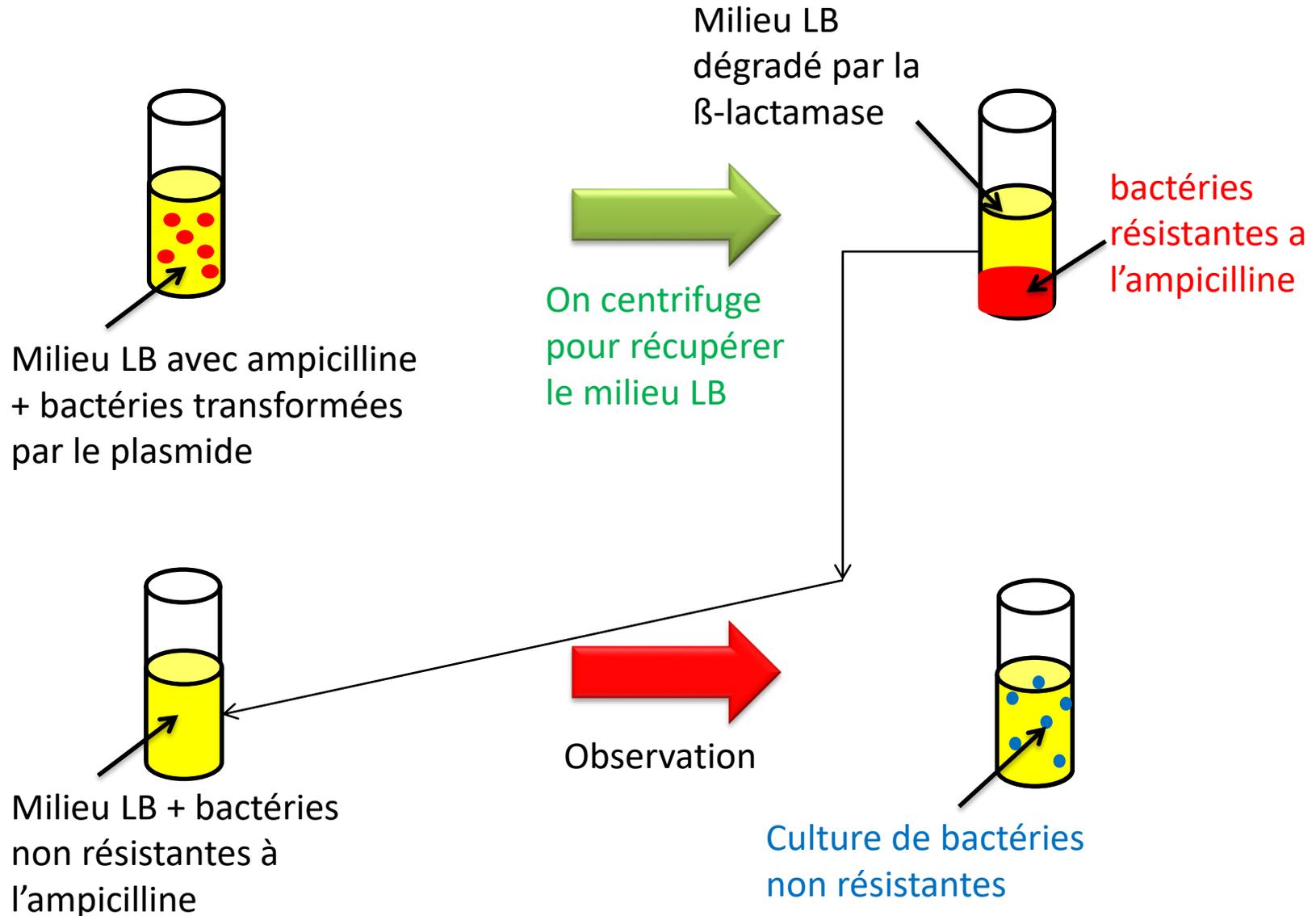
Elle est capable de pénétrer dans une bactérie gram négatif .

Elle inhibe la troisième et dernière étape de la synthèse de la paroi bactérienne, conduisant ainsi à la lyse cellulaire.

Qu'est ce que la résistance à l'ampicilline?

- Le gène de résistance à l'ampicilline code une enzyme : la **β lactamase** (famille d'enzymes EC 3.5.2.6)
- L'ampicilline possède dans sa structure un cycle à quatre atomes, le bêta-lactame
- La β -lactamase hydrolyse ce cycle, désactivant ainsi les propriétés antibiotiques de la molécule.

Proposition d'expérience



Question

- Pourquoi n'y a-t-il pas davantage de colonies violettes ou vertes en dehors de la zone d'inhibition de l'antibiotique?

Hypothèse

- Sans antibiotique, les bactéries n'ont pas besoin du plasmide, elles le perdent donc au cours de leur division (pour « économiser » de l'énergie). Elles ne meurent pas mais perdent leur couleur
- Ce sont donc des bactéries qui ont été transformées mais qui ont perdu leur plasmide

Proposition d'expérience

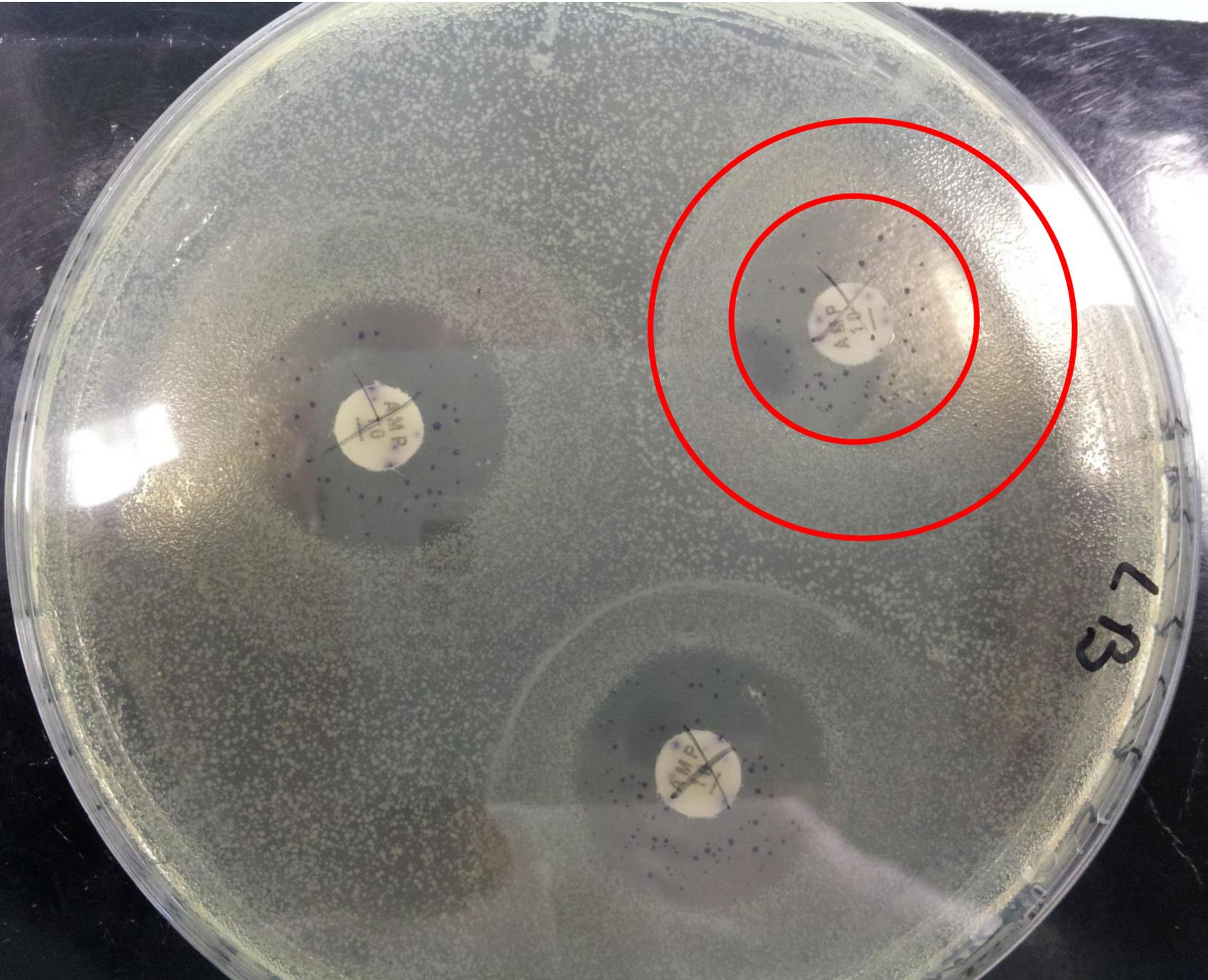
Réaliser l'ensemble de la manipulation en isolant les bactéries transformées sur milieu LB sans ampicilline

Résultat attendu : culture des bactéries donnant des colonies colorées et blanches

Cela permettrait de vérifier que les bactéries n'ont pas été « abimées » par la manipulation mais peuvent « perdre » leur plasmide.

POURQUOI ?

Sur certaines boîtes avec les disques, on observe des colonies blanches, très dense autour de la zone d'inhibition.



13

- Même hypothèse que pour les colonies blanches qui cultivent au bout de 48h l'antibiotique est dégradé dans la zone limite du diamètre d'inhibition et cela permet la culture des bactéries non résistantes (ou de celles qui ont perdu le plasmide)