

SVT	Thème 1A : Génétique et évolution	Term Spécialité
TP	Chapitre 2 : La complexification des génomes	ESTHER

Lors de ce TP, nous allons nous intéresser à la **RuBisCO**, une enzyme du cycle de Calvin-Benson, donc nécessaire à la phase de production de la matière organique lors de la photosynthèse. Cette enzyme est présente dans une très grande diversité d'êtres vivants sur Terre.

TP7a - Etude de la théorie de l'endosymbiose

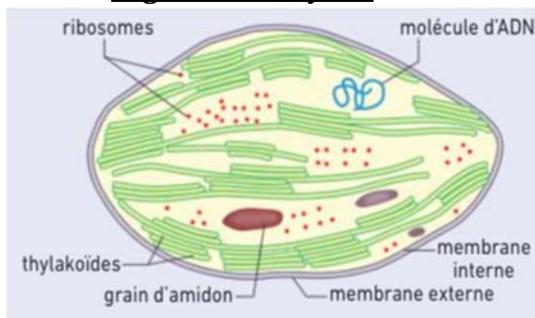
Mise en situation et recherche à mener

En 1960, le biologiste Lynn Margulis émet une théorie relative à une origine endosymbiotique des organites cellulaires, mitochondries et chloroplastes. Cette théorie énonce qu'au cours de l'évolution une cellule eucaryote a assimilé de façon irréversible une cyanobactérie, une cellule procaryote photosynthétique. Les descendants de cette cellule eucaryote ont alors conservé cette association, la cyanobactérie intégrée devenant un organite nommé chloroplaste.

On cherche démontrer, par comparaison et par phylogénie moléculaire de protéines, que les chloroplastes présents dans les cellules végétales sont bien issus d'une endosymbiose d'une cyanobactérie dans la lignée des eucaryotes

Ressources

Doc1 - Structure d'un chloroplaste de cellule végétale eucaryote



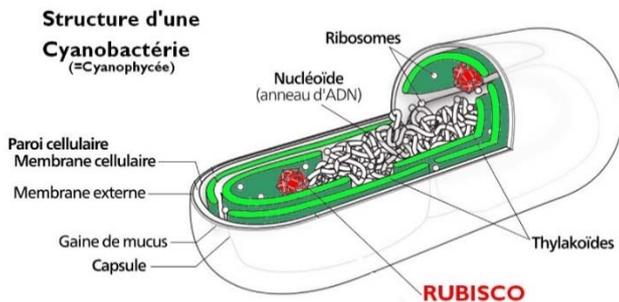
Doc 3 - Théorie de l'endosymbiose à l'origine des chloroplastes :

L'endosymbiose de la cyanobactérie photosynthétique à l'origine des chloroplastes s'est produite il y a 2 milliards d'années .

Donc les cellules chlorophylliennes possèdent 2 génomes :

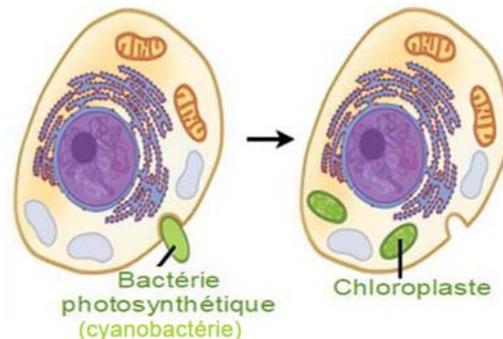
- Un génome cellulaire localisée dans le noyau
- Un génome chloroplastique (ADN provenant de la bactérie endosymbiotique)

Doc 2 - Structure d'une cyanobactérie



Cellule ancestrale eucaryote

Cellule actuelle eucaryote photosynthétique



Matériel et protocole d'utilisation du matériel

Matériel :

- Logiciel **GENIGEN 2** (en ligne)
- Séquences protéiques : Pack 1 : Endosymbiose chloroplastique, séquences de la RubisCO (grande sous-unité) végétaux et bactérie + Pack 2 : séquences de la RubisCO (grande sous-unité) de divers végétaux (*chargez les 2 packs*)

Afin de démontrer l'origine cyanobactérienne des chloroplastes des cellules végétales eucaryotes :

- Réaliser une comparaison de la structure moléculaire (*fonction de logiciel : Aligner les séquences sélectionnées*)
- Traiter les données moléculaires pour monter les liens de parenté (*fonction de logiciel : Affichage Phénogramme*)

Consignes (type ECE)

A. **Proposer une stratégie** de résolution réaliste, à partir des ressources, du matériel et du protocole d'utilisation proposés.

Mettre en œuvre votre protocole pour obtenir des résultats exploitables.

B. **Sous la forme de votre choix, présenter et traiter les données brutes** pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.

Exploiter les résultats pour résoudre la situation problème.

SVT	Thème 1A : Génétique et évolution	Term Spécialité
TP	Chapitre 2 : La complexification des génomes	ESTHER

TP7b – Etude d'un transfert de gènes au sein des cellules végétales

Mise en situation et recherche à mener

Lors de l'endosymbiose ancestral d'une cyanobactérie, le chloroplaste contenait tous les gènes nécessaires à son fonctionnement. Cet ADN est appelé ADN chloroplastique (par opposition à l'ADN nucléaire, dans le noyau). Cependant, les études des génomes actuels montrent que la taille des génomes des organites est très réduite. De nombreux gènes permettant la fabrication d'enzymes nécessaires au fonctionnement des chloroplastes sont désormais dans le noyau des cellules végétales.

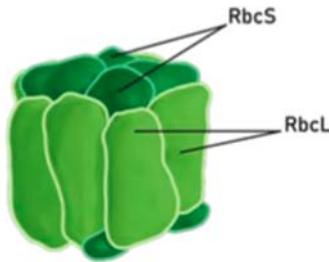
On cherche à mettre en évidence par PCR, une preuve d'un transfert d'un ou deux gènes de la Rubisco vers le génome nucléaire de la cellule végétale

Ressources

Doc 1 – Caractéristiques génétiques de la RuBisCO :

La RuBisCO comporte deux sous-unités :

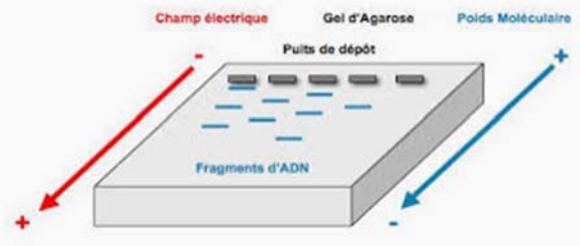
- une grande (RbcL), codée par un gène L de longueur 1184 pb
- une petite (RbcS), codée par un gène S de longueur 553 pb



Doc 3 – Principe de l'électrophorèse

Les échantillons d'ADN soumis à un champ électrique migrent dans un gel.

La distance parcourue est inversement proportionnelle à leur taille (longueur en paires de bases).



Doc 2 – Principe de la PCR La réaction PCR ou réaction de polymérisation en chaîne qui consiste à synthétiser *in vitro* de l'ADN de façon exponentielle.

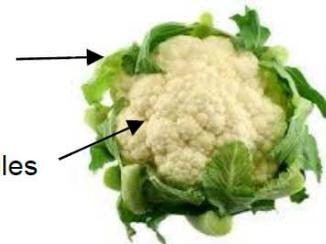
Trois étapes (dénaturation de l'ADN, appariement des amorces puis synthèse par ADN polymérase) vont être répétées autant de fois que nécessaire pour amplifier l'ADN recherché. Ainsi, la molécule d'origine va pouvoir ainsi être multipliée par des facteurs de 10^6 à 10^9 la rendant détectable par électrophorèse sur un gel d'agarose.

Doc 4 – Caractéristiques de quelques tissus végétaux



Les feuilles contiennent les 2 génomes, nucléaires et chloroplastique

Les chloroplastes ne sont pas présents dans les cellules racinaires ou du méristème



Matériel et protocole d'utilisation du matériel

- Thermocycleur PCR et électrophorèse
- Matériel PCR : Amorces de reconnaissances des 2 gènes de la Rubisco, ADN polymérase, ...
- Matériel biologique : radis et chou

Afin de vérifier si un ou deux gènes de la Rubisco a été transféré vers le génome nucléaire de la cellule végétale, vous devez :

- **Réaliser une amplification des gènes de la Rubisco par PCR**
- **Réaliser une électrophorèse afin d'identifier les gènes présents dans chaque tissu testé**

Consignes (type ECE)

A. Proposer une stratégie de résolution réaliste, à partir des ressources, du matériel et du protocole d'utilisation proposés. **Préciser le matériel** dont vous aurez besoin pour mettre en œuvre votre stratégie. **Mettre en œuvre votre protocole** pour obtenir des résultats exploitables (+ **fiche protocole détaillée**).

B. Sous la forme de votre choix, présenter et traiter les données brutes pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème. **Exploiter** les résultats pour résoudre la situation problème.