



**RÉFLEXION 4 : Séquençage de l'ADN**

**Durée suggérée : 30 minutes**

Dans cette activité pratique, les élèves créeront un modèle sur papier du processus de séquençage de l'ADN selon la méthode établie par Frederick Sanger en 1977 pour mieux comprendre comment effectuer le séquençage de l'ADN pour des procédures comme le code-barres génétique.

**Connaissances et compétences antérieures**

- Comprendre les mécanismes de base de la réplication de l'ADN (soit la séparation des brins, l'hybridation des amorces, l'extension des brins d'ADN au moyen de l'ADN polymérase et la terminaison)
- Comprendre les règles de paires de bases complémentaires (C-G, A-T)
- Se familiariser avec le processus d'électrophorèse sur gel (migration des fragments d'ADN dans un gel exposé à un courant électrique)

**Critères de réussite**

- Des réponses de qualité sont données pendant les discussions en groupe
- Les séquences correspondent bien aux paires de bases du brin matrice et du brin complémentaire

**Pour chaque groupe de 4 élèves**

**FR R5: Séquençage de l'ADN**

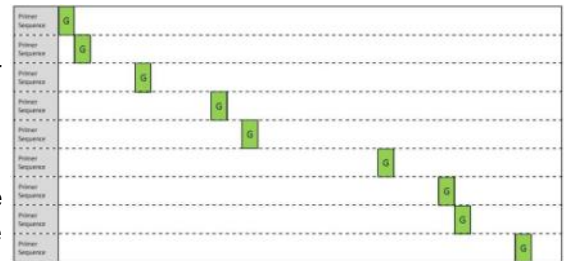
- 1 copie du séquençage de l'ADN – G (Guanine)
- 1 copie du séquençage de l'ADN – C (Cytosine)
- 1 copie du séquençage de l'ADN – T (Thymine)
- 1 copie du séquençage de l'ADN – A (Adénine)

- Pour chaque groupe de 4 élèves**
- 1 marqueur ou surligneur **bleu**
  - 4 paires de ciseaux
  - 1 brocheuse
  - 1 marqueur ou surligneur **rose**
  - 1 marqueur ou surligneur **jaune**
  - 1 marqueur ou surligneur **vert**
  - 1 rouleau de ruban transparent

**Le savais-tu?**

Frederick Sanger a remporté son deuxième prix Nobel de chimie en 1980 avec Walter Gilbert pour leurs contributions à la détermination des séquences de base dans les acides nucléiques, ce prix a été partagé avec Paul Berg pour son travail sur l'ADN recombinant.

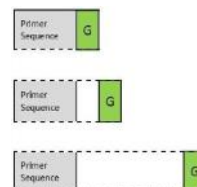
1. Expliquez aux élèves qu'ils devront établir la séquence de base d'un fragment d'ADN en modélisant le processus de séquençage d'ADN par voie de la méthode de terminaison de la chaîne mise au point par Fred Sanger en 1977.
2. Photocopiez et remettez les **fiches reproductibles** aux élèves. Chaque groupe de quatre élèves aura besoin de marqueurs ou surligneurs de quatre couleurs différentes de même que d'une brocheuse (ou ils peuvent partager la même au besoin) et d'un rouleau de ruban transparent.
3. Chaque membre du groupe choisit une couleur (chaque couleur représente un des quatre **nucléotides**).
4. Chaque élève colorie les cases de sa lettre avec son marqueur (p. ex., l'élève qui a le vert colore les G, comme il est illustré à la Figure 1). Cette couleur représente un marqueur fluorescent appelé le **didésoxynucléotide** (ddNTP) qui a été ajouté au brin d'ADN, pendant la réplication du brin (par la **réaction en chaîne de la polymérase** [PCR]). Comme le brin d'ADN est répliqué plusieurs fois, chacune des bases d'un brin d'ADN peut être identifiée.
5. Chaque élève découpe en suivant le tracé du tableau, puis coupe le long des lignes pointillées de chaque rangée (voir la Figure 2). Ainsi, chaque élève aura un certain nombre de bandes de papier entre les mains. Ces bandes représentent des copies de brins d'ADN de différentes longueurs présents dans le mélange réactif.
6. Pour chaque bande, l'élève doit découper le papier à la droite de la lettre qui est colorée (voir la figure 3). Il s'agit de modéliser la terminaison de l'extension du brin par suite de l'ajout de ddNTP. Le ddNTP interrompt



**Figure 1 : Colorez les cases avec les lettres.**



**Figure 2 : Découpez chaque bande le long des lignes pointillées.**



**Figure 3 : Découpez chaque bande à la droite de la lettre.**



l'extension du brin, car sa structure moléculaire ne permet pas à un autre nucléotide de s'y fixer. Par conséquent, le ddNTP identifie la base à l'endroit où l'extension du brin a pris fin.

7. Next, each student should stack his/her strips with the longest at the bottom and the shortest on top, then staple the strips together at the primer sequence. (See Figure 4). He/she should pay attention to align the primer sequence correctly, otherwise the bases will not be straight. This model illustrates the arrangement of fluorescent nucleotides as they appear after electrophoresis in a gel. Shorter DNA strands move through the gel more quickly than longer strands, so they are arranged in a relative size order.

8. Each student then places the strips carefully in the lanes, as indicated on the sheet titled **Séquencage de l'ADN – Consolidation du groupe** (see Figure 5) and glues them with tape.

9. To determine the complementary sequence of the strand, the students read the columns from the bottom, identifying the letter corresponding to each column.

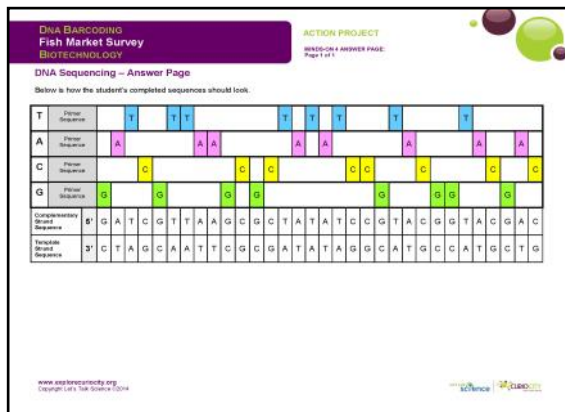
The students can use a ruler or a piece of paper to help them read the lanes. They write the letters in the lane indicating the **complementary sequence** (see Figure 5). Using the base pairing rules (A-T, C-G), they can also determine the **matrix strand sequence**.

### Activités d'approfondissement

- Les élèves peuvent visionner l'une des animations ci-dessous et les comparer à ce qu'ils ont fait dans le cadre de l'activité.
- Les élèves peuvent regarder plus d'une animation ci-dessous et les noter en fonction du degré de compréhension, des renseignements fournis, etc.



**Figure 4 :** Empilez les bandes, de la plus longue à la plus courte, puis brochez-les.



**Figure 5 :** Déposez les bandes de papier sur la feuille et collez-les avec du ruban. Lisez les colonnes vers le bas pour établir les séquences des bases matrices et complémentaires.



### ÉTABLIR DES LIENS AVEC LE CONTENU SUR CURIOCITÉ

- [Séquençage de Sanger](#) (Fiches d'information 2014)
- [Réaction en chaîne de la polymérase \(RCP\)](#) (Fiches d'information 2014)
- [Comment fait-on une analyse ADN \(Kezako\)](#) (Vidéo 2017)
- [Les codes-barres d'ADN](#) (Vidéo 2017)

### LIENS WEB

- <http://www.jpboiseret.eu/biologie/index.php/genetique/65-methode-de-sanger-et-pcr> (consulté le 6 septembre 2017)  
Cette page Web, Méthode de Sanger et PCR sur le site Web Bio-Web 2.0, donne de l'information sur les processus de séquençage de Sanger et de la réaction en chaîne de la polymérase (RCP).
- <http://slideplayer.fr/slide/9213429/> (consulté le 6 septembre 2017)  
Cette diaporama explique les méthodes différentes de séquençage de l'ADN.
- <https://bioinfo-fr.net/le-sequençage> (consulté le 6 septembre 2017)  
Cette page Web, Le séquençage, une histoire de générations, sur le site Web Bio-Web 2.0, donne de l'information sur les processus de séquençage comprenant la méthode de Sanger, le séquençage haut-débit et le séquençage d'une seule molécule d'ADN.
- <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sequencing.jpg> (consulté le 6 septembre 2017)  
Cette image d'un gel de séquençage sur Wikimedia Commons montre à quoi ressemble un gel de séquençage réel.
- <http://www.futura-sciences.com/sante/actualites/genetique-sequençage-adn-nuls-26754/> (consulté le 6 septembre 2017)  
Cette page Web, Le séquençage de l'ADN pour les nuls !, sur le site Web futura-sciences.com décrit avec images, les étapes clés du séquençage.

### Vidéos sur YouTube

- <https://www.youtube.com/watch?v=1RRpEagUwE8> - vidéo 3 séquençage d'AND (2016, 2 min 59 sec)
- <https://www.youtube.com/watch?v=rMhXxKjPRq0> - ADN, gène, protéine et séquençage (2016, 4 min 12 sec)
- [https://www.youtube.com/watch?v=snL5Y\\_Jc4m4](https://www.youtube.com/watch?v=snL5Y_Jc4m4) - Comment fonctionne une analyse ADN ? (2015, 1 min 34 sec)