

Sommaire

I- Introduction

II- Transfert naturel des gènes de l'Agrobacterium à une plante

2-1/ Données sur la galle du collet

2-2/ Conclusion

III- Les techniques du génie génétique

3-1/ Matériel biologique employé dans le génie génétique

I- Introduction

Le génie génétique est un ensemble de techniques permettant d'identifier et d'isoler, de modifier et de transférer de façon contrôlée du matériel génétique.

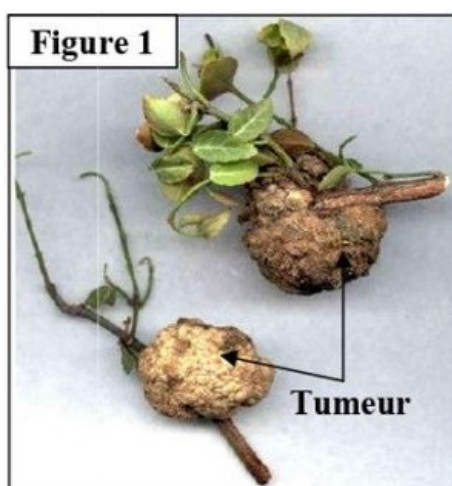
Il s'agit d'un outil qui permet en particulier d'intervenir avec précision sur le patrimoine génétique des êtres vivants.

Dans la nature il se peut qu'un gène soit transféré d'un être vivant pour s'incorporer dans le programme génétique d'un autre.

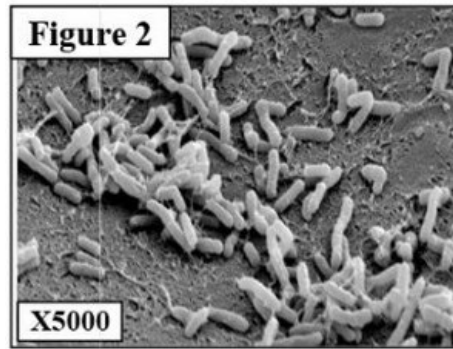
II- Transfert naturel des gènes de l'Agrobacterium à une plante

2-1/ Données sur la galle du collet

Agrobacterium tumefaciens est une bactérie qui vit dans le sol et infecte naturellement les végétaux présentant des blessures à la base de leur tige (collet) :



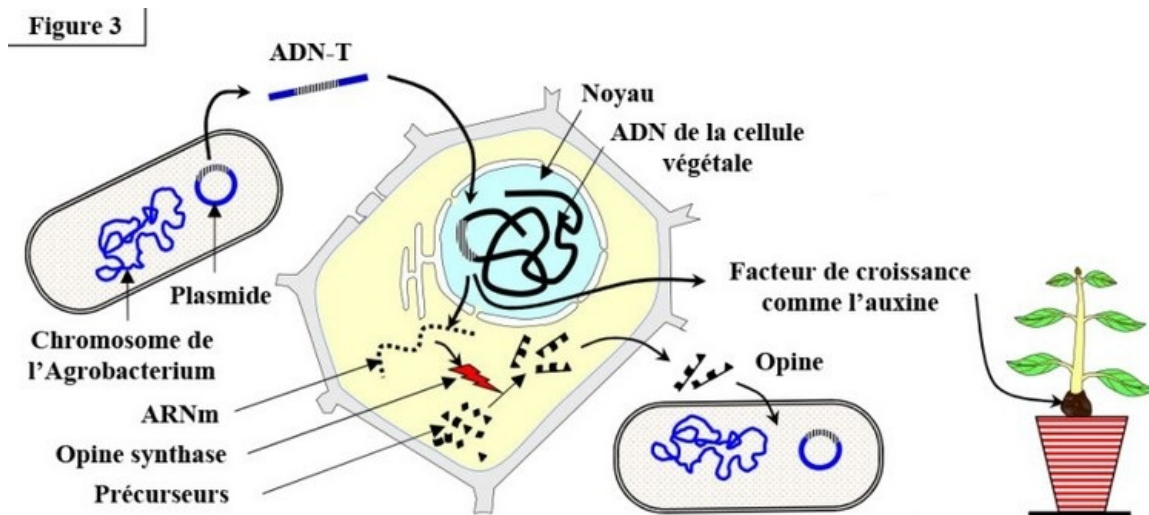
En réaction à cette infection, les cellules du végétal se multiplient de manière importante et forment une tumeur (galle du colet) qui libère dans le milieu des opines :



Les bactéries présentes dans le sol près de la tumeur sont alors capables d'utiliser ces opines comme source d'azote, mais aussi de carbone et d'énergie.

La réaction du végétal est due au transfert d'un petit ADN, l'ADN-T, depuis la bactérie jusque dans le génome des cellules de la plante par l'intermédiaire d'un plasmide (ADN circulaire bactérien de petite taille) appelé plasmide Ti.

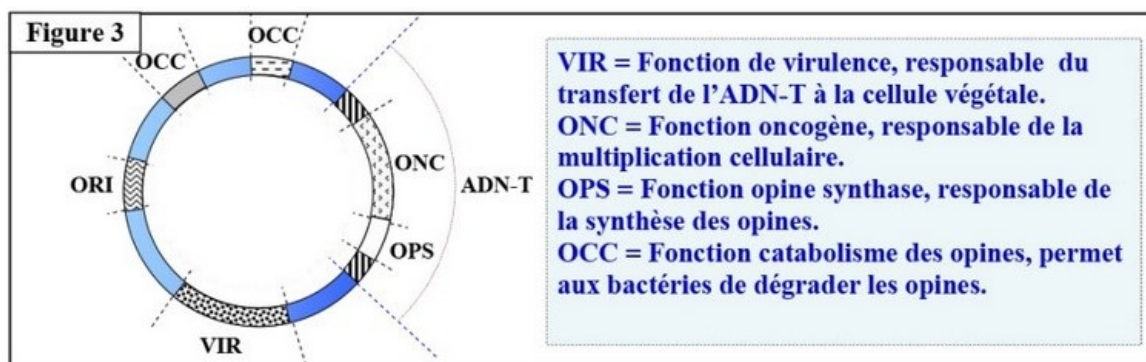
Le schéma de la figure 3, montre les étapes du transfert naturel du gène de l'A. Tuméfaciens à une cellule végétale :



L'ADN-T est contenu dans le plasmide Ti, qui est responsable des propriétés transformantes (pénétration et intégration d'ADN).

Des études ont permis d'établir la carte génétique du plasmide Ti.

La figure suivante présente une carte génétique simplifiée du plasmide Ti :



2-2/ Conclusion

La bactérie *Agrobacterium* oriente l'activité de la cellule végétale à son profit.

Elle réalise donc, naturellement, une transformation génétique d'un organisme végétal.

Une fois ce mécanisme connu, l'ADN-T a été rapidement proposé, de le détourner dans un but de transgénèse (implanter un ou plusieurs gènes dans un organisme vivant).

Pour cela, il « suffit » de remplacer l'ADN-T par un autre ADN portant un gène d'intérêt.

L'homme s'est inspiré de cette transformation génétique naturelle pour commencer en 1970 à faire les biotechnologies modernes basées sur l'ADN recombiné.

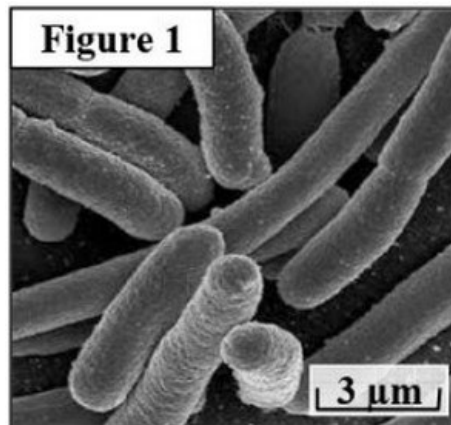
III- Les techniques du génie génétique

3-1/ Matériel biologique employé dans le génie génétique

La bactérie *Escherichia coli*

Le matériel biologique le plus utilisé dans le génie génétique est la bactérie *Escherichia coli*, et ce pour 3 raisons essentielles :

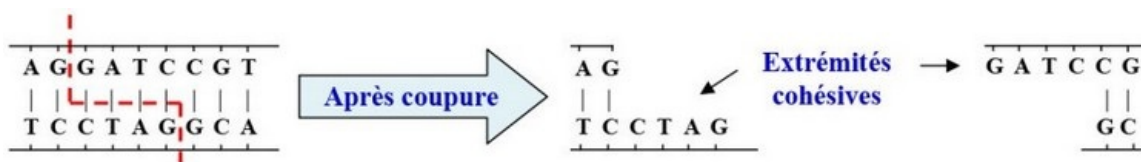
- Elle possède en plus de son unique chromosome, des plasmides.
- Elle se reproduit très vite permettant d'obtenir rapidement plusieurs générations successives.
- Le cytoplasme de cette bactérie est riche en ribosomes, et possède tous les éléments nécessaires à la synthèse des protéines.



Les enzymes de restriction

Ce sont des enzymes capables de couper l'ADN au niveau des sites précis, après avoir reconnu des séquences nucléotidiques bien déterminées.

Ainsi une molécule d'ADN peut-être découpée en plusieurs fragments : les fragments de restriction.



Enzyme	Source	Séquence reconnue	Coupure : //	Après coupure
BamHI	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	5'GGATCC3' 3'CCTAGG5'	5'—G//GATCC—3' 3'—CCTAG//G—5'	<pre> ┌── G GATCC ──┐ │ │ │ │ │ └── CCTAG G ──┘ </pre>
HaeIII	<i>Haemophilus aegyptius</i>	5'GGCC3' 3'CCGG5'	5'—GG//CC—3' 3'—CC//GG—5'	<pre> ┌── ATGG CCTC ──┐ │ │ │ │ │ │ │ │ │ └── TACC GGAG ──┘ </pre>
PstI	<i>Providencia stuartii</i>	5'CTGCAG3' 3'GACGTC5'	5'—CTGCA//G—3' 3'—G//ACGTC—5'	<pre> ┌── ACTGCA GT ──┐ │ │ │ │ │ │ │ │ │ └── TG ACGTCA ──┘ </pre>
EcoRI	<i>Escherichia coli</i>	5'GAATTC3' 3'CTTAAG5'	5'—G//AATTC—3' 3'—CTTAA//G—5'	<pre> ┌── G AATTC ──┐ │ │ │ │ │ └── CTTAA G ──┘ </pre>

Les ligases

Ce sont des enzymes qui ont la propriété de coller ensemble des extrémités simples d'ADN, selon des séquences nucléotidiques bien déterminées.

La transcriptase inverse (ou retro-transcriptase)

C'est un enzyme qui permet de convertir l'ARN en ADN.

Le brin d'ADN résultant de cette réaction est appelé ADN complémentaire (ADNc).

