

2024

1ère Bac Sciences Maths

Cours



Pr. FATHI Sara

Introduction :

A partir des années 70, des généticiens ont réussi à transporter et à utiliser des gènes divers dans des cellules étrangères, ce qui a donné des cellules hybrides qui n'existaient pas avant dans la nature. Par la suite ils ont passé des expériences aux laboratoires vers le domaine industriel, où plusieurs productions se basent sur la transformation génétique des cellules vivantes par le transfert des gènes, cette procédure est dite **transgénèse**, et l'ensemble des techniques utilisées dans cette transformation est appelé **le génie génétique**.

- **Qu'est ce qu'un génie génétique, et qu'elles sont ces principes ?**
- **Qu'elles sont les techniques utilisées dans le génie génétique ?**
- **Quels sont les domaines d'application du génie génétique ?**

I- La transgénèse :**1- Le transfert naturel des gènes des bactéries At aux plantes :****Figure 1 : La transgénèse.**

La galle du collet est une tumeur cancéreuse qui apparaît chez certaines plantes au niveau de du collet ou au niveau de la racine, et vu son influence importante sur l'économie, elle a été le sujet de plusieurs recherches et expériences.

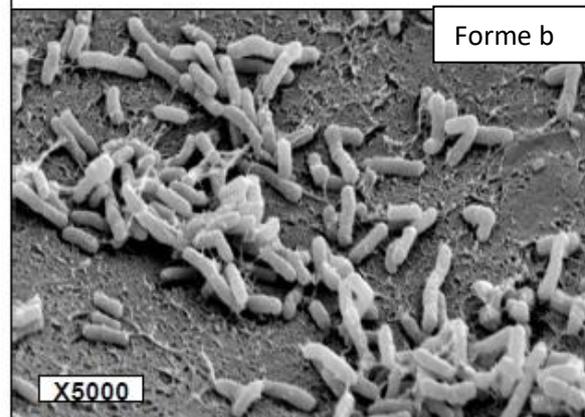
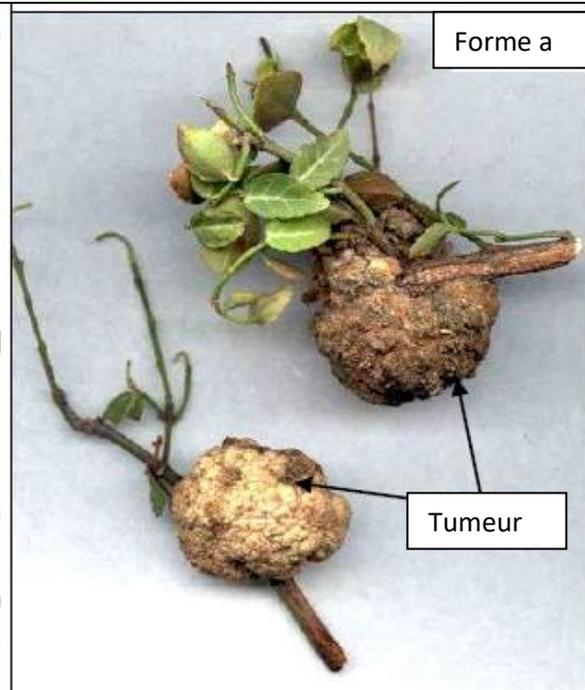
- 1^{ière} expérience : (E. Smith et C. Townsend en 1907)

Ces chercheurs ont isolé, d'une tumeur cancéreuse au niveau de la racine d'une plante, une bactérie appelée At « *Agrobacterium tumefaciens* » (voir forme b). Par la suite ils ont cultivé cette bactérie dans une ouverture récente (moins de deux jours) appliquée sur une plante saine, et ils ont observé l'apparition de la tumeur cancéreuse chez cette plante.

- 1- Que pouvez-vous déduire de ces données ?

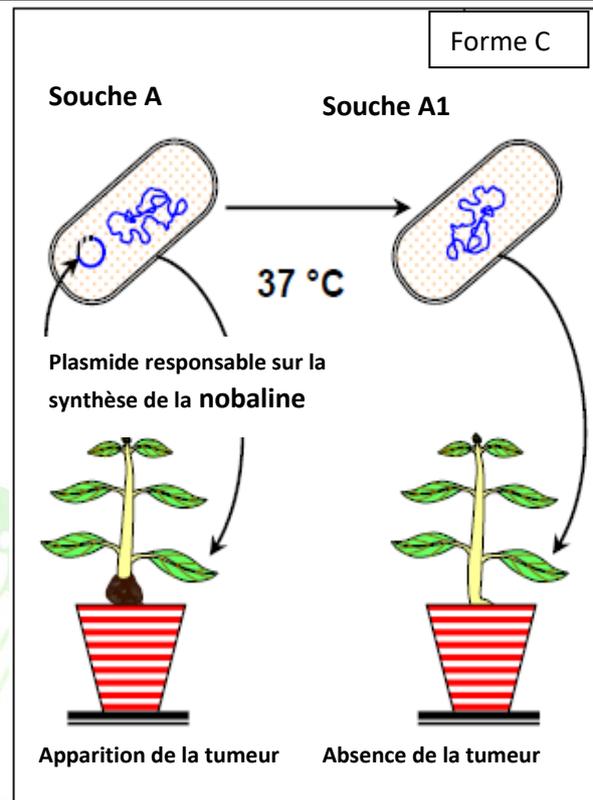
- 2^{ème} expérience : A. Braun 1972

Ce chercheur a pu cultiver un tissu de la galle du collet ne comportant pas la bactérie At dans un milieu adéquat qui contient uniquement du saccharose et des sels minéraux. Il a remarqué que les cellules tissulaires proliféraient s'une façon mal organisée contrairement aux cellules normales qui proliféraient doucement en présence des hormones végétales.



- 2- Quelles sont les variations qui ont intervenu sur les cellules de la galle du collet en présence d'At ?
- 3- Proposez une hypothèse pour expliquer la variation observée dans le comportement des cellules végétales.

-Un ensemble de chercheurs ont découvert qu'il existe deux types de bactéries At : A et B, et ces deux types causes la maladie (apparition de la tumeur). Le type A induit à l'apparition d'une tumeur dont les cellules synthétisent la Nopaline alors que le type B induit à la formation d'une tumeur dont les cellules synthétisent l'Octopine (Nopaline et octopine sont des dérivés des récepteurs communs formés principalement d'acides aminés ou des glucides).



- 4- Quelle est la suite de l'hypothèse que vous pouvez donner concernant la variation du comportement de ces cellules ?

- 3^{ème} expérience :

Des chercheurs ont réussi à extraire la bactérie At, et après l'analyse de ses constituants, ils ont trouvé un ADN circulaire appelé plasmide Ti. On cultive à 37°C une souche de bactérie At de type A sensible à la chaleur, et on obtient ainsi une souche A1. La forme c présente la suite de l'expérience.

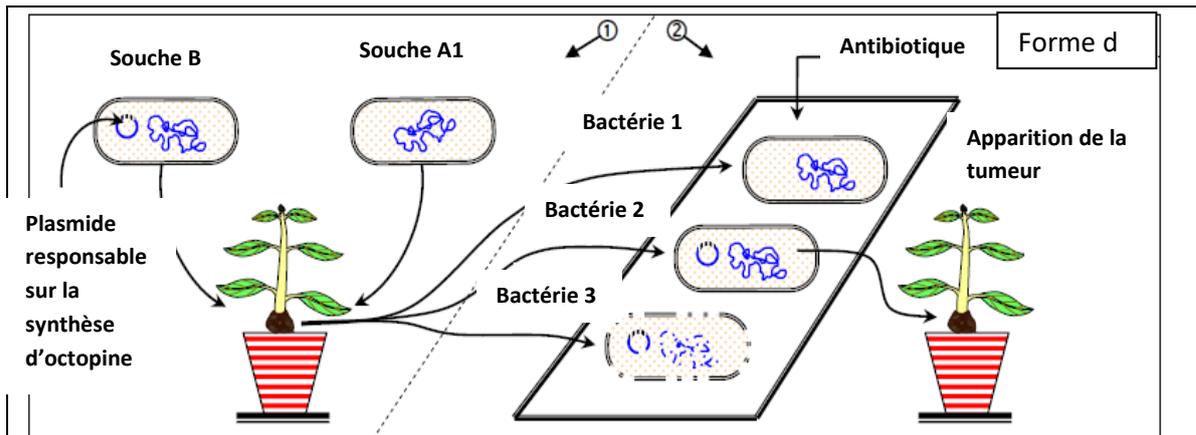
5- Expliquez les résultats obtenus.

- 4^{ème} expérience :

Pour montrer le rôle du plasmide, on effectue l'expérience suivante :

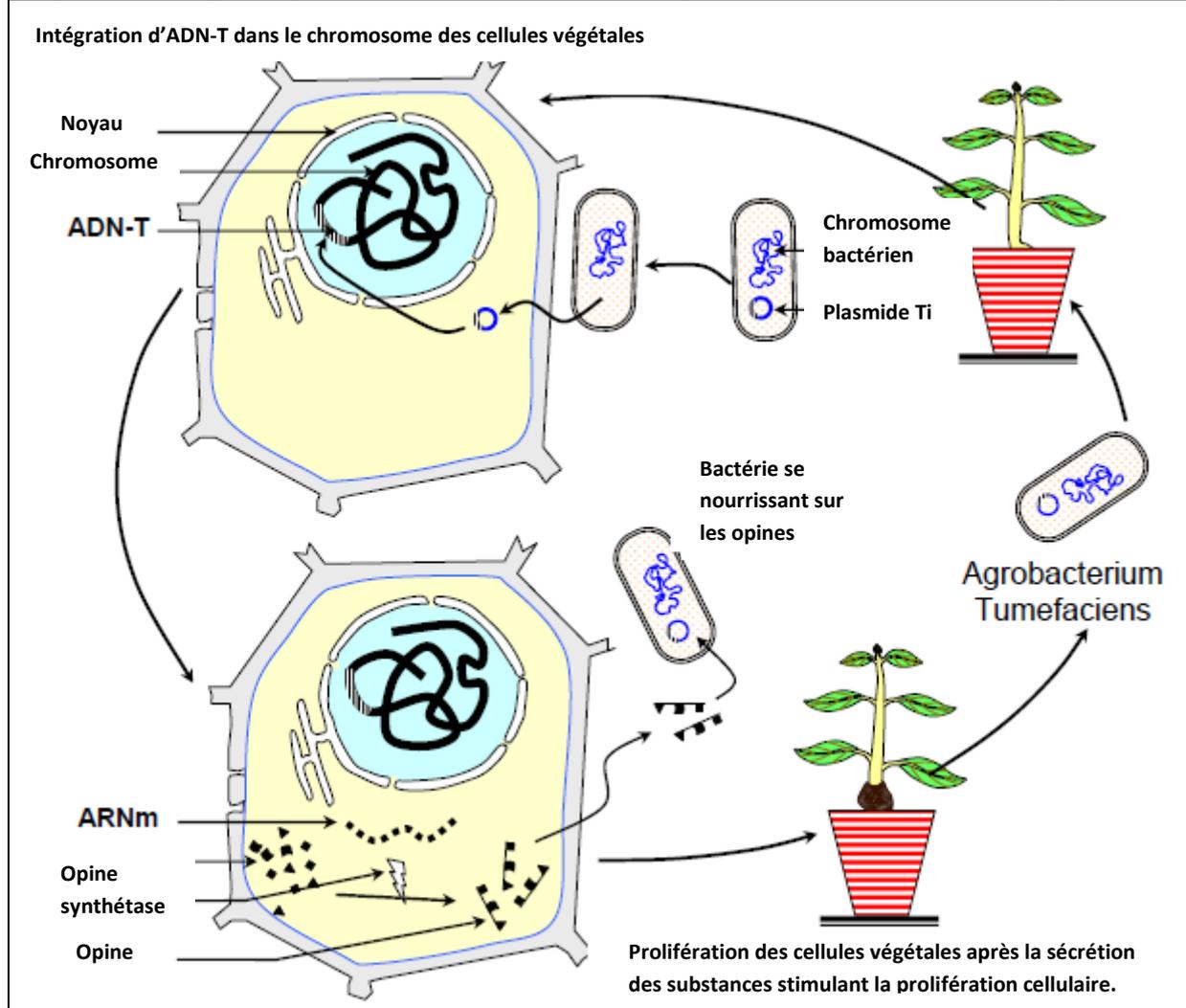
On introduit dans une plante saine, des bactéries A1 qui ne causent pas la maladie et qui sont résistantes aux antibiotiques, et d'autres bactéries B qui causent la maladie et sensibles aux antibiotiques. On observe l'apparition de la tumeur (voir la partie 1 de la forme d)

6- Quelle est l'explication que vous proposez pour les résultats de cette expérience ? On écrase la tumeur et on l'étale sur un milieu de culture comportant des antibiotiques. Les résultats de cette expérience sont présentés sur la 2^{ème} partie de la forme d.



- 7- Déterminez les bactéries 1, 2 et 3 obtenues.
- 8- Pouvez-vous déterminer le rôle du plasmide ?
- 9- A partir des résultats des expériences précédentes et en se basant sur la figure 2, expliquez comment se forme la tumeur au niveau du collet chez les plantes.

- 1- On déduit des données de cette expérience que la bactérie At est responsable sur l'apparition de la tumeur cancéreuse chez les plantes saines.
- 2- Les variations observées chez les cellules du collet à cause de la bactérie At sont : la prolifération rapide et non organisée des cellules de la plante sans qu'elles aient besoin des hormones végétales responsables normalement sur la croissance des cellules du collet.
- 3- Hypothèse : la bactérie At a transféré une substance vers les cellules végétales, qui a provoqué un changement au niveau de l'information génétique d'où l'acquisition des cellules le caractère de la prolifération désordonnée.
- 4- Peut être que le changement du génome des cellules végétales est dû à l'introduction de gènes bactériens dans ces cellules végétales, ces gènes sont responsables sur la production de la nopaline et d'octopine.
- 5- On observe que sous l'effet de la température, le plasmide responsable sur la synthèse de la nopaline dégénère, ce qui induit la non apparition de la tumeur chez la plante, d'où le plasmide est responsable sur effet pathogène de la bactérie.
- 6- La bactérie A1 n'est plus pathogène puisqu'elle a perdu son plasmide. Donc on peut supposer que c'est la bactérie B qui possède le plasmide responsable sur la synthèse d'octopine qui a engendré l'apparition de la tumeur chez la plante.
- 7- Bactérie 1 : non pathogène et résistante à l'antibiotique, donc c'est la bactérie A1.
Bactérie 2 : renferme un plasmide et résistante à l'antibiotique, donc c'est une bactérie hybride qui porte les caractères de A1 et de B.
Bactérie 3 : Sensible à l'antibiotique donc c'est la bactérie B
- 8- On remarque l'apparition de nouvelles bactéries qui ressemblent à A1 et qui contiennent le plasmide des bactéries B, et qui sont pathogène, donc on peut déduire que le plasmide peut se transférer d'une cellule bactérienne à une autre provoquant un changement dans les caractères, d'où le plasmide est responsable sur la transgénèse.

Figure 2 : Croquis explicatif du transfert naturel des gènes d'At vers les cellules végétales.

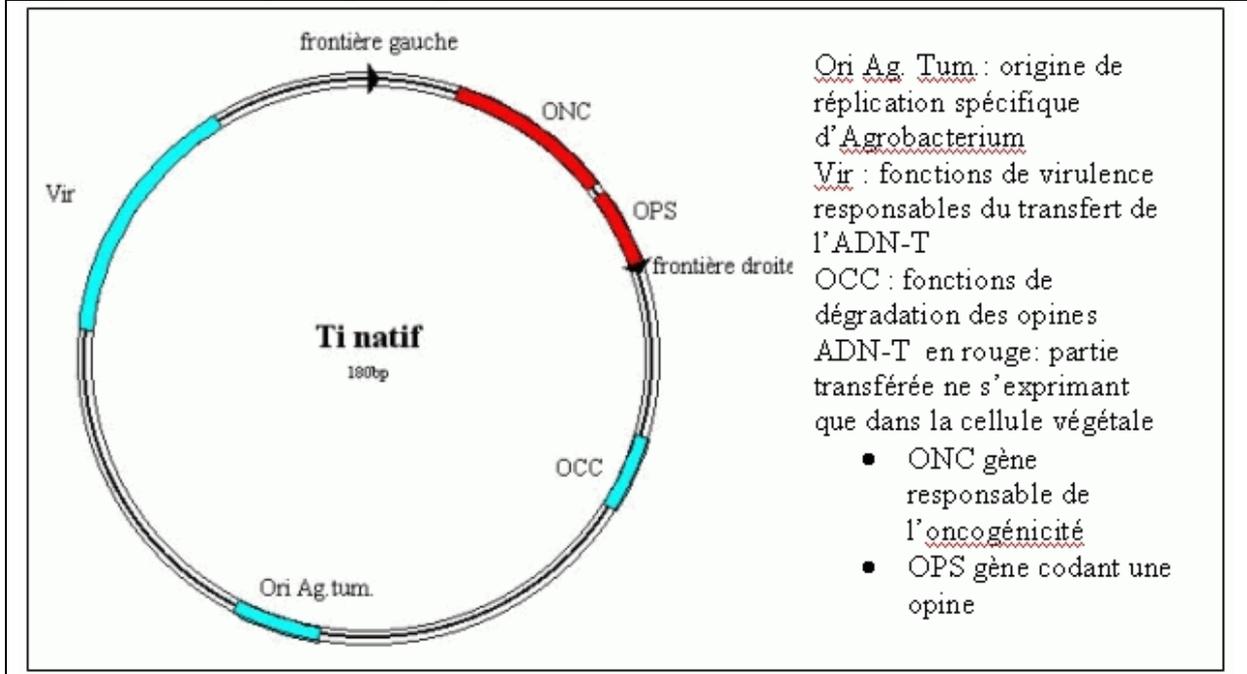
9- La galle du collet apparaît à travers des étapes qui sont :

- 1^{ère} étape : La bactérie s'introduit dans une fissure proche du collet de la plante, et injecte son plasmide Ti (Tumor Inducing) dans la cellule végétale. Ce plasmide renferme un segment d'ADN appelé ADN-T.
- 2^{ème} étape : L'intégration des gènes d'ADN-T dans l'ADN de la cellule végétale hôte.
- 3^{ème} étape : transcription d'ARNm à partir des gènes d'ADN-T puis sa traduction en protéines dans le cytoplasme de la cellule végétale. Cette protéine représente l'enzyme opine- synthétase qui catalyse la réaction de synthèse des opine par la cellule.
- 4^{ème} étape : L'opine synthétisé stimule la prolifération rapide des cellules induisant à la formation d'une tumeur, en plus que l'opine sécrété à l'extérieur de la cellule provoque la prolifération des bactéries At.

2- Conclusion :

La galle de collet provient d'une transgénèse des cellules végétales. Ce caractère devient héréditaire, et le plasmide représente le facteur de transfert du gène de la bactérie vers la cellule végétale. Des études sur ce phénomène ont permis de déterminer la carte génétique du plasmide Ti chez les bactéries At.

Figure 3 : la carte génétique du plasmide Ti des bactéries At



II- Mécanisme du génie génétique :

1- Les outils utilisés dans le génie génétique :

a- La bactérie Escherichia coli :

Figure 4 : L'importance du choix des Escherichia coli dans le génie génétique.

La colibacille E. Coli est considérée comme l'organisme préféré chez les généticiens pour plusieurs raisons parmi lesquelles on trouve : leur prolifération rapide (se divisent dans chaque 20min), renferment en plus du chromosome principale plusieurs plasmides qui peuvent être utilisés comme transporteurs des gènes, en plus que le cytoplasme de ces bactéries est riche en ribosomes ainsi que des substances nécessaires pour la synthèse des protéines.

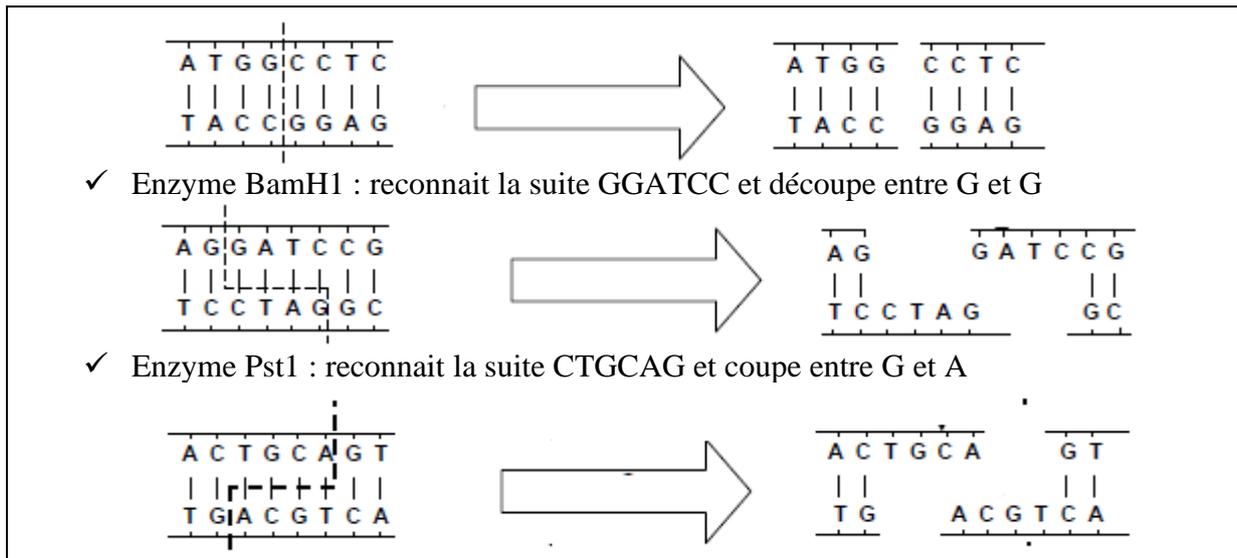
b- Les enzymes de restriction et les ligases:

➤ Les enzymes de restriction :

Figure 5 : Les enzymes de restriction.

En 1965, W.Arber a découvert que les bactéries affectées par les virus peuvent résister à ces parasites en découpant l'ADN viral en des petits fragments grâce à des enzymes spécifiques qui découpent l'ADN dans des emplacements précis. Des centaines de types de ces enzymes ont été extraits, chaque enzyme porte le nom du type bactérien duquel elle a été extraite suivi du numéro de référence de sa découverte.

- ✓ Enzyme HaeIII : reconnaît la suite GGCC et découpe entre G et C



Les enzymes de restrictions sont des enzymes spécifiques capables de reconnaître une succession précise de bases azotées au niveau de l'ADN et découper la molécule à ce niveau. Chaque enzyme de restriction porte le nom du type bactérien duquel elle a été extraite.

➤ **Les ligases :**

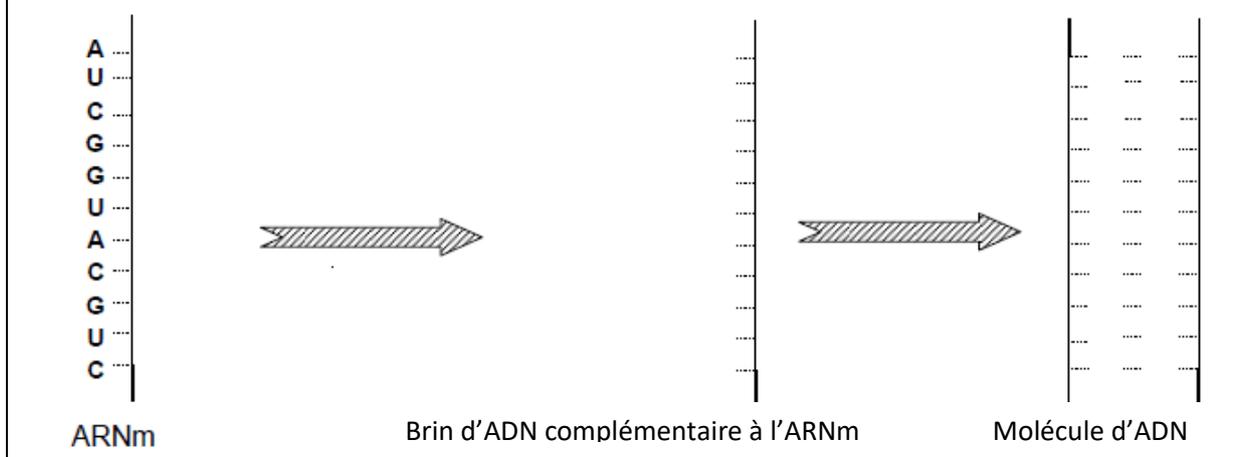
Ce sont des enzymes spécifiques capables de lier les côtés découpés d'ADN en rassemblant les côtés unis entre eux tout en respectant le principe de la complémentarité des bases azotées.

c- **La transcriptase inverse :**

Figure 6 : La transcriptase inverse.

Des chercheurs ont réussi à extraire une enzyme virale capable de synthétiser la molécule d'ADN à partir de la molécule d'ARNm, qu'ils ont appelé la transcriptase inverse, et comme ça il est devenu possible de synthétiser le gène qui code pour une protéine spécifique à partir de l'ARNm qui lui correspond.

A partir de la molécule d'ARNm suivante, précisez le brin d'ADN complémentaire issu de la transcriptase inverse, puis déterminez la molécule d'ADN qui représente le gène recherché.



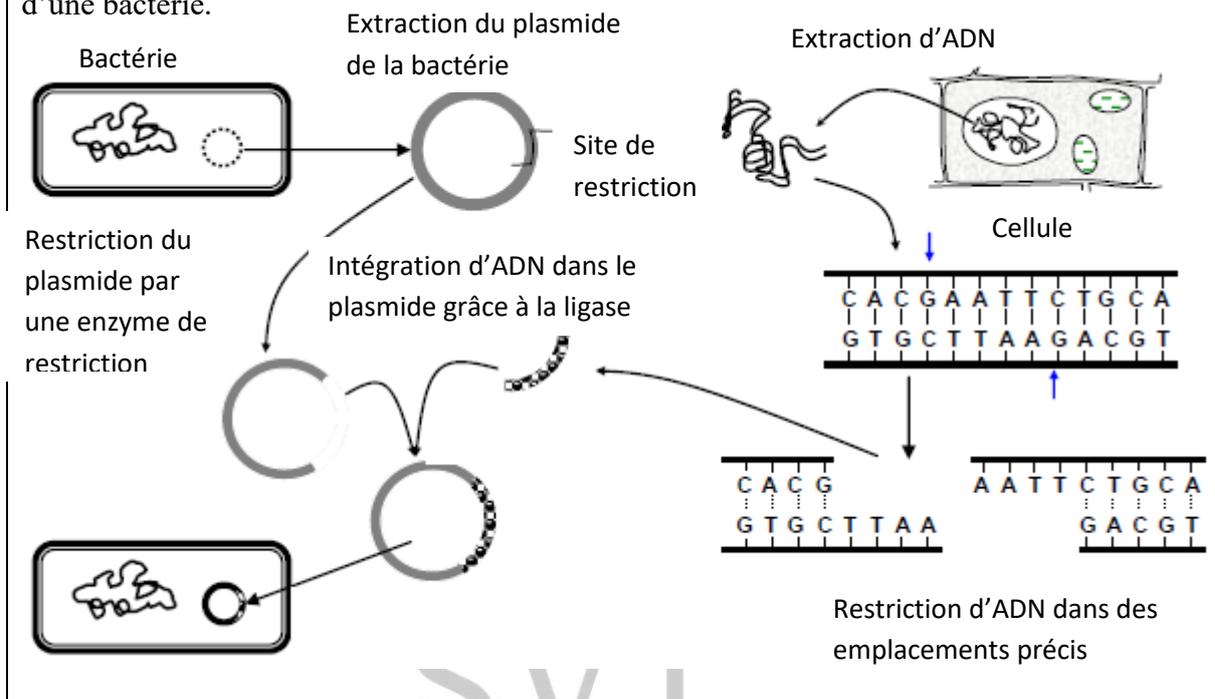
2- **Les étapes d'extraction et de transfert d'un gène d'une cellule à une bactérie :**

Figure 7 : Les étapes de l'extraction et du transfert du gène d'une cellule à une bactérie E .Coli.

Après l'extraction du gène désiré, ce dernier est intégré dans le stock héréditaire d'un autre être vivant, qui le traduit en une protéine désirée.

Il existe plusieurs méthodes d'intégration du gène dans le stock héréditaire d'un autre être vivant (bactérie par exemple) principalement l'intégration à travers un plasmide transporteur. La figure ci-dessous présente les étapes d'intégration d'un gène dans le stock héréditaire d'une bactérie.

Décrivez la méthode d'extraction et d'intégration du gène désiré dans le stock héréditaire d'une bactérie.



Le transfert d'un gène à une bactérie se passe selon les étapes suivantes :

a- Extraction du gène :

Après la détermination du caractère désiré, le gène responsable sur ce dernier est extrait par deux méthodes :

- Isolation de l'ADN cellulaire contenant le gène qu'on veut transférer, puis le découpage de la molécule d'ADN par les enzymes de restriction.
- L'extraction de l'ARNm de la cellule contenant le gène désiré, et grâce à la transcriptase inverse un ADNc (complémentaire) est synthétisé, ce dernier porte le gène recherché, par la suite on lui ajoute des côtés unis.

b- Intégration du gène dans un organisme transporteur :

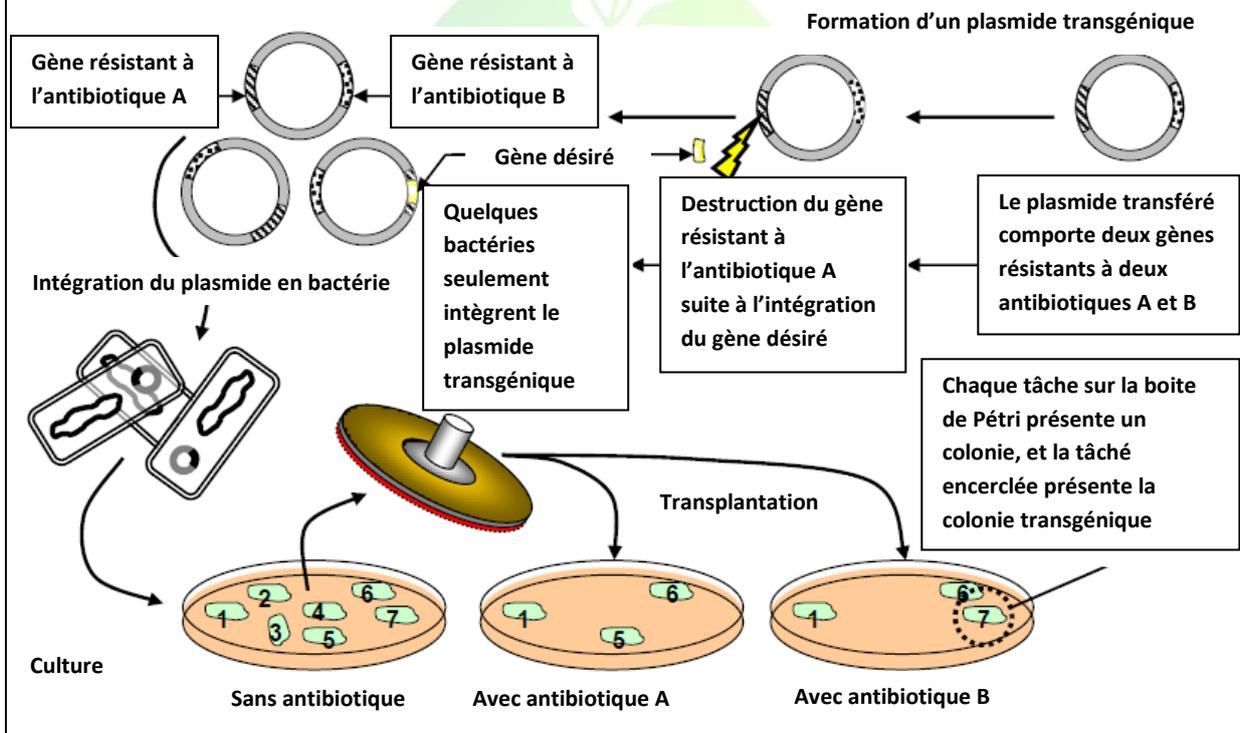
On extrait de l'E.Coli le plasmide, qu'on découpe par une enzyme de restriction, par la suite on relie l'ADN du plasmide avec le segment d'ADN qu'on veut transférer grâce à la ligase. On obtient ainsi un plasmide transgénique qu'on introduit dans un organisme transporteur (E.Coli).

3- Le clonage du gène et la détection des bactéries transgéniques :
 a- Détection des bactéries transgéniques par la technique des antibiotiques :

Figure 8 : Détection des bactéries transgéniques par la technique des antibiotiques.

Après l'intégration du plasmide dans la bactérie hôte, celle-ci est cultivée dans une boîte de Pétri dans un milieu de culture adéquat où elle prolifère formant des colonies. Par la suite, les colonies sont transportées dans de nouvelles boîtes de Pétri, et comme ça on obtient plusieurs colonies, cette opération est appelée « **colonisation** ». Certaines de ces colonies comportent les bactéries transgéniques alors que d'autres n'ont pas intégré le gène.

Pour détecter les bactéries transgéniques, plusieurs techniques sont utilisées, parmi lesquelles la caractéristique de la résistance aux antibiotiques, grâce à des gènes positionnés sur le plasmide. Le principe de cette technique consiste à cultiver les bactéries dans des milieux de cultures différents comportant des antibiotiques, puis analyser les résultats obtenus dans chaque milieu de culture pour déterminer les colonies renfermant le gène désiré. La figure ci-dessous présente le protocole expérimental ainsi que les résultats obtenus :



On remarque que le plasmide utilisé dans cette expérience est caractérisé par deux gènes : Le gène A (résistance à l'antibiotique A), et le gène B (résistance à l'antibiotique B).

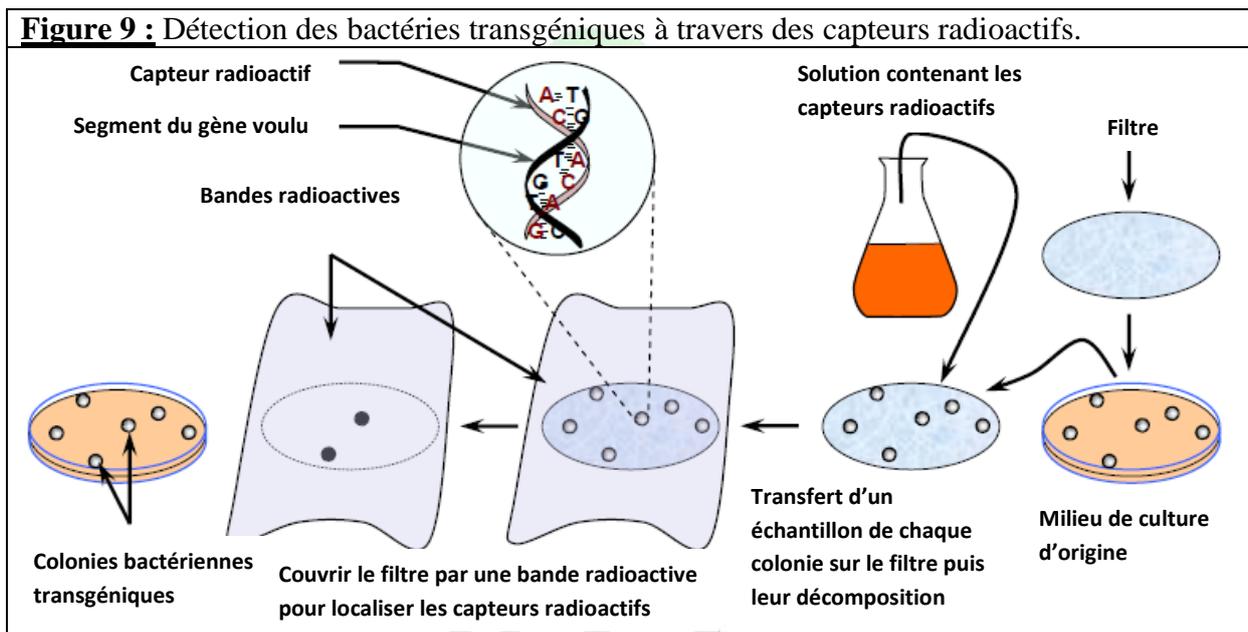
On observe que le gène intégré se positionne au milieu du gène responsable sur la résistance à l'antibiotique A, donc après l'intégration du nouveau gène, le plasmide perd le gène A alors qu'il possède toujours le gène B. D'où la bactérie transgénique sera sensible à l'antibiotique A et résistante à l'antibiotique B. Et comme ça on peut la détecter en utilisant ces antibiotiques comme suit :

- Lorsqu'on cultive les bactéries dans un milieu de culture contenant l'antibiotique A, seul les bactéries résistantes à cet antibiotique vont coloniser alors que les autres vont disparaître, ces bactéries sont : 2, 3, 4, 7.

- Lorsqu'on cultive ces bactéries dans un milieu de culture contenant l'antibiotique B, seul les bactéries possédant le gène responsable sur la résistance à l'antibiotique B colonisent, qui sont 1, 6, et 7 alors que celles qui ne possèdent pas ce gène disparaissent.

Dans la bactérie transgénique sera en même temps résistante à l'antibiotique B et sensible à l'antibiotique A, donc c'est la bactérie 7 qui va être cultivée par la suite pour obtenir la protéine désirée.

b- Détection des bactéries transgéniques par des capteurs radioactifs :



Les bactéries transgéniques peuvent être aussi détectées par la méthode des capteurs radioactifs. Cette technique consiste à détecter le gène voulu grâce à des capteurs radioactifs qui peuvent être soit es segment d'ADN ou d'ARNm radioactifs et complémentaire de la succession de l'ADN au niveau d'une partie caractéristique du gène ciblé. Par la suite la radioactivité est détectée grâce à une bande radioactive. La présence de la radioactivité signifie sur la bande indique la localisation des capteurs radioactifs et donc celle des bactéries transgéniques.

4- Expression du gène :

Lorsqu'on obtient des colonies renfermant le gène ciblé, ces cellules transgéniques sont cultivées dans des ferments industriels pour qu'elles prolifèrent et produisent une grande quantité de protéine provenant de la traduction du gène intégré dans le plasmide.

III- Exemples d'application du génie génétique :

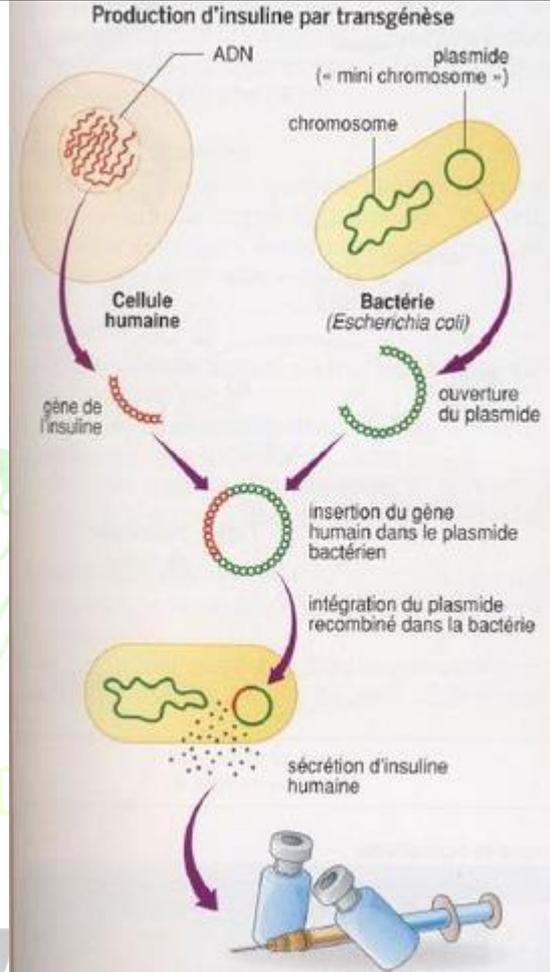
1- La production industrielles d'insuline :

Figure 10 : la production industrielle d'insuline.

L'insuline est une hormone qui diminue le taux de glucose dans le sang, il est sécrété par les cellules bêta des îlots de Langerhans pancréatiques. Chaque diminution dans cette hormone induit au diabète qui est traité dans ce cas grâce à l'injection de la personne diabétique par l'insuline d'origine animale, sauf que son utilisation provoque parfois des allergies puisque sa composition chimique est différente de la composition de l'insuline humain.

Grâce aux techniques du génie génétique, ils ont pu synthétiser une insuline humaine avec de grandes quantités à partir de l'ARNm responsable sur la sécrétion de cette hormone. Par la suite le gène a été transféré à des microorganismes tels que la levure de bière et certains bacilles qui synthétiseront cette hormone et la sécréteront dans le milieu extérieur.

- 1- Montrez l'importance de l'utilisation du génie génétique dans la production de l'insuline.
- 2- Donnez les étapes d'application du génie génétique pour la production de l'insuline humaine.



1-L'insuline joue le même rôle chez tous les mammifères, sauf qu'elle montre certaine variation au niveau de la composition chimique. C'est pourquoi, l'utilisation d'une insuline animale pour l'Homme peut induire à certains cas d'allergie. D'où l'importance du génie génétique qui permet de produire une insuline identique à l'insuline humaine avec des grandes quantités et à faible coût.

2-Etapes d'application du génie génétique pour la production d'insuline :

- Isolation du chromosome contenant le gène ciblé.
- Découpage de l'ADN désiré grâce à une enzyme de restriction.
- Extraction du plasmide d'une bactérie.
- Découpage de l'ADN du plasmide par la même enzyme de restriction.
- Intégration du gène dans le plasmide grâce à la ligase.
- Détection des bactéries transgéniques.
- Colonisation des bactéries transgéniques
- Stimulation des bactéries transgéniques pour qu'elles produisent l'insuline.

2-