

# CHAPITRE 3

## LE GENIE GENETIQUE : SES PRINCIPES ET SES TECHNIQUES.

### Mise en situation

En 2001, des chercheurs ont créé une percée scientifique majeure en annonçant le déchiffrement de l'ADN humain. Neuf ans plus tard, on serait en train de déchiffrer le génome de plus de 7 000 espèces. En fait, ces réalisations témoignent des progrès accomplis dans les méthodes de travail permettant la manipulation de l'ADN. Dans le présent chapitre nous verrons le génie génétique, qui réunit les techniques portant sur la manipulation directe de gènes à des fins pratiques, et leurs applications pratiques dans les domaines de l'activité humaine et de l'agriculture

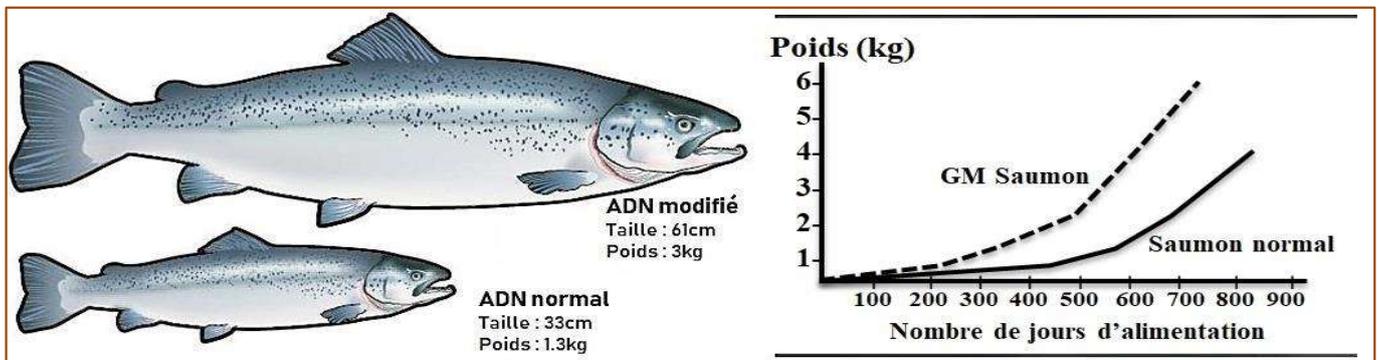


Fig 1 : Saumon génétiquement modifié : c'est le premier animal génétiquement modifié destiné à la consommation humaine est commercialisé. Les deux saumons montrés dans le document sont à l'âge de 18 mois

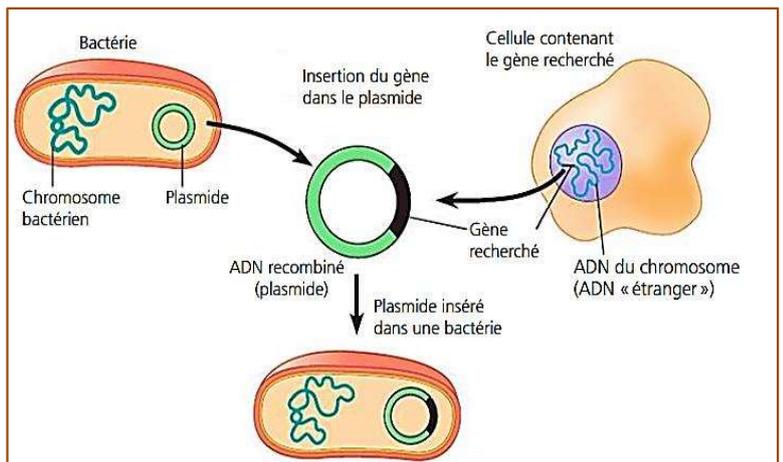
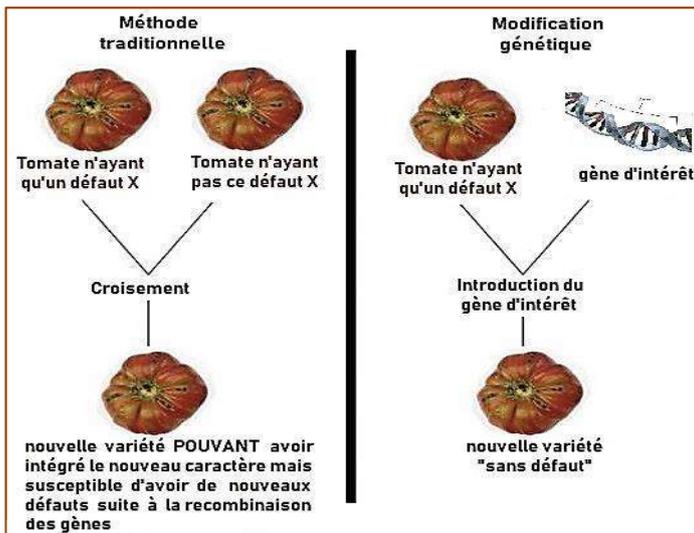


Fig 3 : le transfert d'un gène d'intérêt

Fig 2 : les avantages des OGM : la création de nouvelles variétés de plantes ; résoudre le problème de la faim dans les pays en voie de développement.

## Activité 1 : La modification génétique : la notion et les étapes

Au début des années 70, la structure de l'ADN et les bases de l'expression des gènes sont connues mais on ne sait pas isoler des gènes. Et c'est grâce aux outils du génie génétique, que des bactéries sont modifiées génétiquement pour produire des gènes d'intérêts.

Qu'est-ce que la modification génétique ? Et Comment transférer un gène d'intérêt à une bactérie ?

### 1- Notion de la modification génétique :

#### Doc 1 : L'infection de la plante par Agrobacterium induit le développement d'une galle

Agrobacterium tumefaciens est une bactérie en forme de bâtonnet, qui se développe dans le sol. Elle est attirée par des composés phénoliques dégagés par certaines plantes lorsqu'elles sont blessées. Au niveau de cette blessure, l'Agrobacterium est capable de se fixer sur les cellules du végétal. A la suite de ce contact, ces cellules végétales se multiplient de manière importante, donnant naissance à une formation tumorale. Elle est en général située au niveau du collet, d'où le nom de cette formation : La galle du collet.

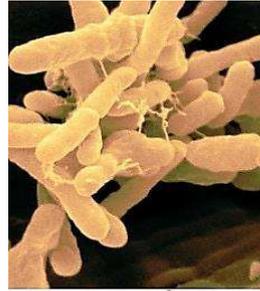


Fig a : Agrobacterium tumefaciens

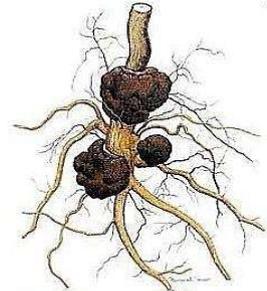


Fig b : La galle du collet

**1-Déterminer** le caractère acquis par les plantes blessées en présence des bactéries A. Tumefaciens.

La multiplication indéfinie des cellules → développement d'une tumeur (la galle du collet)

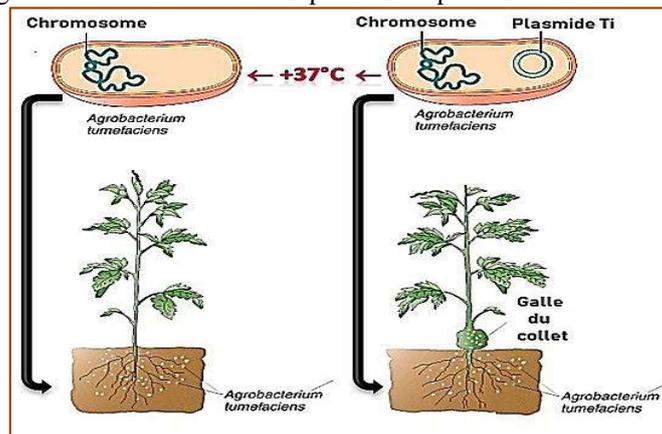
**2-Proposer** des hypothèses pour expliquer la relation entre la formation tumorale et les bactéries A. Tumefaciens.

→Modification génétique par une mutation au niveau de l'ADN des plantes blessées.

→Modification génétique par transfert du matériel génétique, des bactéries A. Tumefaciens, responsable du caractère, aux plantes blessées.

#### Doc 2 : l'origine de la galle du collet

Les résultats d'inoculation chez des plantes saines, avec des Agrobacterium tumefaciens normales (avec plasmide) et avec des Agrobacterium tumefaciens privées de plasmide.



**1-Décrire les résultats obtenus :**

→En présence d'Agrobacterium tumefaciens normales, la plante blessée développe la galle du collet

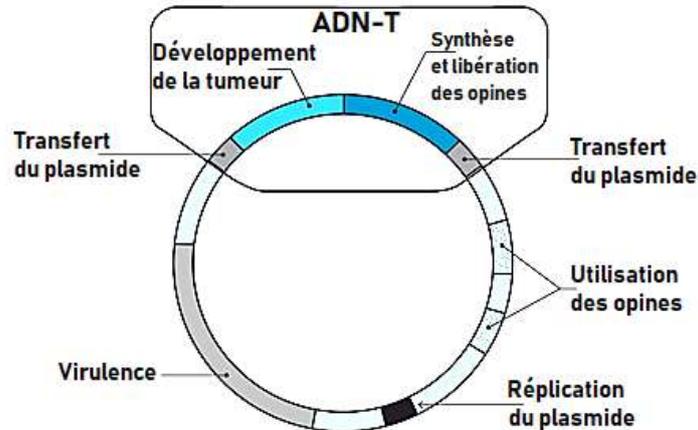
→En présence d'Agrobacterium tumefaciens privées de plasmide Ti, la plante blessée ne développe pas la galle du collet

**2-Que peut-on déduire ?**

Le plasmide Ti est responsable d'acquérir le caractère « formation tumorale » chez les plantes blessées.

### Doc 3 : les caractéristiques du plasmide Ti

Le plasmide Ti est une petite molécule circulaire d'ADN. Le schéma ci-contre récapitule les régions responsables de ses différentes propriétés.



**1-Montrer** les caractéristiques du plasmide Ti qui lui permet d'induire la galle du collet.

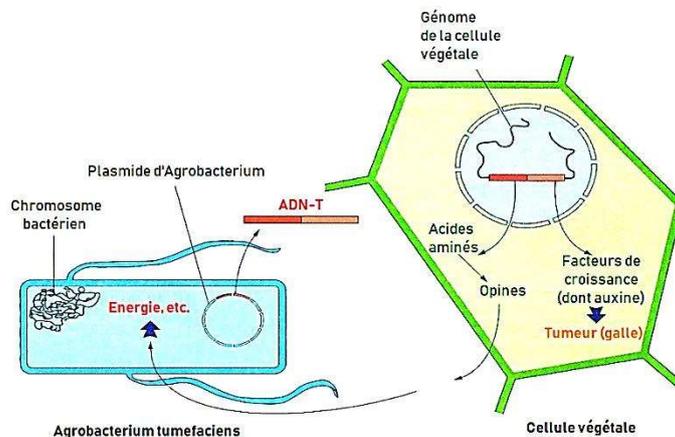
→Le plasmide Ti est une molécule d'ADN possédant un gène responsable du développement de la tumeur sur la tige du végétal.

→Le plasmide Ti possède des gènes qui assurent leur transfert.

### Doc 4 : transfert d'un fragment d'ADN (l'ADN-T) de l'Agrobacterium dans le génome de la plante

Lors de l'infection, la tumeur 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, 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 appelé plasmide Ti.



**1-En vous basant** sur ce qui précède et le document 4, **vérifier** l'hypothèse proposée dans votre réponse à la question 2 – document 1.

→En contact avec la tige blessée d'un végétal, la bactérie transfère un petit morceau de son plasmide dans la cellule végétale.

→Après l'entrée du morceau d'ADN dans la cellule végétale, il s'intègre au génome de la cellule.

→Cette incorporation de l'ADN modifie le génome de la cellule et entraîne la formation d'une tumeur au niveau de la blessure de la plante.

→La tumeur produit des opines qui vont permettre le développement des bactéries.

## 2-Définir la modification génétique.

La modification génétique ou génie génétique correspond à un ensemble de techniques qui permettent d'isoler un (ou plusieurs gènes) gène d'intérêt et le transférer dans une cellule receveuse pour modifier son génome (ADN).

La modification génétique crée des organismes génétiquement modifiés OGM, d'intérêt dans plusieurs domaines (agricole ; médecine pharmaceutique ...)

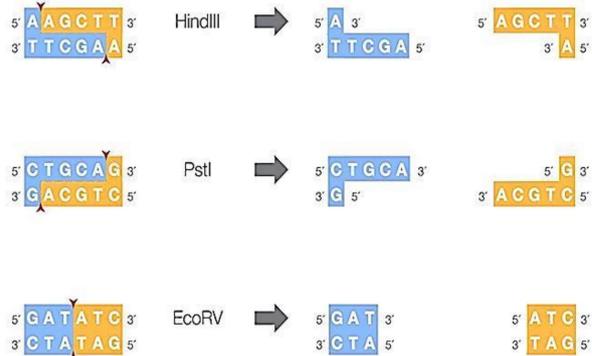
## 2- Les outils de la modification génétique :

### Doc 5 : les enzymes de restriction : des ciseaux moléculaires

En 1965, W.Arber découvre que les bactéries infectées par des virus ont un moyen de défense contre ces parasites : elles découpent l'ADN viral en petits morceaux grâce à des enzymes, véritables ciseaux moléculaires. Cela restreint considérablement l'aptitude des virus à répliquer leur ADN et donc à se multiplier à l'intérieur des bactéries. De ce fait, la destruction des bactéries qui suit normalement la multiplication virale n'a plus lieu. Ces enzymes particulières sont appelées de restriction.

Elles ne coupent pas l'ADN n'importe où : une enzyme donnée reconnaît une séquence de bases spécifique dans l'ADN, le site de restriction, et à chaque fois qu'elle le rencontre, elle coupe la molécule.

Beaucoup d'enzymes de restriction différentes ont été progressivement extraites de diverses bactéries ;

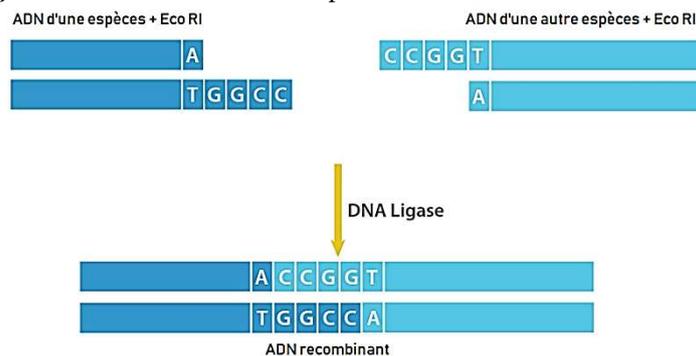


### 1-Définir l'enzyme de restriction.

Enzyme d'origine bactérienne qui permet de couper l'ADN au niveau des certaines séquences bien définies.

### Doc 6 : L'ADN ligase

Un fragment découpé peut établir des liaisons hydrogène avec la séquence de bases complémentaire d'un autre fragment. La soudure définitive des deux fragments est réalisée par une autre enzyme, l'ADN ligase. On fabrique de cette façon une nouvelle molécule qui est un ADN recombinant.

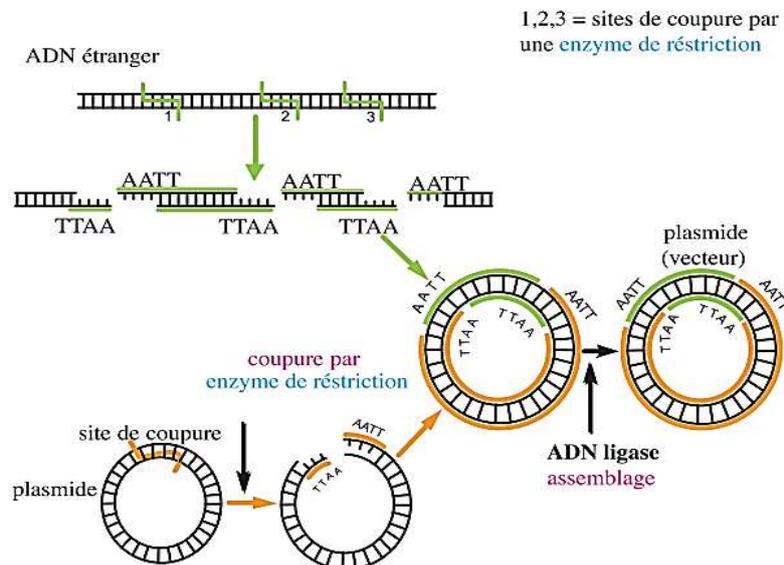


### 1-Définir l'ADN ligase.

Enzyme qui active la liaison entre deux molécules d'ADN.

### Doc 7 : Mode d'action des enzymes de restriction et des enzymes ADN ligase

Le document ci-contre donne les principaux outils utilisés au cours de l'insertion d'un gène au niveau d'un plasmide.



**1-Décrire** les techniques présentées dans le document ci-dessus.

\*Pour obtenir le gène à transférer, l'ADN est extrait des cellules puis fragmenté grâce à un enzyme de restriction spécifique.

\*Un plasmide (le vecteur) est ouvert grâce au même enzyme de restriction. L'insertion du gène à transférer dans le vecteur se fait grâce à une autre enzyme appelée la ligase. Le résultat est l'obtention des molécules d'ADN recombinées.

**2-Expliquer** l'utilisation de même enzyme de restriction pour couper l'ADN portant le gène d'intérêt et l'ADN de vecteur.

\*L'utilisation de même enzyme de restriction pour couper l'ADN portant le gène d'intérêt et l'ADN vecteur génère des fractions aux extrémités complémentaires.

\*Ces fragments peuvent être facilement ligaturés.

### 3- Les étapes de la modification génétique :

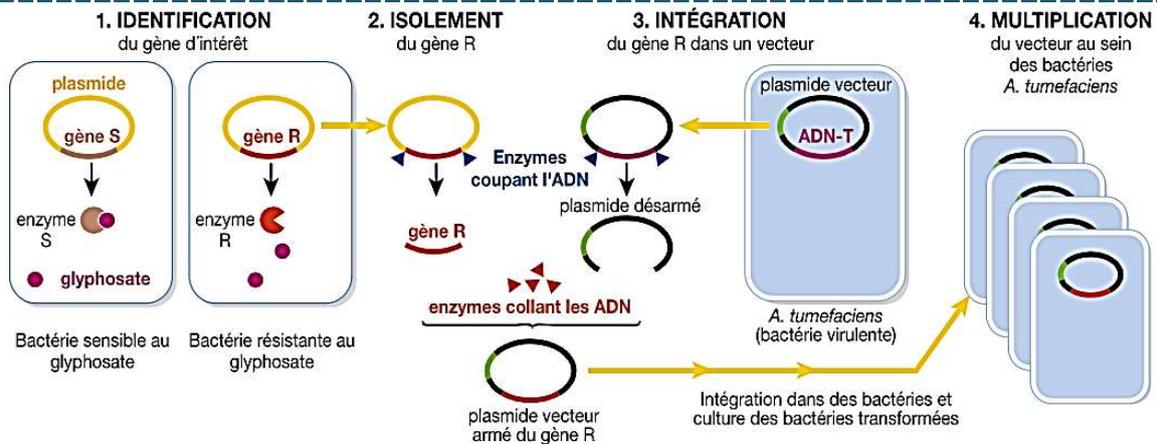
#### Doc 8 : les étapes de l'obtention de plantes génétiquement modifiées

•Étape 1 : identification du gène d'intérêt et préparer son transfert :

La technique de modification génétique la plus courante repose sur la capacité naturelle de l'*Agrobacterium tumefaciens* à infecter les cellules végétales en transférant, dans leurs chromosomes, un segment de plasmide : l'ADN-T.

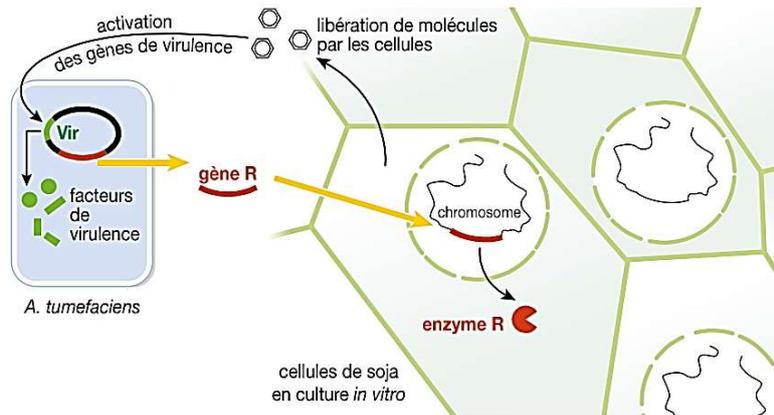
On peut remplacer in vitro l'ADN-T par n'importe quelle autre séquence d'ADN. Le plasmide pourra ainsi servir de vecteur pour transférer un gène d'intérêt à des cellules végétales. C'est ce qui a été fait pour rendre une variété de soja tolérante au **glyphosate**. Cet herbicide agit en se fixant sur l'enzyme S, d'importance vitale pour toutes les plantes. On a découvert que certaines bactéries sont tolérantes au glyphosate, car elles possèdent une enzyme R, comparable à l'enzyme S, mais sur laquelle le glyphosate ne peut se fixer. On a donc intégré le gène de l'enzyme R dans les plasmides d'*A. tumefaciens*.

Les bactéries *A. tumefaciens*, ainsi préparées sont cultivées pour disposer d'un grand nombre de plasmides vecteurs, avant de les mettre en présence des cellules du soja.



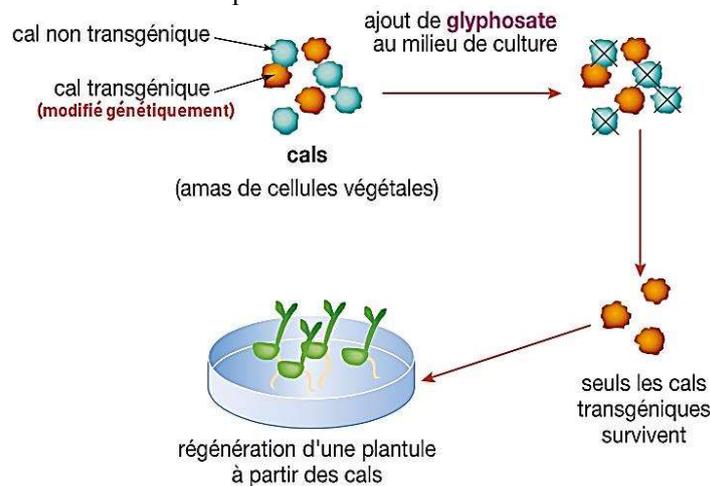
•Etape 2 : transfert du gène d'intérêt vers les cellules de la plante cible

On cultive ensuite sur un même milieu des fragments de feuilles de soja et les bactéries ayant intégrées le gène R. les cellules végétales libèrent des molécules qui activent un groupe de gènes bactériens. Les molécules ainsi fabriquées provoquent l'entrée du gène R dans certaines cellules du soja, et leur intégration dans les chromosomes.



•Etape 3 : sélectionner les cellules transformées et régénérer des plantes entières

Pour éliminer les bactéries, on lave les fragments de feuilles, puis on les cultive in vitro. Il se forme alors des cals (massifs de cellules indifférenciées). L'ajout de glyphosate au milieu de culture élimine, en principe, tous les cals non modifiés génétiquement. On place alors les cals survivant sur des milieux de culture permettant leur transformation en plantules.



**1- Pour quelle raison cherche-t-on** à intégrer le gène R dans le plasmide d'*A. tumefaciens* ?

\*Une variété de soja est sensible au **glyphosate**

\*Certaines bactéries sont tolérantes au glyphosate, car elles possèdent une enzyme R

\*L'intégration du gène de l'enzyme R dans les plasmides d'*A. Tumefaciens* permet de rendre cette variété tolérante au **glyphosate**

**2-Justifier** l'ajout de glyphosate au milieu de culture sur lequel se développent les cals.

\*L'ajout de glyphosate permet le repérage des cals transgéniques (génétiquement modifiés)

\*En ajoutant le glyphosate au milieu de culture, on peut alors sélectionner les cals transformés ayant incorporé le gène R grâce à la résistance au glyphosate.

**3-Dégager** les étapes de la modification génétique pour produire une variété de soja tolérante au **glyphosate**

→ Isolement de gène R par les enzymes de restriction.

→ Soudure et insertion de gène R dans le plasmide vecteur par les enzymes ligases.

→ Transfert du plasmide dans la cellule de soja.

→ L'intégration de gène R dans l'ADN.

→ La production de l'enzyme R désirée par l'expression du gène R et l'obtention d'une variété résistante au glyphosate

## Activité 2 : Quelques domaines d'application des principes du génie génétique

Parmi les objectifs de génie génétique est l'amélioration des plantes cultivées, produire des organismes mieux adaptés aux besoins humains : des bactéries capables de synthétiser de l'insuline ou de l'hormone de croissance.

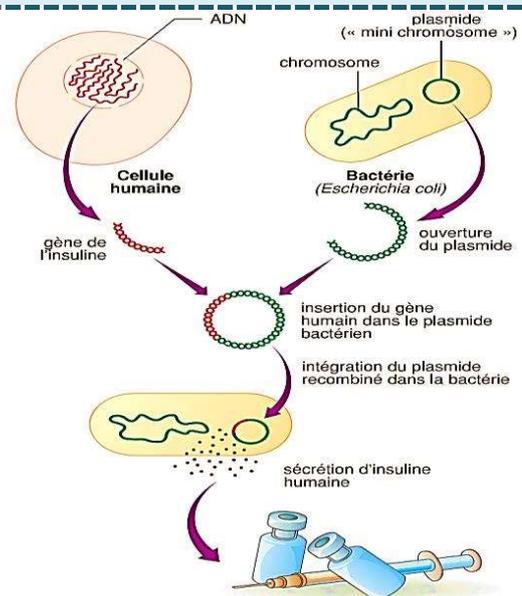
Quelles sont les principales applications dans les domaines médical et agronomique du génie génétique ?

### 1- la production de l'insuline humaine

#### Doc 9 : la production de l'insuline

Jusqu'en 1982, l'insuline utilisée par les diabétiques pour se soigner (injections quotidiennes) était extraite d'animaux (insuline de porc). La plupart des diabétiques utilisent maintenant de l'insuline humaine produite par génie génétique, ce qui procure de multiples avantages.

La figure ci-contre illustre cette méthode de production :



**1-Comment expliquer que** l'Homme produise l'insuline d'origine animale ?

\*Quelle que soit l'espèce receveuse, le transfert d'un même gène aboutit toujours à l'acquisition de la même propriété par le receveur.

\*Ceci est dû au fait que l'information génétique contenue dans l'AND est transcrite par un langage universel (le code génétique).

### Doc 10 : Effets de la pyrale sur le maïs

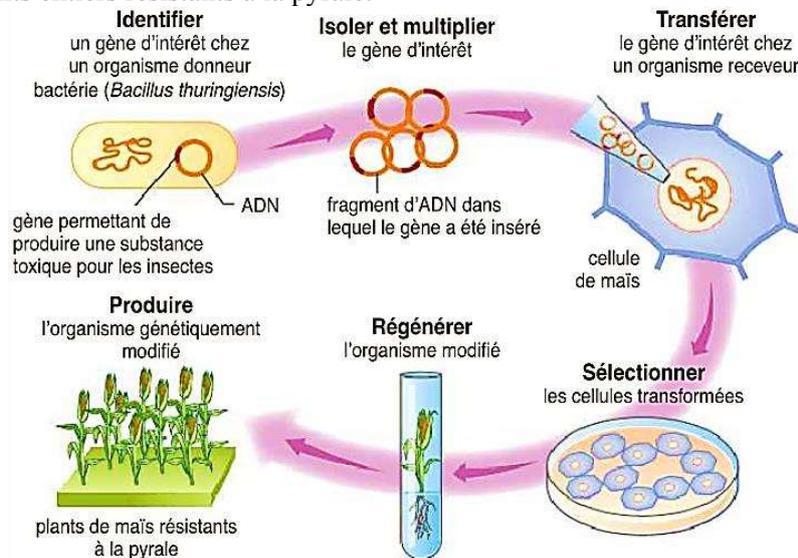


La pyrale du maïs est un insecte dont la larve s'attaque au maïs et consomme les tiges, les feuilles, mais les dégâts les plus importants du point de vue économique sont liés à l'infestation des épis de maïs qui deviennent impropres à la vente.

L'utilisation d'insecticides comporte divers inconvénients dont l'atteinte d'autres insectes non nuisibles, la faible efficacité du traitement contre les larves qui se développent à l'intérieur des épis et surcroît de travail pour l'agriculteur.

#### • Production de maïs génétiquement modifié :

La bactérie *Bacillus thuringiensis* est connue pour son activité « insecticide » contre la pyrale. Le gène responsable de cette propriété peut être transféré dans des cellules du maïs. Ces cellules, après culture, produiront des plants entiers résistants à la pyrale.



#### • Caractéristiques des maïs génétiquement modifié :

Les chenilles ayant consommé les épis de maïs génétiquement modifié présentent une paralysie du système digestif, cessent de s'alimenter et meurent rapidement.

**2-Comparer** les méthodes classiques de la sélection végétale (réalisation des croisements) et la sélection végétale par génie génétique.

Les méthodes classiques	Le génie génétique
<ul style="list-style-type: none"> <li>*Nécessite la réalisation des croisements.</li> <li>*Transfert des caractères provenant de même espèce.</li> <li>*Lors d'un croisement, de nombreux caractères sont modifiés chez les descendants.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Indépendant de la reproduction sexuée.</li> <li>*Transfert des caractères provenant d'espèces très différentes.</li> <li>*La plante qui reçoit le gène d'intérêt conserve toutes ses autres qualités.</li> </ul>

**3-Résumer** dans un tableau les intérêts des OGM pour l'être humain dans différents domaines.

Agriculture	Alimentation	Santé
<ul style="list-style-type: none"> <li>*Résistance aux nuisibles et maladies.</li> <li>*Résistance aux herbicides.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Amélioration de la qualité nutritionnelle des aliments.</li> <li>*Ralentissement de la maturation des fruits.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Production de médicaments et des vaccins.</li> </ul>