

Bonjour,

Plusieurs fils de discussion sur le forum du Naturaliste m'ont incité à écrire une série d'articles consacrés à la **biologie moléculaire**. Deux raisons au moins justifient, selon moi, leur présence sur le portail de notre site préféré : d'une part, cette discipline est au cœur de bien des débats de société actuels auxquels les naturalistes amateurs que nous sommes sont particulièrement sensibles (santé, environnement, agroalimentaire) et, d'autre part, son influence s'étend désormais jusque dans un domaine qui nous rassemble pour ainsi dire tous : le vivant, sa classification, son évolution et son utilisation par l'Homme.

Sachant que la formation scientifique des uns et des autres peut être plus ou moins étendue, et ne voulant perdre personne en route, j'ai décidé de découper mon propos en plusieurs courts articles et les proposer à la lecture sous forme de feuilleton. J'ai essayé de limiter le jargon à chaque fois que c'était possible sans nuire à la clarté de l'exposé. De même, le ton employé est généralement décontracté car il s'agit plus d'apporter des informations générales que d'écrire un cours de fac... Enfin, toutes les remarques ou suggestions visant à améliorer cet article (et les prochains à paraître) sont les bienvenues.

Bonne lecture !

Voici notre feuille de route :

- **Épisode 1** - Généralités : ADN, génomes et gènes
- **Épisode 2** - Techniques usuelles de biologie moléculaire
- **Épisode 3** - Premières applications au laboratoire
- **Épisode 4** - Agrobacterium tumefaciens et la transgénèse végétale
- **Épisode 5** - La transplastomique, vers des OGM propres ?

L'expérience montre qu'il est difficile de comprendre le fonctionnement d'un mécanisme subtil en adoptant une approche statique. Bien au contraire, agir sur les rouages et perturber ainsi la mécanique interne aide à percer les mystères. C'est pourquoi, après avoir élucidé la structure de l'ADN, les biologistes moléculaires ont été amenés à développer leurs propres outils pour comprendre le fonctionnement des [gènes](#). Quelques-uns de ces outils reposent sur des astuces assez géniales qu'il faut porter au crédit de leurs inventeurs, mais tous, sans exception, détournent un mécanisme naturel pour l'utiliser dans le contexte des expérimentations de laboratoire. Paradoxalement, ces outils ont eu pour effet de rendre la discipline plutôt abstraite car, finalement, on trouve toujours un intermédiaire entre le chercheur et son sujet d'étude. Pour casser cette impression, j'ai essayé, chaque fois que c'était possible, de faire des analogies avec des outils d'utilisation courante.

□□□□□□ **Attention** cette partie me paraît d'un abord plus difficile que la précédente. En particulier, si vous n'avez pas compris le principe de l'orientation des brins d'ADN, le texte ci-dessous risque de paraître cryptique. N'hésitez pas à retourner jeter un œil à l'[épisode 1](#)

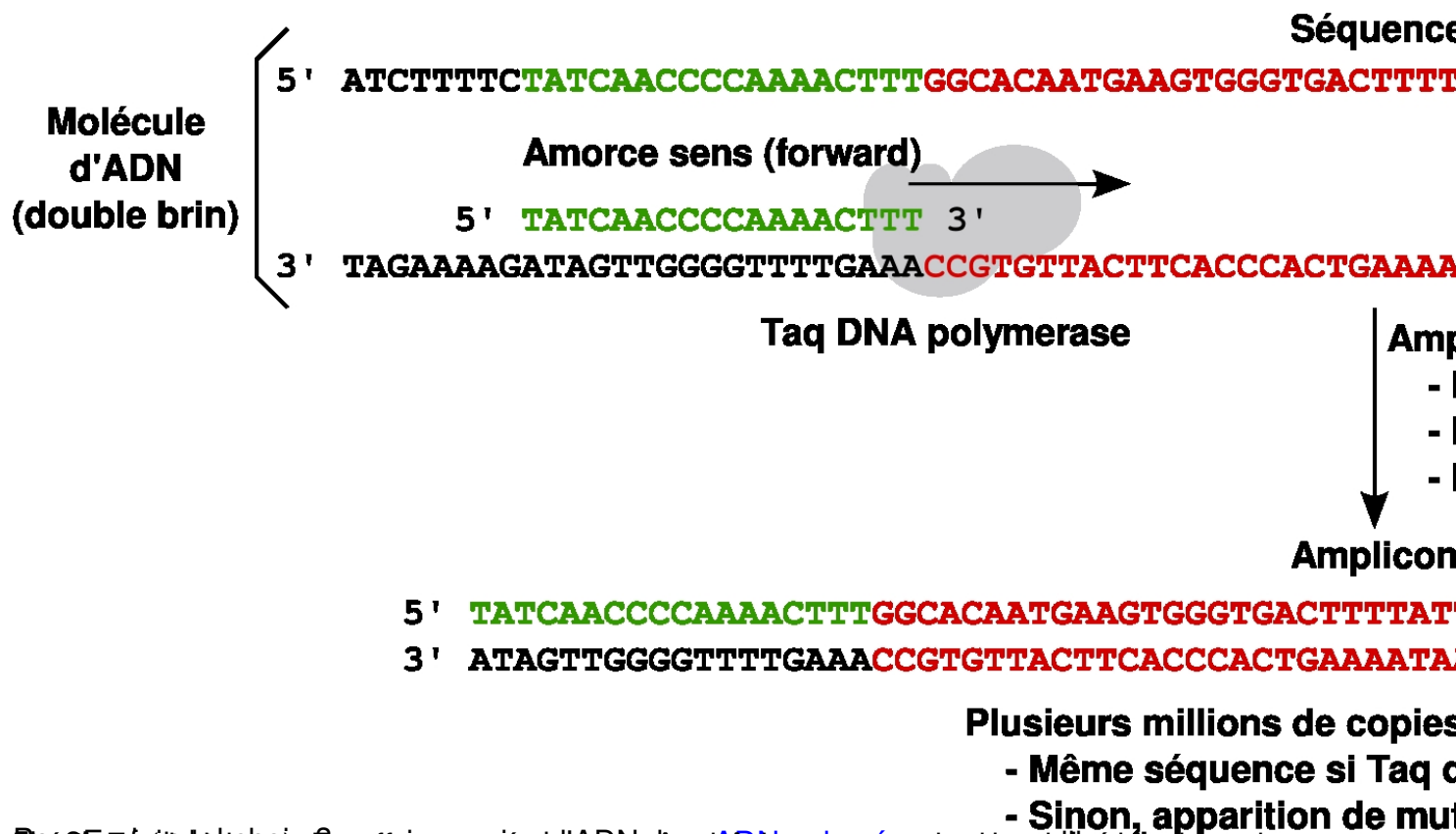
. Je sais aussi que je n'ai pas beaucoup développé certains points. Je modifierai le texte suite à vos remarques afin de le rendre plus clair et plus lisible.

La photocopieuse : réaction en chaîne par polymérase (PCR)

Une séquence d'ADN donnée (que ce soit un gène, un promoteur ou tout autre chose) est difficile à étudier telle quelle. Il est intéressant de la **copier** pour l'étudier hors de son contexte. C'est à [Kary Mullis](#) que revient le mérite d'avoir inventé la « photocopieuse d'ADN » ou PCR (polymerase chain reaction). Voici son principe : on souhaite recopier en masse une séquence donnée (en rouge sur le dessin ci-dessous). On va donc choisir 2 courtes séquences (de 18 à 25 bases en général) situées de part et d'autre de la séquence d'intérêt : ici nous avons choisi TATCAACCCCAAACTTT et GAGACGAATAAGGTCC. Remarquez que ces deux séquences sont en orientation

inverse

: la première est choisie dans le sens 5'→3' et se fixe donc sur le brin complémentaire orienté de 3'→5', tandis que la seconde est choisie dans le sens 3'→5' et se fixe donc sur le brin orienté de 5'→3'.



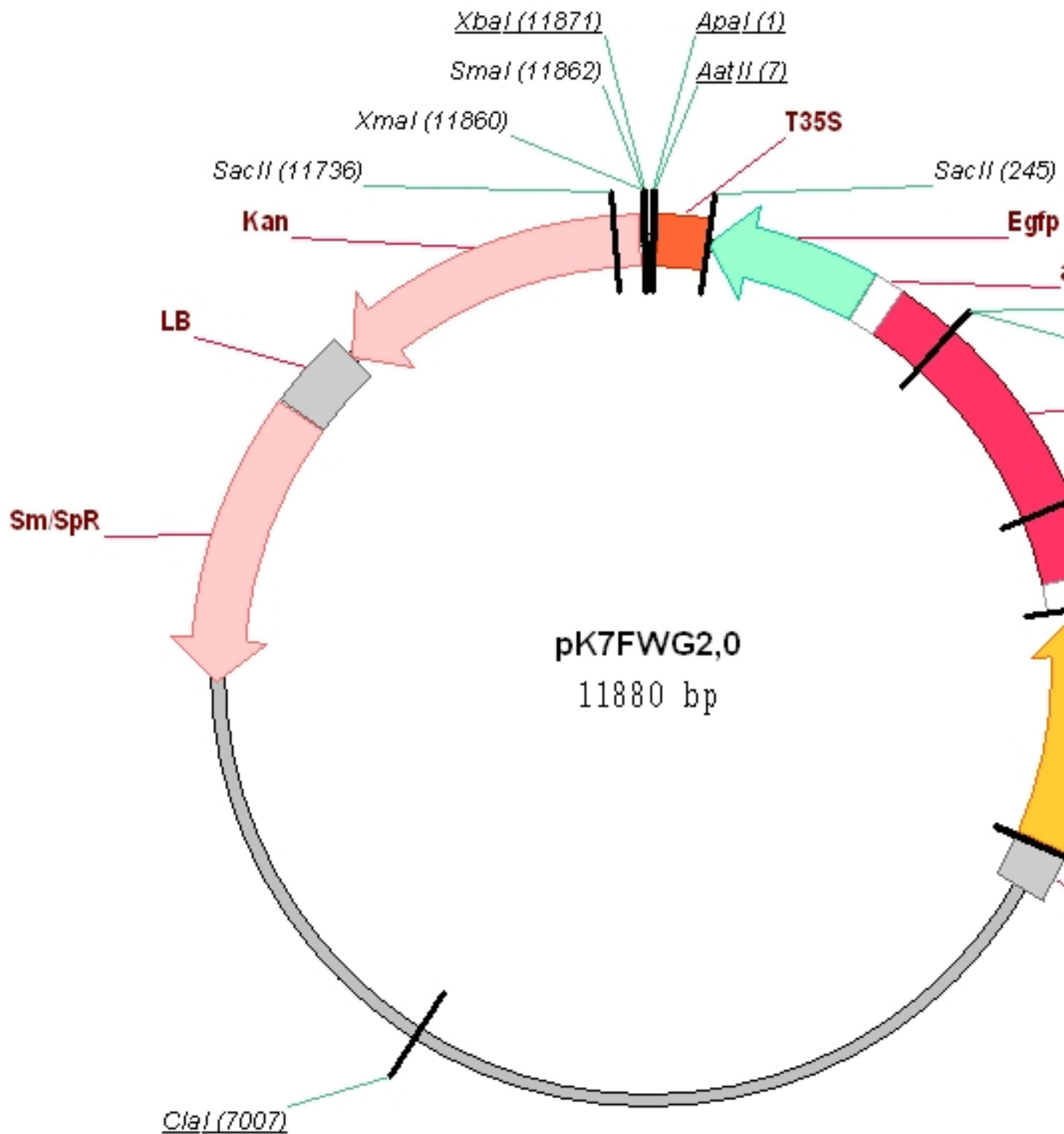
Thermocycleur

Le Meccano : les plasmides

Un [plasmide](#) est une molécule d'ADN, généralement circulaire, qui mène une vie autonome dans l'organisme qui l'accueille (presque toujours une bactérie, mais aussi quelquefois des levures). Les plasmides sont un élément important des **transferts horizontaux de gènes** entre populations bactériennes. Ce sont aussi de précieux outils pour les chercheurs qui les ont détournés à leur profit. En effet :

- Si l'on conserve l' [origine de répllication](#) qui confère au plasmide son autonomie vis-à-vis du microorganisme,
- mais que l'on enlève les gènes qu'il contient (ils peuvent être éventuellement responsables du pouvoir pathogène),
- on obtient une sorte de machine autonome dans laquelle on peut insérer les gènes qui l'on veut !

Pour savoir à quoi servent les plasmides, on a coutume de les représenter sous forme d'anneaux en annotant les éléments importants. On appelle cela la **carte** d'un plasmide. Il existe des logiciels dédiés à la manipulation de ces cartes, qui permettent de reproduire par informatique (on dit : in silico) les modifications effectuées au laboratoire. On crée ainsi de nouvelles cartes correspondant aux plasmides modifiés, et ainsi de suite... Je vous donne ci-dessous un exemple de carte de plasmide utilisé au laboratoire.

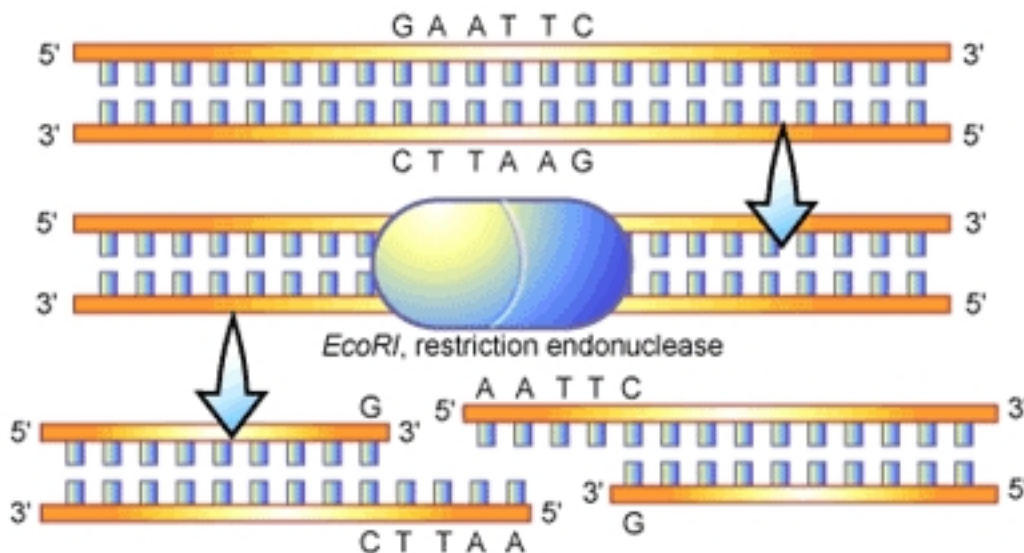


Les ciseaux : les enzymes de restriction

Les enzymes de restriction sont utilisées par les bactéries pour se défendre contre les attaques virales des phages. Elles reconnaissent des séquences d'ADN spécifiques et les coupent, tout simplement. Ces séquences ont la particularité d'être des **palindromes**. Par exemple, vous voyez ci-dessous qu'une enzyme de restriction appelée EcoRI (lire "Éco R un") reconnaît et coupe le palindrome 5'-GAATTC-3'. Le nom de l'enzyme dérive de la bactérie dont elle est issue. Par exemple, l'enzyme EcoRI dérivée d'

E
scherichia

co
li
. Ces enzymes sont utilisées par les bactéries pour se protéger contre les virus qui les affectent, les
[phages](#)
.



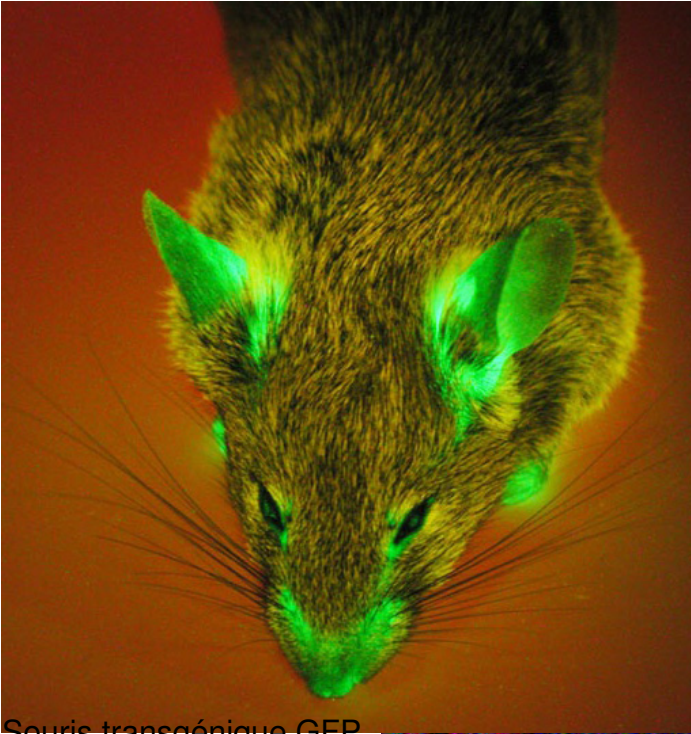
Vous comprenez sans doute mieux pourquoi la carte du vecteur pK7FWG2 ci-dessus comporte de nombreuses annotations comme SmaI, SacI, HindIII ou encore XmaI et SacII. Ce sont tout simplement les emplacements des sites reconnus par ces enzymes ! La fréquence des sites dépend de leur **longueur** (souvent 6 paires de bases) mais aussi de la **composition** de l'ADN considéré.

Les mouchards : les gènes rapporteurs

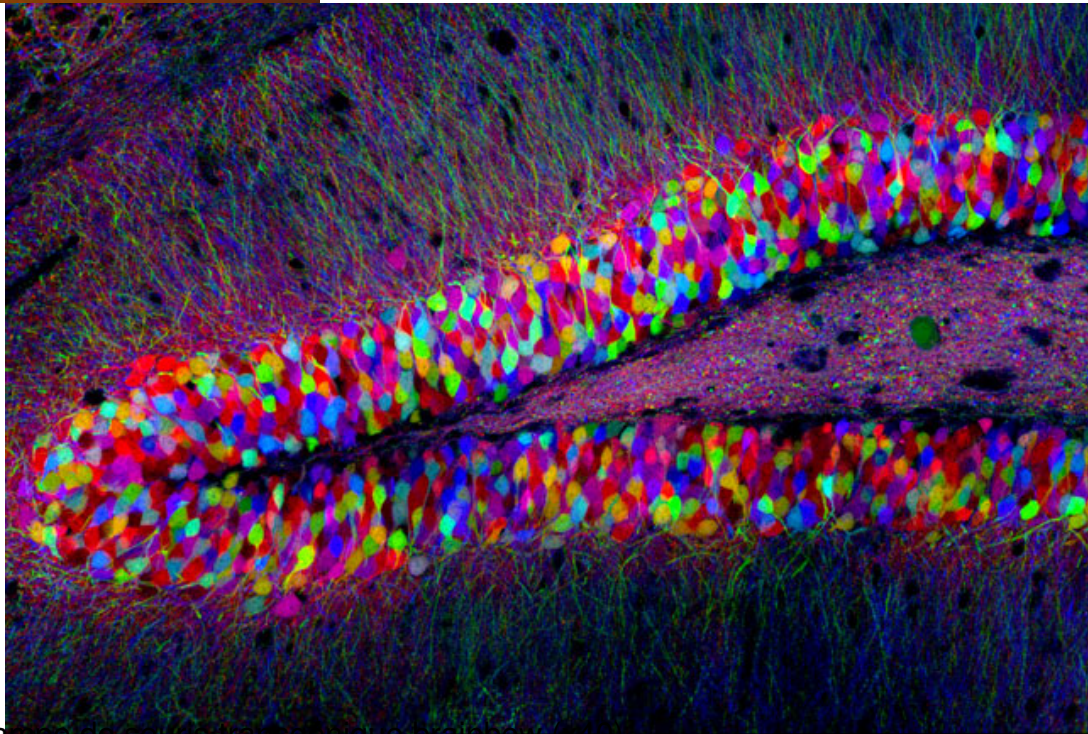
Comment savoir à quel moment s'exprime un gène d'intérêt ? En général, le produit d'un gène est difficile à détecter... surtout quand on ne connaît pas sa fonction ! Pourtant, l'étude de son expression spatio-temporelle est susceptible d'apporter de précieuses informations... il faudrait disposer de « mouchards moléculaires ». Est-ce difficile ? À bien y réfléchir, pas vraiment, puisque nous avons déjà à notre disposition une photocopieuse, des ciseaux et de la colle. Il suffit de trouver des gènes dont le produit (protéine) est facile à détecter... comme les protéines fluorescentes ou certaines enzymes qui catalysent une réaction colorée ! Je vous en cite quelques-unes : la célèbre [GFP](#) et ses dérivés, la [beta-glucuronidase](#), la [beta-galactosidase](#), la [luciférase](#), etc. La suite en images (cliquez sur les images pour accéder à la page dont elles sont issues) :

Écrit par Eddy

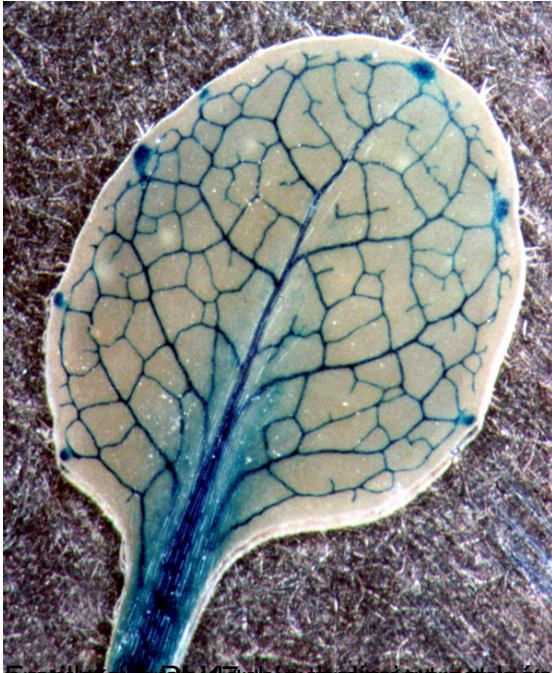
Dimanche, 05 Décembre 2010 19:33 - Mis à jour Samedi, 22 Janvier 2011 16:00



Souris transgénique GFP



Family Weissman, hippocampe de souris transgénique rainbow (x40)



Et si on mélangeait tout ?

Les quelques techniques que nous avons présentées peuvent être combinées pour obtenir des résultats vraiment intéressants. Par exemple, la réaction de PCR peut être effectuée directement sur des tissus après traitement approprié. Ce faisant, il est possible de mettre en évidence la présence d'une séquence dans un type cellulaire particulier. On parle de [PCR in situ](#)

. Bien entendu, il existe bien d'autres techniques non évoquées ici. Je pourrais en parler davantage s'il y a des personnes intéressées. Il n'est pas toujours facile de fixer une limite judicieuse pour qu'un texte reste profitable au plus grand nombre. J'ai essayé de m'en tenir à l'essentiel.

Merci de votre lecture et à bientôt pour le troisième épisode !

Génétique moléculaire - Épisode 2

Écrit par Eddy

Dimanche, 05 Décembre 2010 19:33 - Mis à jour Samedi, 22 Janvier 2011 16:00

Nous verrons à quoi servent concrètement ces techniques au laboratoire. 🧪