

I-Introduction A la biotechnologie

1. Origine du terme «Biotechnologie»

Le terme «**Biotechnologie**» a été utilisé par Karl Ereky en 1919 dans un livre intitulé « *La biotechnologie de la viande, la graisse et la production de lait dans une agriculture à grande échelle* »

Pour Ereky :

Le terme «biotechnologie» a indiqué le processus par lequel les matières premières pourraient être améliorées biologiquement en produits socialement utiles ...

2-Biotechnologie: Définition générale

- «La biotechnologie est une science qui repose sur l'utilisation du potentiel biochimique et des capacités génétiques des organismes vivants en vue de produire des composés ou rendre des services, pouvant être utiles ou non à l'Homme et à l'industrie
- L'OCDE définit la biotechnologie comme « l'application des principes scientifiques et de l'ingénierie à la transformation de matériaux par des agents biologiques pour produire des biens et services » »

OECD :organisation for economic co-operation and development ,organisation de coopération et de développement économiques (international)

La définition de travail de la FDA de la biotechnologie est "l'application des systèmes biologiques et des organismes à des processus techniques et industriels". FDA : food and drug administration (usa) administration des denrées alimentaires et des médicaments

3- histoire et Evolution de la biotechnologie dans le temps

Il y a quelque 10 000 ans, l'homme, en sélectionnant les espèces végétales ou animales dont il avait besoin, en semant ses récoltes et en faisant se reproduire son bétail, commençait déjà à modifier le monde vivant qui l'entourait pour améliorer son ordinaire.

Puis, il a observé et mis à profit les phénomènes de fermentations dus à des micro-organismes, levures et bactéries, dont il ignorait, évidemment, à l'époque, l'existence même. Il constate, ainsi, que des matières premières sont modifiées. :

le sucre peut être converti en alcool et gaz carbonique à la base de la production de pain, de vin, de bière ; l'alcool peut être converti en acide acétique lors de la production de vinaigre ; des bactéries se multiplient dans du lait pour le transformer en yaourt. Inventés souvent fortuitement, bière, vin, fromage... apparaissent ainsi, dans l'histoire des civilisations humaines, en différents points de la planète, plusieurs millénaires avant Jésus-Christ.

Au 19^{ème} siècle, les travaux de trois savants posent les bases de la biotechnologie moderne. Louis Pasteur et Robert Koch développent la bactériologie et les concepts de maladie

microbienne, d'immunité et de vaccination. Johann Grégor Mendel décrit lui les lois qui régissent la transmission des caractères biologiques entre les générations (lois de l'hérédité).

La seconde moitié du 20^{ème} siècle connaît une véritable accélération de la connaissance du vivant grâce aux progrès de la science et aux avancées technologiques. En 1944, le microbiologiste américain Oswald Avery démontre que l'ADN est le support de l'hérédité. En 1953, James Watson et Francis Crick poursuivent les travaux d'Avery : ils découvrent la structure de l'ADN, ce qui rend possible la manipulation directe des caractéristiques génétiques.

Les techniques d'insertion de gènes « étrangers » dans le patrimoine génétique des bactéries ont d'abord été développées **dans les années 1970**. Ces développements marquèrent une étape décisive dans la révolution de la biotechnologie.

Le premier produit issu de la biotechnologie moderne fut l'insuline recombinante, une protéine produite par le pancréas et utilisée par le corps pour réguler la concentration de glucose dans le sang. Les patients diabétiques ne pouvant plus produire leur propre insuline. En 1978, le gène de l'insuline humaine est transféré dans la bactérie *Escherichia coli*, dans le laboratoire d'Herbert Boyer à l'Université de Californie à San Francisco.

Depuis le milieu des années 1990, le domaine de la transgénèse est le plus médiatisé et toujours en expansion. Mais des progrès sont attendus dans les domaines des nanotechnologies et de la bio-informatique.

4-La base moléculaire des biotechnologies

DNA et RNA = support de l'information génétique.

Le génome des procaryotes est totalement informatif tandis que chez les eucaryotes, il existe des séquences codantes (exons) et non codantes (introns) et des séquences répétitives.

Selon le principe établi par Crick et Watson en 1953 l'organisation de l'information génétique est la suivante :

ADN Transcription → **ARN** Traduction → **Protéines**

5-Étapes de la biotechnologie

a- Biotechnologie ancienne (avant 1800)

•Les premiers antécédents liés à la nourriture et au logement, y compris la domestication :

Depuis plus de 8'000 ans, l'individu utilise les capacités biologiques des micro-organismes pour fabriquer des denrées alimentaires telles que la bière, le vinaigre, le yaourt et le fromage. L'homme s'est familiarisé aux méthodes biotechnologiques classiques depuis la nuit des temps. Les peuples de culture ancienne ne connaissaient ni les levures ni les lactobacilles mais ils utilisaient ces minuscules êtres vivants dans le but de conserver et d'améliorer le goût et la consistance de leurs produits alimentaires.

la tannerie est un exemple particulier de biotechnologie. Le cuir fut autrefois traité à l'aide d'excréments de chien afin de décomposer les protéines des peaux animales donc de tanner. Nous savons aujourd'hui que dans les excréments de chiens, des bactéries se multiplient en libérant certains enzymes permettant de stopper le processus de désintégration des peaux animales. De nos jours, ces enzymes sont heureusement fabriqués techniquement.

Un exemple plus connu de la biotechnologie est la fabrication de la bière produite à l'aide de levures de l'espèce *Saccharomyces*. Ce sont des champignons qui contribuent à la fermentation en transformant les sucres en alcool et en dioxyde de carbone - procédé toutefois réalisable uniquement en l'absence d'oxygène. Les Sumériens et les Babyloniens connaissaient déjà la levure pour produire des boissons semblables à la bière. Pour la fabrication de yaourt et de fromage en revanche, on utilisa les lactobacilles. Par delà les siècles, les individus ont amélioré les propriétés des levures et des lactobacilles grâce aux méthodes de culture et de croisement.

Caractéristiques :

- Souvent découvert par accident!
- Amélioration de la saveur et de la texture
- Contamination délibérée par des bactéries ou des champignons (moisissures)

La fin de cette période :

1866 – Louis Pasteur publie ses conclusions sur le lien direct entre la levure et les sucres en fermentation

1915 – Production de la levure de boulangère – *Saccharomyces cerevisiae*

Exemples: Pain, yaourt, fromage, vin, bière, choucroute.....

b-Biotechnologie classique : (De 1800 au milieu du 20^{ème} siècle)

Les **Biotechnologies** classiques (non Moléculaires) englobent un grand nombre d'investigations réalisées au laboratoire et/ou au champs. C'est le cas de transfert de caractères par des croisements dirigés ou la multiplication de génotypes par **culture des tissus (micropropagation)**. Ces **biotechnologies** apparues dans les années soixante étaient à l'origine de la révolution verte de l'époque

Caractéristiques :

- Construite sur des biotechnologies anciennes
- Promotion des aliments par la fermentation & Médecine
- Différents types de boissons (bière, vin, cidre ...)
- Vinaigre, Glycérine, Acétone, Butanol

- Acide lactique, Acide citrique
- Antibiotiques

c-Biotechnologie moderne

Les biotechnologies modernes sont basées sur la technologie de l'ADN recombiné apparue dans les années soixante dix. Elles sont derrière la révolution génétique.

Elles exigent une formation approfondie en Biochimie et Biologie Moléculaire afin de pouvoir repérer et caractériser la ou les protéines derrière le caractère d'intérêt, puis isoler le(s) gène(s) gouvernant l'expression de(s) protéine(s) et leur faire subir le clonage.

Caractéristiques : basées sur la manipulation du DNA et sous-tendues par:

- Les techniques de génie génétique
- Les techniques de clonage des gènes et leur identification
- Les nanotechnologies en générale
- La génomique (déchiffrement des génomes)
- La protéomique (technologie des protéines)

6-Les typologies des biotechnologies

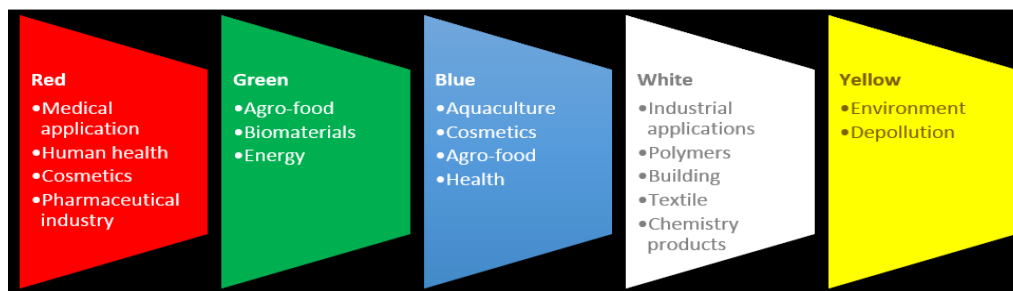
1- Biotechnologie de première génération : fondée sur la maîtrise des techniques métaboliques de fermentation et de transformation des substrats.

2- Biotechnologie de deuxième génération : fondée sur l'étude de la transmission des caractères entre espèces du même genre.

3- Biotechnologie de dernière génération : fondée sur la manipulation du gène et son transfert en dehors de l'espèce (notion de gène voltigeur dans le ciel de la biologie): elle pose des problèmes de biosécurité

7-Spectre des applications de la biotechnologie

Il existe actuellement cinq groupes principaux dans les applications biotechnologiques, qui ont été identifiés par un système de couleur



8-Définition des biotechnologies vertes, blanches, et rouges

a.Biotechnologie rouge /Médecine Toutes les utilisations biotechnologiques liées à la médecine ...

- production de vaccins et d'antibiotiques,
- développement de nouveaux médicaments,
- techniques de diagnostic moléculaire ,
- les thérapies régénératives et le développement du génie génétique pour guérir les maladies par la manipulation génétique.

b. Biotechnologie blanche /Industrie

Toutes les utilisations biotechnologiques liées aux génie industriel concevant des procédés et des produits à faible consommation de ressources, qui les rend plus éconergétiques et moins polluants que les procédés traditionnels..

c.Biotechnologie jaune/ Environnement Toutes les applications de la biotechnologie directement liées à l'environnement. Ces applications peuvent être divisées en deux branches principales: l'entretien de la biodiversité et l'élimination des contaminants. *Entretien de la biodiversité* : Analyse des populations et des espèces, comparaison / classification et clonage pour préserver les espèces et les technologies de stockage du génome.. *Élimination des contaminants* : utilisation des micro - organismes et les plantes pour isoler et éliminer des diverses substances comme les métaux lourds et les hydrocarbures ..

d. Biotechnologie verte

Axé sur l'agriculture en tant que domaine de travail: les approches et les applications incluent la création de nouvelles variétés végétales d'intérêt agricole

e.Biotechnologie bleue Basé sur l'exploitation des ressources marines pour créer des produits et des applications d'intérêt industriel.

9. Les produits types de biotechnologies exemples

A. Secteur de L'agronomie

De nombreux travaux de transgénèse concernent l'introduction de gènes de résistance aux herbicides ou aux insectes, et dans une moindre mesure, à certains virus et maladies. Associées à un usage raisonné d'herbicides et de pesticides, ces plantes transgéniques vont améliorer l'efficacité de l'agriculture, tout en respectant encore mieux l'environnement.

1- La résistance à des insectes

La bactérie **Bacillus thuringiensis** constitue un véritable réservoir de gènes de résistance aux insectes. En effet, les différentes souches de cette bactérie du sol recèlent plusieurs protéines insecticides ayant différents modes d'action, et affectant uniquement certains insectes. Chacune de ces protéines est codée par un seul gène, c'est donc un caractère

facilement transférable par génie génétique. Plusieurs équipes ont obtenu des tabacs, des pommes de terre, des cotons, des tomates, des maïs résistants à des insectes grâce à cette source de gènes.

Dans le cas du maïs, la résistance à la pyrale est conférée par le gène *Cry A*, appelé communément *Bt*. Ce gène permet dans les cellules du maïs, la production d'une protéine qui se transforme en toxine dans le tube digestif de la pyrale. Chez les autres animaux et chez l'homme, cette protéine est simplement digérée sans aucun effet toxique.

2-La résistance à des maladies

Les virus, les champignons et les bactéries sont responsables de pertes importantes en production végétale. Or, il n'existe aucune méthode de traitement des maladies dues à des virus chez les plantes cultivées. Par transgénèse, il est possible d'obtenir des plantes résistantes aux virus. Ces plantes transgéniques synthétisent des protéines qui bloquent la multiplication et le développement des virus. Ainsi, il a été possible d'obtenir des courgettes et des melons résistant au virus de la mosaïque du concombre.

L'obtention de plantes résistant aux champignons et aux bactéries est en cours de développement.

3-La résistance à des herbicides

Le glufosinate (Basta ou Liberty) et le glyphosate (Roundup) sont des herbicides totaux qui détruisent aussi bien les mauvaises herbes que les plantes cultivées. Les gènes de résistance à l'herbicide introduits dans une plante empêchent la matière active d'agir sur celle-ci, transformant l'herbicide total en herbicide sélectif sur cette plante. Ainsi l'herbicide détruit toutes les mauvaises herbes présentes tout en respectant totalement la plante cultivée.

De plus, ces désherbants totaux ont la propriété de ne pas être rémanents. De nombreuses plantes transgéniques ont été développées pour obtenir une tolérance à ces herbicides. Il s'agit de variétés de betterave, colza, coton, maïs, pomme de terre et de soja.

4-L'alimentation

Il s'agit de modifier la composition d'une plante afin de lui apporter des avantages nutritionnels et gustatifs ou de lui conférer de nouvelles caractéristiques qui permettent de diversifier les débouchés.

5-Les qualités nutritionnelles

En alimentation animale, les recherches vont dans le sens d'un développement de plantes permettant un meilleur rendement nutritionnel et évitant l'apport de compléments nutritifs. Ainsi, il est possible d'obtenir des plantes de maïs, colza, soja à teneurs élevées en acides aminés, notamment en méthionine et lysine, et des maïs enrichis en huile. Concernant l'alimentation humaine, des travaux sont menés pour diminuer les propriétés allergènes du riz et du soja. Pour obtenir ce résultat, on cherche à introduire dans la plante un transgène qui

inhibe la synthèse de la protéine allergisante.

6-La maturation des fruits

Ce sont les résultats les plus avancés concernant la qualité alimentaire. Sur le melon, sur la tomate, on a pu obtenir des variétés transgéniques à maturation retardée. Ces fruits peuvent être récoltés à un stade de maturation plus avancé, donc être plus savoureux. D'autre part, il en résulte une meilleure conservation et une aptitude au transport améliorée, réduisant les pertes.

Le melon est le premier fruit génétiquement modifié obtenu par un laboratoire de recherche français. Un gène capable de bloquer la synthèse de l'éthylène a été introduit, ce qui ralentit la maturation. Le détachement du fruit est retardé et le melon maintenu sur pied continue d'accumuler des sucres.

7-La transformation agro-alimentaire

Dans ce domaine, les champs d'application potentiels sont très variés : il peut s'agir de la production des protéines impliquées dans des procédés agro-alimentaires, ou de la modification des caractéristiques des végétaux pour optimiser leur utilisation.

Ainsi, des travaux ont permis de modifier la teneur en amidon chez la pomme de terre, afin d'augmenter la teneur en matière sèche, et de disposer ainsi de pommes de terre mieux adaptées à la fabrication de fécule, de purée ou de chips.

Des gènes ont également été transférés chez le colza pour modifier la teneur en acides gras ou pour obtenir des huiles contenant des nouveaux acides gras recherchés en alimentation humaine.

B. Secteur de L'industrie

Les biotechnologies ouvrent de nombreuses perspectives dans les domaines de l'industrie, en produisant des molécules nouvelles (Molecular Farming) et en améliorant les procédés industriels et la qualité des produits.

1-Les pâtes à papier

Les lignines sont l'un des constituants majeurs du bois, mais elles gênent l'industrie papetière qui ne peut les valoriser et doit les éliminer par des méthodes coûteuses et polluantes. Des travaux conduits par la recherche publique française ont permis de connaître les gènes impliqués dans la synthèse des lignines et de développer des variétés de peupliers transgéniques, chez lesquels le taux de lignine est fortement réduit. Ceci facilite le blanchissement de la pâte à papier et donc réduit l'impact sur l'environnement. Le même type de travail a été réalisé sur l'eucalyptus.

2-Les huiles industrielles

Elles sont synthétisées à partir de matières premières fossiles, dont les ressources sont limitées. Il est donc nécessaire de s'orienter vers d'autres ressources renouvelables. Parmi les nombreux programmes de recherche, on peut citer celui destiné à l'obtention d'un colza transgénique à haute teneur en acide grasérucique ou ricinoléique pour la production de lubrifiants, de matières plastiques, etc. Cette stratégie devrait favoriser le développement de

lubrifiants et de plastiques biodégradables.

3-Les colorants

Un exemple original est l'obtention de cotons transgéniques de couleur grâce à l'introduction d'un gène bactérien ou végétal codant pour un pigment. Ceci évitera l'utilisation de teintures chimiques difficilement recyclables.

C. Secteur de La santé

Génétiquement modifiées, des plantes de tabac, de maïs, ou de pomme de terre peuvent produire des molécules thérapeutiques ou des vaccins. Le grand avantage de la production de ces molécules est l'absence de risques de contamination par des virus pathogènes pour l'homme.

1-Les produits sanguins

Des recherches menées en France ont déjà permis de faire produire des protéines plasmatiques à des plants de tabac transgéniques, permettant l'obtention d'hémoglobine humaine recombinée.

Des travaux montrent qu'il est possible de synthétiser de l'albumine humaine, employée lors du traitement des traumatismes, à partir de tabac ou de pomme de terre. Cette albumine devrait être moins chère que celle issue du plasma sanguin. Cette nouvelle source permettrait de répondre à l'augmentation des besoins.

2-Les vaccins

Des chercheurs américains travaillent à la mise au point d'une banane vaccin pour l'homme, prévenant les cas de gastro-entérites provoquées par la bactérie *E. coli*. Il serait alors envisageable de vacciner à faible coût les populations de pays en voie de développement, les plus touchées par ces diarrhées d'origine bactérienne.

3-Les protéines humaines

Des travaux sont actuellement en cours pour faire produire des protéines ou des glycoprotéines à usage thérapeutique à partir de soja, de tabac, de pomme de terre, de riz ou de colza.

D. Secteur de L'environnement

Le recours à des variétés transgéniques permet une moindre utilisation d'insecticides et d'herbicides et ouvre le champ de la recherche sur les pratiques culturales simplifiées.

1-Des herbicides au profil écotoxicologique favorable

La création de plantes tolérantes aux herbicides permet l'utilisation de matières actives au profil écotoxicologique favorable, c'est à dire à faible durée de vie, à biodégradabilité rapide, respectant l'environnement et à large efficacité. Ces cultures peuvent supporter ce traitement grâce à l'introduction d'un gène de tolérance spécifique. En 1996, un nouveau système de désherbage a été lancé en Amérique

du Nord sur des cultures comme le soja, le colza et le maïs.
2-La réduction de l'utilisation des insecticides

Une étude sur l'impact du coton bt (résistant aux insectes) montre qu'en 1999, les agriculteurs chinois ayant adopté des variétés bt ont consommé en moyenne 10 kg/ha d'insecticides contre 58 kg/ha pour les agriculteurs ayant cultivé des variétés non transgéniques ("impact of bt cotton in china", Carl E. Pray et al, center for chinese Agricultural Policy, Chinese Academy of Sciences, China, may 2001).

3-La diminution de l'érosion des sols

Une étude sur 5 ans (1996 à 2001) auprès de 450 cultivateurs américains de soja montre que pour 63 % d'entre eux, le développement des techniques culturales sans labour, qui permet une réduction de l'érosion des sols de l'ordre de 90 %, est rendu possible en premier lieu par l'introduction de variétés de soja transgéniques tolérant à un herbicide.

4-L'enrichissement du patrimoine végétal

La sélection classique a déjà fait la preuve de sa capacité à enrichir les espèces et variétés. Par la création de variétés nouvelles qui constitue l'objectif premier de son activité, la sélection classique a ainsi doté le "patrimoine végétal" de spécimens nouveaux. Dès les prémices de l'agriculture, cette activité de sélection empirique a été à l'origine de nombreuses variétés aujourd'hui partie intégrante de ce patrimoine.

Les biotechnologies modernes, et le génie génétique, s'inscrivent dans cette continuité avec une diversité d'objectifs. Elles ont à leur disposition des outils qui ouvrent davantage encore le champ des possibles. Dès lors, les biotechnologies vont contribuer encore à l'extension du patrimoine végétal.

5-La résistance des plantes aux insectes ravageurs

La lutte contre les ravageurs, notamment les insectes, est réalisée essentiellement par l'utilisation d'insecticides chimiques. Suivant les cultures, les zones géographiques et les années, la fréquence et la sévérité des attaques d'insectes sont très variables. Selon les cas, l'application d'insecticide est systématique ou décidée sur la base de comptages des insectes (ou de larves) "nuisibles" lors de contrôles dans les champs. La transgénèse offre aujourd'hui un outil supplémentaire aux agriculteurs pour limiter les traitements chimiques et protéger leurs récoltes contre les insectes et les maladies et ainsi réduire les pertes.

Pour rendre une plante résistante à un insecte, un gène codant une protéine toxique pour cet insecte a été introduit dans le génome de la plante. Jusqu'à présent, pour toutes les variétés mises sur le marché, les gènes introduits proviennent de la bactérie *Bacillus*

thuringiensis (d'où l'abréviation Bt donnée aux plantes de ce type), bien connue depuis longtemps pour ses propriétés insecticides et largement utilisée en agriculture biologique, ainsi que par les exploitants forestiers et les jardiniers.

10-Les grands enjeux ET DEFIS actuels des biotechnologies et bio nanotechnologies*

Nanotechnologie

Les nanosciences et les nanotechnologies sont au croisement de plusieurs disciplines scientifiques comme l'électronique, la mécanique, la chimie, l'optique, la biologie qui manipulent des objets d'une taille de l'ordre du nanomètre.

Bionanotechnologie

Le bionanotechnologie peut également se référer à l'utilisation de biomolécules pour les applications de la nanotechnologie

Les enjeux actuels des biotechnologies

Ayant oublié une boîte de Petri contenant des bactéries au laboratoire, il découvrit un matin une contamination par des champignons microscopiques. Ces champignons avaient réussi à tuer les bactéries mieux que n'importe quelle autre méthode jusque là utilisée. La découverte du premier antibiotique en 1928 illustre la notion que les êtres vivants, parce qu'ils sont issus d'une sélection génétique millénaire drastique, possèdent naturellement un arsenal chimique et biochimique bien plus efficace que ceux que peuvent inventer l'homme. C'est le rôle de la Recherche que d'identifier, de comprendre, et de « mettre en boîte » ces processus. Le Dr Fleming, après cette découverte majeure, eut néanmoins un grand mal à produire en grande quantité la molécule de Pénicilline qu'il avait découverte. Ce sont d'autres chercheurs spécialisés dans la Production, aidés par des industriels, qui ont relevé le challenge extraordinaire de produire suffisamment de pénicilline pour traiter les soldats blessés en 1944. Le prix Nobel fut décerné en 1945 non seulement à celui qui a découvert la molécule mais aussi ceux qui ont réussi à la produire en quantité suffisante pour la rendre utile à la société.

Aujourd'hui, les défis à relever pour la biotechnologie sont finalement les mêmes que ceux relevés à l'époque par le Dr Fleming

L'importance de la recherche n'est plus à démontrer, et ces dernières années ont vu apparaître de nombreuses découvertes révolutionnaires qui changeront la société de demain : la thérapie génique, le séquençage du génome, les cellules souches capables de devenir n'importe quel tissu humain, de nouvelles techniques moléculaires qui permettent de modifier le génome comme on corrige un texte... Ces inventions, de mieux en mieux maîtrisées, sont en passe de donner lieu à d'innombrables applications aussi bien dans le domaine de la santé que dans ceux de la cosmétique et de l'environnement : par exemple, en modifiant le génome de micro-organismes, on peut maintenant imaginer produire du bioéthanol bien plus efficacement. Grâce aux thérapies cellulaires, de nouveaux traitements sont envisagés pour certaines maladies graves. De nouveaux procédés de biotechnologie ajoutés à ceux utilisés depuis des millénaires en agroalimentaire devraient aider à relever les défis urgents de l'alimentation,

défis face à la démographie croissante (9 à 10 milliards d'habitants sur terre en 2050) face à la malnutrition (environ 800 millions d'individus qui en souffrent aujourd'hui) et face à la diminution des surfaces agricoles. Par exemple, grâce aux insectes et aux champignons, il sera désormais possible de transformer les « déchets » verts en alimentation animale, permettant de valoriser ces résidus tout en évitant d'épuiser d'autres ressources alimentaires.

Aujourd'hui, comme à l'époque du Dr Fleming, il est essentiel de réfléchir à comment produire en grande quantité ce qui est démontré au laboratoire. Passer du possible au faisable, c'est le rôle de l'ingénieur de demain.

Les soucis des chercheurs (mais aussi des décideurs politiques, des industriels et des législateurs) d'informer le public tend peu à peu à réduire ces craintes, mais le débat reste ouvert.

II- Biotechnologies appliquées aux problématiques environnementales

1-Changement climatique et évolution des écosystèmes

Définition

Un changement climatique, ou dérèglement climatique, correspond à une modification durable (de la décennie au million d'années) des paramètres statistiques (paramètres moyens, variabilité) du climat global de la Terre ou de ses divers climats régionaux.

Désigne l'ensemble des variations des caractéristiques climatiques en un endroit donné, au cours du temps : réchauffement ou refroidissement. Certaines formes de pollution de l'air, résultant d'activités humaines, menacent de modifier sensiblement le climat, dans le sens d'un réchauffement global. Ce phénomène peut entraîner des dommages importants : élévation du niveau des mers, accentuation des événements climatiques extrêmes (sécheresses, inondations, cyclones, ...), déstabilisation des forêts, menaces sur les ressources d'eau douce, difficultés agricoles, désertification, réduction de la biodiversité, extension des maladies tropicales, etc.

Selon le GIEC (1995), Le **Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC)** — en anglais **IPCC** pour **Intergovernmental Panel on Climate Change** —

ce changement climatique s'accompagnerait :

- d'une perturbation du cycle de l'eau,
- d'une augmentation de la fréquence et de l'intensité des catastrophes naturelles d'origine climatique (sécheresses, inondations, tempêtes, cyclones),
- d'une menace de disparition de certains espaces côtiers, en particulier les deltas, les mangroves, les récifs coralliens, les plages d'Aquitaine, etc.
- d'une diminution de 17,5 % de la superficie émergée du Bangladesh, de 1 % de celle de l'Egypte,
- favoriserait la recrudescence du paludisme, et l'extension de maladies infectieuses comme la salmonellose ou le choléra,
- accélérerait la baisse de la biodiversité : disparition d'espèces animales ou végétales,

Définition écosystème

En écologie, un Ecosystème désigne 'ensemble formé par une association ou communauté d'êtres vivants (ou biocénose) et son environnement géologique, pédologique et atmosphérique (le biotope).

Les éléments constituant un écosystème développent un réseau d'interdépendances permettant le maintien et le développement de la vie. Exp. Une Forêt, un marécage sont des écosystèmes. L'écosystème constitue un système naturel et tend à évoluer vers son état le plus stable, dit **climax** ; on parle de régression écologique lorsque le système évolue d'un état vers un état moins stable.

Un écosystème est composé de :

- tous les organismes vivants d'une biocénose (phytocénose, zoocénose, microbiocénose et mycocénose).
- Tous les facteurs de l'environnement (facteurs climatiques, édaphiques et hydriques).
- Des relations (interrelations) qui existent entre la biocénose et son milieu et réciproquement entre le milieu et la biocénose

La biotechnologie environnementale, une voie vers le développement durable

La biotechnologie environnementale utilise les innovations de la biotechnologie et de la microbiologie pour résoudre les problèmes environnementaux. En favorisant l'étude précise et la dissection systématique des écosystèmes naturels à l'échelle de la molécule, cette discipline émergente sert également à mieux comprendre le fonctionnement de notre planète. En liant écologie et biotechnologie, elle sert à développer de nouveaux procédés bios plus propres et plus compétitifs pour assurer l'équilibre naturel de la planète et de la biosphère.

L'environnement est le milieu naturel dans lequel les êtres vivants évoluent. La gestion de l'environnement utilise depuis longtemps des procédés de biotechnologie au sens large du terme. Ainsi, en tant que programme de recherche et d'innovation, la vision du secteur émergent de la biotechnologie environnementale peut être considérée comme l'extension de celle de la biotechnologie.

Repères

Les principaux secteurs d'activité concernés par la biotechnologie environnementale sont actuellement la décontamination des sites pollués, le traitement et le recyclage des déchets et des odeurs, le traitement de l'eau, la surveillance des agents pathogènes dans l'environnement et les énergies renouvelables.

Domestiquer les micro-organismes

Les progrès spectaculaires issus des laboratoires de biotechnologie, notamment dans le domaine des techniques de l'ADN, ont révolutionné notre compréhension globale de la biosphère. Les chercheurs ont ainsi découvert une quantité et une diversité jusque-là insoupçonnées de micro-organismes, qui pour la plupart ne sont pas cultivables en laboratoire avec les techniques traditionnelles. Ils ont mis en évidence que les micro-organismes *procaryotes* (sans noyau), invisibles à l'oeil nu mais ubiquitaires dans l'environnement, jouent un rôle fondamental dans notre monde actuel et les cycles biogéochimiques globaux. Ainsi les objectifs prioritaires de la biotechnologie environnementale sont l'étude de l'écologie microbienne et la gestion des ressources microbiennes.

Une gestion durable des déchets

Les techniques de *bioremédiation* peuvent être utilisées dans diverses applications incluant la dépollution des sols, le traitement des eaux usées, des gaz polluants et des déchets solides.

Les mauvaises odeurs peuvent également être traitées à l'aide de systèmes biologiques.

Les produits ainsi épurés sont rejetés dans l'air, les égouts ou sont enfouis.

Éventuellement, ils peuvent être réutilisés, par exemple le biogaz ou les composts issus des déchets municipaux.

Cela permet d'assurer un allègement maximum des décharges et d'aboutir à une gestion des déchets durable sur le plan social, économique et environnemental.

Durant les dernières décennies, l'industrialisation et l'urbanisation croissantes ont engendré une pollution et des changements environnementaux sans précédent. L'étude de la capacité de l'environnement à s'adapter à de tels changements tout en maintenant l'équilibre de la biosphère actuelle est devenue une priorité de recherche dans de nombreux pays. Il semble aujourd'hui nécessaire et urgent de développer une économie verte et durable, et pour cela de nettoyer la pollution actuelle ainsi que d'optimiser les bilans en eau et en énergie de l'activité humaine et augmenter l'exploitation de ressources renouvelables.

Une stratégie primordiale consiste en la culture et la maintenance de communautés microbiennes auto-organisées et auto-entretenues, offrant ainsi une gamme de solutions durables, continues et économiques. De la même manière que notre système digestif dépend de la flore microbienne intestinale pour assimiler les aliments consommés, l'utilisation de micro-organismes qui peuvent prédigérer les composés polluants en sous-produits non toxiques ou réutilisables ou qui peuvent contribuer à la production de composés chimiques complexes semble nécessaire pour le développement durable de l'industrie.

Ainsi le défi posé à la biotechnologie environnementale est à l'interface entre génie industriel et microbiologie. Les systèmes industriels sont agencés de manière à utiliser efficacement l'énergie interne des bactéries, perçues comme des micro-usines chimiques biodégradables.

Les innovations dans ce domaine ont créé des avancées majeures dans les secteurs tels que l'agroalimentaire, l'industrie de l'eau et des déchets (bioremédiation), l'industrie chimique (bioraffinerie), les énergies renouvelables et la biosécurité.

Nettoyer à l'échelle moléculaire

Un des problèmes fondamentaux de la protection de l'environnement est la gestion des déchets. L'activité intensive de la société humaine génère une quantité énorme de déchets, tant industriels que domestiques, qui menacent de dépasser rapidement la capacité de régénération naturelle et de s'accumuler au détriment des ressources naturelles.

Une résistance aux agressions

Le *biofilm* englobe les cellules qui le contiennent, ainsi qu'une matrice de substances polymériques qu'elles ont sécrétées et qui les maintient attachées sur la surface et entre elles. Les bactéries dans les biofilms acquièrent souvent une physiologie spécifique et deviennent bien plus résistantes aux agressions extérieures telles que les biocides et les antibiotiques. Les biofilms favorisent également la libération et la dissémination de souches variantes lors de la phase dite de dispersion.

La *bioremédiation* consiste à utiliser des procédés biologiques pour réduire le niveau de pollution de systèmes présents dans l'air, l'eau ou le sol, en neutralisant les déchets toxiques ou en décontaminant les milieux pollués. Certains micro-organismes sont capables d'assurer leur croissance ou leur besoin en énergie en dégradant de petites quantités de composés chimiques que nous considérons comme polluants, par exemple les hydrocarbures chlorés. Souvent, il faut d'abord identifier et isoler la ou les espèces spécifiques capables de cataboliser les polluants concernés.

Il est nécessaire et urgent de développer une économie verte et durable

Ensuite, les conditions nécessaires au maintien de la communauté microbienne et de son activité métabolique doivent être aménagées, par exemple en ajustant le niveau d'air et la présence d'autres composés qui participent au métabolisme, tels que les navettes à électrons. L'optimisation de la culture enrichie est cruciale pour obtenir un rendement efficace et concurrentiel.

Quand la biodégradation est complète, les produits finals comprennent du dioxyde de carbone, de l'eau et des sels minéraux inoffensifs. En outre, la bioremédiation peut être combinée avec des processus chimiques, d'incinération ou encore l'utilisation d'enzymes purifiées. Les enzymes sont des catalyseurs biologiques, très efficaces, biodégradables et qui présentent de nombreux avantages sur les catalyseurs non biologiques comme une meilleure spécificité et activité dans des conditions plus douces de température et pH.

Contrôler les micro-organismes

Afin de gérer l'espace environnemental, il est nécessaire de contrôler les communautés microbiennes. Dans la nature, les bactéries vivent en majorité dans des colonies de surface appelées *biofilm*. Les biofilms poussent partout, sur virtuellement toute surface en contact avec un liquide, que ce soit l'océan, ou les fluides dans le corps humain. Ils peuvent être la cause de maladie ou bien d'interférence avec les processus industriels par exemple en bloquant les pores des membranes de filtration ou en salissant le matériel immergé.

Le	moteur	de	la	résilience	écologique
L'utilisation des technologies " omiques " (génomique, protéomique, etc.) appliquées aux communautés microbiennes garantit la découverte de nouveaux gènes (et donc de protéines spécialisées) ou bioprocédés aux propriétés exploitables. Ainsi, l'exploration de la biodiversité à l'échelle microbienne assure d'étendre très rapidement la gamme de produits couverts par la bioraffinerie. Ce constat souligne l'importance vitale de surveiller et conserver la biodiversité qui est l'une des plus grandes richesses de la planète et le moteur de la résilience écologique.					

Les traitements antimicrobiens classiques ne sont pas applicables car ils nécessitent une dose trop importante qui peut être toxique, risquent une issue fatale, ou exigent des dépenses énergétiques inacceptables. De plus, la législation restreint l'utilisation d'agents antimicrobiens dangereux pour l'environnement tel le tributylétain (TBT), un *antifouling* puissant appliqué sur les coques des bateaux, qui a été totalement banni en 2008.

Les stratégies visant à l'amélioration et au renouveau des moyens de contrôle des biofilms ciblent les régulateurs moléculaires des étapes clés du développement des biofilms, comme l'adhésion de surface, la communication cellule - cellule par échange de signaux chimiques, ou les systèmes d'entretien du biofilm. D'autre part, les bactéries possèdent des senseurs sous forme de protéines ou complexes métaux actifs, qui en réponse à certains stimuli dans leur environnement immédiat, par exemple le monoxyde d'azote (NO), peuvent induire la dispersion des cellules.

Des outils performants de détection rapide et de surveillance en continu

De tels systèmes sont également la cible pour la mise au point de méthodes efficaces, peu coûteuses et respectueuses de l'environnement pour le contrôle des biofilms.

Induire la dispersion naturelle du biofilm permet d'exploiter l'énergie interne des cellules qui, en réponse au bon signal, quittent d'elles-mêmes les surfaces. Le résultat est une économie globale d'énergie et un impact réduit de l'activité de contrôle microbien sur l'environnement. Outre la capacité d'éliminer les biofilms nuisibles, les méthodes de contrôle du développement des biofilms peuvent également servir pour l'entretien de biofilms bénéfiques comme dans les procédés de bioraffinerie.

Surveiller l'émergence de pathogènes

Un des problèmes fondamentaux de la protection de l'environnement est la gestion des déchets.

L'existence de microbes infectieux peut être considérée comme le résultat d'une symbiose manquée entre organismes vivants, et est un danger constant pour l'humanité. L'éclosion de pathogènes est une préoccupation principale de la santé publique. Que ce soit en hygiène agroalimentaire, dans les réseaux de distribution d'eau ou encore dans les rivières et les piscines, la surveillance est primordiale. Dans ce domaine, la biotechnologie environnementale permet d'apporter aux sources critiques des outils performants de détection rapide et de surveillance en continu.

Grâce aux progrès de la biologie moléculaire, il existe maintenant des tests, par exemple basés sur la PCR (réaction en chaîne par polymérase), capables de donner des diagnostics en quelques heures. Cela représente un progrès immense par rapport aux méthodes précédentes, basées sur la culture des souches, qui nécessitaient jusqu'à plusieurs jours d'attente. De telles améliorations permettent d'identifier la source, le mode de transmission et les facteurs de risque et l'évolutivité potentielle du problème et ainsi mettre en œuvre les procédures d'alerte et engager une action préventive argumentée de la diffusion des souches pathogènes.

Développer des procédés durables

Le développement durable, en plus de nécessiter la dépollution de l'environnement, requiert un renouveau de la gestion du capital naturel. En permettant de réduire la consommation en eau, énergie et autres ressources naturelles tout en maintenant la compétitivité, la biotechnologie environnementale a un très fort potentiel pour contribuer à la viabilité écologique de l'industrie.

Tout d'abord, les nouvelles méthodes de contrôle microbien qui sont plus efficaces et plus spécifiques permettent, en améliorant les méthodes de nettoyage et désinfection, de générer de fortes économies d'eau ou d'énergie dans de nombreux domaines. Ensuite, l'utilisation et le contrôle des communautés microbiennes peuvent valoriser le recyclage de la matière première, le traitement de l'eau et la désalinisation. De plus, la biotechnologie aide également à la production de produits de chimie fine, respectueux de l'environnement, par exemple en utilisant la biomasse (bioraffinerie) ou des enzymes spécialisées qui nécessitent moins de produits chimiques nocifs. Enfin, de nouvelles ressources d'énergie durable sont également envisagées, par exemple en utilisant des piles à bactéries (MFC, *microbial fuel cell*) qui produisent de l'électricité à partir de sucre.

Une discipline phare pour le siècle

En l'attente d'une législation

La réussite de la biotechnologie environnementale dépend également de la mise en place d'une législation favorisant les avancées scientifiques et les développements technologiques qui visent à minimiser l'impact de la société humaine sur l'environnement.

La biotechnologie environnementale semble donc connaître un renouveau profond basé sur les progrès apportés par le secteur florissant de la biotechnologie et qui jusqu'alors avaient été essentiellement appliqués à la médecine. En étudiant les mécanismes moléculaires du vivant, la biotechnologie permet de développer et optimiser des bioprocédés et technologies propres qui pourront être appliqués à une large gamme de secteurs industriels. Actuellement la principale source de profits vient des secteurs traditionnels où la biotechnologie sert à améliorer les processus comme ceux de la bioraffinerie et du traitement de l'eau.

Des piles à bactéries produisent de l'électricité à partir de sucre

Malgré un fort engouement de la part des industries et du public, il manque pour l'instant aux efforts de recherche scientifique le développement de solutions techniques commercialisables. Afin d'étoffer la gamme technologique existante, il faudrait maintenant créer des entreprises indépendantes dotées du matériel de laboratoire adéquat et capables d'optimiser le potentiel d'innovation.

Enfin, la biotechnologie environnementale est une science fortement multidisciplinaire mais qui, malgré l'existence de modèles sophistiqués pour prédire la structure des communautés microbiennes, reste encore très expérimentale. Aujourd'hui, l'écologie microbienne a besoin de fondements théoriques afin d'accorder des modèles simples avec les concepts. Par exemple, une description mathématique de motifs à l'échelle microscopique dans l'environnement permettrait, par intégration, d'arriver à des descriptions macroscopiques conformes.

III-Transgénèse

Définition

En génétique, la transgénèse se définit par le transfert de gènes vers un organisme différent ou vers une autre partie du même organisme. La transgénèse permet d'obtenir de nouvelles variétés animales et végétales communément appelées organismes génétiquement modifiés (OGM).

- ☐ Début du XX siècle = redécouverte des travaux de Mendel. Hérité est due à la transmission des gènes.
- ☐ Années 1953 = découverte de la nature chimique des gènes et de la structure moléculaire de l'ADN.
- ☐ 1965 = découverte des enzymes de restriction par Arber, Nathans et Smith, confirmée en 1973.

Les premiers pas:

- ☐ Les premiers OGM créés sont des bactéries transgéniques, au cours des années 1970. Le premier OGM est obtenu par transgénèse par l'américain Paul Berg et ses collaborateurs en 1972, par l'intégration d'un fragment d'ADN du virus SV40 dans le génome d'une bactérie.
- ☐ En 1978, un gène humain codant pour l'insuline est introduit dans la bactérie *Escherichia coli*, afin que cette dernière produise l'insuline humaine. L'insuline utilisée actuellement pour traiter le diabète est produite à partir d'OGM; sans cette production génétique, la production en provenance de pancréas d'origine animale ne permettrait pas de couvrir les besoins des malades.
- ☐ au cours des années 80, les chercheurs ont développé une technique d'insertion de gène chez les végétaux, au moyen d'une bactérie, *Agrobacterium tumefaciens*, utilisée comme véhicule du gène d'intérêt. Cette technique permettra la création de végétaux génétiquement modifiés.
- ☐ En 1982, le premier animal génétiquement modifié est obtenu, une souris géante à laquelle le gène de l'hormone de croissance du rat a été transféré. En 1983, le premier végétal génétiquement modifié est obtenu : un plant de tabac modifié pour résister à un antibiotique.

Le début de la commercialisation

- ❑ En 1990, le premier produit alimentaire modifié par biotechnologie est commercialisé aux États-Unis et au Canada ; il s'agit de la chymosine qui a été améliorée pour pouvoir remplacer la présure.
- ❑ La première plante génétiquement modifiée commercialisée, la tomate *flavr savr*, en 1994, est conçue pour rester ferme plus longtemps une fois cueillie ; elle n'est plus commercialisée car elle était trop chère et jugée fade par les consommateurs

Les deux principales caractéristiques du génie génétique en comparaison de la sélection classique basée sur la reproduction sexuée sont :

- Une source de gènes étendue. On peut franchir la barrière des espèces, des genres et des règnes. Ainsi, il est possible d'introduire des caractères qu'il ne serait pas possible

d'introduire par sélection classique, Avantages de pureté et de rapidité

- Le transfert d'un gène précis. Elle permet de transférer le seul gène désiré et non de transférer plusieurs gènes comme lors de la reproduction sexuée

Stratégies de la transgénèse

- **Introduire un nouveau caractère**

Le transfert de gènes s'accompagne généralement de l'apparition d'un nouveau caractère. Une copie du gène d'intérêt est introduite dans la plante/ animal. Son expression, par l'intermédiaire d'un ARN messenger, entraîne la production d'une protéine, responsable du nouveau caractère

- **Inactiver un caractère**

Dans ce cas, le transfert de gènes ou d'un ARN induit l'inhibition d'une fonction déjà existante. La **stratégie antisens** fut la première utilisée. Elle consiste à bloquer la traduction d'un gène cible. Une copie « inversée » (antisens) de ce gène est introduite, d'où le nom de la technique. Cette molécule aberrante ne peut être traduite et elle est dégradée. Les protéines à l'origine de la fonction ne sont donc pas produites et le caractère ne s'exprime donc plus.

Processus de Manipulation génétique

- Identification du gène d'intérêt;
- Coupure moléculaire de la séquence d'ADN du gène par les enzymes de restriction.
- Construction du transgène.
- Insertion du transgène dans un vecteur (habituellement dans les plasmides)
- Introduction du plasmide dans la cellule-hôte et multiplication cellulaire.
- Sélection des cellules transformées

LES VARIETES D'OGM

1-Création d'un OGM bactérien : ex :pour produire d'insuline

2- Création d'un OGM viral VGM :ex Le virus de la vaccine en fait partie, alors qu'il est l'un des rares virus inoffensifs

3- Création d'un OGM animal AGM : Une variante de la transgénèse pour qu'un animal puisse produire une protéine animale (la soie d'araignée)

4-Création d'un OGM des plantes PGM : **Une plante transgénique** est une plante au génome duquel a été introduit par transgénèse un ou plusieurs gènes

Méthode d'introduction du gène d'intérêt :

Méthode directe :Le transfert direct de gène est réalisé grâce à l'introduction **dans** l'ADN d'un gène dit d'intérêt, véhiculé par un plasmide le plus souvent, par des méthodes physico-chimiques

Micro injection, biolistique,electrolocation

Méthode indirecte : Les vecteurs les plus souvent utilisés sont les agrobactéries : Agrobacterium tumefaciens

Principaux pays producteurs d'OGM

En 2016, le nombre de pays où se cultivent des cultures GM a passé de 28 à 26 pays (19 pays en voie de développement et 7 pays industrialisés). Les deux pays qui ont cessé d'utiliser des cultivars GM sont le Burkina Faso et la Roumanie

Inconvénients et avantages des ogm

En médecine :

- Des animaux transgéniques produisent des médicaments.
- Des greffes d'organes d'animaux à l'homme.
- Des vaccins sans piqûres.
- La production de molécules (insuline , hormone de croissance).

En agriculture :

- Les plantes OGM peuvent résister aux ravageurs, par la production de leur propre pesticide.
- Créer des plantes OGM adaptées aux milieux hostiles pour lutter contre la faim dans le monde.
- Permettre un développement plus rapide des plantes et des animaux.
- Améliorer la valeur nutritive et les qualités gustatives des aliments.

- Dans le domaine de la santé les conséquences restent inconnues ,mais il serait possible que les OGM soient dangereux pour la santé.
- → Toxicité
- → Allergies, ...
- → Résistances aux antibiotiques
- De plus, 80% des OGM sont utilisés pour nourrir les animaux. Donc il serait possible que l'ont consomme indirectement des OGM.

L'utilisation d'agrobacterium

La bactérie du sol, *Agrobacterium tumefaciens*, provoque chez les plantes infectées une tumeur, la galle du collet. Une autre espèce, *Agrobacterium rhizogenes*, parasite également les plantes selon les mêmes mécanismes qu'*A. tumefaciens*. Elle provoque alors le développement anarchique du système racinaire appelé chevelu racinaire.

1-Transfert naturel de l'ADN-T par *Agrobacterium tumefaciens*

On a pu démontrer que le parasitisme d'*Agrobacterium* repose sur le transfert d'une partie de son plasmide dans les chromosomes de la plante. Cette partie qui est transmise au génome de la plante est appelée ADN-T. Il s'agit d'une partie constante de l'ADN du plasmide de la bactérie, appelé ADN-T, pour ADN Transféré. L'ADN-T est délimité par des bordures, bordure gauche et bordure droite, constituées par des séquences de 25 nucléotides. C'est la région comprise entre ces frontières qui est transférée.

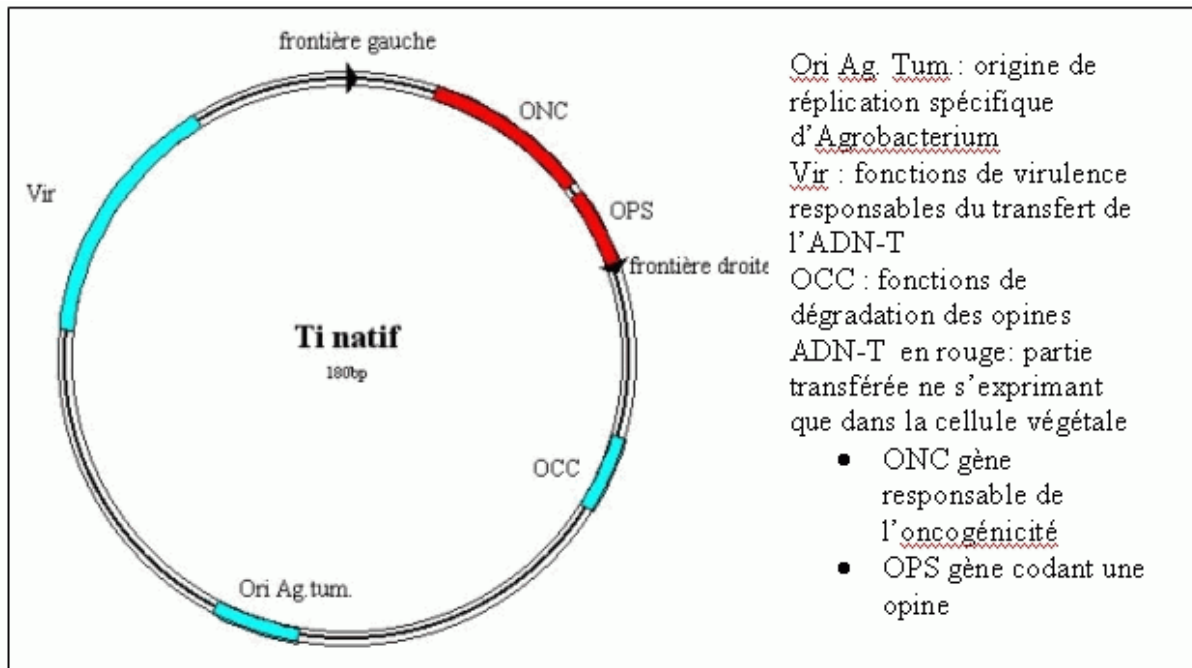
Elle contient les gènes qui confèrent à la plante des propriétés tumorales, c'est-à-dire qu'ils entraînent la prolifération continue et incontrôlée des cellules végétales par production d'hormones de croissance. Des gènes entraînant la synthèse d'opines sont également présents sur l'ADN-T. Les opines sont des protéines spécifiques des bactéries qui ne sont pas habituellement présentes dans les tissus sains. Relâchées dans le milieu, les opines favorisent la multiplication des souches pathogènes et détournent une partie de l'activité photosynthétique de la plante au profit des bactéries.

Sur le plasmide, en dehors de l'ADN-T, on trouve une région de virulence. Cette dernière n'entraîne pas directement la formation de la maladie, mais est indispensable au transfert et à l'intégration de l'ADN-T.

Cet ADN transmissible est un grand plasmide circulaire de 200kbp (plasmide Ti pour Tumor inducing)) qui est responsable des propriétés transformantes (pénétration et intégration d'ADN) Ce plasmide transfère la région d'ADN T qui code pour la production de la tumeur et la synthèse d'opine (nopaline). Ce fragment d'ADN est inséré (au hasard) dans le génome de la plante hôte. Ces gènes activés dans la plante sont responsables du développement de la tumeur. Le fragment d'ADN T est entouré par deux régions, les frontières droites et gauches constituées de répétitions imparfaites d'un motif de 25 bp. Ces deux frontières sont indispensables pour l'initiation et la terminaison de l'expression des gènes de l'ADN T

Le plasmide natif possède une origine de répllication spécifique d'*Agrobacterium tumefaciens*, des gènes *vir* responsables du transfert d'ADN et des gènes impliqués dans le catabolisme des opines.

La construction d'un plasmide Ti recombiné et l'obtention de plantes transgéniques se fait en plusieurs étapes :



a-Construction d'un Ti recombiné

* Long de 200kbp, Ti ne possède pas de site unique de clonage. Il est donc nécessaire de cloner le gène d'intérêt dans un petit plasmide qui présente une zone d'homologie avec Ti pour pouvoir recombiner avec.

* Afin que la plante transformée ne développe pas de gale qui entraînerait sa mort à plus ou moins longue échéance, on va utiliser un plasmide Ti désarmé c'est à dire auquel on a ôté les gènes oncogènes de l'ADN T

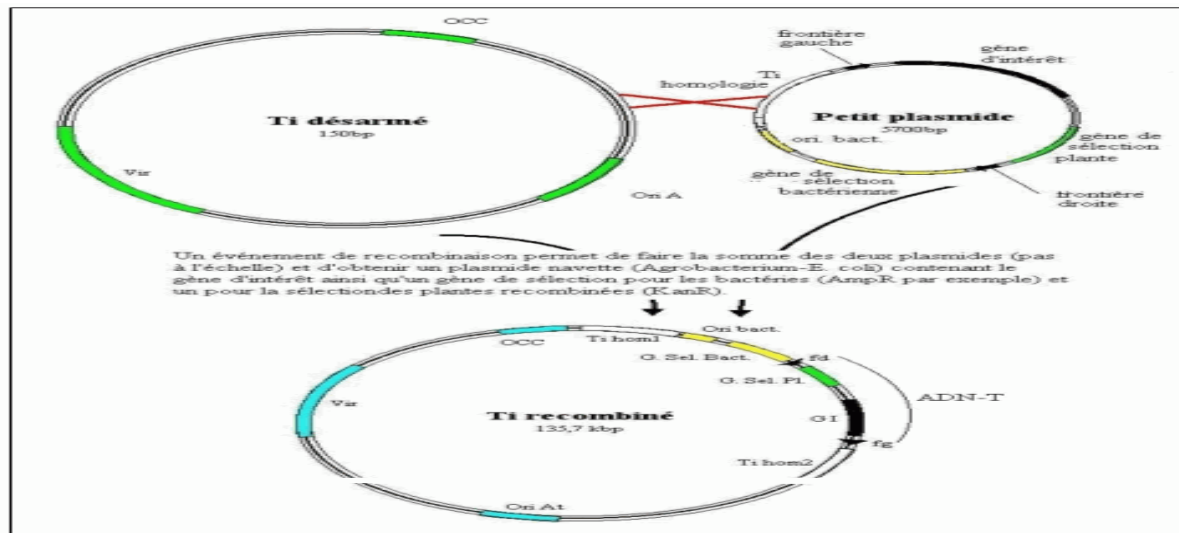
* La recombinaison permet d'ajouter l'ADN des deux génomes plasmidiques. Un Ti désarmé porteur du gène d'intérêt et de gènes de sélection est prêt.

b-Construction d'une plante transformée

* Le plasmide recombiné transforme la bactérie Agrobacterium. Les réceptrices sont sélectionnées grâce au gène de sélection bactérien (AmpR par exemple).

* Cette bactérie infecte une culture de cellules végétales susceptibles de donner une plante entière, mises à pousser sur un milieu additionné de kanamycine (gène de sélection de la plante KanR). Les clones cellulaires qui poussent ont reçu l'ADN T du plasmide recombiné qui s'est intégré dans leur génome. Sur un milieu toujours additionné de kanamycine on laisse les cals régénérer des plantes complètes. La kanamycine interfère avec la fonction plastidique et des plantes non résistantes sont blanches alors que des plantes résistantes sont vertes.

Il reste à étudier l'impact du gène apporté par l'ADN T dans la physiologie et des performances de la plante recombinée.



Construction du plasmide Ti recombiné désarmé contenant le gène d'intérêt (GI) sur l'ADN-T transférable à une plante grâce aux gènes *Vir*.

2-les réalisations

Par cette méthode (ou des variantes) mise au point en 1983 on a déjà construit des plantes transgéniques. La première était un plant de tabac rendu résistant à un antibiotique, puis en 1985 résistant à un insecte.

<u>Plante</u>	<u>Propriétés</u>
Banane :	Résistance aux maladies, meilleure conservation, production de molécules spécifiques
Betterave :	Résistance aux maladies, tolérance à un herbicide, production de molécules spécifiques
Blé :	Tolérance à un herbicide, résistance aux maladies, modification de la teneur en amidon
Cacao :	Résistance aux maladies
Café :	Résistance aux insectes
Chicorée :	Tolérance à un herbicide
Chou :	Résistance aux insectes
Colza :	Résistance aux insectes, tolérance à un herbicide, modification de la composition en huile, résistance aux champignons, variétés hybrides, production de molécules spécifiques (protéines, enzymes, acides aminés, enrichi en bêta carotène)
Concombre :	Résistance aux maladies
Coton :	Résistance aux insectes, tolérance à un herbicide, amélioration de la qualité des fibres
Courge :	Résistance à un virus
Laitue :	Diminution de la quantité de nitrate dans la plante, tolérance à un herbicide, résistance aux maladies
Maïs :	Résistance aux insectes, tolérance à un herbicide, résistance aux maladies, modification de la teneur en protéines
Manioc :	Résistance aux virus, amélioration de la qualité nutritive
Melon :	Résistance aux maladies, meilleure conservation, tolérance à un herbicide
Oeillet :	Coloration modifiée, fanage ralenti
Peuplier :	Amélioration de la matière première pour la fabrication du papier
Papaye :	Résistance à un virus
Pomme de terre :	Résistance aux maladies, résistance aux insectes, tolérance à un herbicide, modification de la teneur en amidon
Pommier :	Résistance aux insectes
Riz :	Suppression d'un facteur d'allergie, tolérance à un herbicide, résistance aux insectes, production de molécules spécifiques (enrichi en bêta carotène)
Soja :	Tolérance à un herbicide, modification de la composition en huile, en protéines, production de molécules spécifiques (enzymes, anticorps)
Tabac :	Tolérance à un herbicide
Tomate :	Meilleure conservation, résistance aux maladies, résistance aux insectes, tolérance à un herbicide, enrichissement en bêta carotène
Tournesol :	Tolérance à un herbicide, production d'acides gras libres
Vigne :	Résistance au court-noué (maladie)

IV-THERAPIE GENIQUE

Le terme de thérapie génique peut recouvrir aujourd'hui deux types de techniques thérapeutiques : L'utilisation d'un gène comme médicament et la réparation des gènes

Le second sens, celui d'une microchirurgie génique, correspond probablement à ce que pouvaient penser les généticiens. Il y a quelques décennies, lorsqu'ils imaginaient que les

maladies génétiques pourraient, un jour, être traitées et radicalement guéries. Cependant, ce n'est que très récemment que les succès expérimentaux de la correction in situ des gènes par utilisation d'oligonucléotides chimériques ARN/ADN ont permis d'envisager qu'un tel rêve puisse devenir réalisable dans les maladies génétiques avec mutations ponctuelles des allèles concernés. L'essentiel des travaux et des essais réalisés à ce jour concernent la première acception de l'expression <thérapie génique>, c'est -à-dire le gène-médicament. Il s'agit là d'ailleurs d'une singulière évolution du statut des gènes, sont en effet responsables des maladies, qu'il s'agisse des maladies génétiques, des maladies infectieuses en rapport avec les propriétés des gènes du virus, bactéries ou parasite. Avec la thérapie génique, le gène devient un possible médicament. La thérapie génique pourra s'appliquer, évidemment, à des maladies génétiques, et plus généralement, à toutes les affections, héréditaires ou acquises, qui peuvent bénéficier du traitement par une protéine thérapeutique. En effet, il est, en principe, toujours possible de remplacer un médicament protéique par le gène qui va en commander la synthèse dans les propres cellules du malade qu'il faut soigner. En ce sens, la thérapie génique constitue la troisième étape de l'utilisation des protéines médicamenteuses. La première est celle de purification à partir de tissus ou de fluides animaux ou humains; la seconde est le génie génétique, où l'on asservit des micro-organismes à produire le médicament protéique en leur transférant le gène correspondant; la thérapie génique. Enfin, transfère directement l'ADN dans l'organisme qu'il faut soigner, des cellules de celui-ci devenant des micro-fabricants du médicament et des écosystèmes de sa délivrance au malade

Définition ;La thérapie génique est une méthode thérapeutique, qui repose sur une idée simple : si un gène est responsable d'une maladie, il suffit de remplacer le gène défectueux par le gène intact pour guérir la maladie.

→ Il s'agit de transférer des gènes dans les cellules des patients afin de produire des protéines thérapeutiques spécifiques nécessaires pour combattre ou corriger les maladies visées

les types de la thérapie génique

1/ La thérapie génique germinale est aujourd'hui réalisée chez les animaux, par transfert d'un gène thérapeutique dans des embryons unicellulaires .Ce nouveau gène se retrouve dans toutes les cellules de l'organisme issu de cet embryon, notamment dans les gamètes, et il sera donc transmis à la descendance comme un nouveau caractère génétique.

2/ La thérapie génique somatique :

La thérapie génique somatique se rapproche beaucoup plus de toutes les autres formes de thérapeutique: il s'agit de traiter un malade par un médicament, qui est ici un gène, ou encore de corriger la mutation d'un gène dans le tissu atteint, sans modifier d'aucune manière l'hérédité de ce malade. Les seuls essais envisagés chez l'homme, dans l'état actuel sont dans la synthèse de l'insuline humaine chez E. coli

LES ETAPES DE LA THERAPIE GENIQUE

- **identification du gène :** A partir d'une cellule malade, on prélève du noyau le gène anormal.
- **Isolement du gène normal :** Il s'agit ici d'isoler une version normale du gène à partir de cellules saines, ce gène est appelé "**gène médicament**".
- **Transport du gène médicament :** On insère le gène médicament dans un vecteur, par exemple un virus dont les gènes nocifs ont été détruits . Le rôle du vecteur est déterminant car il permet de contenir le gène "sain", de transférer le gène dans un nombre suffisant de cellules cibles et de transporter le gène dans le noyau de la cellule...
- **Transfert du gène médicament:** On insère le gène dans le noyau des cellules malades grâce au vecteur.
- **Intégration du gène médicament au génome des cellules malades :** Le gène médicament restaure leur bon fonctionnement

Les vecteurs

-Vecteurs viraux sont les plus utilisés ils ont la capacité d'éviter d'être détruits par le système immunitaire humain et d'insérer leur propre matériel génétique dans des cellules humaines

-Vecteurs non viraux: ADN nu , Liposome, microinjection, électroporation ...

Les différentes stratégies de thérapie génique

1-Suppléer un gène « malade »

Cette première stratégie consiste à importer la copie d'un gène fonctionnel dans une cellule cible, pour qu'elle s'y exprime et aboutisse à la production de la protéine qui fait défaut. Le gène est acheminé grâce à un vecteur .

2-Eliminer ou réparer un gène altéré directement dans la cellule

Cette technique, appelée **édition génomique**, permet de **réparer des mutations génétiques de façon ciblée**

4-Utiliser des virus génétiquement modifiés pour tuer des cellules cancéreuses

Ces virus sont appelés **oncolytiques**. Ils sont modifiés génétiquement pour infecter spécifiquement les cellules tumorales qu'ils détruisent. Un premier virus oncolytique, issu

d'une souche d'herpès, a obtenu une autorisation de mise sur le marché en 2015 (Imlygic). Il est indiqué dans le traitement du mélanome

5-Produire des cellules thérapeutiques par thérapie génique

Pour certaines pathologies complexes, il n'y a pas un gène unique à réparer ou à remplacer. Mais il est possible de concevoir des stratégies indirectes : en associant thérapie cellulaire et thérapie génique, on peut obtenir des cellules qui possèdent de nouvelles propriétés thérapeutiques

Un essai concret : « les bébés bulles »

- En 1993, le **Pr Alain Fischer** met au point un traitement par thérapie génique pour les enfants atteints d'un déficit immunodéficitaire. Ce grave déficit immunitaire héréditaire obligeait les bébés atteints à vivre dans une "bulle" stérile pour éviter les microbes, d'où l'expression de « bébés-bulles ».
- Sept ans plus tard, l'équipe du Pr Fischer annonce le succès du traitement : deux très jeunes enfants atteints d'un déficit immunitaire sévère rare et traités par thérapie génique sont considérés guéris et vivent à domicile sans aucun traitement.

Avantages et inconvénients :

Avantage principal :

- Guérir toutes maladies ayant une origine génétique(Cancer, Mucoviscidose...)

Inconvénients :

- Cette technique n'est pas encore totalement maîtrisée
- L'efficacité est moindre
- Des maladies (leucémie...) sont apparus chez les patients après avoir eu affaire à la thérapie génique.

LES DEFIS DE LA THERAPIE GENIQUE

- ☐ les chercheurs restent prudents quant à l'utilisation de la thérapie génique et de la **survenue possibles d'effets indésirables dans le temps**
- ☐ Reste également à poursuivre le développement de nouveaux vecteurs pour **contourner le problème de la réponse immunitaire** qui peut se développer chez des patients
- ☐ La **bioproduction** de produits vivants (virus, vecteurs, cellules autologues) à échelle industrielle reste par ailleurs un obstacle majeur pour le développement des médicaments de thérapie génique innovants.

- ❑ Les procédés sont issus de la recherche académique et ne sont pas toujours adaptés pour être déployés à grande échelle selon les bonnes pratiques de fabrication appliquées dans les usines de production pharmaceutiques.
- ❑ Le **prix** de ces médicaments est également un nouveau sujet de réflexion en santé publique. Le Glybera coûte environ un million d'euros, le Strimvelis plus de 600 000 euros

V- Le clonage

Définition : Le clonage est une technique de reproduction, en laboratoire, de gènes, cellules ou organismes, à partir d'une même cellule. Le clone obtenu par ce procédé dispose du même patrimoine génétique que son modèle original .

Comment faire le clonage Pour réaliser un clonage :

- ❖ Prélèvement d'une cellule de l'animal dont on veut une copie
- ❖ Fusionnement de la cellule mère avec un ovule prélevé sur un autre animal .
- ❖ Incitation de l'ovule à se multiplier

Peu n'importe de quelle cellule il s'agit : toutes les cellules renferment les mêmes gènes

Les types de clonage

- Le clonage reproductif se définit comme étant la création d'un animal ou d'un humain doté du même capital génétique de son donneur ,Le clonage reproductif vise à donner naissance à un individus génétiquement identique à un autre
- Le clonage thérapeutique encore à l'état de projet consiste à cloner des cellules d'un patient et à utiliser celles de l'embryon résultant pour recréer des cellules tissus pour soigner ce patient

Les différentes expériences réalisées :

- 1932 : Aldous Huxley Le Meilleur des Mondes
- 1939 : Sperman évoque le principe
- 1950 : Clonage de grenouille
- 1980 : premiers clonages à partir de cellules embryonnaires.
- Juillet 1996: naissance de Dolly, à partir d'une cellule somatique mammaire.
- 97: clonage de primates à partir de cellules embryonnaire souches
- Histoire de Dolly : Depuis 1997, elle est la plus fameuse brebis au monde le premiers clone d'une mammifère adulte . Dolly est une bête exceptionnelle . Elle a été clonée à

partir d'une cellule d'une autre brebis de 6 ans : les deux brebis sont deux jumelles identiques

Avantages

Pour l'homme

- Un moyen pour des parents stériles d'avoir un enfant au même patrimoine génétique que ses parents ou retrouver un proche décédé;
- Il est possible reproduire des enfants sans maladies génétiques;
- Serait aussi possible de cloner des individus possédants des "talents".

Au niveau animal

- il serait aussi possible de cloner des espèces en voie de disparition afin d'empêcher leur extinction;
- Grâce à cette technique il serait possible de cloner des animaux transgéniques ayant des propriétés thérapeutiques;

Enfin, cette technique pourrait présenter des avantages économiques dans le monde de l'agriculture

Inconvénients

- Le prix pour cloner ne qu'un veau est environ 15 000€
- Sur les cas de clones "réussis", peu ont survécu: La plupart sont décédés de maladie (cardiaques ou pulmonaires en général) ou de vieillissement prématuré.
- Pourrait devenir une forme d'esclavage car cloner un être c'est comme tout décidé pour lui;
- Il supprime tout les particularités uniques à chaque être.

VI- LES MARQUEURS MOLECULAIRES

- Jusqu'à présent, le sélectionneur abordait la diversité génétique en ne tenant compte que des caractères observables.
- Il est dorénavant possible, grâce à des techniques de biologie moléculaire, de lire partiellement le génotype d'un individu, et d'étudier la diversité génétique au niveau du génom.

- Aujourd'hui, avec le marquage moléculaire, de nouvelles perspectives s'ouvrent pour le sélectionneur.
- Les marqueurs génétiques renseignent sur le génotype d'un individu et ne sont pas modifiés par l'environnement. Ils peuvent être utilisés tout au long d'une expérimentation et sont observables à n'importe quel stade de développement de la plante et sur n'importe quel organe (*l'information génétique de la plante est contenue en totalité dans toutes les cellules*).
- Les principaux types de marqueurs génétiques utilisés sont :
 - **Les marqueurs biochimiques (isozyme, protéine)**. Les **protéines** d'une cellule végétale peuvent facilement être extraites et analysées. Les marqueurs biochimiques les plus utilisés sont les **isozymes**. Ils correspondent aux différentes formes d'une même enzyme et permettent de déterminer la présence de l'allèle correspondant à chacune de ces formes. Dans ce sens, ce sont des révélateurs du **polymorphisme** entre individus pour les séquences codantes du génome.
 - **Les marqueurs moléculaires d'ADN**. Ce sont les plus étudiés. Ces marqueurs sont des séquences codantes ou non, présentant un polymorphisme selon les individus. Par les techniques de biologie moléculaire, plusieurs outils ont été développés, permettant d'obtenir directement à partir des marqueurs polymorphes de l'ADN des plantes. Les plus utilisés sont les marqueurs **RFLP**, **RAPD**, **AFLP** et les **microsatellites**.

APPLICATIONS DES MARQUEURS MOLECULAIRES

Grâce aux marqueurs génétiques, il devient possible :

- ✓ d'établir l'empreinte génétique d'un individu, c'est-à-dire de décrire et définir des individus et des variétés en vue de leur inscription, de leur protection et de leur classification,
- ✓ de mettre en évidence et suivre les gènes impliqués dans l'expression de caractères d'intérêt agronomique ou technologique.

CARACTERISTIQUES D'UN MARQUEUR GENETIQUE

Un bon marqueur doit être :

- neutre : ses différents allèles n'ont pas d'effet sur le phénotype de l'individu,
- polymorphe : possédant de nombreux allèles permettant de caractériser les différents individus,
- codominant : l'individu hétérozygote peut être distingué car il présente simultanément les caractères de ses parents homozygotes,
- insensible au milieu,
- non épistatique,
- multiallélique.

Sélectionneur: Personne chargé pour les entreprises semencières de créer de nouvelles variétés. Egalement appelé obtenteur.

Génotype : Ensemble des caractères génétiques d'un individu. Son expression conduit au phénotype.

Phénotype : Ensemble des caractères observables chez un individu, résultant de l'interaction entre le génotype et l'environnement.

Génome : Ensemble des gènes, patrimoine héréditaire contenu dans chaque cellule de tout organisme vivant.

Marqueur : Séquence d'ADN particulière utilisée en cartographie génétique pour baliser les chromosomes.

Protéine: Macromolécule constituée d'une chaîne d'acides aminés liés par liaisons peptidiques, dont le repliement tridimensionnel lui confère une architecture fonctionnelle. Celle-ci est maintenue par des ponts disulfures et des liaisons hydrogènes ou par des interactions hydrophobes.

Polymorphisme: Caractère de ce qui se présente sous différentes formes. Il peut être relié à des différences de séquences d'ADN entre individus.

ADN : (acide désoxyribonucléique) Macromolécule constituée de deux chaînes enroulées en double hélice. Ces deux brins sont assemblés à partir de nucléotides. Chaque nucléotide comprend un sucre, le désoxyribose, un phosphate et une des quatre bases azotées (adénine, guanine, cytosine, thymine). L'ADN est le support de l'information génétique des organismes vivants.

RFLP: (Restriction Fragment Length Polymorphism) Polymorphisme de longueur des fragments de restriction : fragments d'ADN de longueurs différentes obtenus par l'action d'enzymes de restriction et permettant de distinguer des individus. Ils résultent des variations dans la séquence de l'ADN et peuvent être détectés à l'aide de sondes radioactives et servir de marqueurs pour l'hybridation.

RAPD: (Random Amplified Polymorphic DNA) ADN polymorphe amplifié au hasard : technique de révélation par PCR de mutations au niveau des sites d'appariement d'amorces oligonucléotidiques.

AFLP : (Amplification Fragment Length Polymorphism) Polymorphisme de longueur des fragments d'amplification : technique basée sur la mise en évidence conjointe de polymorphisme de site de restriction et de polymorphisme d'hybridation d'une amorce de séquence arbitraire.

Microsatellite : Répétitions en tandem de motifs mono-, di-, tri-, et tétranucléotidique à différents locus. Les plus courants sont (A)_n, (TC)_n, (TAT)_n et (GATA)_n. Ces séquences répétées en tandem ou SSR (Simple Sequence Repeats) sont très abondantes et très polymorphes dans le génome.

Variété : Population artificielle obtenue en vue de son usage en agriculture, reproductible, homogène et stable dans ses caractéristiques génétiques et distincte des autres variétés.

Gène : Unité d'information génétique occupant une position spécifique (locus) dans le chromosome. Un gène est un segment d'ADN qui comprend la séquence codant pour une protéine, et les séquences qui en permettent et régulent l'expression. Les gènes déterminent ou influent sur l'expression du phénotype de l'être vivant (formes, couleurs, aptitudes diverses...). L'ensemble des gènes constitue son génome, ou patrimoine génétique (en anglais germplasm), héréditaire.

Allèle: Nom donné à chacune des copies d'un gène sur les chromosomes homologues.

Homozygote : Individu dont les cellules possèdent en double le gène d'un caractère donné. Cette propriété confère à l'individu qui la possède la capacité de transmettre à 100% de sa descendance le caractère. Une lignée fixée, ou lignée pure, est totalement homozygote. Elle transmet donc à 100% de sa descendance exactement le même patrimoine génétique.

VII-Biotechnologie Alimentaire Moderne, Santé et Environnement

- Selon la définition de la Commission du Codex Alimentarius « la biotechnologie moderne s'entend:

- i) de l'application des techniques in vitro aux acides nucléiques, y compris la recombinaison de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'introduction directe d'acides nucléiques dans des cellules ou organites;
- ii) de la fusion cellulaire d'organismes n'appartenant pas à la même famille taxonomique, qui surmontent les barrières naturelles de la physiologie de la reproduction ou de la recombinaison et qui ne sont pas des techniques utilisées pour la reproduction et la sélection de type classique »
- **ALIMENTS ISSUS DE LA BIOTECHNOLOGIE MODERNE:**

1. Aliments constitués d'organismes vivants ou viables ou qui en contiennent, mais par exemple.
2. Aliments tirés d'OGM ou contenant des ingrédients qui en dérivent, comme la farine, les aliments protéinés ou de l'huile de soja génétiquement modifié.
3. Aliments contenant tels ou tels ingrédients ou additifs produits par des micro-organismes génétiquement modifiés (MGM), par ex. des colorants, des vitamines ou des acides aminés essentiels.
4. Aliments contenant des ingrédients traités par des enzymes qui proviennent de MGM, par ex. le sirop de maïs à haute teneur en fructose produit à partir de l'amidon

Alicaments

Les alicaments peuvent avoir un impact positif sur la santé et les performances physiques d'un individu. Ils sont utilisés pour prévenir les maladies cardio-vasculaires, les troubles digestifs, et améliorer les fonctions immunitaires:

- Les aliments enrichis en oméga-3.
- Les aliments destinés à réguler le transit (« *Bifidus actif* » et autres).

Certains laits fermentés à boire contiennent, en plus des deux ferments traditionnels du yaourt, un probiotique spécifique qui contribuerait au bon équilibre de la flore intestinale. Voir Yakult ou Actimel

Biotechnologie verte :

- Laboratoires de recherche agronomique
- Industries agro-alimentaires : vins, bières, fromages, charcuteries, produits céréaliers...

- Amélioration génétique des plantes, des animaux, des microorganismes d'intérêt agronomique (OGM)
- Clonage, élevage, Biopesticides

Biotechnologies rouges : secteur de la santé

Les biotechnologies permettent au secteur de la santé de faire encore plus de progrès : organe artificiel, thérapie cellulaire, développement de biomédicaments, de vaccins

Exemples concrets : Développement de biomédicaments, de vaccins, de thérapies innovantes:

*Les **médicaments** issus des biotechnologies comprennent d'une part des médicaments dont la production est issue d'**organismes vivants** ou de leurs composants cellulaires (par exemple, l'insuline humaine, l'hormone de croissance, les facteurs anti-hémophiliques ou les anticorps

***organe artificiel:**

Dans certaines pathologies, il est parfois nécessaire de remplacer l'**organe malade** mais les donneurs sont rares. Des recherches sont faites pour développer par exemple des **reins de synthèse**

*Ce mode de thérapie permet de soigner un patient en lui injectant des cellules sur l'organe touché (**cellules souches** la plupart du temps). La **thérapie cellulaire** est utilisée par exemple pour la maladie d'Alzheimer, diabète, leucémie

- **Laboratoires de recherche biomédicale** : cancer, maladies génétiques, étude du génome, des cellules
- **Laboratoires et industries pharmaceutiques** : antibiotiques, anticancéreux, vaccins...
- **Laboratoires d'analyses** : diagnostic, prévention, suivi des traitements...

Biotechnologies jaunes : biodépollution

- Produire de l'énergie ou Revaloriser les matériaux par recyclage
- Les agroressources sont des matières premières renouvelables dont la transformation par les industriels permet de concevoir des produits performants pour substituer les produits d'origine pétrolière.

<ul style="list-style-type: none">• Tournesol, colza... le raffinage des graines oléagineuses amène à la production d'huiles destinées à l'élaboration de biodiesel ou de biolubrifiants et de farines riches en protéines utilisées dans l'alimentation humaine et animale.	<ul style="list-style-type: none">• Maïs, blé, pomme de terre... en fractionnant la paille, nous pouvons obtenir de la cellulose, de la lignine ou encore des pentoses qui permettront la fabrication de pâte à papier, de colles, de détergents et d'émulsifiants	<ul style="list-style-type: none">• Betterave... la production de saccharose (sucre issu de la betterave sucrière ou de la canne à sucre) aide de nombreuses applications industrielles : bioéthanol (biocarburant), alimentation humaine et animale, additifs pour colles et substrat de fermentation
---	--	---

Traitement des déchets et des eaux usées

- La dépollution des sols consiste principalement à rendre le sol et le sous-sol d'une zone apte à un nouvel usage industriel ou un usage résidentiel, voire dans les cas extrêmes apte à un retour à la nature ou à un usage agricole, après qu'il eut été pollué par une activité ou un accident industriel.
- Dépollution biologique : La bioremédiation consiste en la décontamination de milieux pollués au moyen de techniques issues de la dégradation chimique ou d'autres activités d'organismes vivants.

VIII-Rapport sur les techniques utilisées en biotechnologies

Les biotechnologies recouvrent l'application de la science et de la technologie à des organismes vivants, ainsi qu'à leurs composantes

La génomique

La génomique peut être définie comme la discipline dédiée à l'identification de l'ensemble des gènes du patrimoine génétique (le génome) et à l'élucidation de leur fonction. On parle aujourd'hui de : génomique structurale (connaissance de la séquence des gènes) , génomique fonctionnelle (analyse de la fonction

Le challenge est énorme car il s'agit de pouvoir comprendre l'organisation et la fonction de plus de 100 000 gènes et plus encore de déterminer comment les produits de ces gènes que sont les protéines interagissent pour assurer le fonctionnement d'une cellule

Le transcriptome est défini comme l'ensemble des transcrits présents dans une cellule à un moment donné et dans des conditions données. C'est une image de l'état fonctionnel du génome

Les puces à ADN : Les puces à ADN résultent de la combinaison des techniques de miniaturisation propres à la microélectronique, de la chimie, de la biologie moléculaire et de l'informatique. Les puces à ADN permettent d'étudier le transcriptome par l'observation simultanée de l'expression de plusieurs milliers de gènes dans une cellule ou un tissu donné, mesurant ainsi les modifications des différents états cellulaires

-Concrètement, une puce à ADN est un support rigide (verre ou nylon) de quelques centimètres carrés, sur lequel de courtes séquences d'ADN ont été déposées.

- sonde :(fragment d'ADN synthétique représentatif des gènes dont on cherche à étudier l'expression, fixé de façon covalente à la surface de la biopuce)
- cible (ARNm que l'on cherche à identifier et/ou à quantifier (échantillon)). Les cibles sont marquées par fluorescence

principe : La technique des puces à ADN est basée sur le principe d'hybridation (Southern, Mir et al. 1999) qui stipule que deux fragments d'acides nucléiques complémentaires peuvent s'associer et se dissocier de façon réversible sous l'action de la chaleur et de la concentration saline du milieu.

- **La protéomique :**

Le développement des techniques de purification et d'analyses biochimiques permettent aujourd'hui d'envisager l'étude des produits des gènes que sont les protéines. la protéomique désigne la science qui étudie les protéomes, c'est-à-dire l'ensemble des protéines d'une cellule, d'un organe, d'un tissu, d'un organe ou d'un organisme à un moment donné et sous des conditions données.

- ☐ Le protéome est l'ensemble des protéines produites par un génome (ordre de 60000 protéines chez l'Homme).
- ☐ Le protéome résulte de la traduction du génôme en protéines dans des conditions de vie définies. Il varie selon le type des cellules, leurs activités et leur environnement.
- ☐ La taille du protéome est plus importante que celle du génôme, car un gène peut coder pour plusieurs protéines en considérant les modifications introduites par la maturation des mRNA et les modifications post-traductionnelles (glycosylation, phosphorylation,...).

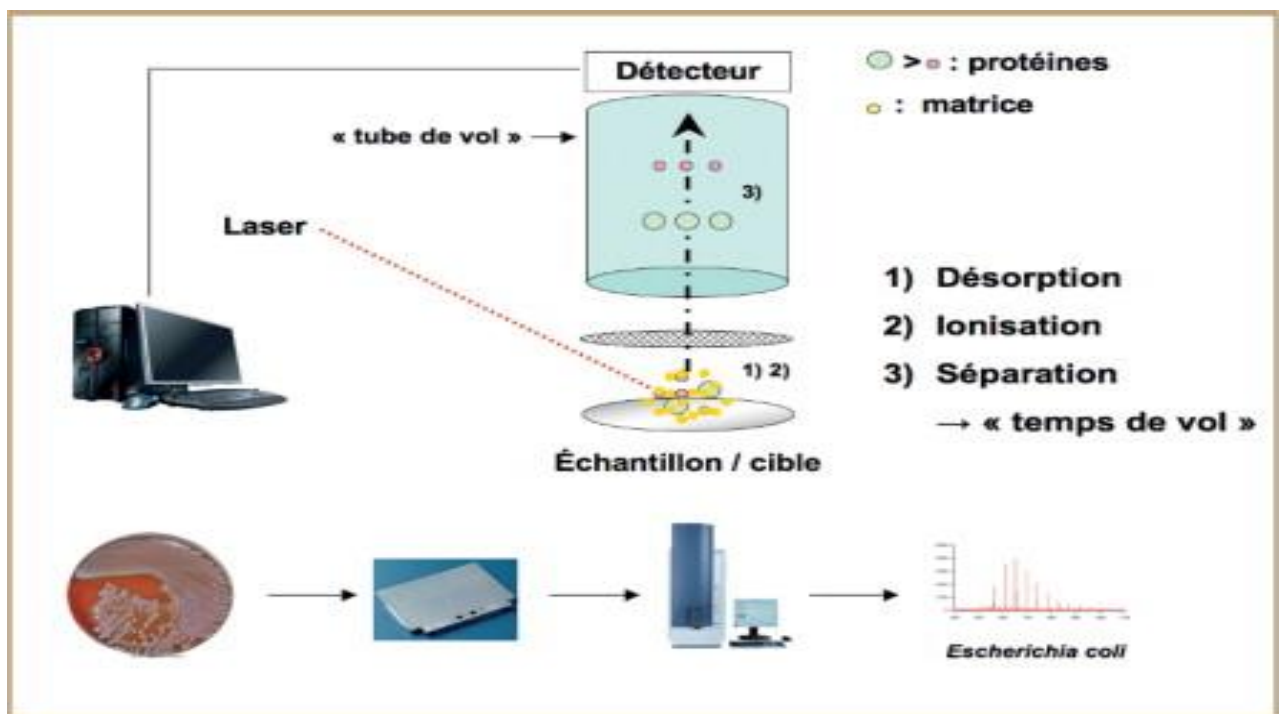
Le protéome est dynamique, le génome est constant.

PRINCIPALES ETAPES DE LA PROTEOMIQUE

- Extraction des protéines et préparation des échantillons
- Séparation des protéines (Electrophorèse bidimensionnelle, Chromatographie liquide)
- Détection et quantification des protéines
- Identification des protéines par spectrométrie de masse

IDENTIFICATION DES PROTEINES Spectrométrie de masse et recherche dans les banques de données ;

Un spectromètre de masse se compose d'une source où s'effectuent l'ionisation et la désorption des ions, d'un analyseur où les ions sont séparés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) et d'un détecteur permettant l'enregistrement et la quantification des ions.



Pour l'étude des composés peptidiques, deux modes d'ionisation sont principalement utilisés :

- ✓ la désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI-ToF) qui permet de réaliser une empreinte peptidique après digestion protéolytique (empreintes peptidiques)
- ✓ la spectrométrie de masse en tandem en mode nanospray (MS-MS) qui permet d'obtenir une microséquence en acides aminés.