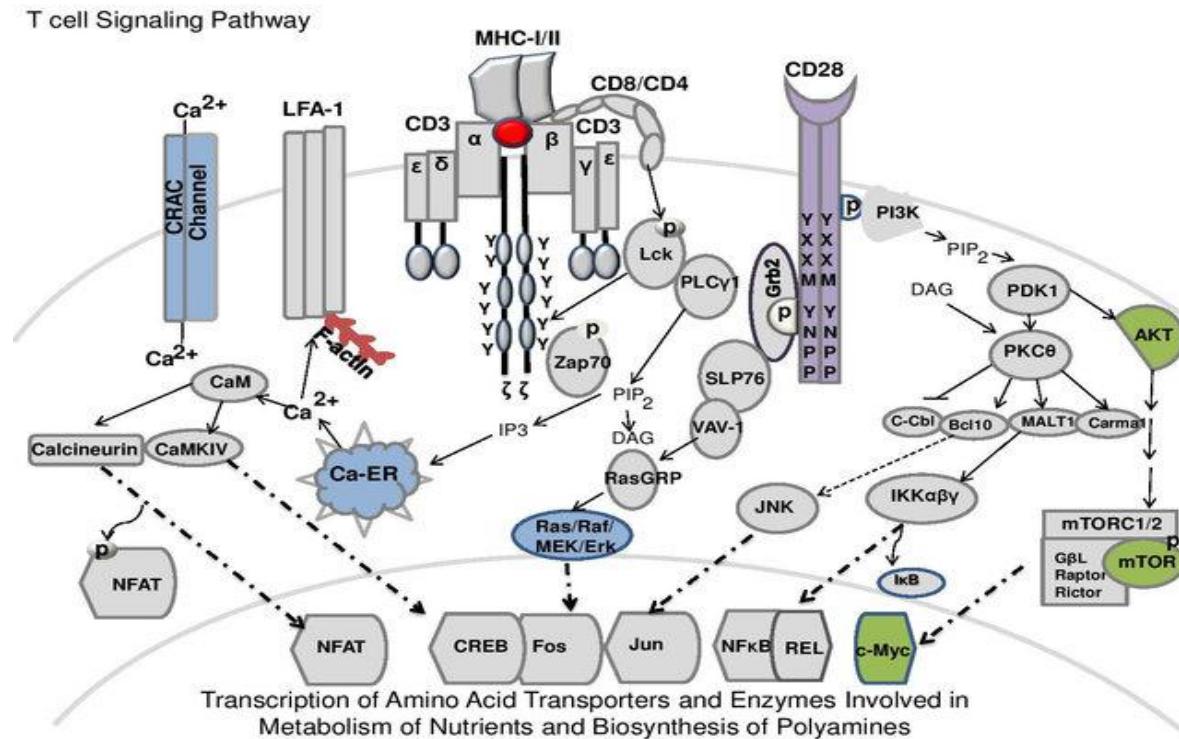


Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Master 1 Sciences Pharmacologiques

Module : CVSC (Communication et Voies de Signalisation Cellulaire)

Transgénèse



Les OGM (Organismes génétiquement modifiés):

Un OGM est un organisme vivant dont le génome a été modifié par intervention humaine au moyen du génie génétique.

Les produits dérivés des OGM, qui n'ont aucune capacité de reproduction, ne sont pas des OGM, même s'ils peuvent éventuellement contenir le gène introduit ou la protéine codée par ce gène.

La transgénèse est utilisée pour créer des modèles animaux qui permettent l'étude des différentes maladies humaines et de tester les différentes molécules médicamenteuses.

Elle est aussi utilisée pour augmenter et améliorer la production animale et végétale (viande, lait, fruits, légumes, ...).

Stérilisation du moustique dans le but de limiter la propagation des maladies transmissibles par les moustiques comme la malaria, ...

1- Transgénèse chez les plantes :

a-Plante transgénique:

Plante dont le génome a été modifié par l'introduction d'un gène qui peut provenir d'une autre plante, d'une bactérie ou de tout autre organisme. Ce gène peut coder une enzyme qui intervient dans la maturation des fruits, une substance qui bloque la multiplication d'un virus, une nouvelle protéine, par exemple un composé toxique pour les insectes ravageurs, ...

1- Transgénèse chez les plantes

b- Etapes de la transgénèse :

Etape 1 : Identifier, isoler, intégrer et multiplier un gène d'intérêt

Etape 2 : Transférer le gène:

- Transformation biologique: Bactérie du sol: Agrobacterium.
- Transfert directe:
 - Biolistic : projection d'ADN dans les cellules de la plante par l'utilisation d'un canon qui projette dans les cellules des microparticules enrobées d'ADN,
 - Par action d'un agent chimique ou d'un champ électrique (électroporation).

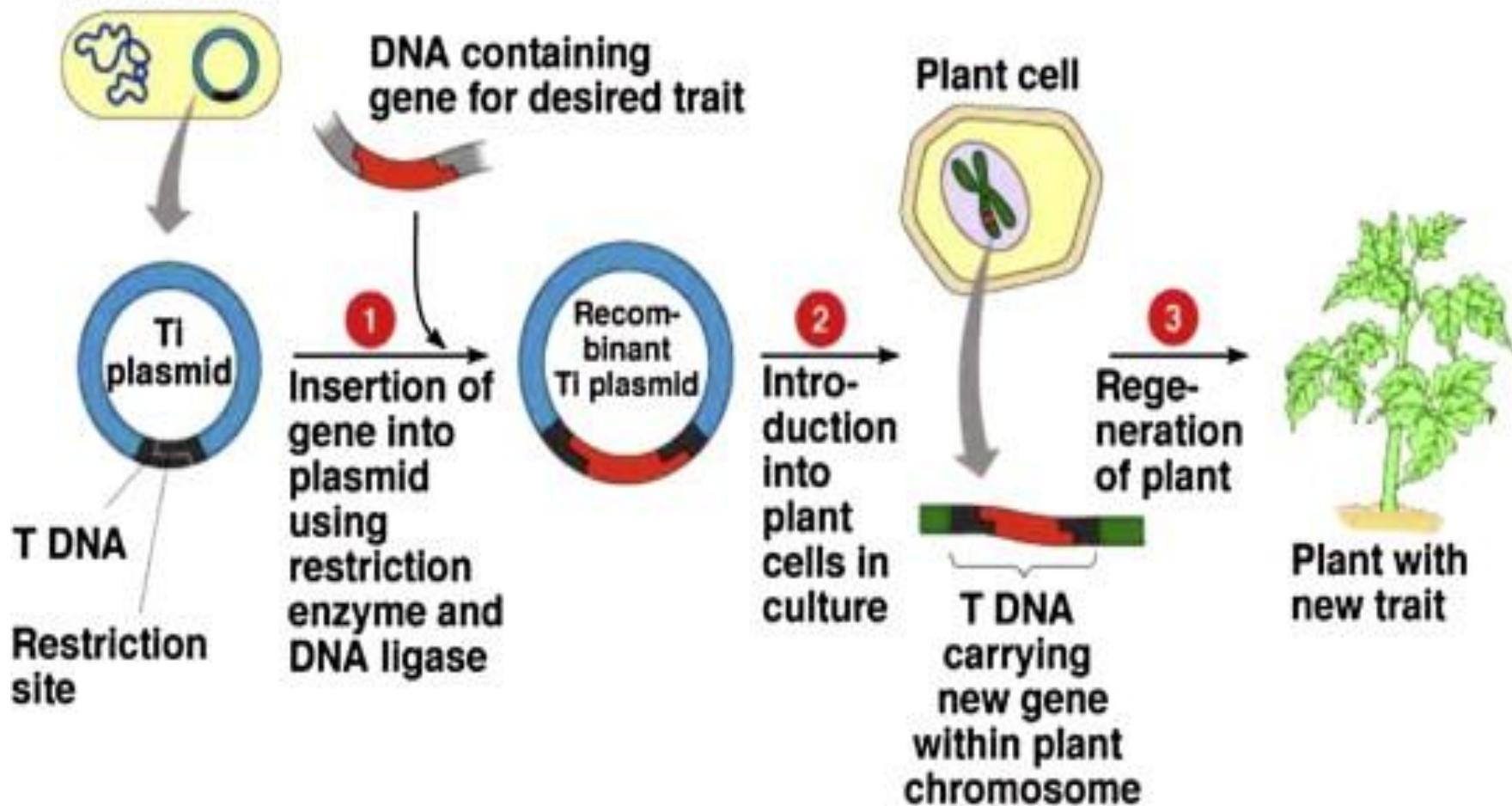
Transformation des différents types de tissus végétaux selon les espèces: disques foliaires, sections de tige, cotylédons, embryons, microspores ou protoplastes.

Exemple:

Tabac et la tomate: disques foliaires ;

Pomme de terre: protoplastes.

*Agrobacterium
tumefaciens*



Biolistique :



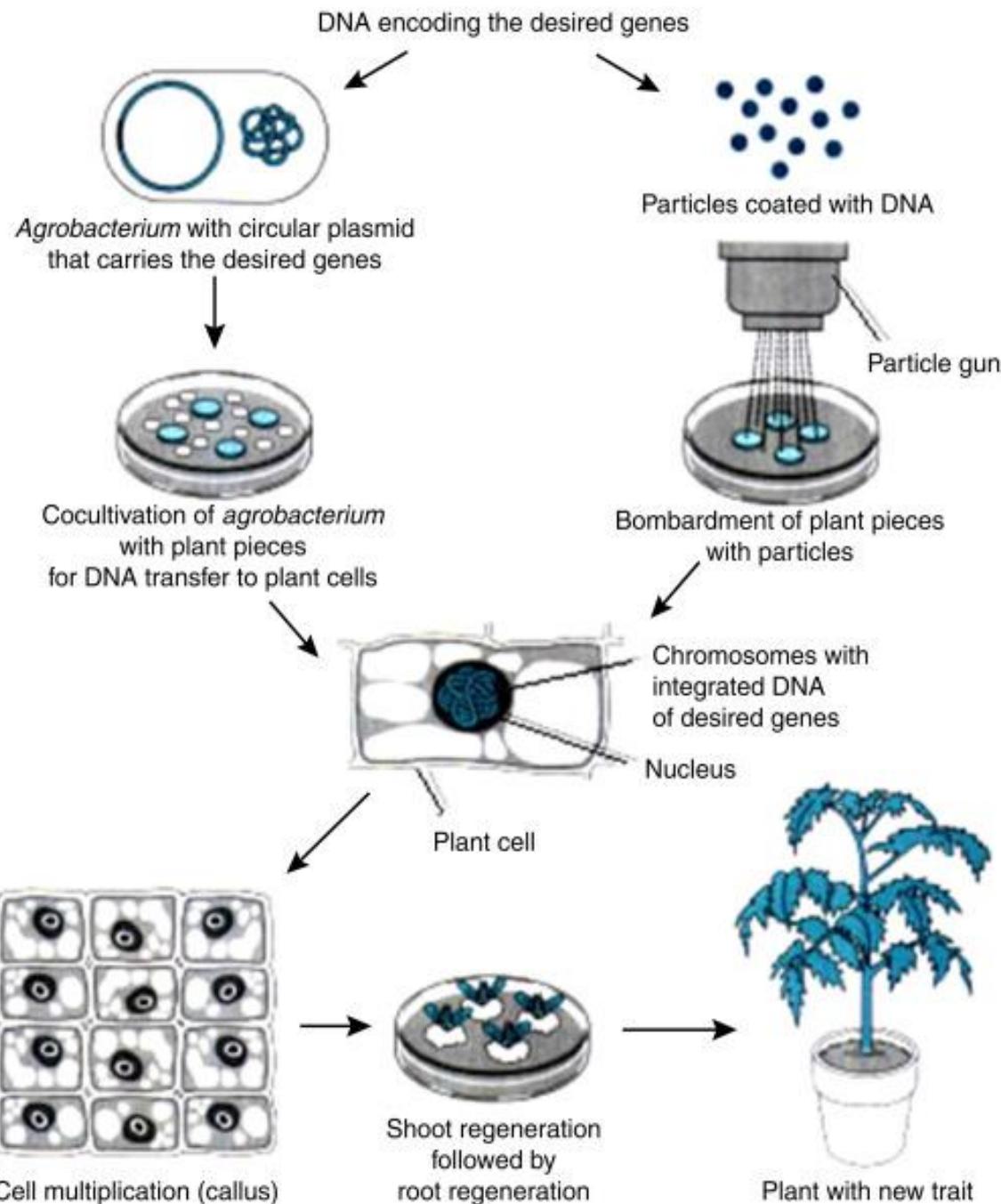
Gene gun Helios™ by BioRad is used to transfect cells in cultures and plant leaves

Etape 3 : Régénérer et évaluer les plantes transformées

Les cellules transformées se développent d'abord en cals (larges amas de cellules indifférenciées). Les pousses qui se développent après quelques semaines seront placées dans un nouveau milieu de culture qui permet le développement des racines. Après leur développement, les plantules sont repiquées en pots.

Il faut s'assurer de l'insertion de la construction génétique dans le génome par des études sur l'expression du gène.

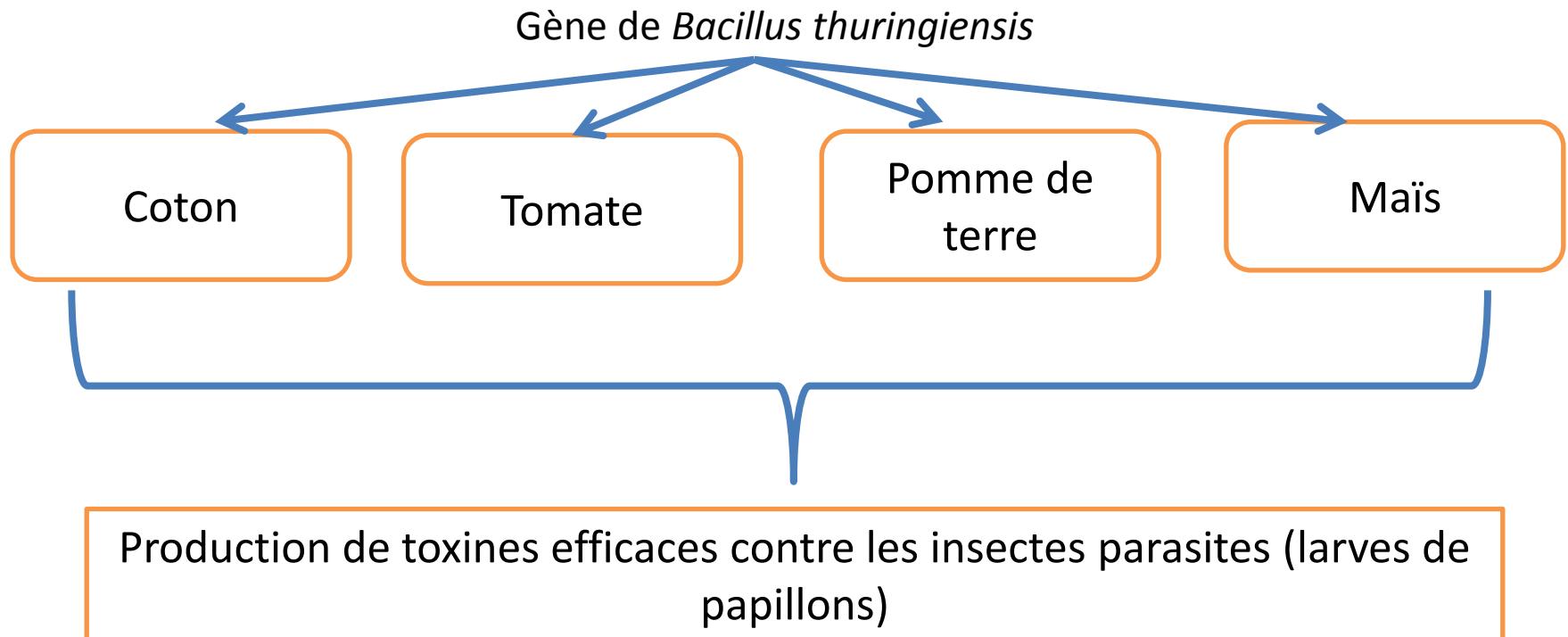
Agrobacterium method



Etape 4 : Incorporer dans une variété commerciale

- Rétrocroisements pour permettre d'introduire le gène et d'obtenir de nouvelles variétés commerciales exprimant ce caractère.

Exemple :



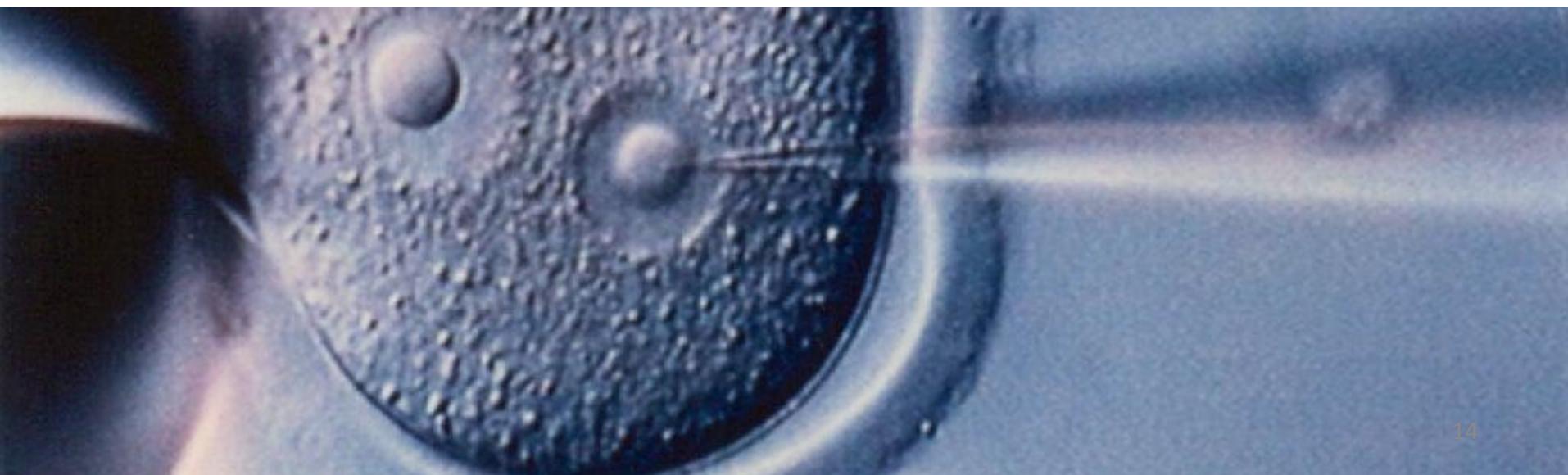
2-Transgenèse animale :

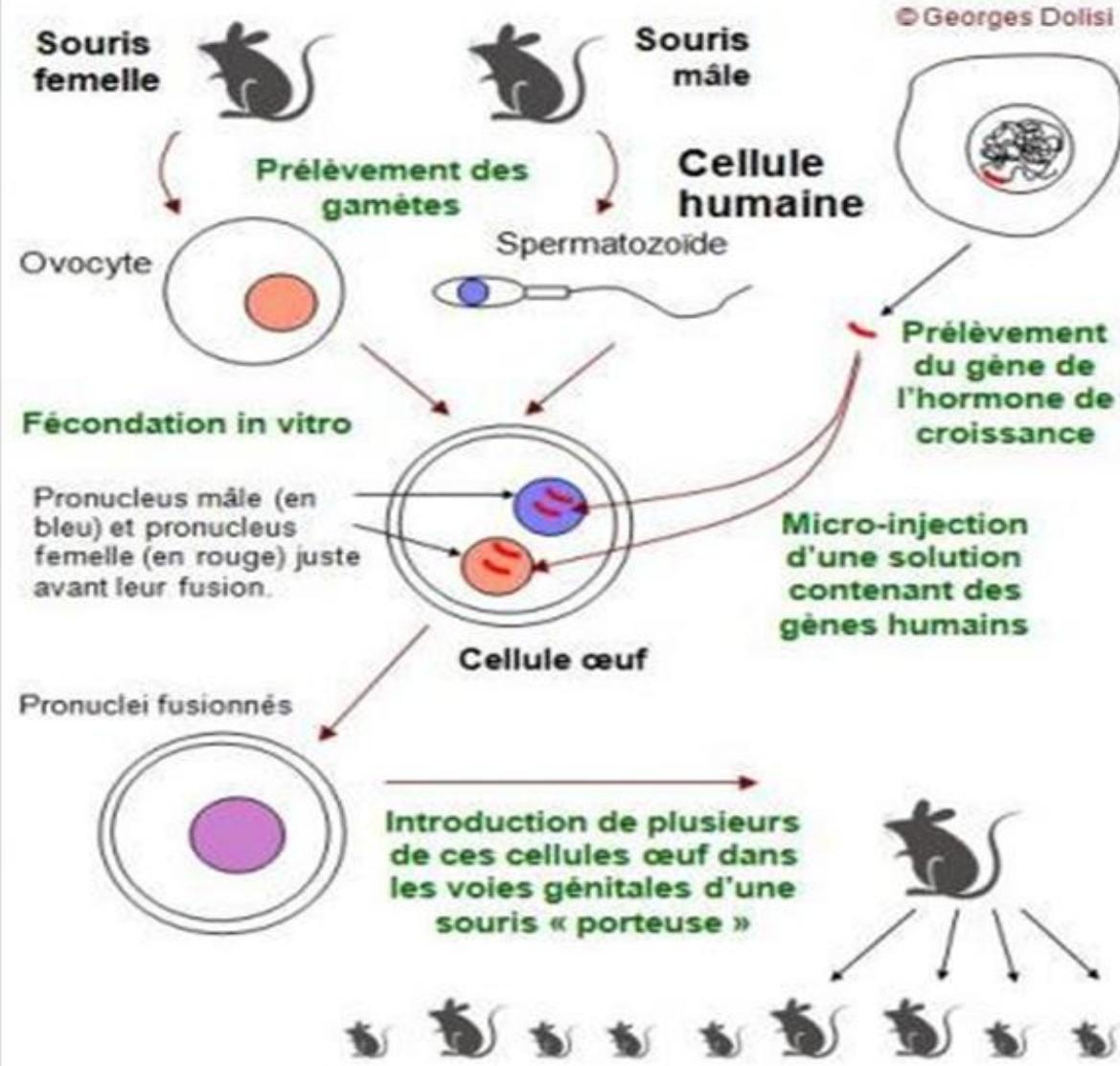
Les animaux ne peuvent pas être régénérés à partir seulement d'une cellule somatique. L'embryon est donc un passage obligé.

a - La micro-injection de gène chez les animaux :

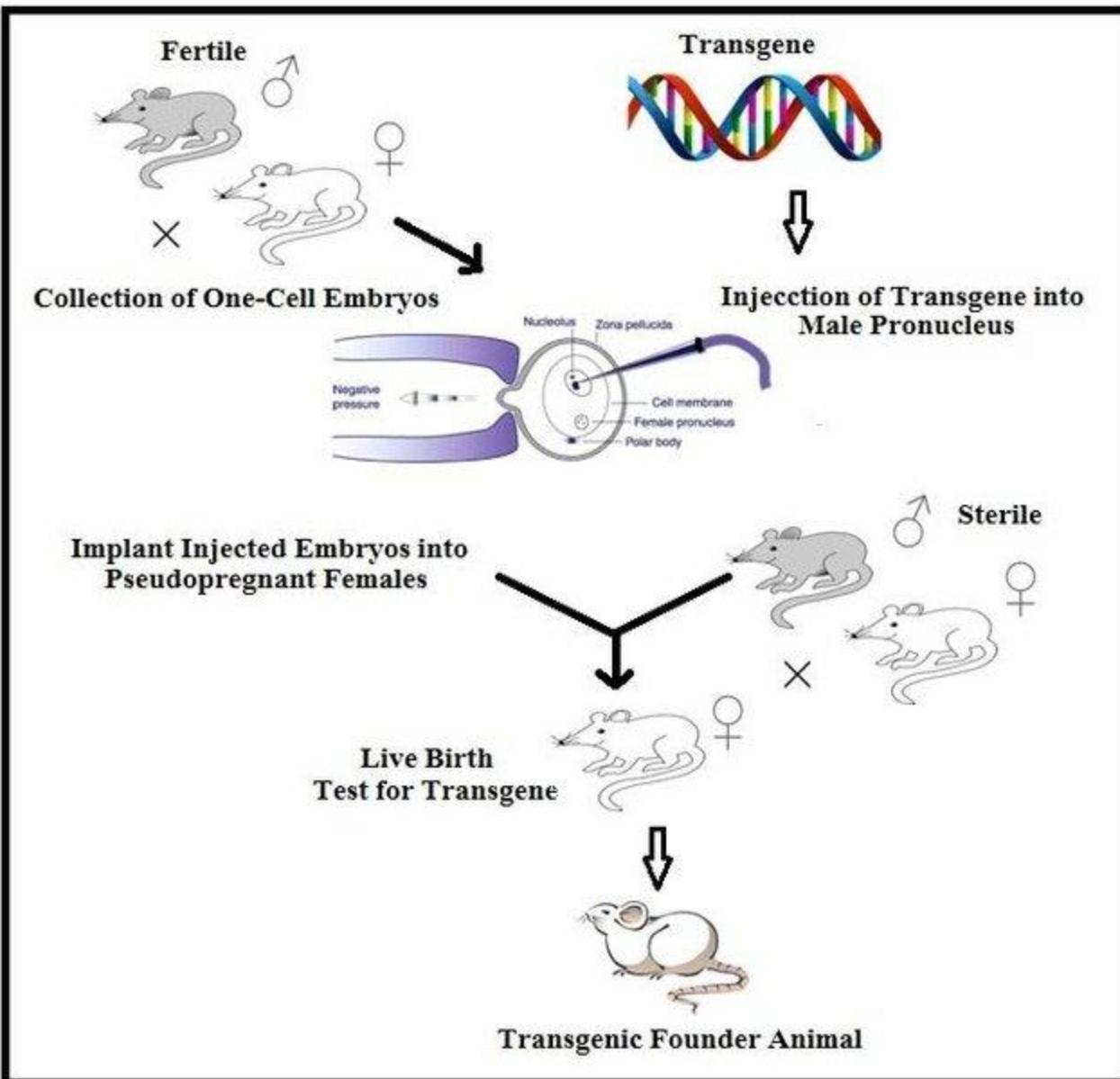
- Injection directe d'une solution contenant de l'ADN dans un œuf fécondé, dans l'un des deux noyaux (pronuclei) fournis par les cellules sexuelles mâle et femelle, juste avant leur fusion.
- L'embryon est ensuite transplanté dans l'oviducte ou l'utérus d'une femelle.

10 à 30 % des nouveau-nés intègrent le gène étranger au sein du génome de leurs gamètes.





Dernière étape : sélection des sourceaux « géants », c'est-à-dire qui ont le transgène humain de l'hormone de croissance dans toutes leurs cellules, puis croisements et création d'une lignée de souris transgéniques.



- Croisement des souris transgéniques avec souris non transgénique donne naissance à des individus F1 dont la moitié a hérité le transgène.
- Croisement de deux souris F1 produit des souris dont $\frac{1}{4}$ est homozygote pour le transgène (lignée de souris transgéniques).

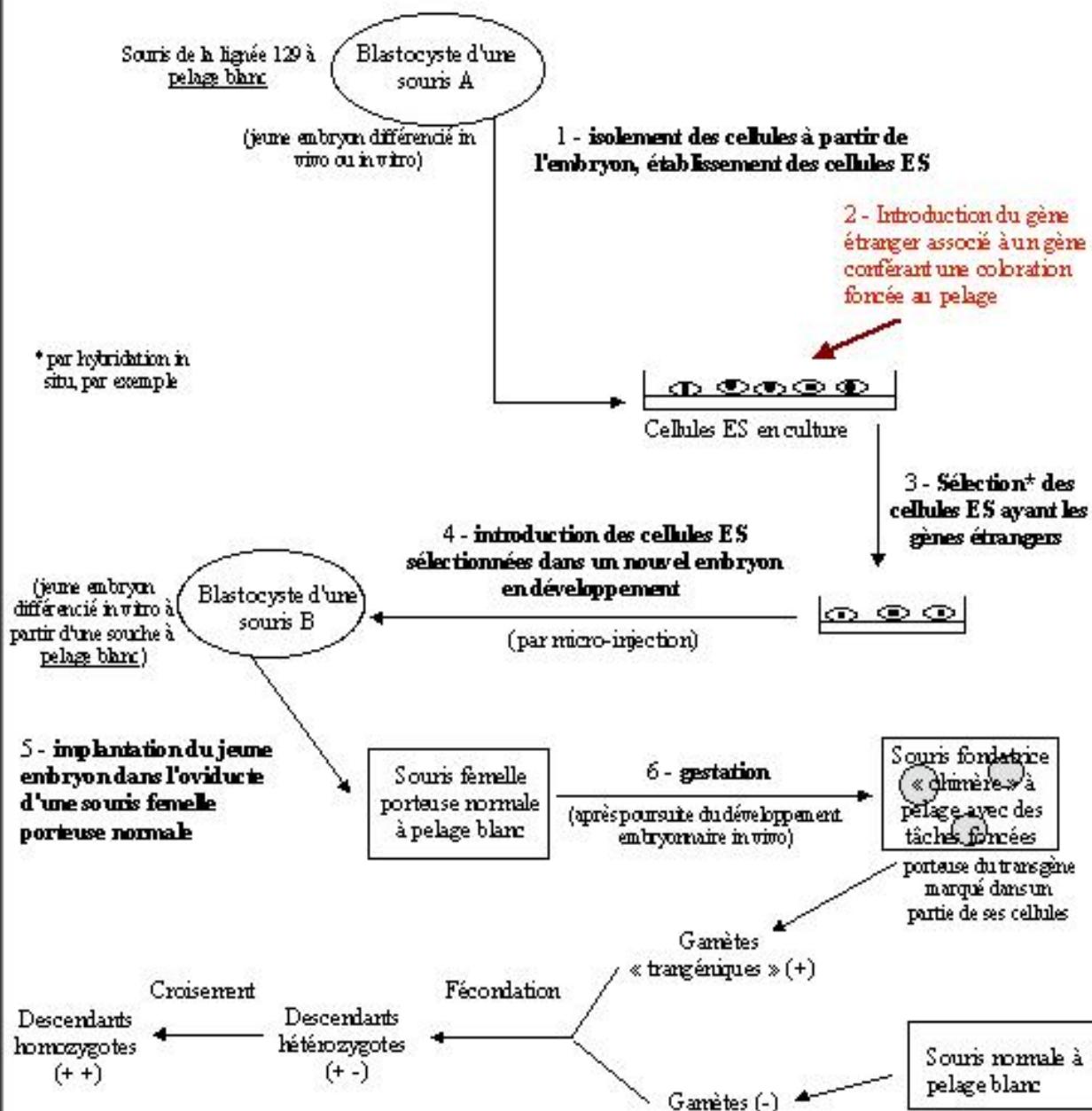
b - Transfert de gènes par l'intermédiaire de cellules embryonnaires :

Intégrer un gène étranger à des cellules embryonnaires en culture en les réintroduisant dans un embryon précoce (Introduction des blastomères dans des cellules au même stade).

Figure : Exemple du transfert du gène CFTR humain par l'intermédiaire de cellules embryonnaires de souris.

L'altération du gène CFTR humain cause la mucoviscidose.

On se propose de mieux comprendre cette maladie génétique humaine en créant des animaux modèles expérimentaux grâce à une technique de transgenèse animale.



Transfert nucléaire et clonage de moutons. Des cellules de blastocystes (par exemple, des cellules de masse cellulaire interne) ou d'autres tissus somatiques sont obtenues et propagées en culture. Ces cellules sont utilisées comme donneurs de noyau pour le transfert dans des ovocytes énucléés. Contrairement à la microinjection d'ADN, une étape de fusion est généralement employée. Ici, l'électrofusion est utilisée pour fusionner les couplets (noyau transféré plus ovocyte énucléé) qui sont transférés aux receveurs pour le reste de la gestation. (Pinkert, 2000).

