

Introduction:

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

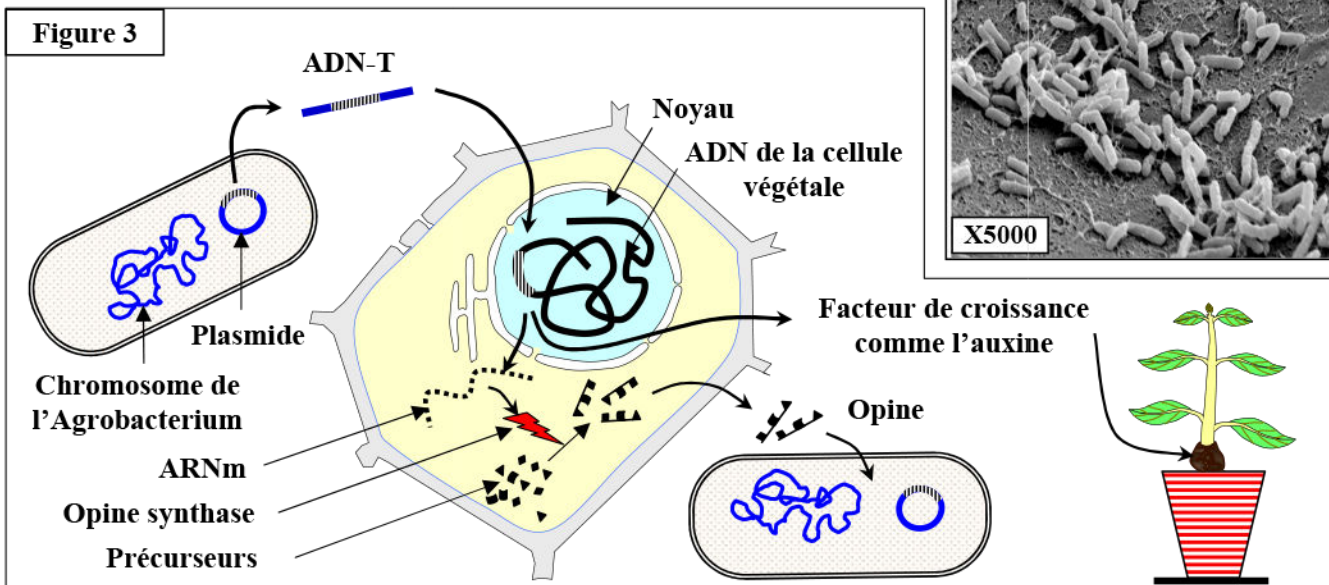
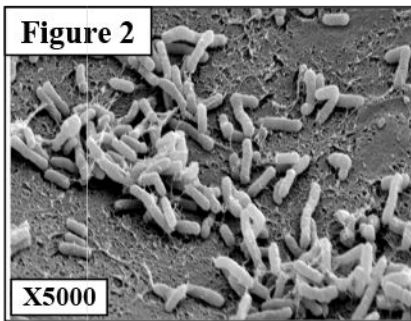
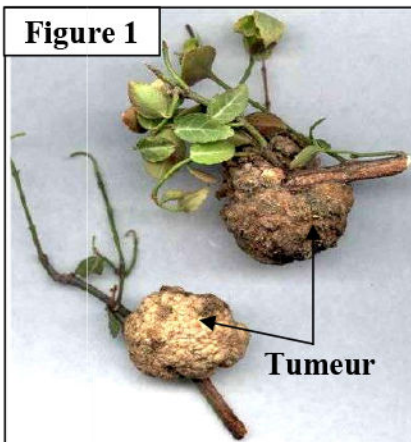
I – Transfert naturel des gènes de l’Agrobacterium à une plante:

① Données sur la galle du collet: (Voir document 1)

Document 1: Notion de transformation génétique naturelle:

Agrobacterium tuméfaciens (Figure 1) est une bactérie qui vit dans le sol et infecte naturellement les végétaux présentant des blessures à la base de leur tige (collet). En réaction à cette infection, les cellules du végétal se multiplient de manière importante et forment une tumeur (Figure 2) qui libère dans le milieu des opines. Les bactéries présentes dans le sol près de la tumeur sont alors capables d’utiliser ces opines comme source d’azote, mais aussi de carbone et d’énergie. La réaction du végétal est due au transfert d’un petit ADN, l’ADN-T, depuis la bactérie jusque dans le génome des cellules de la plante par l’intermédiaire d’un plasmide (ADN circulaire bactérien de petite taille) appelé plasmide Ti.

Le schéma de la figure 3, montre les étapes du transfert naturel du gène de l’A. Tuméfaciens à une cellule végétale.

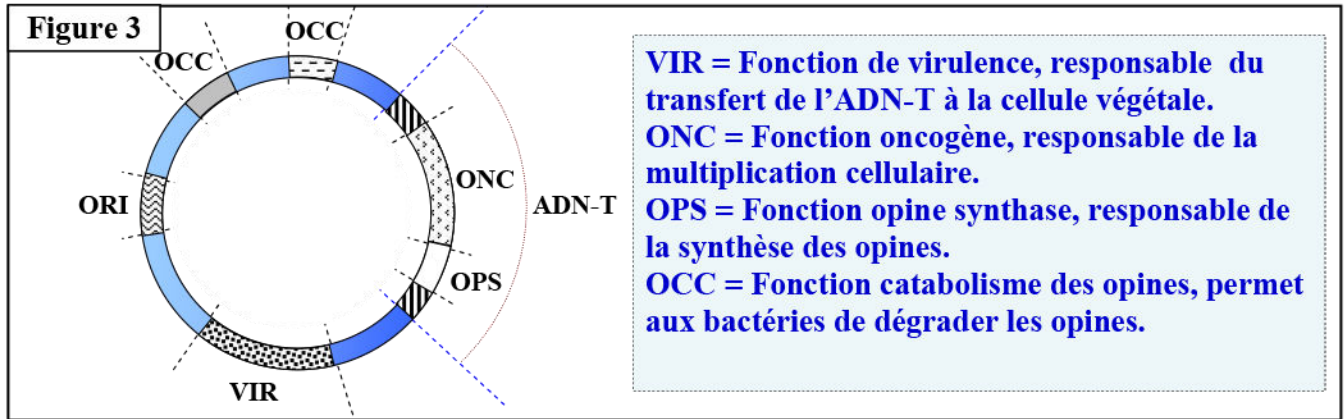


L'ADN-T ou ADN de transfert, est la région d'ADN transférée dans la plante après infection par les bactéries, Agrobacterium Tuméfaciens.

Document 1: (Suite)

L'ADN-T est contenu dans le plasmide Ti, qui est responsable des propriétés transformantes (pénétration et intégration d'ADN).

Des études ont permis d'établir la carte génétique du plasmide Ti. La figure 3 présente une carte génétique simplifiée du plasmide Ti.



À partir des informations présentées par ce document et de vos connaissances, dégagez les arguments permettant de justifier que la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* effectue un transfert naturel des gènes.

② Exploitation des données:

③ Conclusion:

II – Les techniques du génie génétique:

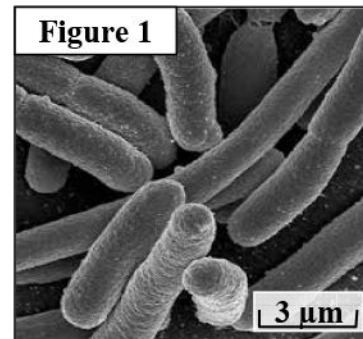
① Matériel biologique employé dans le génie génétique: (Voir document 2)

Document 2: Matériel biologique employé dans le génie génétique:

★ La bactérie *Escherichia coli*:

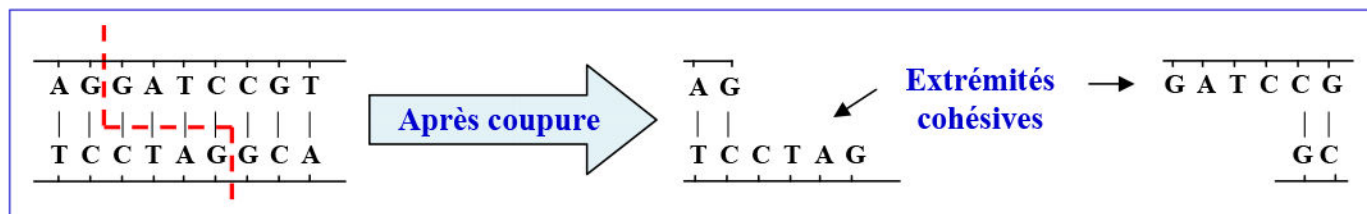
Le matériel biologique le plus utilisé dans le génie génétique, est la bactérie *Escherichia coli*, et ce pour deux raisons essentielles :

- ✓ Elle possède en plus de son unique chromosome, des plasmides
- ✓ Elle se reproduit très vite permettant d'obtenir rapidement plusieurs générations successives.
- ✓ Le cytoplasme de cette bactérie est riche en ribosomes, et possède tous les éléments nécessaires à la synthèse des protéines.



★ Les enzymes de restriction:

Ce sont des enzymes capables de couper l'ADN au niveau des sites précis, après avoir reconnu des séquences nucléotidiques bien déterminées. Ainsi une molécule d'ADN peut-être découpé en plusieurs fragments; les fragments de restriction.



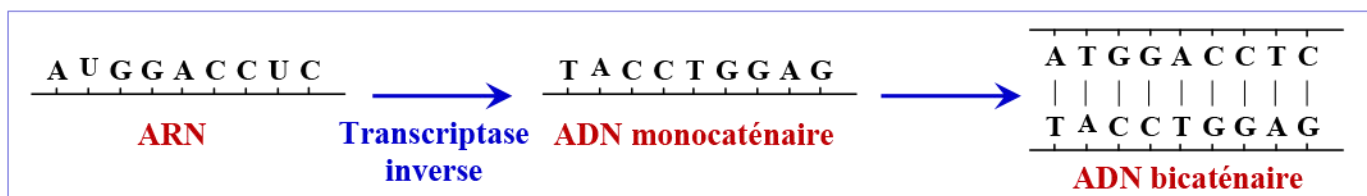
Enzyme	Source	Séquence reconnue	Coupure : //	Après coupure
BamHI	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	5'GGATCC3' 3'CCTAGG5'	5'---G//GATCC---3' 3'---CCTAG//G---5'	
HaeIII	<i>Haemophilus aegyptius</i>	5'GGCC3' 3'CCGG5'	5'---GG//CC---3' 3'---CC//GG---5'	
PstI	<i>Providencia stuartii</i>	5'CTGCAG3' 3'GACGTC5'	5'---CTGCA//G---3' 3'---G//ACGTC---5'	
EcoRI	<i>Escherichia coli</i>	5'GAATTC3' 3'CTTAAG5'	5'---G//AATTC---3' 3'---CTTAA//G---5'	

★ Les ligases:

Ce sont des enzymes qui ont la propriété de coller ensemble des extrémités simples d'ADN, selon des séquences nucléotidiques bien déterminées.

★ La transcriptase inverse (ou rétro-transcriptase):

C'est un enzyme qui permet de convertir l'ARN en ADN. Le brin d'ADN résultant de cette réaction est appelé ADN complémentaire (ADNc).



a) Bactérie Escherichia coli :

b) Les enzymes de restriction:

c) Les ligases:

d) La transcriptase inverse:

② Les étapes du génie génétique:

a) Recombinaison de l'ADN in vitro: (Voir document 3)

Document 3: Les étapes pour isoler et intégrer un gène dans une cellule

La figure ci-dessous représente un schéma simplifié des étapes de la transgénèse :

The diagram illustrates the five steps of transgenesis:

- ① Extraction d'ADN**: A cell is shown with DNA being extracted.
- ② Extraction du gène recherché**: A DNA sequence is shown with recognition sites for E. restriction enzymes. The sequence is:
T T C T G C A C A C G A A
A A G A C G T G T G C T T
The recognition sites are TACAC and GATTA.
- ③ Extraction et ouverture du plasmide**: A plasmid and a chromosome are shown being extracted from a bacterium.
- ④ Insertion du gène dans le plasmide**: The gene is inserted into the plasmid using E. restriction enzymes.
- ⑤ Réinsertion du plasmide dans la bactérie**: The recombinant plasmid is inserted into a bacterium to create a genetically modified bacterium.

En exploitant les données de ce document, montrez comment isoler un gène désiré, et l'intégrer dans le plasmide d'une bactérie pour obtenir un plasmide recombinant.

⇒ 1^{ère} étape:

⇒ 2^{ème} étape ② :

b) Clonage du gène désiré:

★ **Criblage des bactéries transformant par l'utilisation des antibiotiques:**
(Voir document 4)

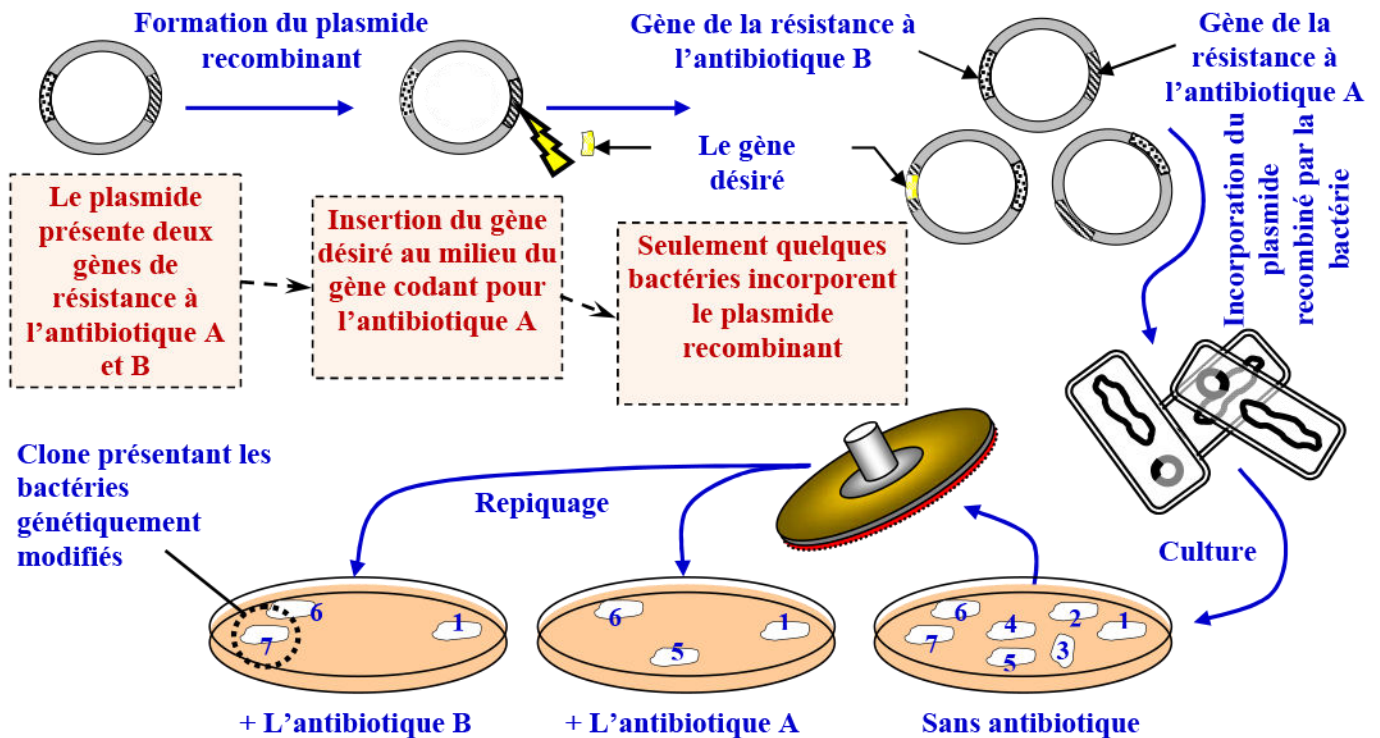
Document 4: Criblage des bactéries transformant par les antibiotiques

Après le clonage du gène d'intérêt, ce ne sont pas toutes les bactéries qui intégreront les plasmides, alors les cellules doivent être sélectionnées afin d'identifier celles qui auront intégré les plasmides et celles qui ne l'auront pas fait.

Afin de déterminer les bactéries génétiquement modifiées, on utilise le caractère de la résistance aux antibiotiques. Les plasmides renferment généralement des gènes qui favorisent la résistance aux antibiotiques (la pénicilline, l'ampicilline, etc.).

Le principe de cette technique est la culture de bactéries dans des milieux qui contiennent des antibiotiques, puis analyser les résultats obtenus dans chaque milieu de culture, pour déterminer les clones contenant le gène désiré.

Le document ci-dessous décrit les circonstances et les résultats de ces expériences:



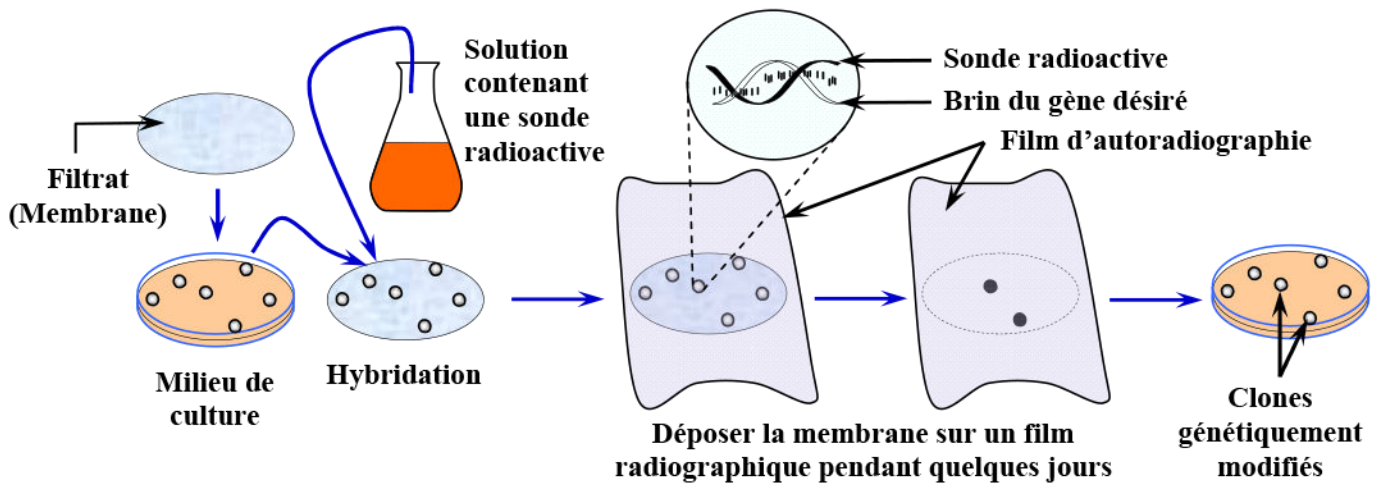
Que peut-on déduire de l'analyse des résultats de cette expérience ?

★ **Criblage des bactéries transformant par l'utilisation des sondes radioactives:** (Voir document 5)

Document 5: Criblage des bactéries transformant par les sondes radioactives

Les sondes radioactives sont des molécules d'ADN monocaténaire contenant des atomes radioactifs, ayant une séquence complémentaire à une partie du gène recherché.

Le schéma ci-dessous présente les étapes de criblage par sondes radioactives:



En se basant sur les données de ce document décrire les étapes de cette technique.

La technique de criblage par les sondes radioactives se fait selon les étapes suivantes:

Remarque:

Au moment du clonage, pour isoler le gène désiré, on peut utiliser la technique d'électrophorèse (Voir document 6).

Document 6: L'électrophorèse pour isoler le gène désiré

L'électrophorèse est utilisée en biologie moléculaire pour la séparation des acides nucléiques ou des protéines (Voir figure 1).

Cette technique est basée sur le déplacement de molécules ioniques sous l'effet d'un champ électrique. Les molécules anioniques (chargées négativement) migrent vers la cathode et les molécules cationiques (chargées positivement) se déplacent vers l'anode. L'ADN est une molécule chargée négativement qui se déplacera donc vers la cathode. Les plus petites molécules pourront plus facilement se frayer un chemin dans le gel d'agarose et migreront plus loin. Les plus grosses molécules resteront plus près des puits.

Les fragments d'ADN résultant de l'action des enzymes de restriction sont soumis à l'électrophorèse, puis à l'action des sondes radioactives. Les résultats obtenus sont présentés par un électrophorègramme (Voir figure 2).

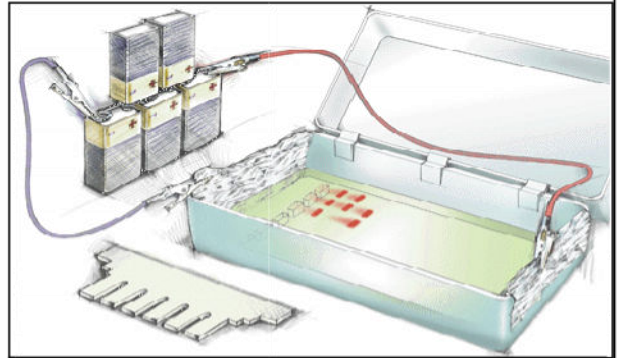


Figure 1: Dispositif d'électrophorèse

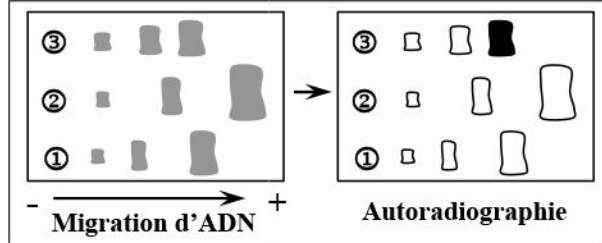
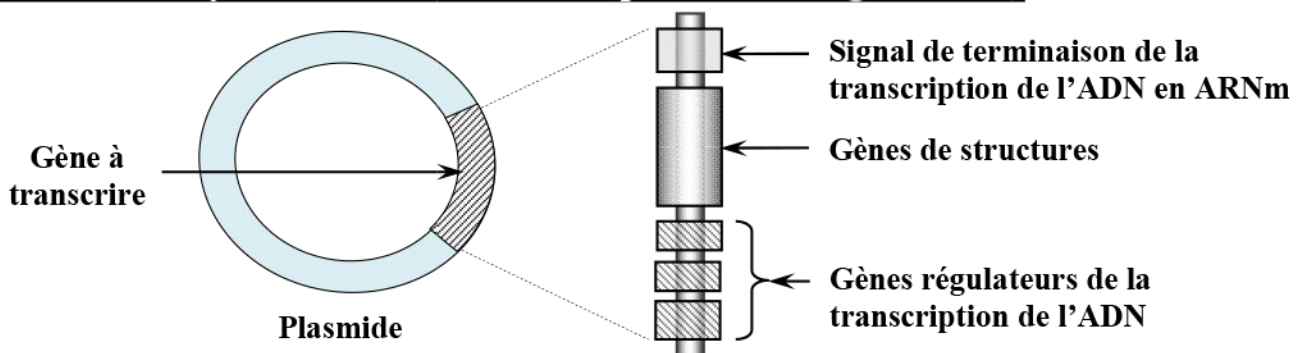


Figure 2: Électrophorègramme

d) Expression du gène désiré:

Document 7: Système de contrôle de l'expression d'un gène désiré



III – Quelques domaines d'application du génie génétique:

① Production industrielle de l'insuline: (Voir document 8)

Document 8: Production industrielle de l'insuline

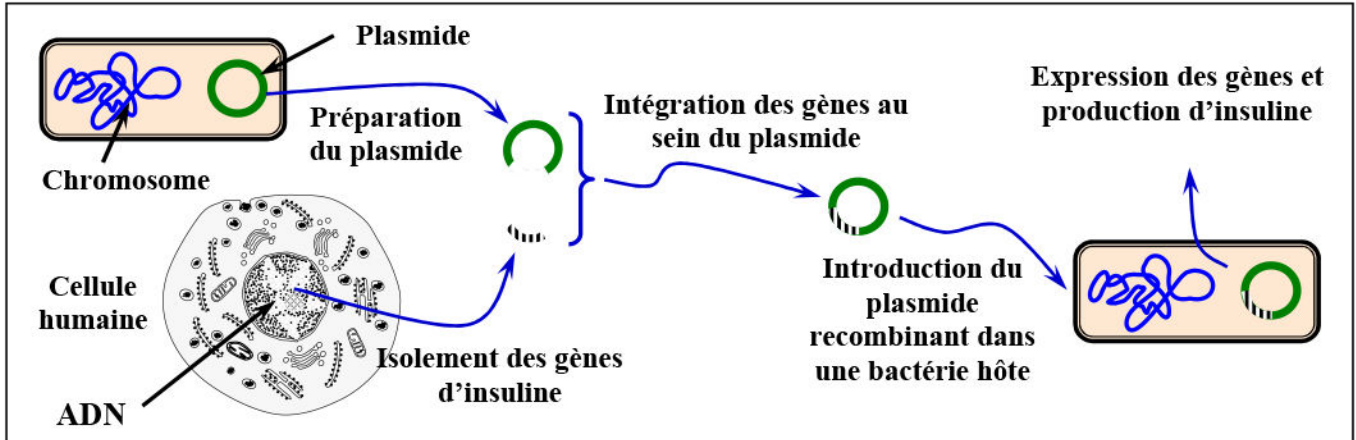
L'insuline est une hormone peptidique synthétisée par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Cette hormone est constituée de 51 acides aminés répartis, sur deux chaînes (A) et (B) reliées entre elles par des ponts disulfures.

L'insuline est une hormone hypoglycémiante, produite par le pancréas. Sa production insuffisante entraîne le diabète.

A partir de 1978, l'insuline est extraite des cellules des porcs et des vaches. Désormais, l'utilisation de cette insuline d'origine animale provoque des effets secondaires tels que l'allergie.

Aujourd'hui, les diabétiques disposent d'insuline humaine produite par génie génétique.

La figure ci-dessous présente les étapes de synthèse de l'insuline par génie génétique.



En exploitant les données de ce document, décrire les étapes de la production d'insuline par génie génétique.

a) Isolement du gène de l'insuline :

b) Préparation d'un vecteur de clonage :

c) Préparation de la cellule hôte :

d) Sélection des clones porteurs des gènes d'insuline :

e) Vérification de la production de l'insuline :

f) Expression des gènes d'insuline :

② Lutte contre les insectes nuisibles en agriculture: (Voir document 8)

Document 9: Lutte contre les insectes nuisibles en agriculture

La pyrale du maïs est un papillon nocturne (Figure 1). La femelle pond ses œufs à l'aisselle des feuilles du maïs. Après éclosion, les chenilles (Figure 2) pénètrent dans la plante et provoquent des dégâts importants: sensibilité à la casse des canes, affaiblissement physiologique des plantes (canaux de sève endommagés), risque de chute d'épis avant récolte.

Les chercheurs ont découvert une protéine toxique, capable de détruire les chenilles de la pyrale, mais inoffensif pour les vertébrés. Le gène qui code pour cette protéine se trouve d'une façon naturelle, dans le programme génétique de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (Figure 3).

Figure 1: La pyrale



Figure 2: Chenille

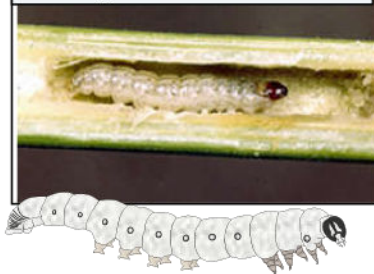
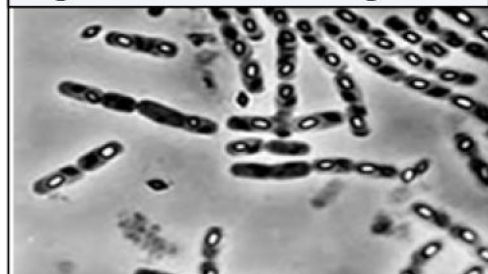


Figure 3: *Bacillus thuringiensis*

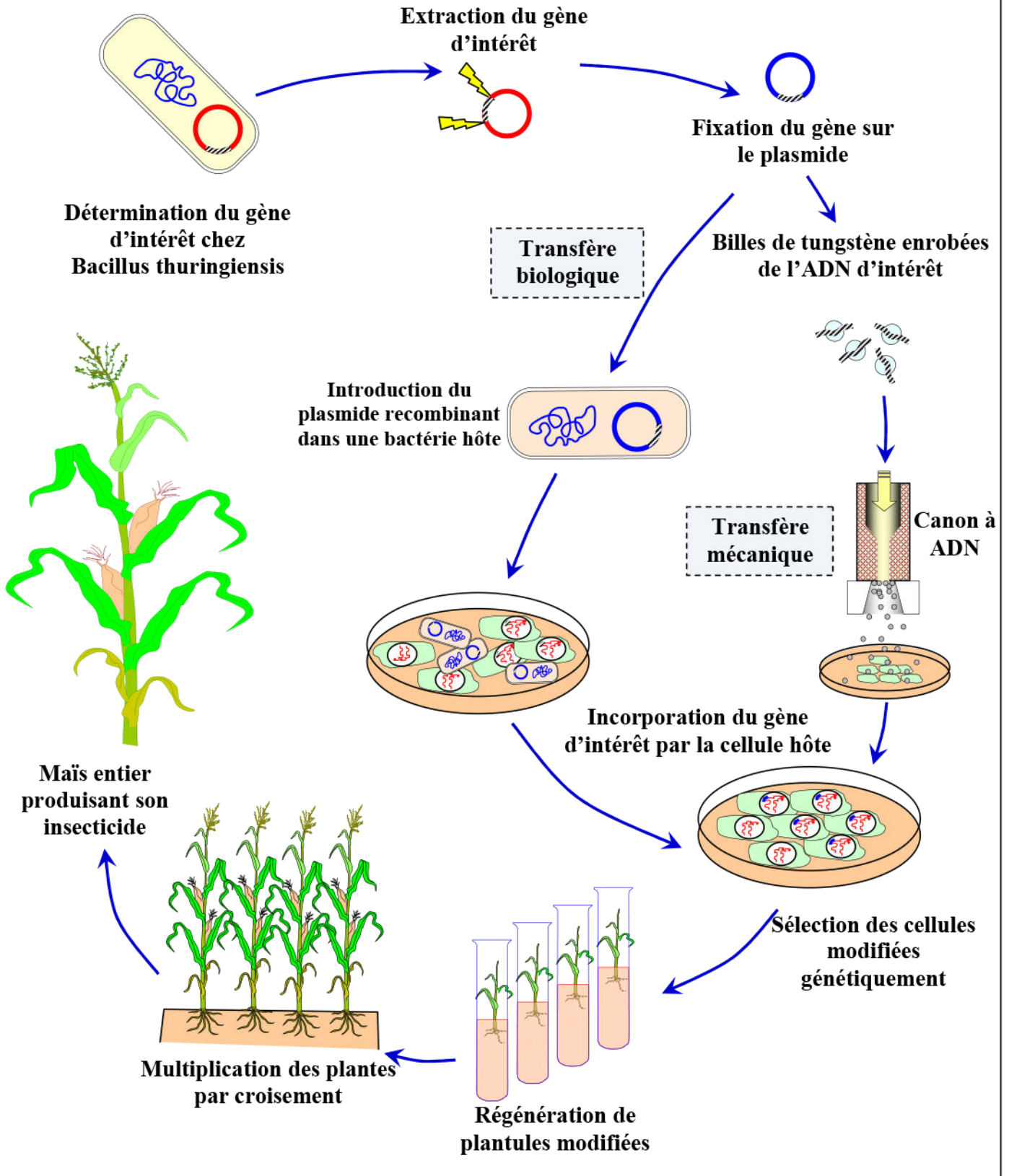


Grâce aux techniques du génie génétique, on a pu produire des plantes génétiquement modifiées résistantes aux chenilles. Ces plantes sont capables de sécréter la protéine toxique pour les chenilles.

La figure du document 10 présente un schéma résumant les étapes de la transgénèse par biolistique, ou méthode du « canon à ADN ».

En exploitant les données du document 9 et 10, décrire les étapes de la transgénèse permettant d'obtenir une plante de maïs résistante à la pyrale.

Document 10: Les étapes de la transgénèse chez le maïs



1)

2)

3)

4)