AlloSchool

Sciences de la Vie et de la Terre

Génie génétique – Cours (Partie 2)

Professeur : Mr BAHSINA Najib

Sommaire

III- Les techniques du génie génétique

3-2/ Les étapes du génie génétique

III- Les techniques du génie génétique

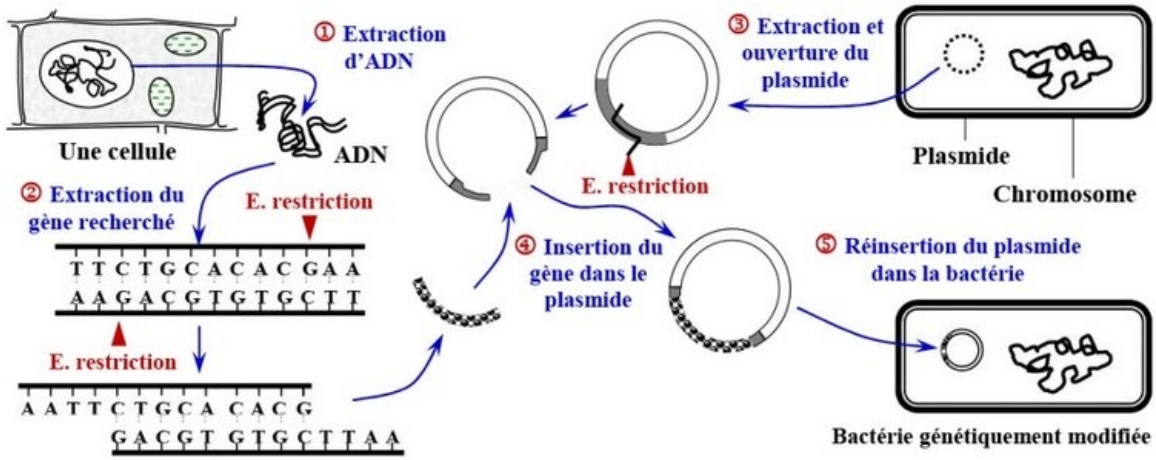
Introduction

Quel que soit l'objectif visé de la manipulation génétique, le transfert du gène, d'une cellule à l'autre, nécessite 4 étapes essentielles qui sont :

1. La recombinaison de l'ADN in vitro.
2. Le clonage du gène.
3. Le criblage des clones transformants.
4. L'expression du gène.

La recombinaison de l'ADN in vitro

Les étapes pour isoler et intégrer un gène dans une cellule (Transgenèse) :



Le clonage du gène désiré

Le clonage nécessite 1'introduction du plasmide recombinant dans un système hôte, puis la mise en culture de cette bactérie dans un milieu favorable.

Généralement on utilise comme hôte les bactéries E. coli sans plasmide.

On rassemble donc les plasmides recombinants et des bactéries dans un milieu convenable, et on 1'incite à se multiplier, formant ainsi des colonies sous forme de clones.

Cela permet à certaines bactéries d'intégrer les plasmides recombines.

Le criblage des bactéries transformant par l'utilisation des antibiotiques

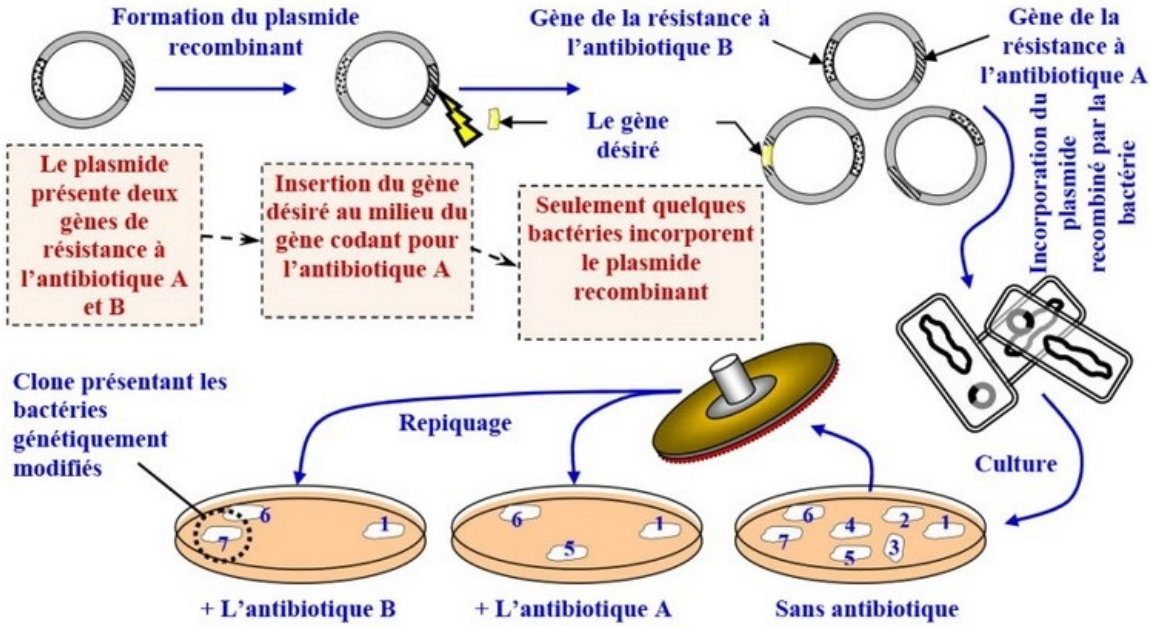
Après le clonage du gène d'Intérêt, ce ne sont pas toutes les bactéries qui intégreront les plasmides, alors les cellules doivent être sélectionnées afin d'identifier celles qui auront intégré les plasmides et celles qui ne l'auront pas fait.

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 suivant décrit les circonstances et les résultats de ces expériences :



L'électrophorèse pour isoler le gène désiré

L'électrophorèse est utilisée en biologie moléculaire pour la séparation des acides nucléiques ou des protéines :

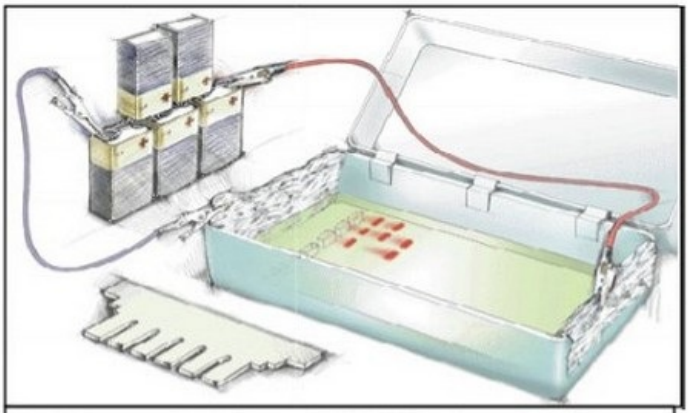


Figure 1: Dispositif d'électrophorèse

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 électrophorèse, puis à l'action des sondes radioactives.

Les résultats obtenus sont présentés par un électrophorégramme :

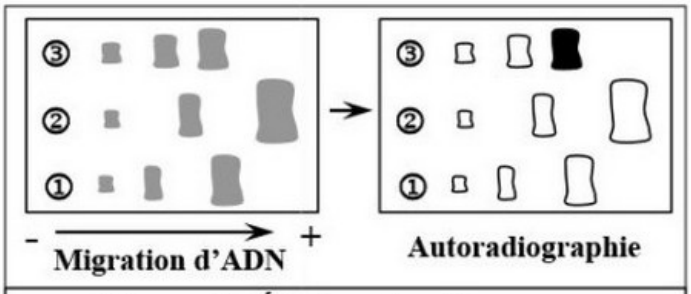


Figure 2: Électrophorègramme

Expression du gène désiré

Pour que le gène intégré dans le plasmide s'exprime dans la cellule hôte, celui-ci doit être entouré d'un système de contrôle.

Ce système est constitué de séquences de gènes régulateurs et de gènes de structure, que la cellule hôte devra reconnaître.

Le système de contrôle permet de connaître les signaux d'initiation de la transcription de l'ADN du gène suivie de l'élongation et de la terminaison de l'ARNm :

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

