

**Université Constantine 1**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département de Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire**

**Cours de biotechnologie**

**L3 BMC**

**Par : Dr. DALICHAOUCHE Imane**

**CHAPITRE I. Technologie de l'ADN recombinant**

## Technologies de l'ADN recombinant

### 1. Modifications génétiques

Chaque caractère d'une cellule ou d'un organisme est commandé par un ou plusieurs déterminants génétiques, partie de chromosome ou de gène, les variations de certains caractères sont dues à des modifications de l'information génétique donc des modifications du génome.

Toute modification ou altération de l'ADN, ou toute erreur de copie au cours de la réplication entraîne une modification de l'information génétique et par la même la synthèse d'une molécule codée par le gène correspondant, elle peut survenir accidentellement ou sous l'effet d'agents physiques ou chimiques.

- La modification est ainsi recopiée lors de la duplication de l'ADN au cours des divisions cellulaires et la variation du caractère est transmise aux descendants qui sont ainsi appelés «**MUTANTS**».
- Les progrès de la génétique permettent ainsi à l'homme de modifier les souches microbiennes pour améliorer leurs propriétés ou créer de nouvelles possibilités d'utilisation.
- exp d'amélioration génétique:

«La souche de *Penicillium notatum* découverte par FLEMING produisait 20 U/ml de pénicilline, la souche industrielle *Penicillium chrysogenum* produit jusqu'à 50 000 U/ml».

- Des modifications du génome peuvent être produites par mutagenèse avec apparition d'un caractère. Elles peuvent résulter de recombinaisons génétiques entre souches différentes après fusion induite de **protoplastes** des micro-organismes dépourvus de sexualité. Suivie d'un retour à l'état haploïde. Il est possible d'ajouter dans une même souche les caractères intéressants de 2 souches distinctes.
- Grâce au génie génétique de nombreuses réalisations révolutionnaires en divers domaines, médical, industriel, agricole, sont en cours. Tel que la possibilité de transplanter et d'intégrer dans un micro-organisme a

l'aide des vecteurs plasmidiques ou bactériophage des gènes tout à fait étrangers à l'espèce, codant en particulier la synthèse protéique animales ou humaines.

On peut ainsi faire fabriquer à des bactéries des molécules biologiques humaines précieuses telles que la somatostatine (hormone du cerveau) ou l'insuline.

- Le patrimoine génétique des bactéries est plastique et varie au cours du temps. En plus des mutations spontanées, qui permettent aux bactéries de s'adapter sous la pression de sélection de leur environnement, il existe des mécanismes d'adaptation beaucoup plus efficaces fondés sur l'acquisition de matériel étranger. C'est le transfert génétique.
- Les principaux transferts génétiques utilisent soit des fragments d'ADN libres, soit des plasmides, les bactériophages...
- Ces vecteurs naturels d'information génétique représentent actuellement des outils précieux utilisés en biologie moléculaire.

## 1.2 La mutation

Désigne des modifications génétiques irréversibles de l'information génétique et héréditaire (reconduit à la descendance).

Les mutations induites sont désormais un moyen sûr de provoquer des changements dans une même variété. Elles permettent de provoquer l'apparition de caractères souhaités qui ne se rencontrent pas dans la nature ou se sont perdus au cours de l'évolution. Lorsque le patrimoine génétique ne contient pas le ou les gènes de la résistance à telle maladie ou aux contraintes, les sélectionneurs n'ont vraiment pas d'autres solutions que le recours aux mutations induites.

Les traitements mutagènes modifient les gènes ou brisent les chromosomes. Des mutations géniques se produisent naturellement s'il se glisse une erreur dans la répllication de l'acide déoxyribonucléique (ADN). La plupart de ces erreurs se corrigent mais certaines peuvent franchir la mitose suivante et s'installer dans la descendance du sujet en tant que mutation spontanée.

## 2.2 La recombinaison

Des modifications génétiques peuvent se produire par recombinaison des gènes à travers des échanges réciproques entre chromosomes ou fragments d'ADN homologues.

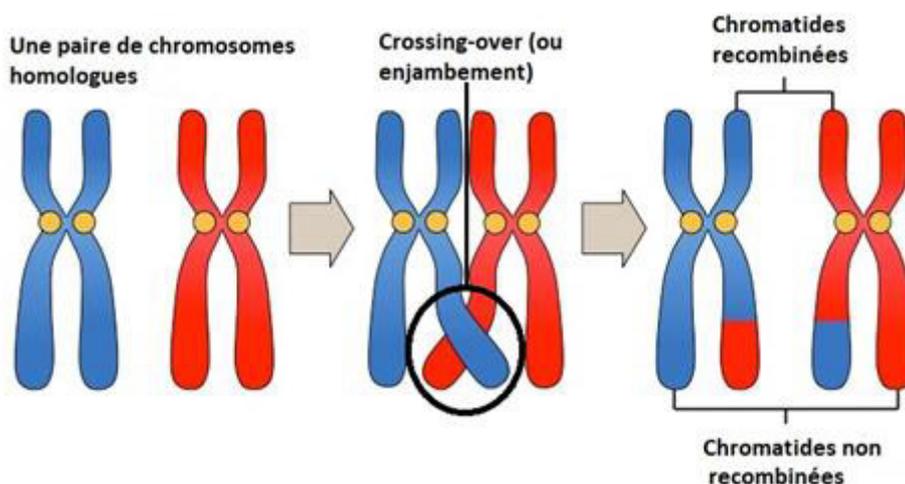
La méiose est une division cellulaire spécialisée qui permet chez les organismes à reproduction sexuée de former des cellules haploïdes à partir de cellules diploïdes. Ceci est réalisé par un cycle cellulaire constitué d'une phase de réplication de l'ADN suivi par deux divisions.

La ségrégation réductionnelle des chromosomes lors de la première division de méiose nécessite l'établissement de connections entre chromosomes homologues. Celles-ci sont établies pendant la prophase de la première division par recombinaison homologue qui génère des échanges réciproques, appelés crossing over, entre homologues.

## 2. Les brassages chromosomiques chez les organismes diploïdes

### 2.1 Le brassage intrachromosomique

il brasse les allèles contenus dans une même paire de chromosomes: on dit que les gènes sont liés. Il dépend des crossing-over qui ont lieu entre deux chromatides des 4 chromatides constitutives d'une paire de chromosomes homologues lors de la prophase 1. Ces crossing-over permettent l'échange de portions de chromatides au sein d'une même paire d'homologues.



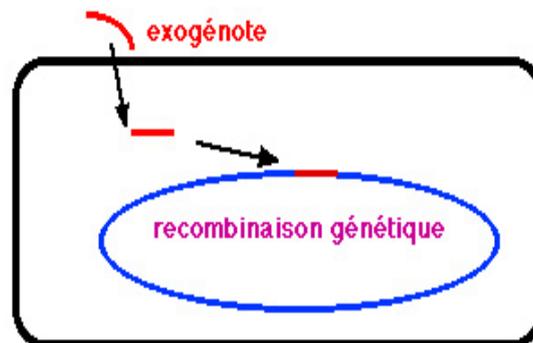
**Figure 1.** Le brassage intra-chromosomique par crossing-over en prophase 1 de méiose.

## 2.1 Le brassage interchromosomique

Comme son nom l'indique, le brassage interchromosomique brasse les allèles des gènes situés sur des paires de chromosomes différents. On dit que ces gènes sont indépendants. Ce brassage est préparé en métaphase 1 de méiose et s'effectue en anaphase 1 de méiose lorsque les paires d'homologues se séparent.

## 3. Les brassages chromosomiques chez les organismes haploïdes

Chez les micro organismes qui sont des organismes haploïdes, qui se reproduisent par division binaire. Il existe plusieurs modes de transfert génétique au cours desquels un ADN pénètre dans une cellule réceptrice et peut s'intégrer au génome de celle-ci après appariement et combinaison d'un segment puis élimination des fragments nucléotidiques mono chaîne excédentaire. Les modifications produites sont ainsi fixées et transmises dans la descendance.



**Figure 2.** Recombinaison des gènes chez les organismes haploïdes.

## 4. Intérêt de la recombinaison en biotechnologie

En biotechnologie la recombinaison permet essentiellement la formation de nouvelles associations de molécules d'ADN impliquant la coupure et la ligature de l'ADN par des enzymes, pour:

- Améliorer les ressources vivantes naturelles par des interventions rationnelles sur leur code génétique.
- Soigner les maladies causées par des anomalies génétiques «thérapie génique»

Mettre au point des produits pharmaceutiques.