

Université Frères MENTOURI Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

Master en : Biotechnologie et Génomique Végétale

Cours de : Génomique Végétale

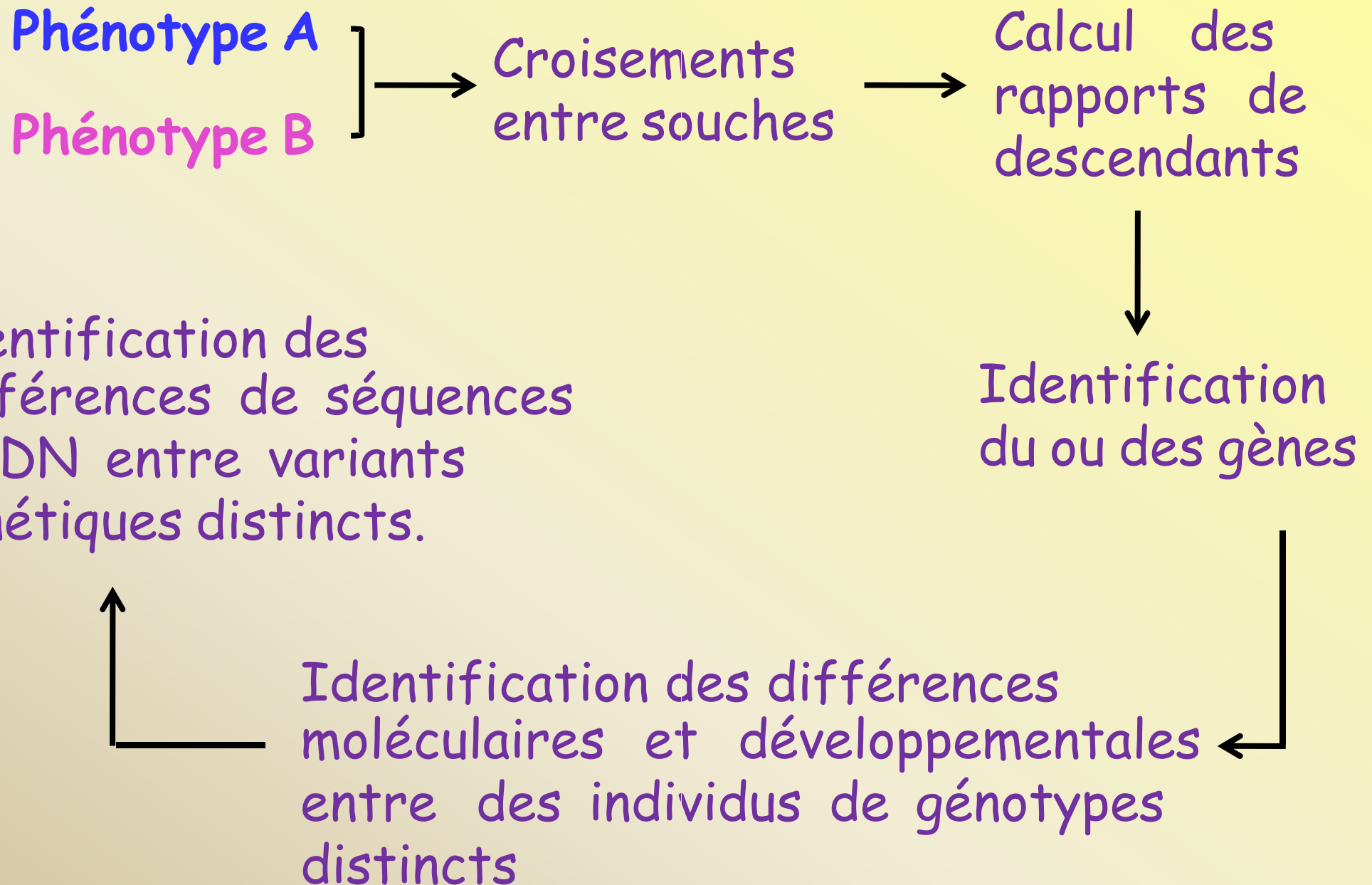
DE LA GÉNÉTIQUE
À LA GÉNOMIQUE

Notion de Génétique Directe VS Inverse

La génétique directe : C'est l'étude génétique qui commence par l'observation d'une variation visible dans la morphologie ou la physiologie - c'est-à-dire d'un phénotype variant.

Elle commence par la recherche d'une différence génétique qui provoque une différence phénotypique.

Notion de Génétique Directe VS Inverse



Notion de Génétique Directe VS Inverse

Avec le développement de notre connaissance de l'ADN et de la façon dont il code l'information de la séquence d'acides aminés des protéines ainsi que le contrôle cellulaire de la production de celles-ci, une autre forme d'étude génétique devient possible :

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

Notion de Génétique Directe VS Inverse

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

Au contraire, le programme de génétique inverse débute par des changements génétique connus et par la recherche des modifications qui en résultent dans l'organisme.

Notion de Génétique Directe VS Inverse

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

Une analyse par génétique inverse est basée sur l'utilisation d'une séquence normale d'ADN. En insérant une mutation dans l'ADN (ou en le comparant avec l'ADN d'autre génomes), on peut analyser la fonction de la séquence d'ADN.

Notion de Génétique Directe VS Inverse

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

À l'aide d'une séquence normale d'ADN, on peut lire la séquence d'acides aminés de la protéine synthétisée (correspondance code d'ADN/ aa codés).

L'ADN peut ensuite être modifié de façon spécifique,

Aboutit à un blocage total de la production de la protéine ou à un changement de la protéine,

(modification ou suppression de son activité métabolique).

Notion de Génétique Directe VS Inverse

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

Les conséquences d'une telle mutation complète (knockout) sur le développement du phénotype peuvent ensuite être suivies de la même façon que les effets mutationnels dans le programme de génétique directe.

Notion de Génétique Directe VS Inverse

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

L'un des avantages du programme inverse est qu'il permet la création sur mesure d'un grand nombre de mutations spécifiques.

Au lieu de cela, on utilise l'information déjà disponible sur les divergences des génomes de différentes espèces apparentées.

Notion de Génétique Directe VS Inverse

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

Sachant que les génomes des deux espèces ont été séquencés et que l'on a observé une très faible différence entre les deux.

De nombreuses méthodologies différentes sont utilisées pour étudier les gènes et leurs activités :

Notion de Génétique Directe VS Inverse

L'Etude basée sur l'ADN : LA GÉNÉTIQUE INVERSE

- * L'isolement des mutations affectant le processus biologique en cours d'étude ;
- * L'analyse des descendants d'unions contrôlées (croisements) entre des mutants et des individus de type sauvage ou d'autres variants discontinus ;
- * L'analyse génétique des processus biochimiques de la cellule ;
- * L'analyse microscopique ;
- * L'analyse directe de l'ADN (Clonage).

Notion de Génétique Directe VS Inverse

Les génomes complets de nombreux organismes ont été séquencés grâce aux applications des techniques citées ci-dessus, ce qui a donné lieu à une nouvelle discipline au sein de la génétique, appelée **GÉNOMIQUE**.

Il s'agit de l'étude de **la structure**, de **la fonction** et de l'évolution des génomes considérés dans leur intégralité.

La génomique comprend également **la bioinformatique**, qui est l'analyse mathématique des informations contenues dans les génomes.

Génomique

La **génomique** se définit comme l'étude exhaustive des gènes :

localisation au sein du génome (établissement de cartes génétiques et physiques),

Séquençage,

identification de leur fonction biologique (en particulier par le biais de l'étude physiologique de mutants),

et variabilité au sein des individus d'une même espèce.

Génomique Végétale

Elle permet d'identifier ce que l'on peut appeler des « **gènes d'intérêt** » : intervenant dans la résistance aux pathogènes (virus, bactéries, champignons), la qualité (saveur des fruits et des légumes, composition en acides gras ou en vitamines, qualité boulangère...),

mais également dans les performances agronomiques (précocité, architecture, économies d'intrants, rendement...).

Génomique Végétale

Exploitant la diversité existant entre tous les individus d'une même espèce et les formes sauvages apparentées,

la génomique permet d'approfondir notre connaissance des principales voies métaboliques dans les plantes et de rationaliser la sélection de nouvelles variétés en combinant les caractères les plus « **performants** » dans des génotypes élites.

Complexité des génomes des plantes

La diversité du règne végétal reflète la grande complexité des génomes des plantes :
taille parfois considérable,
duplications partielles ou complètes,
addition de génomes issus d'espèces apparentées,
fruits d'une évolution naturelle depuis des millions d'années
mais aussi des différentes formes de sélection (domestication) pratiquées par l'homme au cours des siècles.

Complexité des génomes des plantes

Tout ceci nécessite la mise en place de méthodes et d'outils spécifiques.

Les chercheurs ont choisi de travailler sur des espèces dites « modèles », à génome de taille relativement réduite, comme l'arabette (*Arabidopsis thaliana*) et le riz.

Complexité des génomes des plantes

L'intégration des données obtenues sur ces espèces modèles et leur extrapolation à l'étude des espèces d'intérêt agronomique, comme le blé, le maïs ou le colza, imposent l'utilisation de techniques de biologie moléculaire à haut débit et le développement d'outils bioinformatiques puissants.

Complexité des génomes des plantes

Les enjeux scientifiques, techniques et économiques liés à la génomique et à ses applications dans les filières biotechnologiques et bio-industrielles nécessitent des moyens humains et financiers considérables, pour permettre l'exploration à grande échelle de populations de molécules, d'échantillons ou d'individus entiers.

Spécificité des génomes des plantes

Les génomes des plantes contiennent plusieurs classes de gènes qui sont **absents** ou **sous-représentés** chez les animaux.

Par exemple, les gènes codant pour :

- * les enzymes de biosynthèse de la paroi cellulaire
- * les protéines de transport des nutriments
- * les protéines spécifiques de la photosynthèse : **antennes, transport des électrons, RuBisCO, ...**
- * les produits impliqués dans la turgescence et les réponses à différents stress
- * des gènes de résistance aux pathogènes, très polymorphes et disséminés dans tout le génome.

Spécificité des génomes des plantes

Les classes de **gènes communs** aux plantes et aux animaux sont celles impliquées dans les mécanismes les plus généraux de la biologie d'une cellule :

- * la communication entre cellules
- * la régulation de la transcription
- * la transduction des signaux

Les projets de séquençage de génomes de plantes portent sur un très grand nombre d'espèces.

Génomique Végétale

1. La génomique structurale

La **génomique structurale** se concentre sur l'organisation physique du génome sous forme de chromosomes portant des séquences de types divers, parmi lesquelles les gènes constituent la cible principale des recherches.

2. La génomique fonctionnelle

La **génomique fonctionnelle** vise à caractériser l'expression du génome et son intégration dans l'élaboration des grandes fonctions métaboliques.

1. La génomique structurale

- la cartographie physique du génome
- le séquençage systématique du génome

2. La génomique fonctionnelle

- la mutagénèse insertionnelle
- le séquençage partiel de gènes exprimés
(Expressed Sequence Tags ou EST)
- * la transformation génétique
- * l'évaluation fine du matériel transformé

1. La génomique structurale

- la cartographie physique du génome

Consiste à construire une réplique d'un génome entier sous la forme de grands fragments d'ADN clonés (à l'intérieur des bactéries dans le cas des clones BAC, **Bacterial Artificial Chromosome**), et ordonnés les uns par rapport aux autres.

1. La génomique structurale

- la cartographie physique du génome

Cette cartographie sert en particulier à traduire une carte génétique - qui localise des zones du génome impliquées dans l'expression de caractères particuliers- en fragments d'ADN qui contiennent les gènes contrôlant ces caractères.

1. La génomique structurale

- la cartographie physique du génome

Elle trouve son application typique avec le clonage positionnel "Synténie et marche chromosomique" des gènes d'intérêt agronomique.

Elle sert également à récupérer la version complète de gènes détectés au moyen de leur séquence transcrite, les EST ;

1. La génomique structurale

- le séquençage systématique du génome

Donne accès à tous les gènes qui font une plante, c'est -à- dire entre 20 et 50.000.

Ce type d'information est produit sur quelques plantes modèles par de grands groupes industriels ou des réseaux de laboratoires, à l'exemple de l'*Arabidopsis* et du riz.

2. La génomique fonctionnelle

- la mutagénèse insertionnelle

Permet de créer des mutants en insérant au hasard, dans le génome, un segment d'ADN repérable.

Lorsque celui-ci s'intègre dans un gène, il en altère la fonction et provoque la modification du caractère correspondant donc une mutation.

2. La génomique fonctionnelle

- la mutagénèse insertionnelle

Le gène muté est localisé grâce à l'élément inséré, et sa fonction est identifiée grâce au caractère affecté.

Cette technique est développée sur différentes plantes modèles (*Arabidopsis*, *Medicago truncatula* et le riz).

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

Permet la caractérisation de "patrons" d'expression du génome.

L'analyse des ARN extraits sur certains organes de plantes cultivées, dans des conditions données et à un moment donné, permet d'obtenir une image de l'ensemble des gènes qui s'expriment dans ces conditions.

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

En fonction de caractéristiques de séquence ou de patrons d'expression, on pourra attribuer à certains de ces EST une fonction hypothétique qui en fera des "gènes candidats".

Ceci est actuellement développé sur les plantes modèles et commence à s'étendre aux principales plantes d'intérêt agronomique.

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

La caractérisation des fonctions précises des gènes candidats, identifiés grâce aux approches de la génomique, fait intervenir plusieurs étapes :

* la transformation génétique

Permet de tester l'effet d'un gène ou d'une séquence candidate sur le phénotype d'une plante,

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

* la transformation génétique

Grâce à son insertion au sein du génome et/ou à la modification de son expression dans la plante ;

* l'évaluation fine du matériel transformé est nécessaire pour apprécier toutes les facettes de la fonction d'un gène.

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

- * l'évaluation fine du matériel transformé

L'analyse des séquences d'ADN et de la structure des génomes ne permet pas d'associer directement une fonction à un gène.

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

* l'évaluation fine du matériel transformé

En d'autres termes, on ne peut pas inférer ce gène à :

un ARN qui en est le produit d'expression

dans le cas d'un ARN messenger, à la fonction de la (ou des) protéine(s) pour laquelle (lesquelles) cet ARN messenger code

Par ailleurs, tous les gènes ne s'expriment pas simultanément, ni au même taux.

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

* l'évaluation fine du matériel transformé

Elle met en jeu des outils de biologie cellulaire et moléculaire et de physiologie.

Ces technologies conduisent à : développer des ponts entre les génomes.

la conservation au fil de l'évolution de certains éléments de l'organisation générale des génomes, (conservation de la "synténie"),

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

* l'évaluation fine du matériel transformé

La colinéarité entre les chromosomes homologues, permet des transferts d'information entre plusieurs espèces.

C'est toute une dynamique collective que la génomique produit, rapprochant les équipes auparavant spécialisées sur des plantes cultivées différentes.

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

=> Chez les Procaryotes, le niveau de transcription des gènes est contrôlé par la phase du cycle de division cellulaire et par l'incidence de l'environnement sur la cellule.

=> Chez les Eucaryotes, chaque type de cellule est caractérisé par la transcription de certains gènes qui lui sont propres et qui lui confèrent ses propriétés biologiques.

2. La génomique fonctionnelle

- le séquençage partiel de gènes exprimés

⇒ La **compartimentation** de la cellule Eucaryote est un élément capital en génomique :

Les produits de certains gènes, les protéines, sont adressés spécifiquement à tel ou tel compartiment.

Dans le cas d'un ARN messenger, déterminer quand et comment (régulation de la traduction) celui-ci est traduit en protéine est un point capital pour associer un gène à une **fonction biologique**. => C'est la finalité de la **protéomique**.

Objectifs de la *Génomique Végétale*

En conséquence, afin de déterminer la fonction des ARN et des protéines associés à ces gènes, la génomique fonctionnelle analyse :

⇒ le **transcriptome** : les produits de la transcription des gènes, les ARN ;

⇒ le **protéome** : l'ensemble des protéines synthétisées (traduites) à partir des ARN messagers.

Objectifs de la *Génomique Végétale*

La génomique vise à caractériser la fonction des milliers de gènes et à comprendre, grâce à des approches globales (**transcriptome** : étude globale de l'expression du génome ; **protéome** : complément **PROTE**ique du gén**OME** ; **métabolome** : complément en **MÉTABOL**ites du gén**OME**), les réseaux d'interaction entre eux en réponse à divers stress abiotiques (e.g., sécheresse) ou biotiques (e.g., attaque par un champignon phytophagène).

Objectifs de la Génomique Végétale

L'analyse fonctionnelle du génome de plantes modèles (*Arabidopsis*, riz), au développement des outils pour la génomique végétale (transcriptomique, protéomique, métabolomique, bioinformatique, production de lignées mutantes, production de populations recombinantes)

Objectifs de la *Génomique Végétale*

et à l'identification de gènes d'importance agronomique majeure détectés chez diverses espèces (Cibles importantes dans les génomes des plantes cultivées), travaillent sur quatre axes de recherche :

- l'analyse structurale du génome des plantes,
- la recherche des gènes impliqués dans la résistance aux maladies,

Objectifs de la Génomique Végétale

- les caractéristiques agronomiques (e.g., tolérance au stress hydrique, composants moléculaires du rendement), et
- les caractéristiques de qualité du produit fini (e.g., gènes du blé qui influent positivement sur la qualité du pain).

Vers l'élaboration de nouvelles ressources biologiques et moléculaires et d'outils de génomique.

Objectifs de la Génomique fonctionnelle

La génomique fonctionnelle a pour principaux buts de déterminer :

- le moment dans le cycle cellulaire où un gène est transcrit (appelé expression d'un gène) ;
- les conditions environnementales liées à la transcription ou la non-transcription d'un gène ;
- l'intensité (nombre de copies du ou des transcrits) avec laquelle ce gène est transcrit ;

Objectifs de la Génomique fonctionnelle

- le compartiment cellulaire où un gène est transcrit (ADN nucléaire, mitochondrial, chloroplastique) ;
- le compartiment cellulaire où est adressé le (ou les) produit(s) de la transcription d'un gène ;
- les interactions que le produit d'un gène peut établir avec d'autres produits de gènes et/ou d'autres types de molécules (*interactomique*). Ce type d'analyse débouche sur la construction de réseaux d'interactions ("*interaction networks*") ;

Objectifs de la *Génomique fonctionnelle*

- si le produit est un ARN, le rôle qu'il peut avoir dans la régulation post-transcriptionnelle (interférence ARN) ;
- si le produit intermédiaire est un ARN messenger et le produit final est donc une protéine, le rôle que cette protéine peut avoir dans une voie métabolique et/ou dans la régulation de cette voie métabolique.

...

Objectifs de la Génomique Végétale

La bioinformatique est une science nouvelle, se fondant sur le séquençage massif, récent, du génome de plusieurs organismes procaryotes et eucaryotes, dont celui des plantes supérieures (*Arabidopsis*, riz).

Sa mission est double :

1/ Annoter le génome des plantes.

2/ Mettre en place des bases de données regroupant des informations structurales sur les gènes et les génomes et leur expression dans des contextes physiologiques.

Objectifs de la Génomique Végétale

1/ Annoter le génome des plantes.

L'un des enjeux majeur est de comprendre la structure des gènes (détermination des séquences promotrices gouvernant l'expression et la régulation des gènes, des séquences codantes dictant la synthèse des protéines impliquées dans l'activité cellulaire).

Objectifs de la *Génomique Végétale*

1/ Annoter le génome des plantes.

Un autre enjeu de cette annotation est de comprendre la fonction des gènes.

Il ressort en effet que près de 50 % des gènes prédits par le séquençage du génome d'*Arabidopsis* ont une fonction inconnue.

Objectifs de la *Génomique Végétale*

2/ Mettre en place des bases de données regroupant des informations structurales sur les gènes et les génomes et leur expression dans des contextes physiologiques.

Ces bases de données constituent l'un des outils majeurs, via la *génomique comparative*, pour repérer des gènes jouant un rôle dans le développement ou en réponse aux stress biotiques et abiotiques.

Champs d'application de la *Génomique Fonctionnelle*

La *génomique fonctionnelle* permet :

- d'identifier les éléments constitutifs d'un gène (introns, exons, séquences de régulation de la transcription, ...);
- d'identifier les régions des génomes dont on ignore encore le rôle et élucider ce rôle ;
- d'étudier les différences de transcription des gènes dans le temps et pour chaque type de tissus et de cellules ;

Champs d'application de la *Génomique Fonctionnelle*

- d'étudier les différences d'activité biologique des produits des gènes dans le temps et pour chaque type de tissus, de cellules, de compartiments sub-cellulaires ;
- d'apporter des éléments qui contribuent à déterminer la fonction des ARN et des protéines pour lesquelles les gènes codent ;

Champs d'application de la *Génomique Fonctionnelle*

- d'intégrer toutes ces informations dans un ensemble plus vaste, celui du métabolisme (**métabolome**) en décrivant les interactions entre tous ces types de macromolécules biologiques (**interactome**);
- d'obtenir ces données pour le plus grand nombre d'organismes possibles. Aller à "**GOLD : Genomes OnLine Database**".

Impact des nouvelles techniques de séquençage en masse

Les nouvelles techniques de séquençage en masse (ou massivement parallèles ou à très haut débit) ont encore élargi le champs d'investigation de la génomique fonctionnelle. On peut citer :

- le séquençage de *novo* ou le reséquençage d'un génome connu ;
- l'étude de la variabilité génétique et du polymorphisme de nucléotide simple (*SNP*) ;
- le séquençage d'haplotypes particuliers lors du clonage positionnel d'un gène d'intérêt ;

Impact des nouvelles techniques de séquençage en masse

- l'étude de plus en plus fine du transcriptome :

1. identification de transcrits rares, étude des phénomènes d'épissage alternatif, identification des séquences frontières intron/exon, analyse quantitative du niveau de transcription des gènes ;

2. étude du profil en petits ARN non codants ("*small ncRNAs*"), découverte de gènes codant ces types d'ARN ;

- l'étude des interactions ADN / protéines (régulation de la transcription, facteurs de transcription, ...)

- la génomique médicale ;

Impact des nouvelles techniques de séquençage en masse

- la génomique comparative qui compare la structure et les fonctions des génomes de différentes espèces (organisation et évolution des génomes) ;
- la métagénomique : étude du génome d'un organisme prélevé directement dans un environnement complexe (intestin, océan, sols, ...), à l'inverse d'un organisme de laboratoire. Le but est d'obtenir des informations sur l'incidence de cet environnement. Le préfixe "méta" signifie "après, au-delà de, avec, ...". Aller à : "*Metagenomics at EBI*".

Impact des nouvelles techniques de séquençage en masse

- l'épigénétique et l'épigénomique : étude de l'influence de l'environnement et de l'histoire individuelle sur les modifications de l'expression des gènes d'une génération à l'autre. Le préfixe "épi" signifie "sur, au-dessus, ..." ;
- l'étude du profil de méthylation (processus épigénétique).

Conclusion

Le "matériau" de base de la génomique est l'ensemble des séquences d'acides nucléiques et des séquences polypeptidiques obtenues par différentes méthodes de séquençage.

Ces séquences et d'autres types d'informations qui découlent de leur analyse sont stockées dans des bases de données. L'accès aux bases de données s'effectue via le Web et Internet.

L'analyse de l'ensemble de ces données nécessitent des méthodes bioinformatiques.

Conclusion

La génomique structurale, la génomique fonctionnelle, la transcriptomique, la protéomique et la bioinformatique sont **des approches complémentaires.**

