

Université Frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Ecologie Végétale

Master Biotechnologie et Génomique végétale

**Réalisations et enjeux des
biotechnologies végétales**

Introduction

L'association américaine pour l'avancée de la science a reconnu que **le fait de pouvoir transférer des gènes** d'un organisme à un autre constitue l'une des quatre ***révolutions scientifiques*** majeures du XX^e siècle ;

Introduction

Les trois autres sont **la compréhension de la structure de l'atome,**
le fait de pouvoir échapper à la gravitation terrestre
et le développement d'ordinateurs sophistiqués.

Introduction

Les organismes génétiquement modifiés, végétaux, animaux et bactériens, ont fait leur apparition dans les années 1980.

En **2000**, plus de la moitié des cultures mondiales de **soja** et plus du tiers de celles de **maïs** provenaient de plantes génétiquement modifiées.

Introduction

Les produits dérivés de ces plantes entrent dans la composition de plusieurs centaines de produits alimentaires, dont des aliments pour animaux, des céréales, de l'huile de cuisine, des sirops et des boissons non alcoolisées.

Introduction

Le génie génétique a simplement pour but de transférer aux plantes des gènes d'organismes variés pour leur conférer des caractéristiques utiles qu'elles ne possédaient pas.

Méthodes utilisées pour insérer des gènes dans les cellules végétales

Une fois qu'un gène est cloné, l'étape suivante dans la production d'une plante transgénique consiste à l'insérer dans les cellules de la plante.

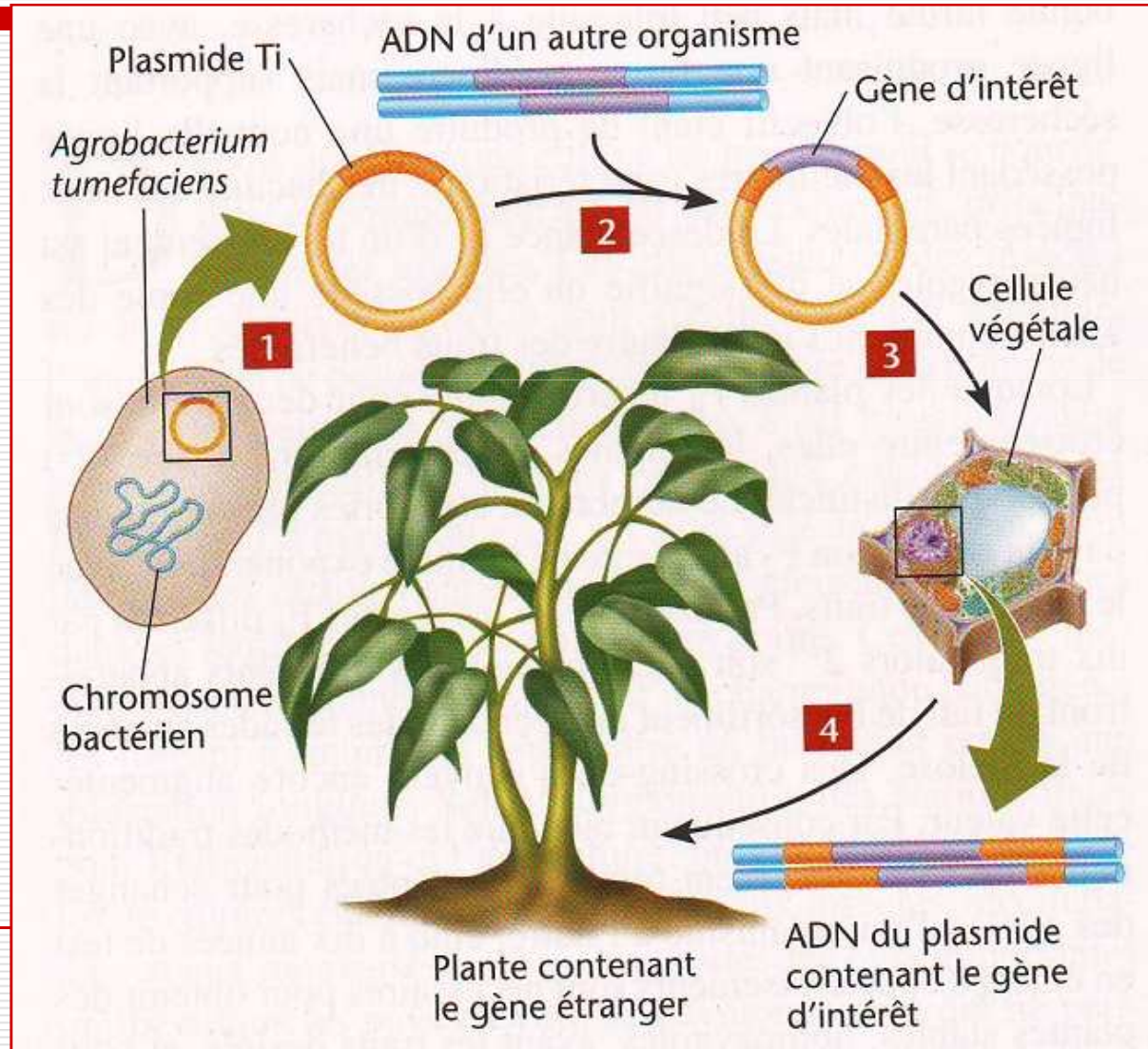
Lorsque le plasmide *Ti* est utilisé comme vecteur, cette étape peut être conduite de deux manières.

Méthodes utilisées pour insérer des gènes dans les cellules végétales

La première consiste à réintroduire le plasmide *Ti* recombinant dans *A. tumefaciens*, la bactérie qui porte naturellement le plasmide *Ti*, et d'inoculer les bactéries aux cellules végétales.

L'autre manière consiste à introduire directement le plasmide recombinant dans ces cellules.

Méthodes utilisées pour insérer des gènes dans les cellules végétales



Méthodes utilisées pour insérer des gènes dans les cellules végétales

Dans les deux cas, une portion du plasmide contenant le gène d'intérêt s'intégrera aux chromosomes des cellules.

Le plasmide *Ti* fonctionne bien avec des plantes naturellement sensibles à *A. tumefaciens*, comme les dicotylédones, ce qui n'est pas le cas des monocotylédones.

Méthodes utilisées pour insérer des gènes dans les cellules végétales

Bien que des souches modifiées de la bactérie aient été conçues récemment pour faciliter l'infection des monocotylédones, d'autres méthodes peuvent être également employées pour introduire des gènes étrangers dans le génome des plantes.

Le canon à particules

Des plantes transgéniques sont parfois obtenues en « tirant » sur des cellules végétales à l'aide d'un canon à particules.

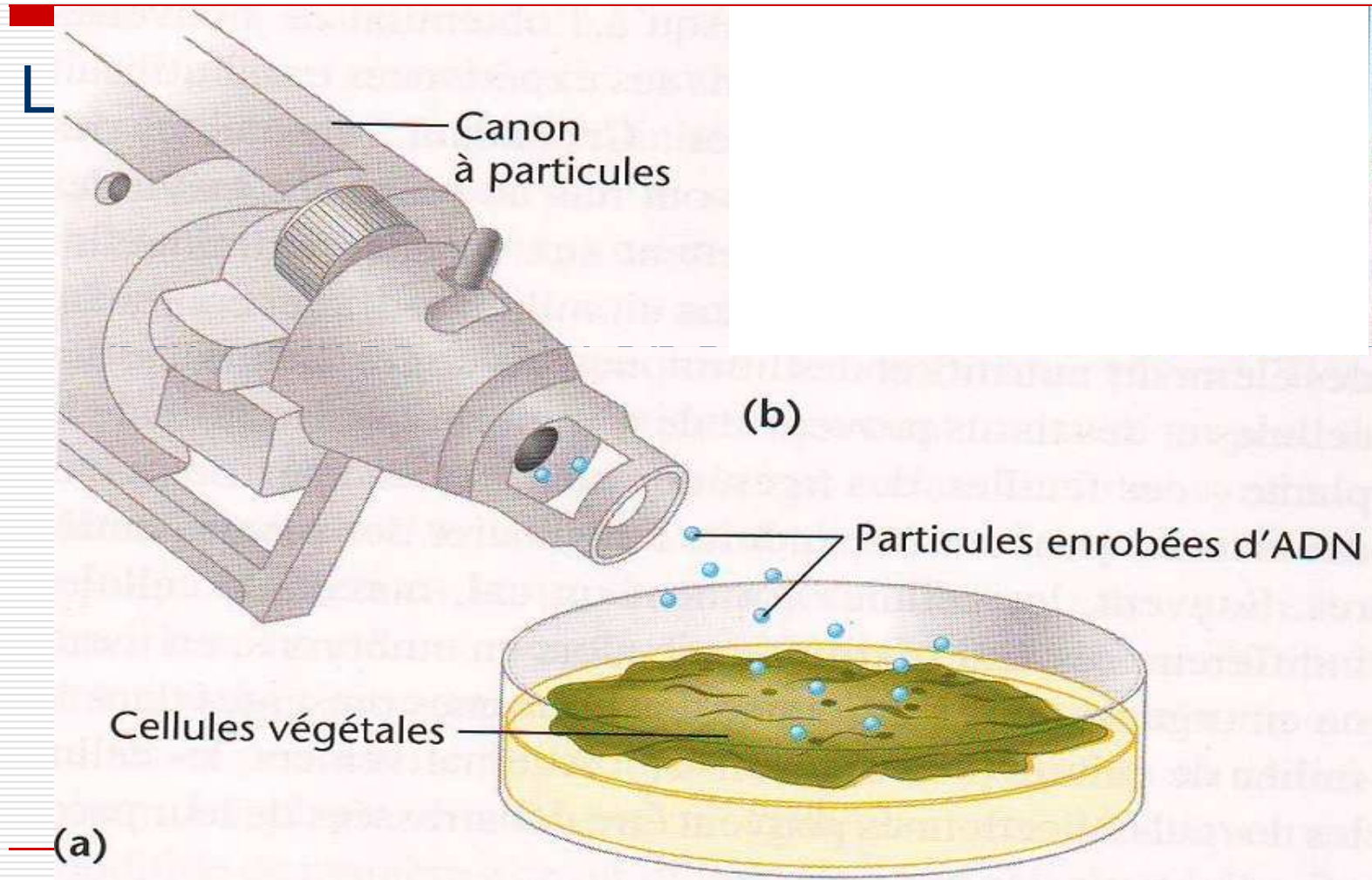
Les cibles sont souvent des cellules en culture, ou des protoplastes.

Des cellules de méristèmes apicaux de plantes en croissance peuvent également servir de cibles.

Le canon à particules

Le canon est pointé sur les cellules, puis mis à feu, ce qui entraîne le mouvement d'un macroprojectile, porteur de particules enrobées d'ADN, qui est immédiatement arrêté par un butoir perforé.

Le canon à particules



is
nt
de
st
oir

Le canon à particules

Les particules enrobées d'ADN sont alors éjectées du macroprojectile, propulsées à travers la perforation du butoir et pénètrent dans les cellules.

Si un nombre suffisant de copies du gène d'intérêt est introduit dans les cellules, une ou plusieurs d'entre elles s'intégreront aux chromosomes par crossingover.

Le canon à particules

L'utilisation du canon à particules est une approche « forcée » qui repose sur une technologie relativement peu sophistiquée n'étant pas toujours couronnée de succès.

L'électroporation

Dans la technique d' électroporation, une brève impulsion de courant électrique est appliquée à une solution contenant des cellules ainsi que des copies d'ADN du gène d'intérêt.

Le courant électrique crée de minuscules pores dans la membrane plasmique permettant à l'ADN de pénétrer dans les cellules.

Si l'une des copies d'ADN entre dans le noyau, elle pourra être intégrée à un chromosome par recombinaison.

L'électroporation

L'électroporation est une autre approche « forcée » efficace en raison du très grand nombre de cellules traitées simultanément.

Si un gène conférant une résistance à un herbicide et un gène d'intérêt fusionnent, l'emploi d'un herbicide permettra d'éliminer la plupart des cellules qui n'auront pas incorporé le gène.

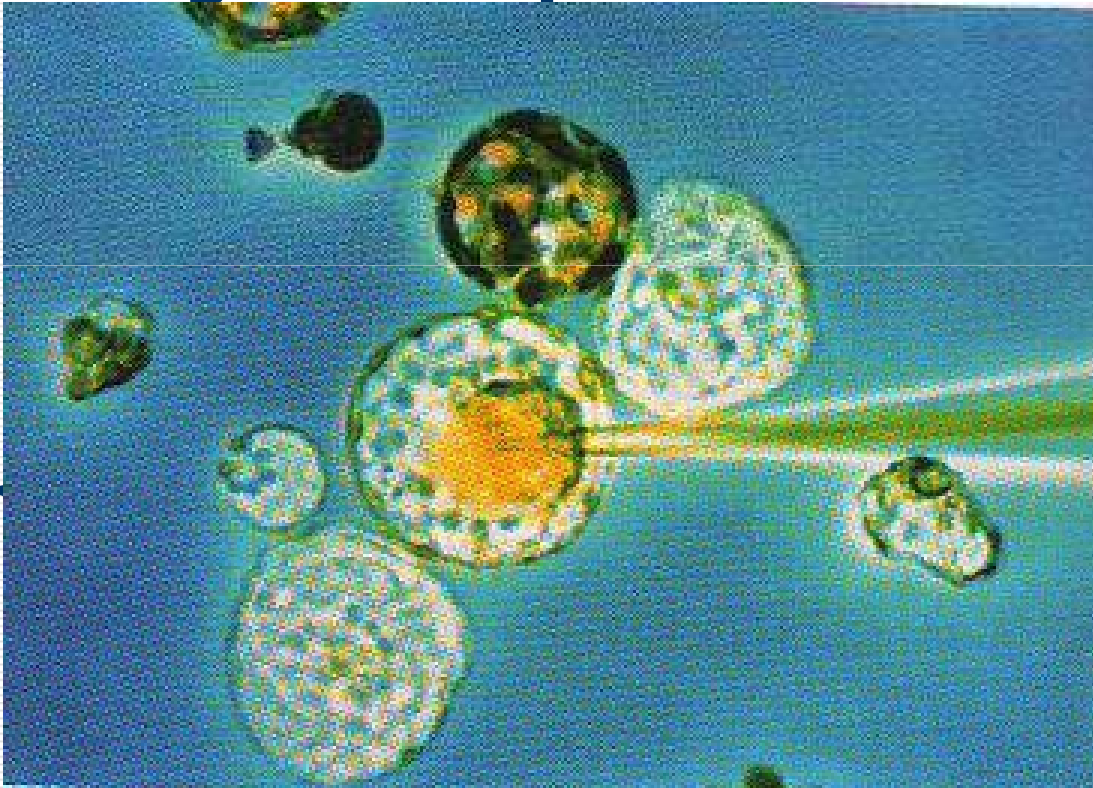
La microinjection

Des gènes peuvent être injectés directement dans des protoplastes, et même dans des noyaux, grâce à une très fine aiguille que l'on manipule dans le champ d'un microscope.

Une micropipette exerçant une succion est généralement employée pour maintenir le protoplaste afin qu'il ne soit pas repoussé par l'aiguille.

La microinjection

Des gènes peuvent être injectés



protoplastes, et grâce à une fine manipule micropipette.

Un

une succion exercée pour empêcher qu'il ne se casse.

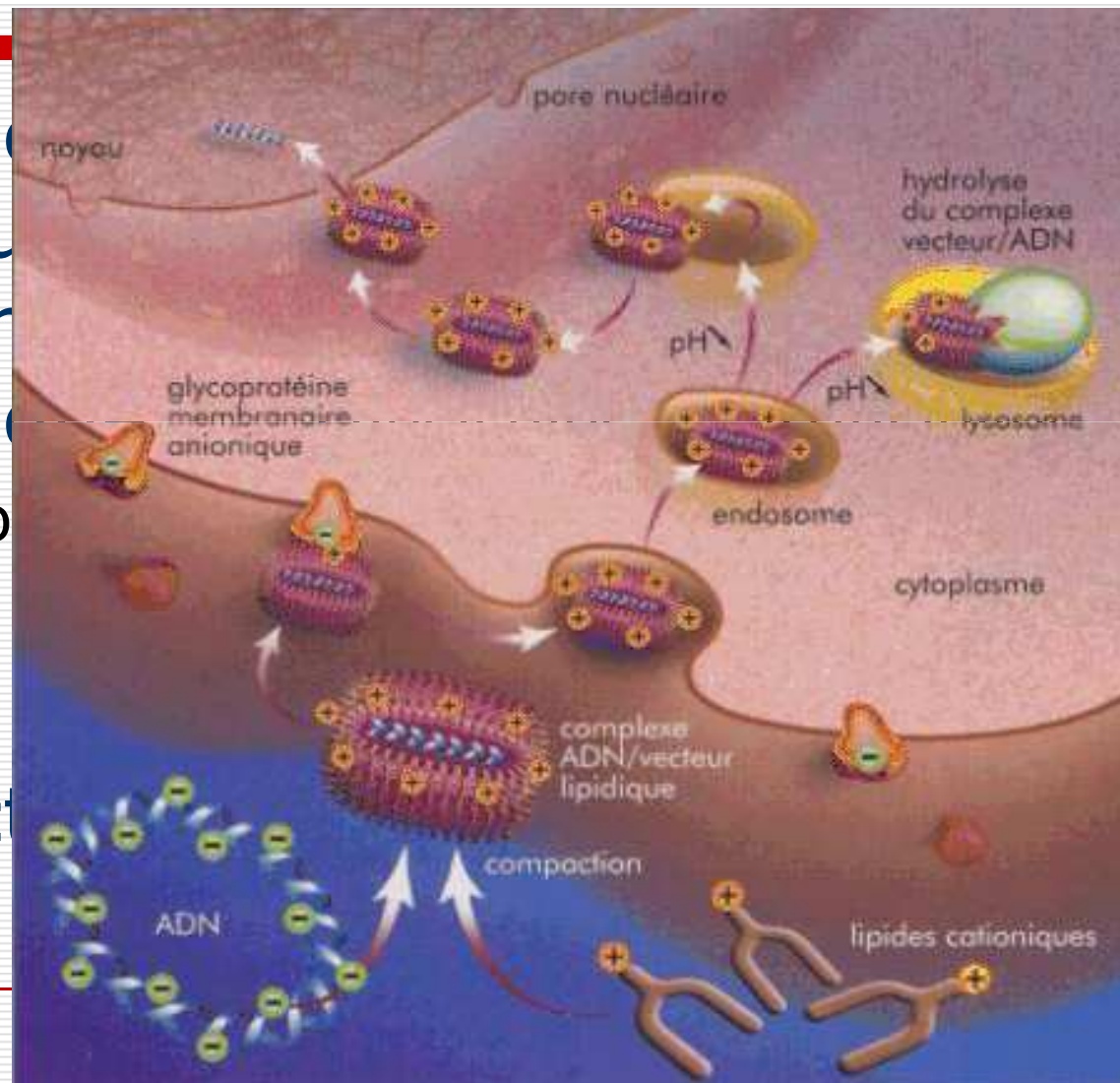
Les liposomes

Les liposomes sont des petites sphères lipidiques qui peuvent facilement fusionner avec la membrane plasmique. (vésicules artificielles de phospholipides encapsulant l'ADN à transférer)

Une fois remplis de multiples copies du gène d'intérêt, ils sont placés en contact étroit avec des protoplastes.

Les liposomes

Les liposomes sont des vésicules lipidiques qui fusionnent avec la membrane plasmique et libèrent l'ADN dans le cytoplasme. Une fois libéré, l'ADN peut entrer en contact avec le noyau.



res
ent
ane
de
er)
du
en
s.

Les liposomes

La fusion des liposomes et des protoplastes peut être facilitée en ajoutant du PEG ou d'autres agents chimiques.

La libération des gènes dans le cytosol ne garantit pas qu'ils pénètrent dans le noyau, ni qu'ils s'intègrent aux chromosomes.

Applications de la transgénèse végétale

Applications fondamentales

- Etude des promoteurs (35S, ubiquitine-1 et actine-1 ou promoteurs inductibles)
 - Etude de l'adressage des protéines
 - Recherche de la fonction des gènes par complémentation ou par modification de leur expression (sur ou sous (RNAi))
 - Production de banques de mutant d'insertions d'ADN-T FST : Flanking Sequence Tags
-

Applications de la transgénèse végétale

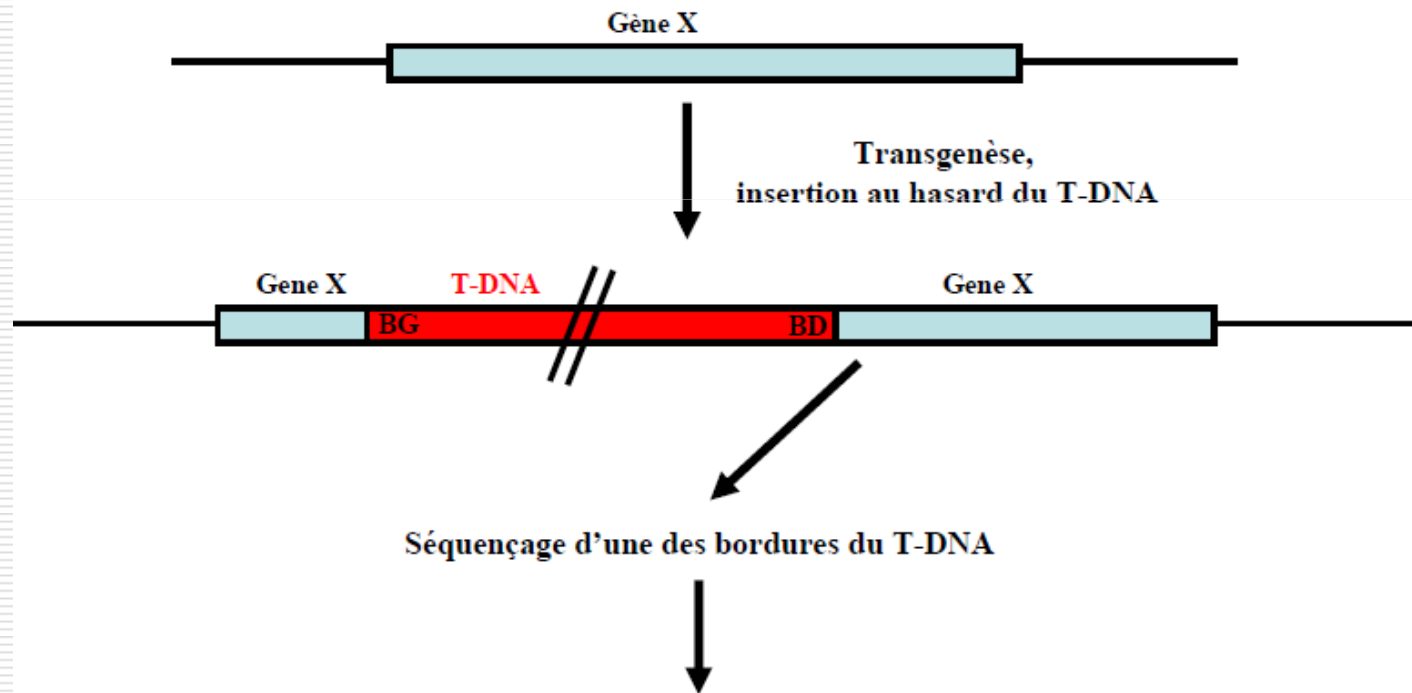
Applications fondamentales

- Indentification d'un mutant d'insertion dans un gène d'intérêt
-

Applications de la transgénèse végétale

A

Génération de banque de mutants d'insertion d'ADN de transfert



ertion

Localisation du T-DNA dans le gène X grâce à la connaissance de la séquence complète du génome

Applications de la transgénèse végétale

Applications agronomiques

- Résistance aux insectes (maïs *Bt*)
 - Résistance aux pathogènes (Tolérance aux virus "Protéine de capsid, Protéine de mouvement et ARN interférence")
 - Résistance aux herbicides Résistance à la phosphinotrycine (BASTA)
 - Tolérance aux stress abiotiques Salinité, acidité du sol, sécheresse, froid
-

Applications de la transgénèse végétale

Applications agronomiques

- Contrôle du mûrissement des fruits
Tomate, production d'éthylène (mûrissement)
Blocage des gènes de synthèse de l'éthylène

 - Amélioration des qualités nutritionnelles
-

Applications de la transgénèse végétale

- **Amélioration des qualités nutritionnelles**

- Intervention sur la composition en acides aminés des protéines de réserve des graines, pour améliorer leur saveur, ou bien leur qualité nutritive
 - Maïs, amidon (amylose/amylopectine), agents épaississants
 - Réduction des teneurs en nitrate
-

Applications de la transgenèse végétale

- **Amélioration des qualités nutritionnelles**

- Introduction de gènes codant pour des enzymes du métabolisme lipidique -> modifier la longueur de la chaîne des acides gras ou la position ou le nombre de doubles liaisons, améliorant ainsi la qualité des huiles, à usage alimentaire ou non.
 - **Riz doré (golden rice)** : carence en vitamine A (antioxydant), 400 millions de personnes (cécités, sensibilité accrue aux infections)
Introduction de 4 gènes -> synthèse de B-carotène (précurseur de la Vit A)
-

Applications de la transgénèse végétale

Applications Industrielles

- Industrie papetière, papier à partir de cellulose du bois, Présence de lignine
 - > très coûteux à éliminer et source de pollutions (Modifications qualitatives et quantitatives)
 - Les plantes transgéniques peuvent devenir productrices par exemple d'élastomères et plastiques biodégradables
 - Production de molécules d'intérêt pharmaceutique
-

Le génie génétique au service des plantes

Exemple des *planticorps*

Une combinaison de la physiologie animale et des biotechnologies végétales a abouti à des plantes utilisant des anticorps pour échapper aux maladies.

Des cellules de souris sont induites à fabriquer des anticorps contre des toxines spécifiques produites par des organismes causant certaines maladies chez les plantes.

Le génie génétique au service des plantes

Exemple des *planticorps*

Les gènes codant ces anticorps sont isolés et incorporés dans les chromosomes des plantes.

Les plantes transgéniques obtenues peuvent produire elles-mêmes des anticorps (que l'on appelle « *planticorps* »).

Ces anticorps se lient à la toxine, l'inactivent et confèrent ainsi à ces plantes une résistance aux maladies.

Le génie génétique au service des plantes

Exemple gène anti-sénescence

Une lignée de riz transgénique obtenue en Chine contient un gène anti-sénescence.

Les plantes possédant ce gène accumulent de l'amidon dans leurs graines sur une période plus longue que ne le font les plantes normales.

En conséquence, le rendement de cette lignée dépasse de 40 % celui du riz normal.

Le génie génétique au service des plantes

Exemple système TERMINATOR

Utilisation de plantes transformées stériles

STRATEGIE: tuer uniquement l'embryon, laissant intact les autres composants importants des graines comme les huiles et les protéines;

I : Production d'un répresseur

II : En absence d'inducteur, le répresseur réprime la production d'une recombinase

Le génie génétique au service des plantes

Exemple système TERMINATOR

Utilisation de plantes transformées stériles

- III :** En présence d'un inducteur,
- (i) production de la recombinase,
 - (ii) délétion du bloqueur situé entre le promoteur LEA (actif uniquement pendant la maturation des graines) et l'ORF d'un gène léthal,
 - (iii) production d'une toxine tuant l'embryon
-

Le génie génétique au service des plantes

Exemple système TERMINATOR

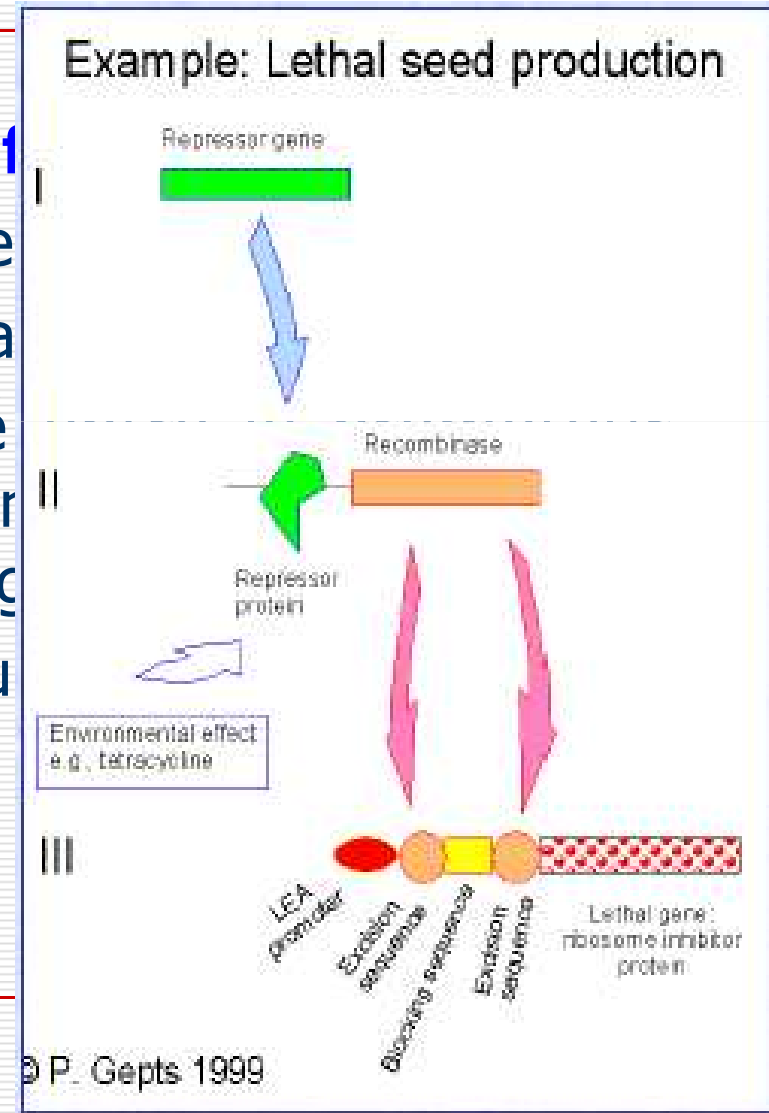
Utilisation de plantes transgéniques

III : En présence d'un inducteur

(i) production de la recombinaison

(ii) délétion du bloqueur situé en amont du gène LEA (actif uniquement pendant la germination des graines) et l'ORF d'un gène létal

(iii) production d'une toxine tuant les insectes



Plantes transgéniques et santé humaine

Des plantes génétiquement modifiées produisent désormais un certain nombre de protéines importantes pour la santé humaine.

Des alcaloïdes aux propriétés anticancéreuses sont fabriqués par des cellules végétales contenant des copies supplémentaires de gènes codant des enzymes clés de la biosynthèse des alcaloïdes.

Plantes transgéniques et santé humaine

Des cellules transgéniques de tabac synthétisent les deux chaînes polypeptidiques α et β de l'hémoglobine humaine.

Plantes transgéniques et santé humaine

Les pommes de terre ont été génétiquement modifiées (ainsi que des fruits comme les bananes) pour fabriquer des vaccins oraux contre une souche d'*E. coli* responsable de graves diarrhées.

Plantes transgéniques et santé humaine

En utilisant des méthodes similaires, des scientifiques ont réussi à stimuler la production d'anticorps antiragiques chez des souris et ainsi à accroître leur résistance au virus de la rage en leur faisant ingérer des feuilles d'épinards contenant des gènes viraux.

Plantes transgéniques et alimentation humaine

Les plantes peuvent aussi être modifiées pour produire des vitamines et accumuler des éléments minéraux faisant défaut dans l'alimentation humaine dans certaines régions du monde.

Plantes transgéniques et alimentation humaine

Des spécialistes du génie génétique ont induit la biosynthèse de la provitamine A dans l'albumen de riz, ce qui lui vaut son nom de riz doré.

Les scientifiques ont également utilisé le génie génétique pour accroître les teneurs en caroténoïdes, précurseurs de la vitamine A, des plantes dont sont extraites les huiles alimentaires.

Plantes transgéniques et alimentation humaine

Récemment, les scientifiques ont réussi à transférer au riz le gène du soja qui code la ferritine, une protéine fixatrice du fer.

Les plants de riz ainsi transformés peuvent accumuler jusqu'à trois fois plus de fer que les plantes normales.

Plantes transgéniques et alimentation humaine

Un autre avantage du riz génétiquement modifié est qu'il contient 20 % de protéines en plus que le riz normal, ce qui le rend utile pour prévenir les maladies causées par des carences sévères en protéines.

Commercialisation ralentie des OGM

Une amélioration génétique artificielle est longue à obtenir.

Il faut en effet beaucoup de temps pour qu'une nouvelle plante génétiquement modifiée utilise un gène bactérien pour produire une protéine dont la composition en acides aminés répond aux exigences nutritives de l'homme.

Commercialisation ralentie des OGM

Ensuite, plusieurs années de tests en champs et d'études nutritionnelles sont nécessaires avant que la plante puisse être considérée comme génétiquement stable, utile et sans danger.

Commercialisation ralentie des OGM

Le plus souvent, les tests en champs révèlent certains défauts qui demandent des ajustements et des changements mineurs retardant la commercialisation.

Par exemple, la nouvelle plante peut présenter une sensibilité accrue à l'égard d'un champignon pathogène donné, ou mal réagir aux périodes de sécheresse.

Finalement, il peut s'écouler au moins six ans entre le début des recherches pour la conception de la plante modifiée et sa disponibilité sur le marché.

Commercialisation ralentie des OGM

Cas du cotonnier OGM

En effet, les vêtements en coton se froissent plus facilement que les vêtements constitués d'un mélange de coton et de polyester.

Des spécialistes en génie génétique essaient de résoudre le problème en produisant des plants de coton capables de fabriquer du polyester en plus des fibres de coton.

Commercialisation ralentie des OGM

Cas du cotonnier OGM

Cependant, les plantes transgéniques qu'ils ont conçues jusqu'ici ne produisent pas suffisamment de polyester dans la capsule, ou le fruit, là où les fibres de coton sont fabriquées.

À l'évidence, il faudrait effectuer de plus amples recherches sur les mécanismes de régulation du gène de synthèse du polyester dans les différents tissus.

Commercialisation ralentie des OGM

Cas de la tomate Flavr Savr

En 1994, la tomate Flavr Savr fut la première plante génétiquement modifiée approuvée par l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments (FDA).

Commercialisation ralentie des OGM

Cas de la tomate Flavr Savr

Toutefois, elle fut retirée du marché quelques années plus tard car la récolte mécanisée et le matériel d'emballage endommageaient les fruits mûris sur pied.

Cette tomate était aussi moins résistante aux maladies. Elle présentait des rendements plus faibles que les tomates normales et était par conséquent plus chère.

Commercialisation ralentie des OGM

La poursuite des recherches et des concertations entre sélectionneurs et producteurs devrait permettre de surmonter ces difficultés et d'obtenir enfin une culture génétiquement modifiée qui tienne toutes ses promesses.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

L'introduction de gènes étrangers dans les plantes par le biais du génie génétique a soulevé des interrogations sur la nocivité de ces plantes et des aliments qu'elles produisent.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

Par exemple, on peut supposer qu'un vaccin oral produit par une plante génétiquement modifiée provoque une réaction allergique chez quelques personnes ayant consommé la plante,

ou encore que des gènes de résistance aux herbicides de plantes cultivées soient transférés aux mauvaises herbes.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

Le riz doré, un riz génétiquement modifié qui contient de fortes teneurs en vitamine A, a été largement critiqué à la fois du point de vue environnemental et du point de vue nutritionnel.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

En ce qui concerne la valeur nutritionnelle du riz doré, certains ont soutenu qu'il pourrait apporter trop de vitamine A dans l'alimentation des personnes qui se nourrissent surtout de riz, pouvant ainsi entraîner une toxicité.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

Des spécialistes de la nutrition soulignent que les personnes souffrant de malnutrition - qui absorbent peu de vitamines - manquent en général de plusieurs éléments nutritifs, en plus de la vitamine A.

D'autres esprits critiques affirment que le riz doré n'apporte pas assez de vitamine A.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

Ces critiques prétendent aussi que le riz doré ne s'imposerait pas dans l'alimentation si l'on consommait de nouveau du riz non poli, et si l'on cultivait d'autres variétés de plantes pour aboutir à une nutrition adéquate.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

En termes de sécurité environnementale, les critiques craignent que les gènes de résistance aux antibiotiques utilisés pour l'élaboration du riz doré puissent être transférés à des bactéries pathogènes de plantes et d'animaux.

Bien que de tels transferts soient peu probables, ils pourraient toutefois se produire, par exemple, dans l'appareil digestif des abeilles qui consomment le pollen de plantes transgéniques.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

Les cultures génétiquement modifiées permettent de nourrir beaucoup plus de monde que ne le feraient les cultures traditionnelles, pour autant qu'elles aient été minutieusement testées.

Danger des OGM pour l'environnement et les consommateurs

Bien évidemment, les aliments issus de plantes génétiquement modifiées doivent être minutieusement et soigneusement testés, avant que leur mise en culture soit approuvée.

Afin de s'assurer qu'ils ne transfèrent pas de gènes nuisibles à d'autres organismes, et qu'ils sont sans danger pour l'alimentation humaine.

Perspectives des biotechnologies végétales

Dans les vingt-cinq prochaines années, la production de riz devra augmenter de 50 % pour nourrir la population croissante de l'Asie.

Des augmentations similaires de la production de blé et de maïs seront également nécessaires.

Perspectives des biotechnologies végétales

Les producteurs sont donc très intéressés par des transferts de gènes conférant une plus grande productivité à des plantes cultivées qui ne possèdent pas ces gènes, mais qui ont des caractéristiques utiles, comme une résistance aux maladies ou une tolérance à la sécheresse.

Perspectives des biotechnologies végétales

Le futur des biotechnologies végétales passe par une meilleure connaissance de certains caractères,

en particulier ceux dépendant de gènes qui n'ont pas encore été identifiés et ceux qui sont contrôlés par de multiples gènes. Un tel exemple est celui de la fixation de l'azote.

De la génomique à la protéomique

Les gènes qui contrôlent de nombreux processus n'ont pas encore été identifiés et ne peuvent donc pas faire l'objet d'un transfert d'une plante à l'autre.

Ainsi, les biologistes sont très intéressés par la localisation et la détermination de la fonction de ces gènes.

De la génomique à la protéomique

Un jour viendra où les scientifiques seront en mesure de prévoir l'effet du changement d'un seul nucléotide sur la forme et l'action catalytique d'une protéine, et ses répercussions sur la structure et le fonctionnement de la plante.
