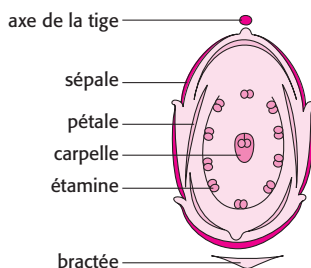


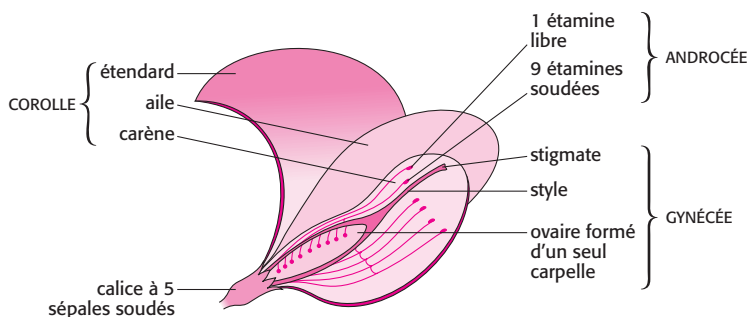
1 Les débuts de la génétique

C'est avec les travaux de Gregor Mendel vers la fin du XIX^e siècle que furent posées les bases de la génétique. L'hybridation chez les plantes a permis de comprendre comment les facteurs héréditaires sont transmis.

1. La reproduction sexuée des végétaux



9-1. Diagramme floral de la fleur de Pois.



9-2. Coupe longitudinale de la fleur de Pois.

Les fleurs présentent le plus souvent à la fois des étamines (qui produisent les grains de pollen) et un pistil. Certaines variétés de plantes peuvent s'autoféconder : le pollen produit par une fleur se dépose sur le stigmate de la même fleur; c'est le cas du pois (*Pisum sativum*). La réunion des gamètes haploïdes (*spermatozoïde* et *oosphère*) donne naissance à un œuf diploïde. La graine une fois formée, après développement de l'œuf, contient un nouvel individu.

2. Les travaux de Mendel et la ségrégation des facteurs héréditaires

- Le moine Gregor Mendel fut le premier à entreprendre des travaux rigoureux en étudiant la transmission des caractères (phénotype) de génération en génération. Il étudia l'hybridation chez le Pois et travailla sur 7 caractères : taille de la plante, position de la fleur, couleur des gousses, forme des gousses, aspect des graines, couleur des graines et couleur du tégument.
- Une fécondation croisée entre un pois dont la graine est lisse et un pois dont la graine est ridée donne une première génération F1 dont les graines sont toutes d'aspect lisse. Mendel nomma « dominant » ce caractère observé chez tous les individus de la génération F1.
- En laissant la génération F1 s'autoféconder, on constate, en F2, la réapparition des caractères parentaux en proportions 3/4 pour le caractère lisse et 1/4 pour le caractère ridé. Mendel qualifia ce dernier de « récessif ». Cette ségrégation indépendante d'un couple de caractères dominant et récessif constitue la première loi de Mendel.
- En réalisant un croisement en retour entre un plant de la génération F1 et un plant parental de phénotype ridé (récessif), les deux caractères se retrouvent en proportion égale à la génération suivante. Ceci est la deuxième loi de Mendel.

3. L'apport des lois de Mendel

À l'époque de Mendel, il était largement admis que les déterminants d'un caractère donné fusionnaient après la fécondation. Les travaux de Mendel montrent alors qu'il y a ségrégation des caractères; il introduit la notion d'hérédité particulière : l'hérédité s'applique à des particules unitaires définies et indépendantes. Les plants de la génération F1 possèdent l'information susceptible de donner naissance à des pois ridés ou lisses mais seul le caractère dominant s'exprime : ces individus sont *hétérozygotes*. Les plants ne présentant qu'un seul type d'information (allèle) pour un caractère donné (par exemple, les pois ridés) sont qualifiés d'*homozygotes*.

L'erreur classique à éviter

Ne pas confondre ovule et oosphère chez les végétaux. L'oosphère est le gamète femelle et l'ovule est une structure plus complexe regroupant plusieurs cellules.

2 La théorie chromosomique de l'hérédité

Ce n'est qu'au début du xx^e siècle que les travaux de Mendel furent enfin reconnus grâce à l'étude du comportement des chromosomes au sein des cellules. Cette théorie chromosomique de l'hérédité permet également d'expliquer les cas particuliers n'obéissant pas aux lois de Mendel.

1. Les expériences de Morgan et la notion de gène

- Une trentaine d'années après les découvertes de Mendel, trois botanistes (De Vries, Correns et Von Tschermak) retrouvent les mêmes résultats. Parallèlement à cela, les cytologistes étudient les mécanismes de la reproduction sexuée ; l'observation microscopique de cellules en méiose montre une ségrégation de chromosomes homologues. Ce comportement des chromosomes présente de nombreuses analogies avec la ségrégation des caractères héréditaires observée par Mendel. La théorie chromosomique de l'hérédité est alors proposée par Sutton et Boveri : les « unités » à l'origine des caractères sont portés par les chromosomes, qui, lors des divisions à l'origine des gamètes, sont ségrégés indépendamment les uns des autres.
- En 1909, Johannsen introduit le concept de *gène*, les notions de génotype et de phénotype. Le gène est alors une unité d'information à l'origine d'un caractère.
- De 1910 à 1920, des expériences de croisements de *Drosophiles* (Mouches du vinaigre) sont réalisées par l'équipe de Morgan. Dans la population de mouches, apparaissent des individus mutants mâles présentant des yeux blancs au lieu d'yeux rouges dans la souche sauvage.
- Le croisement d'un mâle mutant aux yeux blancs et d'une femelle de phénotype sauvage donne une génération F1 de phénotype sauvage. En croisant les individus de la F1 entre eux, on obtient, en F2, une répartition mendélienne des caractères. Cependant, 100 % des femelles présentent un phénotype sauvage et 50 % des mâles un phénotype mutant. Ces expériences ont permis de localiser le gène responsable sur le chromosome X uniquement (gène *white* noté w^+ pour l'allèle sauvage et w pour l'allèle muté) :

Génération P

femelles w^+/w^+ [yeux rouges] × mâles w/Y [yeux blancs]

**Génération F1**

femelles w^+/w [yeux rouges] × mâles w^+/Y [yeux rouges]

**Génération F2**

50 % femelles w^+/w^+ [yeux rouges] + 50 % femelles w^+/w [yeux rouges]
+ 50 % mâles w^+/Y [yeux rouges] + 50 % mâles w/Y [yeux blancs]

2. L'existence de gènes liés explique les exceptions aux lois mendéliennes

Chaque chromosome est porteur de nombreux gènes. Ces derniers sont qualifiés de gènes liés et ne peuvent théoriquement subir de ségrégation indépendante. L'observation de figures particulières appelées *chiasm* lors de la *méiose* a mis en évidence l'existence de *crossing-over*; ce sont des phénomènes de recombinaisons entre chromosomes homologues. Des croisements de drosophiles à corps gris et à ailes normales avec des drosophiles à corps noir et à ailes vestigiales donnent des résultats différents de ceux que l'on attend par ségrégation indépendante. Les gènes « couleur du corps » et « taille des ailes » sont liés. Le calcul des pourcentages de recombinaison permet d'évaluer la distance séparant les *locus* des gènes et de construire des *cartes génétiques*.

L'erreur classique à éviter

Deux gènes situés sur le même chromosome mais à une distance suffisante (> 50 cM) subissent une ségrégation indépendante lors de la méiose.

3 Génétique moléculaire

Au milieu du xx^e siècle, la génétique moléculaire apparaît et permet une évolution spectaculaire dans la compréhension des mécanismes qui régissent l'expression du génome. Le support de l'information génétique est une double hélice d'ADN qui contient toute l'information nécessaire à la synthèse de protéines.

1. L'expression d'un gène aboutit, en règle générale, à une protéine

- En 1941, George Beadle et Edward Tatum réalisent des expériences sur des Champignons Ascomycètes (*Neurospora*). La souche sauvage est capable de croître sur un milieu nutritif minimal (sucre, sels minéraux et biotine); en revanche, certains mutants en sont incapables si ce milieu n'est pas complété avec certains nutriments. Chacun de ces mutants est déficient en une des enzymes nécessaires à une chaîne métabolique particulière. Pour un gène donné, une protéine précise est synthétisée. Beadle et Tatum établissent alors la relation gène-protéine.
- En 1944, Oswald Avery, Colin McLeod et McLyn McCarthy découvrent la nature chimique du matériel génétique mis en évidence par Griffith en 1928 sur le Pneumocoque. Seul l'ADN extrait d'une souche S de Pneumocoque suffit à transformer des souches R non virulentes en souches S virulentes. L'ADN est le principe transformant; il est le support de l'information génétique de tous les êtres vivants.

2. La molécule d'ADN et sa répllication semi-conservative

- En 1953, la structure en double hélice de l'ADN est mise en évidence par James Watson et Francis Crick à l'aide d'une technique de diffraction aux rayons X d'ADN cristallisé et de nombreuses données biochimiques.
- En 1958, Matthew Meselson et Franklin Stahl réalisent une expérience de marquage de l'ADN par densité de façon à repérer, au moment de la répllication, les brins nouvellement formés. Les résultats de cette expérience démontrent que la répllication de l'ADN est semi-conservative.

3. Les modalités d'expression des gènes et l'universalité du code génétique

De 1961 à 1965, les mécanismes de l'expression du génome sont peu à peu élucidés. L'existence d'un intermédiaire informationnel entre ADN et protéine est mise en évidence : il s'agit de la molécule d'ARNm (messager). L'expression se déroule en deux étapes : la transcription et la traduction. Progressivement, Nirenberg, Matthaei et Ochoa déchiffrent le code génétique.

		2 ^e nucléotide								
		U	C	A	G					
1 ^{re} nucléotide	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
		UUC		UCC		UAC		UGC		C
		UUA	Leu	UCA	UAA	stop	UGA	stop	A	
		UUG		UCG	UAG		UGG	Trp	G	
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
		CUC		CCC		CAC		CGC		
		CUA		CCA	CAA	Gln	CGA		A	
		CUG		CCG	CAG		CGG		G	
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
		AUC		ACC		AAC		AGC		C
		AUA		ACA	AAA	Lys	AGA	Arg	A	
		AUG		ACG	AAG		AGG		G	
	G	GUU	Val	ACU	Ala	AAU	Asp	AGU	Gly	U
		GUC		ACC		AAC		AGC		
		GUA		ACA	AAA	Glu	AGA		A	
		GUG		CCG	GAG		GGG		G	

9-3. Code génétique.

L'erreur classique à éviter

L'expression d'un gène peut ne pas donner naissance systématiquement à une protéine. Certains gènes sont à l'origine des ARNr (ribosomes) et ARNt (ARN de transfert).

4 La naissance du génie génétique

La découverte, dans les années soixante, des enzymes de restriction, a ouvert la voie à de nouvelles techniques d'étude du génome et a permis les premières manipulations génétiques. De nos jours, les biotechnologies et la transgénèse occupent une place importante dans la recherche génétique.

1. La découverte des enzymes de restriction

● En 1968, les premières enzymes de restriction sont découvertes; il s'agit d'enzymes particulières, des *endonucléases*, capables de découper l'ADN au niveau de séquences spécifiques. Par exemple, l'enzyme EcoRI, extraite de la bactérie *Escherichia coli*, reconnaît la séquence suivante :

```

-----GAATTC-----
-----CTAAAG-----

```

— site de coupure de l'enzyme EcoRI

● Un fragment d'ADN présente en règle générale plusieurs sites de restriction. Les fragments obtenus par cette méthode sont de tailles variées en fonction de l'éloignement des différents sites successifs. Les fragments sont ensuite révélés par *électrophorèse*. Cette technique permet de comparer des séquences d'ADN découpées avec les mêmes enzymes et d'établir des *cartes de restriction*. La séquence d'un fragment d'ADN est très variable d'un individu à un autre. Le nombre de sites de restriction pour une enzyme donnée peut par conséquent également varier; on parle de polymorphisme de restriction (RFLP).

2. Les premières manipulations du génome

Grâce à l'utilisation des enzymes de restriction, de nombreux gènes ont pu être identifiés (par la technique du Southern blot) et isolés. Au début des années 1970, l'existence d'une *transcriptase inverse* est découverte dans les rétrovirus; celle-ci permet l'obtention de molécules d'ADNc (complémentaire) à partir d'ARNm. En 1974, les premiers gènes eucaryotes sont clonés. Par des techniques appropriées, les gènes peuvent désormais être séquencés, notamment grâce à la technique de la PCR (mise au point en 1983), et manipulés.

3. Transgénèse et biotechnologies

- La compréhension du génome a ouvert la voie à la transgénèse et à l'obtention d'organismes génétiquement modifiés. Le principe de la transgénèse consiste en l'incorporation d'un gène étranger à un organisme afin de lui faire exprimer un caractère nouveau. La transgénèse repose sur l'universalité du support de l'information génétique (ADN) et suit l'universalité du code génétique.
- L'obtention d'OGM nécessite l'utilisation de vecteurs de transfert de gènes ; ce sont en général des virus modifiés ou des bactéries. Mais le transfert de gènes peut se faire par des méthodes physiques : micro-injection directe ou utilisation d'un canon à particules. On a ainsi obtenu, par *transgénèse germinale*, des variétés de maïs résistantes aux Insectes (Pyrale du maïs) ainsi que des organismes produisant des molécules d'intérêt pharmacologique (médicaments, hormones...). Les espoirs de la thérapie génique reposent sur ces mécanismes de transgénèse et en particulier la *transgénèse somatique*.
- La manipulation du génome soulève aujourd'hui de nombreuses craintes et des problèmes d'éthique sont apparus. Nous ne disposons pas du recul suffisant pour évaluer les risques éventuels des OGM. La transgénèse germinale est interdite chez l'Homme depuis la loi de bioéthique de 1994.

L'erreur classique à éviter

Le virus ne peut pas être considéré comme un vecteur biologique de transfert de gène ; il ne s'agit pas d'un être vivant. Les bactéries, en revanche, sont des vecteurs biologiques.