

ANNEXE I

COMPOSANTES BIOLOGIQUES

Quelques fondements de biologie moléculaire et de génie génétique intéressants pour approfondir le sujet, malgré le parti pris instructionniste qui sous-tend la présentation.

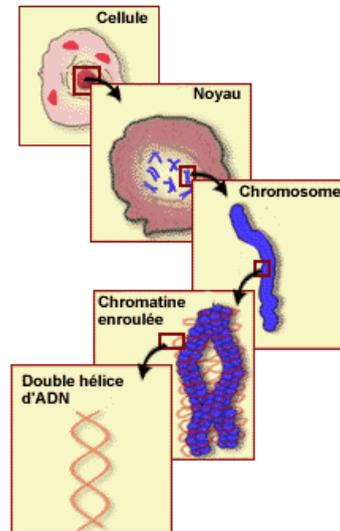
Source : Centre Scientifique de la Biotechnologie/Industrie Canada <http://strategis.ic.gc.ca/>.

Qu'est-ce qu'une cellule ?

La cellule est l'unité du monde vivant et les millions de types différents d'organismes qui peuplent la Terre ont tous un dénominateur commun : ils sont constitués de cellules. Une bactérie, qui est formée d'une seule cellule, a généralement un diamètre d'un micron (μm). Les êtres humains sont constitués de milliards de cellules, qui sont dix fois plus grosses qu'une cellule bactérienne ($10\mu\text{m}$).

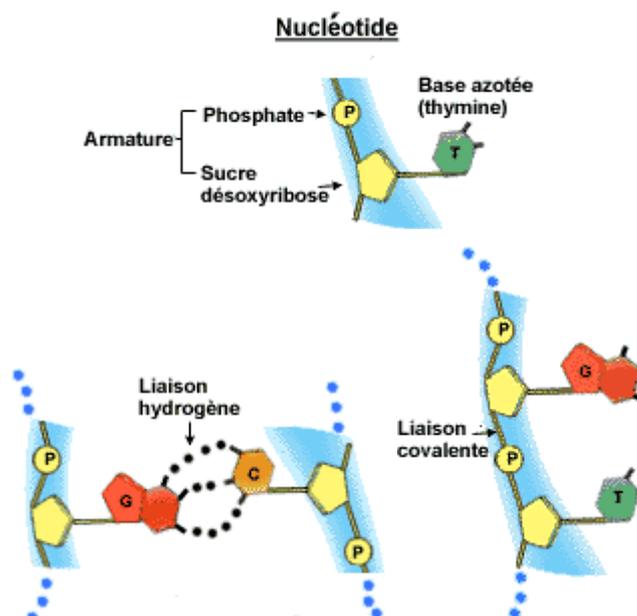
Qu'est-ce que l'ADN ?

L'ADN, abréviation d'**acide désoxyribonucléique**, se trouve dans le **noyau** de la plupart des types de cellules. Il contient les instructions propres à la cellule et détermine comment les traits d'une personne seront transmis d'une génération à l'autre. Dans le noyau d'une cellule humaine, on compte 23 paires de chromosomes, soit 46 chromosomes en tout. **Chaque chromosome est formé de chromatine enroulée qui est composée d'ADN enrobant des protéines appelées histones.** Les 23 paires de chromosomes dans le noyau font office de « **manuel d'instructions** » pour le développement d'un individu. Le langage de l'ADN comprend des mots et des phrases. Chaque « mot » est une unité de la molécule d'ADN appelée **nucléotide**. Chaque « phrase » est une longue chaîne de nucléotides appelée **gène**.



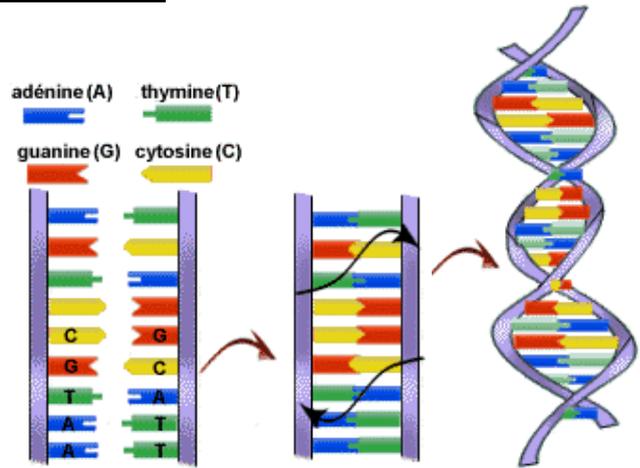
Formation d'une molécule d'ADN : Nucléotides

Les « mots » de l'ADN sont de petites molécules appelées nucléotides. Le génome humain, constitué de 23 paires de chromosomes, contient au total quelque trois milliards de nucléotides. Chaque nucléotide comprend une armature et une base azotée. L'armature sert à attacher les nucléotides ensemble. Tous les nucléotides ont la même armature (composée d'une molécule de phosphate et d'une molécule de sucre spéciale appelée désoxyribose). Toutefois, un nucléotide peut avoir l'une des quatre bases suivantes : adénine (A), cytosine (C), guanine (G) ou thymine (T). Il convient de parler d'un autre aspect important des nucléotides : l'adénine (A) se lie uniquement à la thymine (T) et la cytosine (C) uniquement à la guanine (G). De ce fait, on dit que A est associée à T et que C est associée à G. Il est bien plus facile de rompre les liaisons A-T et C-G (appelés liaisons hydrogènes) que de rompre des liaisons reliant ensemble l'armature des nucléotides dans la chaîne d'ADN (liaisons covalentes).



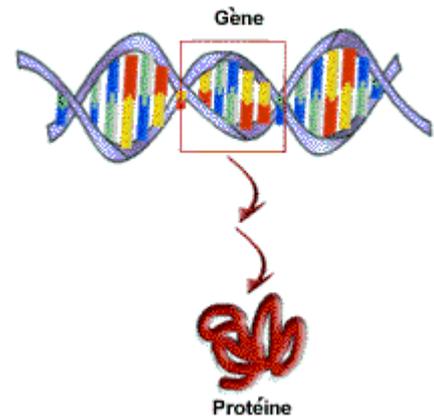
Formation d'une molécule d'ADN : Comment les nucléotides se lient

Les molécules d'ADN sont formées en réalité de deux chaînes parallèles de nucléotides. On dit que chaque chaîne est complémentaire de l'autre, car chaque nucléotide d'une chaîne se lie à son partenaire complémentaire de l'autre côté. Il serait utile de représenter la molécule d'ADN comme une échelle, dont les deux montants sont composés des armatures de nucléotides reliées entre elles, et dont les échelons sont les **paires de base complémentaires A-T et G-C**. Ainsi, si un côté de l'échelle a la séquence AATGC, le côté complémentaire aura la séquence TTACG. En réalité, l'échelle d'ADN est entortillée et forme une **double hélice**. Comme les liaisons hydrogènes (reliant G à C ou T à A) sont plus faibles que les liaisons covalentes reliant les nucléotides entre eux, les deux chaînes complémentaires formant l'échelle entortillée peuvent facilement être déroulées et séparées.



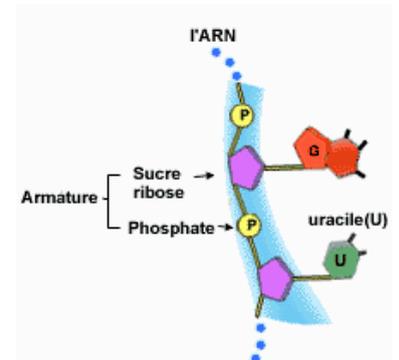
Gènes: les phrases de l'ADN

Un gène est une série de nucléotides qui constitue une unité d'information héréditaire. Chacun des chromosomes dans le noyau d'une cellule humaine contient des milliers de gènes. **Tout l'ADN contenu sur les 23 paires de chromosomes dans une cellule humaine renferme les 80 000 gènes (et en conséquence, toutes les instructions génétiques) qui constituent le génome humain.** Mais qu'entend-on par « unité d'information héréditaire »? On peut donner une définition plus précise du gène : **région d'ADN qui est transcrite**. La transcription, processus biologique assuré par les enzymes constitue la première étape du processus de synthèse des protéines. Comme son nom l'indique, le processus de synthèse des protéines donne lieu à la production d'une protéine. Les protéines sont les molécules biologiques qui donnent aux cellules vivantes leurs formes et fonctions diverses. Ainsi, un gène est une séquence d'A, de T, de C et de G - dans un ordre particulier - qui code pour une fonction biochimique précise, en général par la production d'une protéine particulière. Ce sont les protéines produites à l'aide de gènes comme *matrice*, qui sont responsables des caractéristiques d'une cellule ou d'un organisme particulier.



Qu'est-ce que l'ARN?

L'ARN est l'abréviation d'acide ribonucléique. Tout comme l'ADN, les molécules d'ARN sont fabriquées dans le noyau de la cellule. Toutefois, contrairement à l'ADN, l'ARN ne se limite pas au noyau. Il peut migrer dans d'autres parties de la cellule. De l'ARN, appelé ARN messager communique le message génétique que l'on retrouve dans l'ADN au reste de la cellule afin de favoriser la synthèse de protéines. Tout comme l'ADN, les molécules d'ARN sont composées de nucléotides. Toutefois, alors que les molécules d'ADN sont formées de deux brins parallèles de nucléotides, une molécule d'ARN n'en compte qu'un. Par ailleurs, la structure chimique de l'« armature » du nucléotide de l'ARN est légèrement différente de la structure de celle de l'ADN. L' armature de l'ADN contient des molécules de sucre désoxyribose (d'où le D dans ADN) et celui de l'ARN des molécules de sucre ribose (d'où le R dans ARN). Trois des quatre bases azotées pouvant se lier à l'armature de l'ARN sont les mêmes que celles pour l'ADN. Tout comme l'ADN, les nucléotides de l'ARN peuvent avoir des bases de guanine (G) et de cytosine (C) et tout comme dans les nucléotides d'ADN, le guanine s'associe (se lie) à la cytosine (G-C). Une troisième base que l'on retrouve dans l'ARN - adénine (A) - est également la même que dans l'ADN. Mais au lieu de la thymine (T), l'ARN comporte de l'uracile (U) qui se lie à l'adénine (U-A).



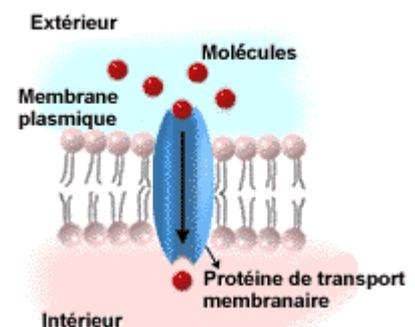
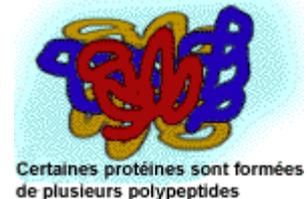
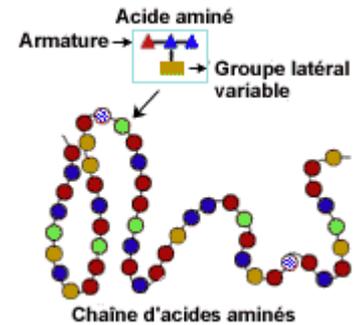
Protéines

À quoi servent les protéines?

De nombreux gènes codent pour des chaînes polypeptidiques particulières. Et les protéines comprennent une ou plusieurs chaînes polypeptidiques. Ce sont les protéines qui sont responsables des caractéristiques d'un organisme ou d'une cellule. La façon dont les protéines sont construites, selon une matrice génétique, est décrite dans la section sur la synthèse des protéines. Les protéines ont diverses vocations et donnent aux cellules vivantes leurs diverses formes et fonctions. Certaines protéines ont une fonction structurale; ces protéines fabriquent le cartilage, les cheveux et les ongles, par exemple. Une catégorie spéciale de protéines, les enzymes, catalysent d'importantes réactions chimiques dans la cellule qui ne pourraient normalement se produire en leur absence.

Structure de la protéine

Toutes les protéines sont constituées d'une ou de plusieurs longues molécules appelées polypeptides. Chaque polypeptide est composé de petites molécules reliées bout à bout et appelées acides aminés. Les 20 types d'acides aminés utilisés par les cellules vivantes ont tous une structure d'armature identique, qui sert à lier ensemble les acides aminés en une longue chaîne. Chaque type d'acide aminé possède également ce qu'on appelle un groupe latéral, distinct sur le plan chimique, selon le type d'acide aminé. Bien qu'il ne soit pas nécessaire d'exposer en détail la façon dont varient les structures des groupes latéraux, mentionnons qu'ils peuvent être regroupés en plusieurs catégories. Par exemple, certains groupes latéraux sont non polaires, tandis que d'autres sont polaires. Les molécules polaires et non polaires restent généralement éloignées les unes des autres. Les molécules d'eau sont polaires, et comme les molécules non polaires n'aiment pas s'associer à des molécules polaires, nous appelons souvent les molécules non polaires hydrophobes (du grec, « craignant l'eau »). Par ailleurs, les molécules polaires sont hydrophiles (du grec, « aimant l'eau »), car elles aiment interagir avec l'eau. Les protéines, qui flottent dans la cellule ou n'importe où dans votre corps, sont entourées d'un milieu principalement aqueux. Qu'arrive-t-il à la longue chaîne d'acides aminés, dont certains sont hydrophobes et d'autres hydrophiles? La protéine se plie en une structure en trois dimensions où la plupart des acides aminés hydrophobes sont tournés vers l'intérieur de la structure (s'écartant de l'eau) et où la plupart des acides aminés hydrophiles se trouvent en surface, tournés vers l'eau. En conséquence, les types d'acides aminés et l'ordre dans lequel ils se situent dans la chaîne détermineront comment la protéine finira par se plier dans l'eau, et, dès lors, sa structure en trois dimensions dans votre corps. Cette structure tridimensionnelle est essentielle au bon fonctionnement de la protéine. Une protéine de transport membranaire, par exemple, est intégrée dans la membrane de la cellule et a la forme d'un tunnel ou d'un corridor reliant chaque côté de la membrane à l'autre. Elle a pour tâche de permettre à certaines molécules qui le peuvent d'entrer ou de sortir de la cellule. De toute évidence, la forme de la protéine de transport est très importante pour qu'elle puisse remplir correctement sa fonction! Une protéine de transport mal formée peut avoir un corridor « bloqué », ce qui signifie que les grosses molécules ne peuvent entrer ou sortir de la cellule. Les enzymes constituent un autre exemple de catégorie de protéines dont la forme est essentielle à leur bon fonctionnement.



Enzymes

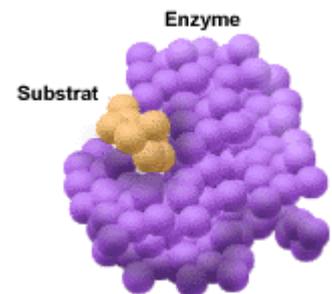
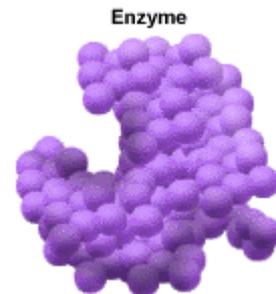
Un enzyme est un *catalyseur biologique*. Un *catalyseur* est une substance qui **accélère la vitesse d'une réaction biochimique** sans être altérée dans le processus. Des centaines de réactions chimiques différentes se produisent sans arrêt dans nos cellules et dans notre corps. Dans notre estomac et notre intestin grêle, des réactions chimiques décomposent les aliments que nous mangeons en particules plus petites qui peuvent être absorbées par nos cellules.

Comment les catalyseurs accélèrent-ils donc les réactions chimiques? Ils permettent à la réaction de se produire alors que *l'énergie d'activation est insuffisante*. En d'autres termes, en présence d'un catalyseur adéquat, les molécules réactantes auront besoin de moins d'énergie pour se transformer en produits. **Le catalyseur ne réagit pas lui-même et n'est pas altéré par la réaction. Les catalyseurs facilitent la réaction** en permettant à une série de molécules réactantes de se transformer en produits, pour ensuite aider d'autres molécules à subir la même réaction. Certains catalyseurs biologiques (enzymes) sont si efficaces qu'un seul suffit pour qu'à chaque seconde, plus de 600 000 molécules réactantes se convertissent en molécules de produit!

Il convient de noter que les enzymes sont très spécialisés. La *lactase* qui aide les molécules de lactose à se décomposer en molécules de galactose et de glucose, est structurée de sorte à ne pouvoir catalyser qu'un seul type de réaction. Les enzymes sont si sélectifs qu'ils ignorent les milliers de molécules dans les cellules somatiques et les fluides organiques pour lesquels ils ne sont pas conçus. On appelle **substrat** la molécule qu'un enzyme aide à réagir. Ainsi, le lactose est le substrat de la lactase.

Structure de l'enzyme : le « modèle clé-serrure »

À l'exception de quelques enzymes composés d'ARN, les enzymes sont des protéines. Souvenez-vous qu'une protéine est composée d'une ou de plusieurs chaînes d'**acides aminés** reliées, et que chaque chaîne d'acides aminés prend une forme tridimensionnelle selon la séquence d'acide aminé et la façon dont les acides aminés de la chaîne interagissent entre eux et avec la solution environnante. Les enzymes se plient de telle façon qu'on observe une échancrure ou une poche à leur surface. On appelle cette poche *site actif*. Le **modèle clé-serrure** repose sur le principe selon lequel les formes des molécules réagissantes (les substrats) et le site actif de l'enzyme s'emboîtent comme une clé dans la serrure pour laquelle elle est conçue. Ainsi, la molécule de lactose s'adapte parfaitement au site actif de la lactase, ce qui signifie que cet enzyme peut uniquement catalyser la décomposition du lactose.

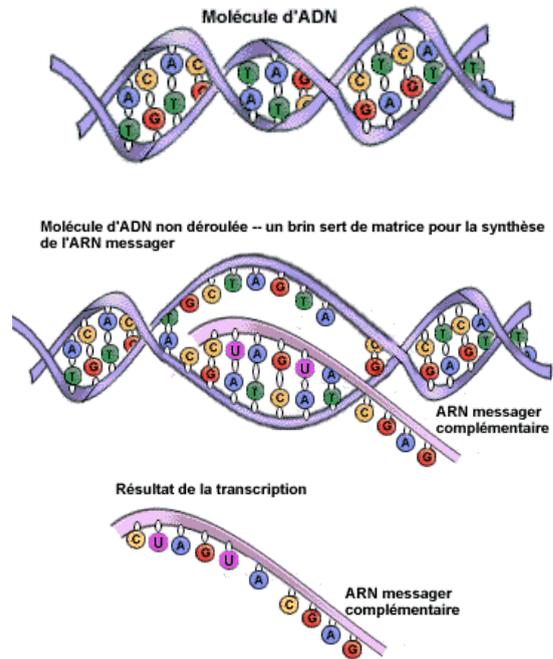


Synthèse des protéines

Le processus peut être divisé en deux phases : la Transcription, suivie de la Traduction.

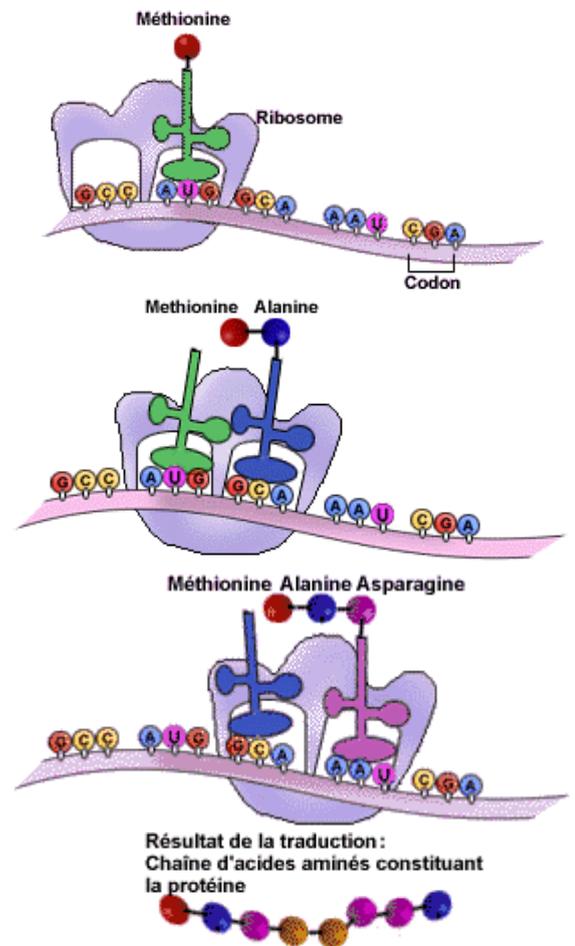
Transcription :

La transcription est le processus par lequel un morceau particulier d'ARN -- appelé ARN messager (ARNm) - est construit à l'aide d'une séquence génétique particulière (ADN) comme matrice. Tout d'abord, les enzymes déroulent une partie de l'hélice d'ADN bicaténaire et rompent les liaisons entre les paires de base complémentaires dans la section non déroulée. Ensuite, un brin complémentaire d'ARN messager est synthétisé, utilisant comme matrice l'un des brins de l'ADN non déroulés. Enfin, une fois que l'ARN messager complémentaire est formé, le segment d'ADN reprend sa forme originale, soit celle d'une double hélice. La transcription donne lieu à la création d'une molécule d'ARN messager complémentaire à une section donnée d'ADN (qui constitue un gène). Contrairement aux molécules d'ADN, les molécules d'ARN messager sont libres de sortir du noyau par les pores de la membrane nucléaire pour voyager dans le reste de la cellule (appelé cytosol). C'est dans le cytosol que prend place la traduction.



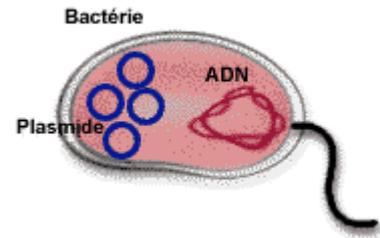
Traduction :

C'est le processus de fabrication d'une molécule, en fonction de l'information contenue dans une molécule d'ARN messager. Mentionnons d'abord que comme l'ADN et l'ARN, les protéines sont des chaînes de petits éléments reliés entre eux. Dans le cas de l'ADN, ces petits éléments s'appellent nucléotides, et dans le cas des protéines, on les appelle acides aminés. La séquence de nucléotides dans l'ARN messager est simplement transformée en une séquence d'acides aminés, selon un code uniforme. Chaque séquence de trois bases d'ARN messager code pour un acide aminé particulier. Par exemple, la séquence d'ARN messager AUG code pour un acide aminé appelé méthionine. Les ribosomes, les « machines » qui assurent la synthèse des protéines, s'attachent au brin d'ARN messager et descendent, « lisant » ainsi la séquence de nucléotides et reconstituant la protéine adéquate à mesure qu'ils se déplacent. La première série de trois nucléotides que lit le ribosome est toujours AUG, et ce parce que la séquence AUG sert de balise, indiquant au ribosome où il « doit commencer à lire ». À mesure que le ribosome descend le long de l'ARN messager, il ajoute l'acide aminé adéquat à la chaîne grossissante correspondant à chaque série de trois nucléotides. Chaque triplet de nucléotides qui code pour un acide aminé particulier s'appelle codon. Les vingt acides aminés employés pour fabriquer des protéines biologiques ont au moins un codon correspondant. Par exemple, le codon CGA code pour un acide aminé appelé alanine. Et le codon AAU code pour un acide aminé appelé asparagine. En conséquence, une partie d'une séquence d'ARN messager qui se lit AUG GCA AAU donnera lieu à la chaîne suivante d'acides aminés : méthionine-alanine-asparagine. En lisant toute la séquence d'ARN messager, le ribosome construit une longue chaîne d'acides aminés, qui constituent la protéine.



Bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires. Bien que certaines bactéries soient un agent infectieux dans de nombreuses maladies humaines, il existe de nombreuses souches inoffensives voire même essentielles aux êtres humains. De nombreuses souches sont très importantes dans les laboratoires de biotechnologie! Les cultures bactériennes servent, entre autres, à la production de protéines utiles. Par exemple, une espèce de bactérie appelée E. coli peut être génétiquement modifiée de façon à produire d'importantes quantités d'insuline humaine, qui peut être administrée aux diabétiques.



Voici un aperçu de certaines caractéristiques des bactéries qui font qu'elles conviennent parfaitement à de nombreuses applications biotechnologiques. Les bactéries sont des procaryotes, ce qui signifie qu'elles ne contiennent pas de noyau. Bien qu'elles prolifèrent souvent en groupes où les bactéries adhèrent l'une à l'autre, les procaryotes sont composés d'une seule cellule. On appelle ces groupes de bactéries des colonies. Le génome bactérien comprend une grande molécule circulaire d'ADN bicaténaire située dans le cytoplasme cellulaire. Cette grande molécule d'ADN, le chromosome bactérien, contient la plupart des gènes bactériens. Outre cette grande molécule d'ADN, les bactéries renferment souvent de petites molécules d'ADN circulaires appelées plasmides. Ces plasmides contiennent également des gènes, mais contrairement au grand chromosome circulaire, ils sont extrêmement mobiles. Ils peuvent passer facilement d'une bactérie à l'autre, et, de cette façon, les gènes sont transmis entre bactéries. Les molécules de plasmide, une fois dans la cellule bactérienne hôte, peuvent s'intégrer en permanence au grand chromosome bactérien. La capacité des plasmides à pénétrer dans les cellules bactériennes et à s'intégrer au chromosome de ces cellules en fait des outils très utiles pour insérer un gène dans une cellule bactérienne.

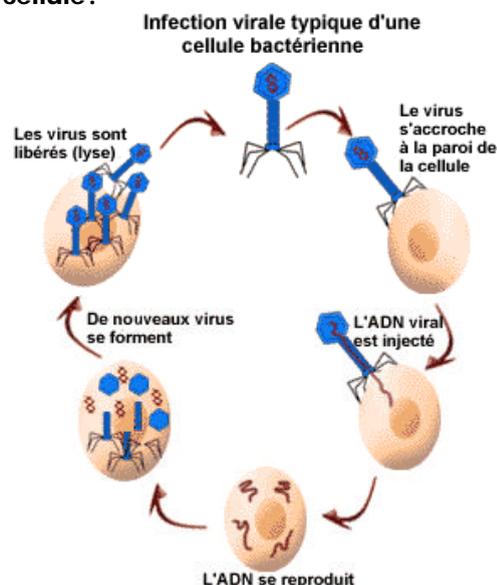
Virus

Qu'est-ce qu'un virus?

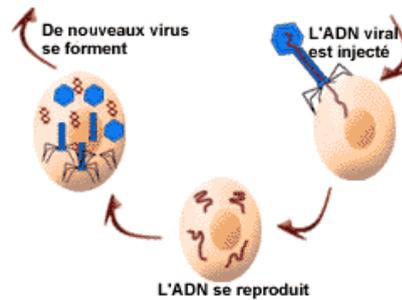
Les virus sont constitués de matériel génétique (soit d'ADN soit d'ARN), entouré d'une couche protectrice de protéines. Certains virus d'animaux sont également entourés d'une membrane de lipides (gras). Un virus n'est pas un organisme vivant de manière autonome. Les virus n'existent que pour se multiplier, et à moins qu'un virus ne se trouve dans une cellule vivante, il est inactif et ne peut se reproduire. Lorsqu'un virus ou une partie de virus parvient à pénétrer dans une cellule, on parle d'infection. Selon le virus, c'est le virus tout entier qui pénètre dans la cellule ou seulement le matériel génétique qui est « injecté » dans la cellule tandis que la couche externe demeure à l'extérieur. Dans le cas du bactériophage T14 -- un type de virus qui infecte certaines bactéries --, l'ADN interne est injecté dans la cellule à infecter. En revanche, tout le virus du sida (appelé VIH) pénètre dans les cellules T de l'être humain pour les infecter. Dans les deux cas, par suite de l'infection virale, le matériel génétique du virus pénètre dans le cytoplasme de la cellule, qui renferme tous les enzymes nécessaires et d'autres matériels indispensables à la reproduction du matériel génétique du virus et à la synthèse de ses protéines.

Pourquoi une infection virale peut-elle nuire à une cellule?

Un virus nuit à la cellule qu'il infecte, car il « prend les commandes » du gène de la cellule et de la machine à fabriquer les protéines, ce qui donne lieu à la production de morceaux de virus uniquement. Une fois ceux-ci fabriqués, ils forment une myriade de nouveaux virus, qui remplissent la cellule. Ces nouveaux virus quittent la cellule, quelques-uns à la fois (bourgeonnement) ou par un processus appelé lyse, où l'on assiste à une rupture de la membrane cellulaire, qui libère toutes les particules du virus en même temps, ce qui a pour effet de tuer la cellule hôte, tandis que les

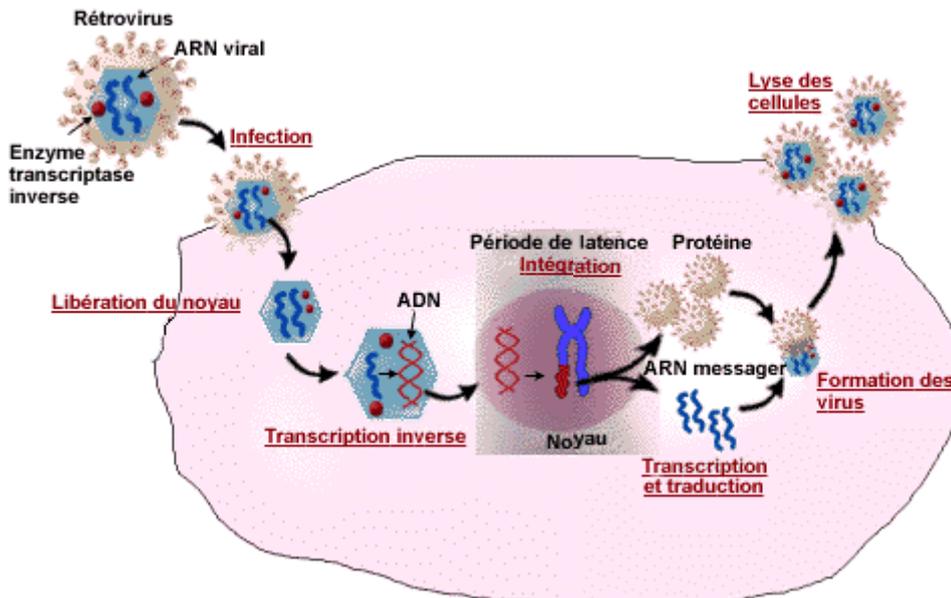


particules du virus libérées s'en vont infecter d'autres cellules.



Rétrovirus - un type d'infection différent

Parfois, un virus ne prend pas les commandes de la machine à fabriquer des cellules dès qu'il l'infecte. Les rétrovirus, qui possèdent de l'ARN comme principal matériel génétique, portent également un enzyme spécial qui utilise l'ARN pour fabriquer une molécule d'ADN bicaténaire complémentaire. L'enzyme (connu sous le nom de transcriptase inverse) synthétise l'ADN à partir de l'ARN du virus, et cet ADN peut s'intégrer au génome de la cellule hôte situé dans le noyau. Pendant une période de latence, les gènes viraux sont dormants dans les chromosomes de la cellule hôte. Après la période de latence, les gènes viraux seront activés et, selon le processus ordinaire de synthèse des protéines, ils prendront les commandes de la machinerie cellulaire, rendant viraux l'ARN et les protéines et entraînant la production de particules de virus. Comme les rétrovirus parviennent bien à incorporer leur propre matériel génétique au génome de leur cellule hôte, ils sont souvent utilisés comme vecteurs d'ADN recombinant. En d'autres termes, si nous voulons intégrer un gène particulier qui a été isolé, mis au point ou modifié à l'aide du génie génétique (c'est ce qu'on entend par recombinant), dans le génome d'une cellule, nous ajoutons le gène dans l'ADN du rétrovirus, enlevons les parties nocives de l'ADN du rétrovirus qui provoquent la « prise des commandes » de la cellule, et utilisons le rétrovirus pour transporter le gène voulu dans la cellule. Lorsque nous permettons au virus modifié d'infecter la cellule hôte, l'ADN viral ainsi que le nouveau gène s'intègrent au génome de la cellule hôte.

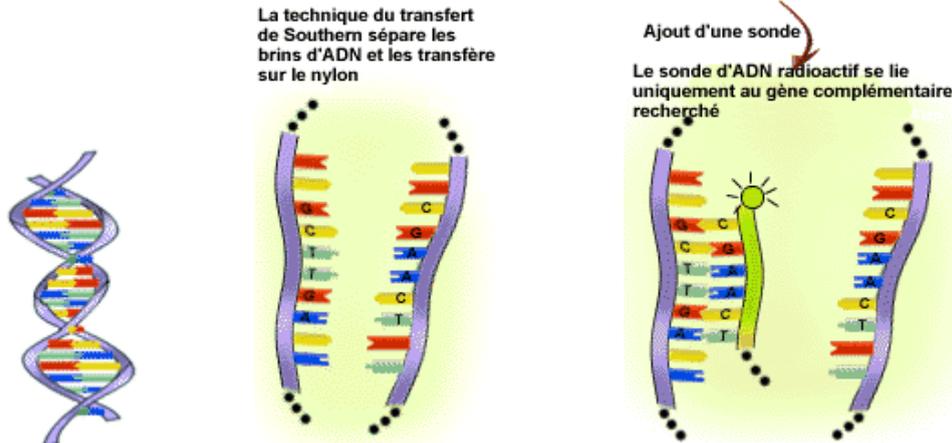


Localisation d'un gène

De nombreuses techniques en biologie moléculaire sont employées pour déterminer où se trouve un gène spécifique dans le génome humain. Cette tâche est loin d'être facile, puisque le génome humain contient des milliers de gènes, dont bon nombre n'ont pas encore été découverts ou séquencés. Les **sondes d'ADN** sont bien utiles à cette fin.

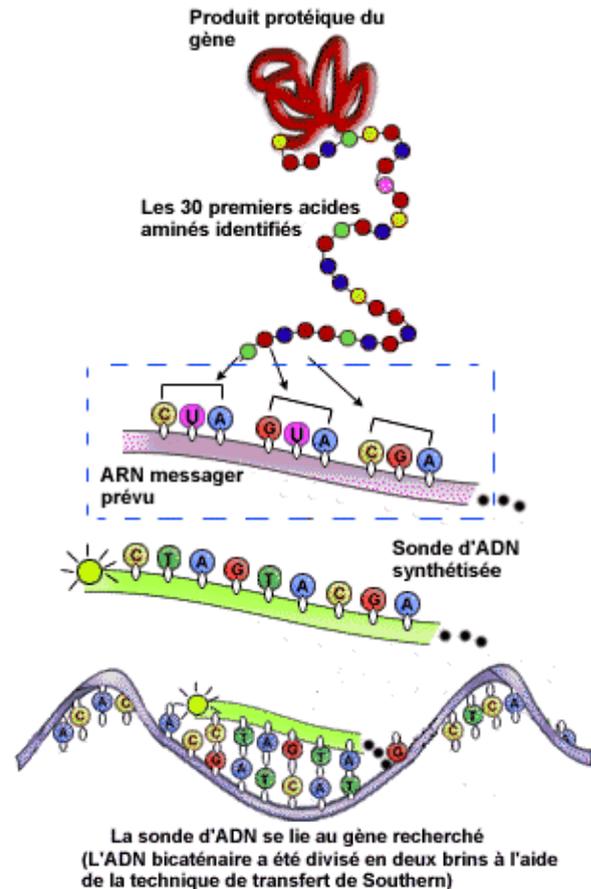
Qu'est-ce qu'une sonde d'ADN?

Il est possible de trouver un gène particulier à l'aide d'une sonde d'ADN, une molécule d'ADN monocaténaire relativement courte qui est complémentaire de la séquence sur le gène recherché. Une véritable sonde d'ADN serait probablement constituée d'au moins quelques douzaines de nucléotides associés à un segment de la même longueur sur le gène recherché. La sonde est conçue de façon à être radioactive, de sorte qu'elle puisse être détectée facilement. Comme la sonde d'ADN se lie à l'ADN monocaténaire, on a recours à une technique appelée transfert de Southern qui permet de séparer l'échantillon d'ADN bicaténaire en un seul brin et de le transférer sur une membrane en nylon. Lorsque les sondes sont incubées avec la membrane dans une solution, elles se lient à des régions complémentaires dans l'ADN et « adhèrent » à la membrane. Ensuite, la membrane est mise en contact avec une pellicule photographique sensible aux émissions radioactives. Les sections de l'échantillon où se trouve le gène ressortent en foncé sur le papier, car ce sont les seules sections liées à une sonde radioactive.



Comment construit-on les sondes d'ADN?

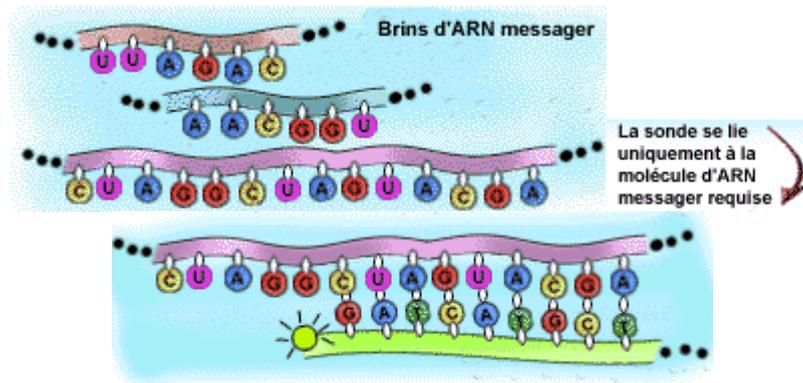
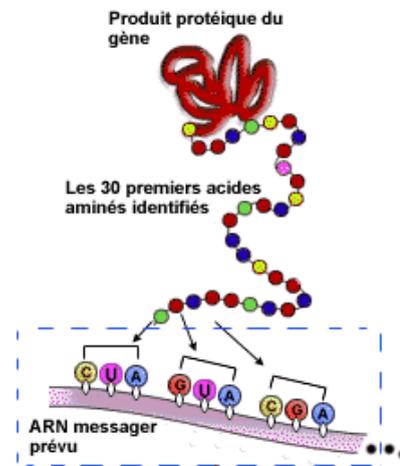
Il est possible de construire une sonde d'ADN bien avant de connaître la séquence des gènes elle-même! Pour ce faire, on travaille à partir du produit protéique du gène. Rappelez-vous que dans notre description de la fabrication des protéines, nous avons dit qu'un gène était transcrit en ARN messager (ARNm), selon les simples règles de la complémentarité des bases. L'ARN messager est transporté hors du noyau et utilisé comme matrice pour la formation d'une chaîne d'acides aminés, qui se transforme en une protéine. Nous pouvons isoler la protéine produite par le gène qui nous intéresse, et trouver quels sont les 30 premiers acides aminés de la protéine. Selon cette information, nous pouvons déterminer les 90 premiers nucléotides de cette matrice d'ARN messager de la protéine (n'oubliez pas que chaque triplet de nucléotides code pour un acide aminé, d'où le rapport 90:30). Et comme la matrice d'ARN messager est complémentaire du gène recherché, nous savons que notre sonde d'ADN devrait avoir une séquence complémentaire des 90 premiers nucléotides du gène recherché. Pour construire une sonde d'ADN, nous utilisons une « machine à gènes » capable de synthétiser en quelques heures à peine une molécule courte d'ADN monocaténaire contenant la séquence voulue de nucléotides.



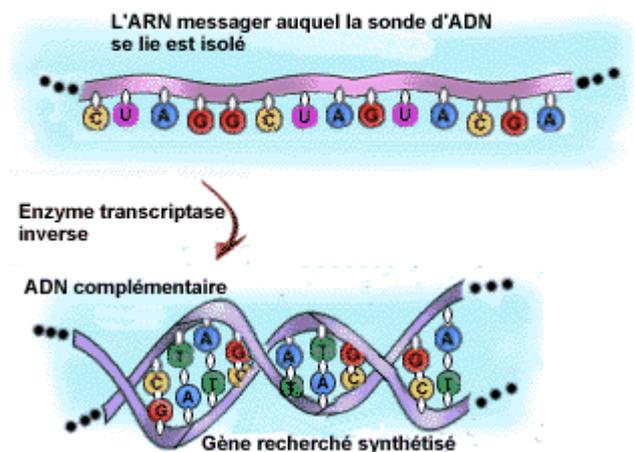
Isolement d'un gène

Si nous voulions introduire un gène humain dans une autre cellule, il ne nous suffirait pas de savoir où se trouve ce gène dans le génome humain. Nous devrions également isoler une copie du gène, de façon à pouvoir l'insérer dans la nouvelle cellule.

Par exemple, le gène de l'insuline humaine doit être isolé des cellules humaines de sorte à pouvoir être introduit dans les cellules de la bactérie *E. coli*. Par suite de l'incorporation du gène, les cellules bactériennes produisent la protéine de l'insuline humaine que l'on peut administrer aux diabétiques. Pour isoler un gène, on peut travailler à rebours à partir de son produit protéique. Tout d'abord, au moins une partie de la protéine est séquencée, ce qui signifie que l'ordre des acides aminés qui constituent la chaîne protéique est déterminé. En général, il suffit de connaître les 30 premiers acides aminés de la protéine. Ensuite, selon la séquence connue d'acides aminés et si l'on comprend le processus de synthèse des protéines, on peut prédire la séquence de nucléotides d'une partie de la matrice d'ARN messenger de la protéine.



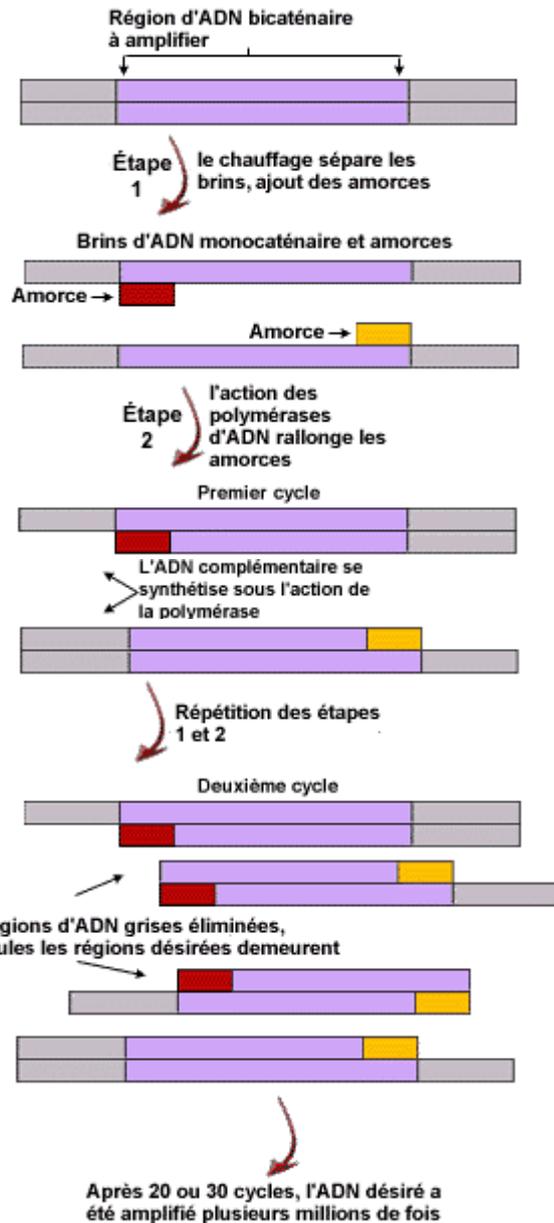
Une fois que l'on a trouvé le brin d'ARN messenger, il suffit de travailler à rebours -- nous devons synthétiser le brin d'ADN qui aurait servi de matrice pour l'ARN messenger. Il nous faut synthétiser de l'ADN à partir d'ARN. Il existe un enzyme appelé transcriptase inverse qui nous permet de faire cela. On retrouve cet enzyme dans certaines particules de virus appelées rétrovirus. Ces virus emploient l'ARN comme matériel génétique et utilisent la transcriptase inverse pour générer de l'ADN une fois qu'ils ont infecté une cellule hôte. Les biotechnologistes peuvent mélanger une transcriptase inverse avec des ARN messagers in vitro (à l'extérieur de cellules vivantes, en laboratoire, généralement dans un petit tube en plastique). Par conséquent, la séquence d'ADN pour le gène recherché est synthétisée par l'enzyme, selon le brin d'ARN messenger présenté. Comme l'ADN produit a été fabriqué de manière artificielle en vue d'être complémentaire de l'ARN messenger, on l'appelle ADN complémentaire.



Amplification de l'ADN : amplification en chaîne par la polymérase

Souvent, la quantité des échantillons d'ADN est trop petite pour qu'on puisse les utiliser. Heureusement, on peut avoir recours à une technique inventée dans les années 1980, l'amplification en chaîne par la polymérase (ACP) pour « amplifier » les quantités d'ADN de ces échantillons. La machine d'ACP n'est en fait rien de plus qu'un dispositif très précis de chauffage et de refroidissement. La machine comporte de petites fentes où sont insérés de petits tubes contenant l'échantillon d'ADN et d'autres ingrédients nécessaires à la réaction. Ces ingrédients supplémentaires englobent une bonne quantité de nucléotides (A, T, C et G), de courtes molécules d'ADN monocaténaire appelées amorces et un enzyme appelé polymérase *Thermus aquaticus* (polymérase Taq, en abrégé). La polymérase Taq est dérivée de bactéries qui vivent dans des sources chaudes et comptent parmi les rares enzymes capables de fonctionner à de très hautes températures.

Le cycle commence lorsque la machine chauffe le tube à une température d'environ 90-95 °C, ce qui entraîne la séparation de chaque molécule d'ADN bicaténaire de l'échantillon d'origine en deux brins. (Souvenez-vous que les liaisons hydrogènes qui relient deux brins complémentaires d'une double hélice d'ADN sont bien plus faibles que les liaisons covalentes qui relient les nucléotides formant chaque chaîne. Le chauffage provoque la rupture des liaisons hydrogènes, qui déroulent et séparent les deux brins, tandis que les liaisons covalentes ne sont pas touchées). Ensuite, on abaisse la température légèrement, ce qui permet aux amorces d'ADN de se lier aux brins séparés. Les amorces se lient, car elles sont complémentaires de certaines séquences de chaque brin d'ADN qui « flanquent » l'ADN à répliquer au milieu. Une fois que les amorces se sont attachées aux brins, la polymérase Taq se synthétise, en utilisant les nucléotides flottant dans le tube, un brin complémentaire pour chaque brin monocaténaire d'origine. Cette réaction boucle le premier cycle, et double la quantité d'ADN présente dans le tube. Au cours du cycle suivant, la machine d'ACP chauffe et refroidit comme auparavant, ce qui entraîne la séparation des nouvelles molécules d'ADN bicaténaire, et la synthèse des nouveaux brins complémentaires par la polymérase Taq. **Chaque fois qu'un cycle est complété, la quantité de copies de la séquence d'ADN désirée (située entre les deux amorces) est, en théorie, multipliée par deux.** Après une trentaine de cycles (qui durent généralement environ trois heures), on disposera de suffisamment de copies de cette séquence d'ADN pour l'application d'autres techniques biotechnologiques.



ANNEXE II

QUELQUES GEANTS DE L'AGROALIMENTAIRE

Principales transnationales impliquées dans la diffusion et/ou l'utilisation d'OGM et leurs principales marques ou filiales.

Source : <http://www.transnationale.org/>.

Monsanto

800 N. Lindbergh Blvd. St. Louis, MO 63167

(Etats-Unis)

Marques :

Bullet	Butachlor	Canderel	Can'Kao
Celebrex	Equal	Field Master	Harness
Lambast	Lariat	Lasso	Machete
Micro-Tech	Mivida Misura	Monsanto	Nerbatak
Nutrasweet	Partner	Pelous'Net	Posilac
r-BGH	r-BST	Roso'Net	Round up ready cotton
Round up ready Soybean	Roundup	Searle	Surface Blend
TransSorb	YieldGard		

Novartis AG

Lichtstrasse 35, CH-4002 Basel (Suisse)

Marques :

Actara	Aviva	Calcium Sandoz	Capstar
Cérééal	Ciba	Ciba-Geigy	Cloomicalm
Clordane	Cruiser	Desenex	Dulcolax
Econor	Eden	Endosulfan	Exlax
Fenistil	Gas-X	Geneva Pharmaceuticals	Gerber
Gerblé	Grandis Biotech GmbH	Habitrol	Hepthaclor
Immerge BioTherapeutics (50%)	Importal	Imutran	Isosource
Isostar	Lamisil	Lemocin	Lindane
Maalox	Maï s Bt	Meriten	Milical
Neda	Neocitran	Nicotinell	Novartis
Nutrodip	Oclea	Optalidon	Otrivin
Ovaltine	Perdiem	Piz Buin	Resource
Rhinomer	Sandoz	Tavist	Theraflu
Triaminic	Venoruton	Vivonex	Zymafluor

AgrEvo

(Allemagne)

Marques :

AgrEvo LibertyLink Nunza Sunseed

Aventis

Marques :

Actonel	Allegra	Amaryl	Arava
Aventis	Biochimica Opos	Camppto	Cardizem
Cefaclor	Claforan	Clexane	Copaxone
Dade Behring	Delix	Insuman	Lasix
Lovenox	Merial	Nasacort	Optinate
Refludan	Rilutek	Roussel-Uclaf	Rulid
SOREPHAL	Synercid	Targocid	Tavanic
Taxotere	Trental	Tritace	

Coca Cola Co.

1, Coca Cola Plaza Atlanta, GA 30313 (Etats-Unis)

Marques :

Ambasa	Aquarius	Barq's	Beverly
Bonaqa	Bonaqua	Calo	Cherry Coke
Chinotto	Citra	Coca Cola	Coca Cola Bottling
Coca-Cola Enterprises	Coke	Dasani	Delaware Punch
Diet Coke	Fanta	Fei Yang	Fioravanti
Fountain	Fresca	Frescolita	Fruitopia
Georgia	Gold Spot	Kinley	Ko Cha Ka Den
Kuli	Lactia	Lift	Lilt
Limca	Maaza	Mello Yello	Mezzo Mix
Minute Maid	Mr. Pibb	Nestea	Nordic Mist
Perfect Water	Powerade	Quatro	Real Gold
Royal Tru-Orange	Saryusaisai Sokenbicha	Seiryusabo	Shpla
Simply Orange	Smart	Sprite	Surge
Tai	Thums Up	Tian Yu Di	Tropical
Vegitabeta			

Kraft Food

3 Lakes Dr. Northfield, IL 60093-2753 (Etats-Unis)

Marques :

Altoid	Baker's	Balance Bar	Boca Foods
Breakstone's	Breakstone's cheese	Breyers	Breyer's yogurt
Bull's eyes	Capri Sun	Certo Pectins	Cheez Whiz
Claussen Cold Crisp Delicious	Country Time	Cracker Barrel	Cracker Barrel cheese
Crystal Light	DiGiorno	Freia	General Foods International coffees
Good Seasons	Handi-Snacks	Jack's pizza	Jell-O
Knudsen	Knudsen cheese	Kool-aid	Kraft
Life Savers	Light 'n lively cheese	Louis Rich	M. Freeze
Marabou	Maxwell	Minute Rice	Miracle Whip
Miracoli	Newtons	Original Milk-Bone Brand	Oscar Mayer

Oven Fry	Planters	Polly-O	Post Cereals
Premium	Royal	Sathers	Sealtest cheese
Seven Seas dressing	Shake 'n Bake	SnackWell's	Stove Top
Sure-Jell	Tang	Tombstone Pizza	Triscuit
Velveeta	Wheat Thins	Yuban coffee	

Nestlé SA

Avenue Nestlé 55 CH-1800 Vevey (Suisse)

Marques :

Aberfoyle Springs	Acqua Brillante Recoaro	Aero	After Eight
Alemagna	Alpo	Alsoy	Antica Gelateria del Corso
Aquarel	Arrowhead	Baby Ruth	Baci
Barenmarke	Belté	Berni	Blaue Quellen
Bolino	Bonka	Buitoni	Butterfinger
Buxton	Cailler	Calistoga	Camy
Carnation	Caro	Cérélac	Cheerios
Chef	Chino	Chokito	Ciocoblocco
Claudia	Coffee-Mate	Condipasta	Condiriso
Contadina	Crosse & Blackwell	Crunch	Dairy Farm
Davigel	Diger Selz	Ecco Franck	Excelsia
Fancy Feast	Fibre 1	Fido	Frigor
Friskies	Frubetto	Fruit Joy	Fruttolo
Galak	Gervais	Giara	Gingerino Recoaro
Giulia	Gloria	Gourmet	Guigoz
Haagen Dazs	Herta	Hills Brothers'	Kit Kat
Kix	La Cremeria	La Laitière	La Lechera
La Valle degli Orti	Lactogen	LC1	Le Ore Liete
Levissima	Libby's	Limpia	Lion
Lora Recoaro	Loumidis	Mac'ani	Maggi
Magnolia	Malto Kneipp	Mare Fresco	Mighty Dog
Milkmaid	Milo	Mirage	MJB
Motta	Mouline	Nan	Nescafé
Nescau	Nespray	Nesquik	Nestéa
Nestlé	Nestum	Nico	Nidina
Nuts	One-to-One	Ortega	Orzoro
Panna	Pejo	Perugina	Pezzullo
Poland Spring	Polo	Pracastello	Quality Street
Ricoffy	Ricoré	Rolo	Rowtree Macintosh
San Bernardo	San Pellegrino	Sanbitter	Sandalia
Santa Maria	Santa Rica	Sasso	Sassonnaise
Schoeller	Smarties	Spillers	Stouffer's
Surgela	Taster's Choice	Thomy	Tione
Toll House	Totole Group	Trio	Ulmata
Vera	Willy Wonka	Wonka	Yes
Zoegas			

PepsiCo Inc.

700 Anderson Hill Road Purchase NY 10577 (Etats-Unis)

Marques :

All Sport	Aquafina	Diet Pepsi	Frappuccino
Fruit Works	Josta	Matutano	Mirinda
Mountain Dew	Mug Creme	Mug Root Beer	Pepsi-Cola
Seven Up (license)	Slice	SoBe	

Procter & Gamble, Co.

One Procter & Gamble Plaza Cincinnati, OH 45202 (Etats-Unis)

Marques :

Ace	Action 500	Alldays	Alo
Always	Arbora	Ariel	Attento
Ausonia	Ayudin	AZ	Azurit
Babysan	Baleno	Bess	Biactol
Biz	Blend-a-Med	Blendax	Bolt
Bonus	Bonux	Bounce	Bounty
Cacit	Camay	Camill	Cascade
Certina	Charmin	Cheer	Cierto
Clairol	Clearasil	Coast	Comet
Cover Girl	Crest	Cruz Verde	Daisy
Dantrium	Dash	Daz	Didrokit
Didronel	Dignity	Digoxine	Dodot
Dodotis	Doll	Downy	DPT-vaccinol
Dreft	Drene	Dryel	Duplex
Dytine H	Ela	Ellen Betrix	Era
Escudo	Eukanuba	European Beauty Products	Ezee
Fairy	Fameccanica	Fater	Febreze
Finish	Fixodent	Flash	Folgers
Fondril	Gain	Gala Cosmetics	Gaofuli
Giorgio Beverly Hills	Gleem	Head & Shoulders	Iams
InExtra	Infasil	Intervallo	Ipana
Ivory	Jar	Joy	Keramine H
Kids fresh	La'Neoblanc	Lanxiang	Laura Biagiotti Roma
Lavan San	Lenor	Limay	Lines
Lines Lei	Linidor	Litamin	Living Better
Livre Atual	Loreto y Pena Pobre	Luvs	Macrochantin
Maestro Lindo	Magia Blanca	Magistral	Mammy
Mastro Lindo	Max Factor	Maxfactor	Mediker
Metamucil	Millstone	Mintax	Mister Verde
Moncler	Monica	Monocid	Mr. Clean
Mr. Propre	Muse	Myth	Natisspray
Nelsen	Nelsen Piatti	Neoduplamox	Noxzema
Odontine	Oil of Olay	Oil of Olaz	Old Spice
Olean	Otto Kern	Oxydol	PA Vaccinol

Pampers	Panda	Pantene Pro-V	Pepto-Bismol
Perla	Pert Plus	Physique	Poffy
Pop	Previscan	Prima	Pringles
Puffs	Punica	Quanto	Rapido
Red	reflect.com	Rei	Rejoyce
Rindex	Roger Cavailles	Romtensid	Royale
Safe & Free	Safeguard	Salvo	Sanicroix
Scope	Secret	Senz'Acqua	Shulton
Spic & Span	Sunny Delight	Supremo	Sure
Swiffer	Tambrands	Tampax	Tempo
Tender Leaf Tea	Tess	Tide	Tix
Topexan	Tras	Trilo	Tuono
Unijab	Valensina	Vencedor	Venezia
Veratide	Viakal	Vicks	Vidal Sassoon
Vizir	Whisper	Wings	Yes
Zest			