

Biologie amusante



Nouvelle série inédite

Décembre 2000

QUAND LA BIOLOGIE DEVINT MOLECULAIRE...

Même si la découverte de [la structure de l'acide désoxyribonucléique](#) (ADN) par Watson et Crick en 1953 a certainement marqué un tournant dans l'histoire de la biologie, elle n'a pas constitué l'acte fondateur de la biologie moléculaire. Les chercheurs n'avaient pas attendu la découverte de la double hélice pour identifier et étudier les centaines de molécules différentes trouvées chez les êtres vivants. Ainsi, à l'instar de M. Jourdain faisant de la prose sans le savoir, les chercheurs qui étudiaient les macromolécules biologiques, ADN et protéines, étaient des biologistes moléculaires même s'ils se considéraient eux mêmes comme physiciens ou biochimistes. C'est seulement à partir des années 60 que le mariage de la biochimie et de la génétique va engendrer la génétique moléculaire appelée aujourd'hui plus souvent biologie moléculaire.

Le terme de biologie moléculaire a été inventé par le physicien et chimiste anglais W. Astbury (1898-1961) dans les années 1930. Astbury utilisait la [cristallographie aux rayons X](#) pour déterminer la structure dans l'espace de macromolécules biologiques comme les protéines et l'ADN et il réussit à établir la nature filiforme de l'ADN et des protéines fibreuses et à mesurer la distance entre les bases dans l'ADN. D'autres physiciens commencèrent à s'engager dans la recherche biologique à la même époque. Ce fut notamment le cas de Max Delbrück (1906-1981) qui, chassé d'Allemagne en raison de son origine juive, organisa une équipe de recherche avec le microbiologiste italien Salvador Luria (1912-1991) dans le but de déterminer la nature physique des gènes. Ils utilisèrent pour cela un modèle biologique très simple, les bactériophages, virus parasites de bactéries, sur lesquels Luria avait travaillé pour la première fois avant la guerre à l'Institut Pasteur de Paris. Plusieurs dizaines de chercheurs, aux USA, en Grande Bretagne et en France travaillèrent sur ce modèle qui se révéla tout aussi fécond que son hôte, la bactérie *Escherichia coli* et la plupart des connaissances de base que nous avons aujourd'hui en génétique moléculaire proviennent de l'étude de ces modèles. De nombreux chercheurs ayant appartenu à un moment ou à un autre au groupe du phage reçurent le prix Nobel. La période 1958 – 1969 fut particulièrement faste pour la biologie moléculaire puisque six prix Nobel de physiologie ou de médecine et trois prix de chimie furent attribués dans ce domaine, soit presque un prix Nobel par an.

Plusieurs avancées théoriques et techniques furent déterminantes pour le développement de la biologie moléculaire. Lorsque Watson et Crick proposèrent en 1953 leur [structure pour la molécule d'ADN](#), on savait depuis les expériences d'Avery, MacLeod et McCarty publiées près de dix ans plus tôt que l'ADN est le support de l'information génétique chez certaines bactéries. Dès 1941, les recherches de G. Beadle (1903-1989), E. Tatum (1909-1975) et J. Lederberg (né en 1925) avaient montré que les gènes s'expriment sous forme d'[enzymes](#) (« un gène, une enzyme »), ce qui leur valut le prix Nobel en 1958. Bien des données fondamentales restaient pourtant encore à découvrir.

Les enzymes qui assurent la biosynthèse de l'ADN et des ARN furent isolées en 1956 par les américains S. Ochoa (né en 1905) et A. Kornberg (né en 1918) qui obtinrent le Prix Nobel en 1959 et, en 1961, une protéine était produite pour la première fois *in vitro* dans un système acellulaire par M. Nirenberg (né en 1927). La même année, F. Crick montra que le code génétique est formé de codons de trois nucléotides et en moins de trois ans, le code génétique qui fait correspondre un acide aminé de la protéine à chaque codon (triplet de nucléotides) du gène fut entièrement décrypté ce qui valut le prix Nobel en 1968 conjointement à M. Nirenberg, G. Khorana (né en 1922) et R. Holley (né en 1922). 1961 fut décidément une année riche en résultats, deux anciens membres du groupe du phage, Jacques Monod (1910-1976) et François Jacob (né en 1920), postulant l'existence d'ARN messagers intermédiaires entre ADN et protéines et démontant les mécanismes fondamentaux de la [régulation enzymatique](#). Ils reçurent le prix Nobel en 1965 avec André Lwoff (1920-1994).

L'expression des gènes commençait ainsi à être de mieux en mieux comprise lorsqu'un pas décisif sur le plan technique fut franchi en 1965 avec l'identification des endonucléases de restriction par W. Arber (né en 1929), D. Nathans (né en 1928) et H. Smith (né en 1931) qui obtiendront le prix Nobel en 1978. Les enzymes de restriction permettent de découper l'ADN en petits segments à des endroits déterminés. En 1970, H. M. Temin (né en 1934) et D. Baltimore (né en 1938) isolent la transcriptase inverse, une enzyme virale, qui permet d'obtenir de l'ADN à partir de l'ARN. Ils seront récompensés par le Nobel en 1975 avec R. Dulbecco (né en 1914), un élève de S. Luria qui a adapté les techniques des phages aux virus animaux rendant possible cette découverte essentielle.

C'est en 1971 que le premier vecteur comportant un gène étranger est fabriqué par P. Berg (né en 1926). Il partagera le prix Nobel de chimie en 1980 avec W. Gilbert et F. Sanger qui ont mis au point dans les années 1970 deux méthodes différentes de séquençage de l'ADN. F. Sanger avait d'ailleurs déjà reçu ce prix en 1958 pour avoir établi pour la première fois la séquence d'une protéine, l'insuline. Dès lors, la manipulation du génome des microorganismes devient possible et les expériences se

multiplient ce qui conduit P. Berg et une dizaine d'autres chercheurs à demander en 1974 un moratoire. Avec J. Watson, il convoque l'année suivante une conférence à Asilomar (Californie) et le moratoire est levé tandis que sont instaurées des règles de sécurité. C'est également en 1975 que E. M. Southern met au point une technique permettant d'identifier des fragments d'ADN par hybridation avec des sondes marquées. Appelée désormais *Southern blot*, elle a donné naissance à des techniques d'identification des protéines (*western blot*) et des ARN (*northern blot*) couramment utilisées aujourd'hui. Deux ans plus tard, une protéine humaine, la somatostatine, est obtenue par génie génétique pour la première fois. Les auteurs sont deux chercheurs, S. Cohen (né en 1922) et H. Boyer (né en 1936) qui ont rejoint une entreprise privée, Genentech, première entreprise industrielle fondée pour exploiter l'ingénierie génétique. L'année suivante, Genentech produit l'insuline humaine avec des colibacilles modifiés et depuis diverses substances d'intérêt fondamental, médical ou industriel ont été produites.

Dans les années 1980, ce sont des animaux et des plantes transgéniques qui sont obtenus. En 1983, une technique d'amplification moléculaire, la PCR (polymerase chain reaction) est inventée par K. Mullis qui obtiendra le prix Nobel de chimie en 1993. La PCR permet d'obtenir d'importantes quantités d'ADN à partir d'un échantillon ne contenant que quelques cellules et devient une des techniques de choix de la biologie moléculaire. Aujourd'hui, la biologie moléculaire offre des outils dont les possibilités appellent des réflexions de fond dans les domaines les plus variés. Citons l'alimentation (OGM, maladies à prions), les médicaments (de plus en plus nombreux à être produits en relation avec la génétique), le domaine médico-légal (empreintes génétiques, diagnostic prénatal, fichiers de délinquants), les questions essentiellement financières comme les assurances (prédispositions aux maladies), etc. Dans la plupart des pays, des comités d'éthique ont été instaurés et diverses associations restent mobilisées pour identifier les dérives éventuelles. Le séquençage du génome de nombreuses espèces donne naissance à une nouvelle discipline, la génomique, et celui du génome humain est pour demain, pour le meilleur et pour le pire...

EXPÉRIENCE : ISOLER ET VOIR L'ADN

Matériel

Sources possibles d'ADN : germes de soja* (magasins d'alimentation asiatique), poudre de germe de blé, lentilles sèches**, oignon, levure sèche, foie congelé, etc. (supermarchés).

Détergent : liquide vaisselle de marque quelconque (supermarchés).

Protéase : comprimés de déprotéinisation pour entretien des lentilles de contact (opticiens, supermarchés).

Alcool à 90° (en pharmacie) ou alcool à brûler.

Broyeur électrique. Passoire. Compte gouttes.

* Appartient en fait à l'espèce *Vigna radiata*

** Choisir la variété "lentilles vertes du Puy"

Principes

Un broyage mécanique sépare les cellules et un traitement par un détergent détruit les membranes cellulaires permettant de libérer l'ADN en solution. Un traitement par une protéase permet de détruire ensuite les protéines qui passent aussi en solution tandis que les débris cellulaires décantent.

Une couche d'alcool est alors déposée à la surface du mélange pour faire précipiter l'ADN progressivement à l'interface alcool – eau de façon visible à l'œil nu. Il est possible de le collecter, par exemple pour le colorer au bleu de méthylène.

Réalisation

- Placer deux volumes d'eau du robinet pour un volume de matériel biologique dans un mixer.
- Broyer pendant quelques secondes jusqu'à obtenir des particules fines.
- Ne pas broyer trop longtemps car les longues molécules d'ADN sont fragiles.

Un hachage suivi d'un broyage mécanique manuel est également possible, notamment pour les échantillons d'origine animale (foie).



N'importe quel mixer électrique fait l'affaire



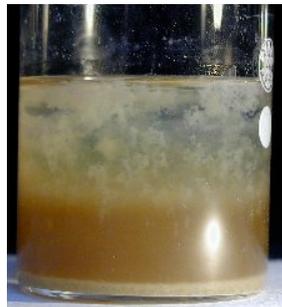
- Verser le broyat sur un tamis pour éliminer les débris solides.
- Récupérer le liquide dans un flacon.

- Ajouter du liquide vaisselle dans le flacon (environ une demi cuillère à café pour 30 mL de liquide).
- Laisser reposer une dizaine de minutes et remuer de temps en temps avec la cuillère.



N'importe quel liquide vaisselle fait l'affaire

- Ajouter un comprimé de déprotéinisation au liquide et remuer jusqu'à sa dissolution.
- Laisser reposer une quinzaine de minutes en remuant doucement de temps en temps.
- Après décantation, récupérer l'essentiel du liquide dans un flacon et laisser de côté les débris.
- Avec un compte gouttes, enlever la mousse présente en surface du liquide.
- Mettre dans un flacon un volume d'alcool égal au volume de liquide à traiter.
- En inclinant les deux flacons, verser l'alcool à la surface du liquide en veillant à verser lentement pour que l'alcool forme une couche à la surface de l'extrait.
- Laisser reposer : l'ADN précipite à l'interface eau-alcool et peut être recueilli avec le compte gouttes.



Précipitation de l'ADN de lentille (à gauche) et de germes de soja (à droite)



Gros plan sur l'ADN précipité



ADN collecté dans l'alcool

Amusez-vous bien !



TOUS DROITS RESERVES
© 2000 D. Pol

pol@imagnet.fi

*N'hésitez pas à faire connaître vos impressions, commentaires,
suggestions etc. ☐*
