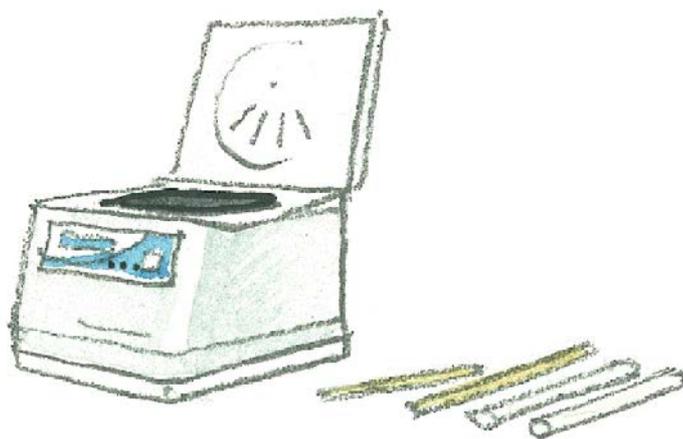




DOSSIER DECOUVERTE

Le Kit ADN

Extraire au niveau moléculaire





SOMMAIRE

<u>Au fil de l'histoire.....</u>	<u>3</u>
<u>Le kit ADN, du principe à l'utilisation.....</u>	<u>5</u>
<u>Le kit ADN au service de la science.....</u>	<u>7</u>
<u>Glossaire.....</u>	<u>11</u>



Au fil de l'histoire

Fin XIX^e - début XX^e siècle : l'avènement de la génétique

Les bases de la génétique datent de 1860 et ont été établies par le moine Grégor Mendel qui souhaitait comprendre la reproduction des êtres vivants, notamment afin de mieux maîtriser les croisements de plantes. Il a ainsi observé la transmission, d'une génération à l'autre, de certains caractères apparents chez le pois comme la couleur ou la rugosité de l'enveloppe. Ses travaux ont conduit à l'établissement d'un vocabulaire de base : gènes, allèles... 50 ans plus tard, en étudiant la drosophile, l'américain Thomas Morgan a mis en évidence que les gènes étaient des éléments matériels portés par les chromosomes. En 1928, le bactériologue anglais Frederick Griffith met en lumière la mutation des gènes.

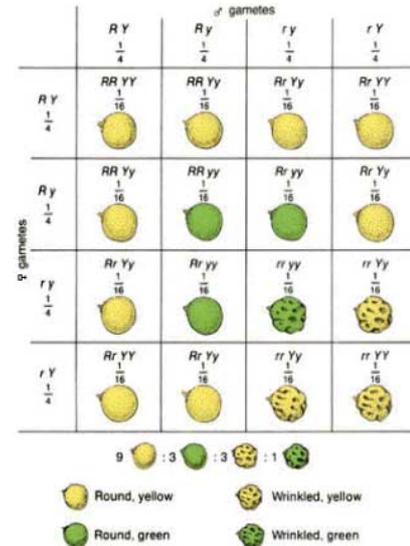


Schéma issu de « Experiments in Plant Hybridization » de Gregor Mendel publié en 1865. Crédit Google

Milieu du XX^e siècle : la molécule d'ADN et ses caractéristiques



James Watson and Francis Crick (à droite), qui ont découvert la structure en double-hélice, et McCarty (à gauche). Crédit Google

Bien que la molécule d'ADN ait été isolée pour la première fois en 1869 par le médecin suisse Frédéric Miescher, il faudra attendre 1944 avant qu'elle soit associée à l'information héréditaire grâce aux travaux d'Avery, McLeod et McCarthy. Quelques années plus tard, s'inspirant des travaux de Rosalind Franklin, James Watson et Francis Crick découvrent la structure en double hélice de l'ADN. Cette découverte révolutionne l'étude du vivant : l'ADN est porteuse d'une succession de 4 bases azotées qui forme l'information génétique. Cette découverte leur vaudra le prix Nobel de médecine en 1962.

De 1970 à nos jours : l'ingénierie de l'ADN

Jusqu'au milieu des années 1970, on ne savait pas isoler un gène déterminé, au sein de l'immense molécule d'ADN. Ce verrou fut levé grâce à l'invention, vers 1975, du génie génétique et aux techniques de séquençage mises au point par Paul Berg, Walter Gilbert et Frederick Sanger (prix Nobel de Chimie en 1980). Les séquences d'ADN peuvent désormais être établies par un processus appelé « séquençage », et ceci en partant de très petites quantités d'ADN grâce à l'utilisation de



« techniques d'amplification » comme la PCR (cf mode d'emploi et fonctionnalités). On peut ainsi comparer facilement des séquences d'ADN avec des objectifs multiples.

Par exemple, quelques années plus tard, en 1987, le chercheur Alec Jeffreys met au point une méthode d'identification par l'ADN. L'empreinte génétique sera utilisée judiciairement pour la première fois en 1987 en Angleterre afin de retrouver le violeur et meurtrier de deux jeunes filles. La méthode aura un succès retentissant, ce qui poussera les autorités publiques à étendre son utilisation à l'identification de corps et aux tests de paternité.

La comparaison des séquences d'ADN d'espèces actuelles est aujourd'hui à la base de l'identification des « parentés évolutives » et contribue à montrer l'unité du vivant tout en retraçant sa diversification.



*Alec Jeffreys
Crédit Google*

Informations complémentaires :

Histoire de la découverte de l'ADN

<http://acces.ens-lyon.fr/biotic/genetic/adn/html/histoire.htm>

Le dossier "génétique" de la fondation recherche médicale

<http://www.frm.org/dossiers-95.html>

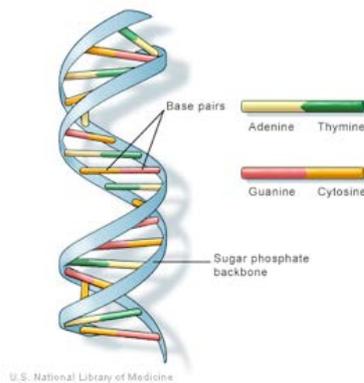
Le récit personnel de J. Watson sur la découverte de la structure de l'ADN

"La double hélice", James D.Watson, édition Pluriel



Le kit ADN, du principe à l'utilisation

Le principe



L'ADN signifie "Acide Désoxyribonucléique". C'est une molécule qui contient toute l'information génétique héréditaire nécessaire au bon fonctionnement d'un organisme. Elle est contenue dans les chromosomes* situés dans le noyau des cellules*. Elle est formée de deux brins complémentaires enroulés en double hélice. Ces brins sont constitués d'une série de briques élémentaires : les nucléotides, dont l'ordre d'enchaînement est très précis; et qui regroupés, forment les gènes*.

L'ADN est une molécule séquencée
Crédit Google

Mode d'emploi et fonctionnalités

Extraire l'ADN

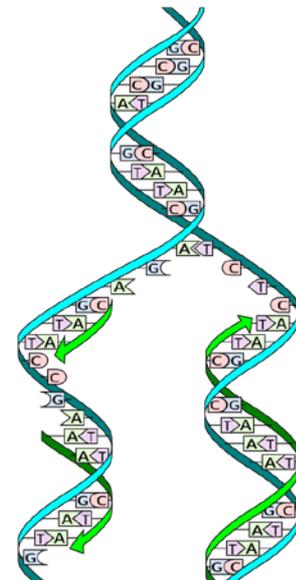
Avant toute chose, il est nécessaire d'isoler l'ADN du reste de la cellule dans laquelle elle est contenue.

Répliquer l'ADN

Une fois l'ADN isolé, on l'analyse au moyen d'une technique appelée PCR (pour "Polymerase Chain Reaction"), ou réaction en chaîne par polymérase. L'objectif est de répliquer à des milliers d'exemplaires le segment spécifique de la molécule d'ADN à étudier. Sachant qu'avec un seul brin, on peut reconstruire l'autre, les brins sont d'abord séparés afin de servir de matrice pour la mise au point d'un nouveau double-brin. Le processus est répété plusieurs fois jusqu'à ce que l'on obtienne des centaines de milliers de copies du segment d'ADN, un nombre nécessaire à la détection de l'empreinte génétique.

Lire l'ADN

Afin de lire l'ADN, on utilise l'électrophorèse, un processus qui sépare les segments d'ADN en fonction de leur poids moléculaire. Un laser piloté par ordinateur est ensuite capable de les lire un par un et de les stocker dans l'ordinateur pour les comparer à d'autres empreintes génétiques.



Processus de répllication de l'ADN
Crédit : Google



A propos des limites et sources d'erreur



Représentation de l'ADN.

Crédit Google

Limites

L'ADN, comme toutes les molécules biologiques, peut se dégrader. Il est donc nécessaire de protéger très rapidement les échantillons en les plaçant dans des contenants stériles et secs. De plus, chaque technique de séquençage a aussi ses limites et des variables d'erreurs.

Sources d'erreur

Les analyses ADN sont soumises à plusieurs erreurs potentielles, telles qu'un prélèvement mal fait, une erreur d'étiquetage ou de manipulation, la contamination de l'échantillon...

L'ADN dans nos vies

Au quotidien, nous entendons parler des analyses ADN dans le cadre d'enquêtes criminelles, réelles ou issues de séries télévisées... On peut également avoir recours à cette technique pour pratiquer un test de paternité.

Informations complémentaires :

Une animation du CEA pour expliquer ce qu'est l'ADN

<http://www.cea.fr/jeunes/mediatheque/animations-flash/sciences-du-vivant/l-adn>

Une fiche des Ateliers Pasteurs de Lille pour expliquer ce qu'est l'ADN aux plus jeunes

http://kid.pasteur-lille.fr/ateliers/adn/dossier_partie1.html

Une vidéo KEZAKO : Comment fait-on une analyse ADN ?

<https://www.youtube.com/watch?v=uiZl0Z2G1Mw>

Autres techniques de lecture ou de séquençage de l'ADN

<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/sequencage/sequence.htm>

[http://biochimej.univ-](http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/9ModulGenFoncVeg/5MethEtudGenFonc/1MethodeSEQUENGAGE/1SEQUENGAGE.htm)

[angers.fr/Page2/COURS/9ModulGenFoncVeg/5MethEtudGenFonc/1MethodeSEQUENGAGE/1SEQUENGAGE.htm](http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/9ModulGenFoncVeg/5MethEtudGenFonc/1MethodeSEQUENGAGE/1SEQUENGAGE.htm)



Le kit ADN au service de la Science

Le séquençage d'un ADN, c'est à dire la détermination de la succession des nucléotides le composant, est aujourd'hui une technique de routine pour les laboratoires de médecine et de biologie.

Ne pas confondre : Génétique et génomique
 La génomique étudie le fonctionnement d'un organisme, d'un organe, etc. à l'échelle du génome, soit l'ensemble des gènes, au lieu de se limiter à l'échelle d'un seul gène comme le fait la génétique.

L'ADN et TARA

Référencer les espèces via le " barcoding" ou la métagénomique

Un barcode moléculaire est un fragment d'ADN présent chez tous les organismes vivants. La séquence de ce fragment bien précis d'ADN est quasiment identique chez des individus qui appartiennent à la même espèce. Cela permet donc de déterminer l'espèce à laquelle appartient un individu en ne connaissant que la séquence de ce fragment d'ADN. La métagénomique est une autre technique de séquençage, qui analyse l'ensemble des génomes présents dans l'échantillon prélevé, de manière aléatoire, sans qu'il soit nécessaire d'isoler individuellement les organismes ni l'un de leur gène, contrairement au "barcoding".

Ces techniques sont toutes deux utilisées pour séquencer l'ensemble des échantillons de plancton, bactéries et virus récoltés lors de l'expédition Tara Océans. Ces analyses sont réalisées au Génomoscope, le centre national français de séquençage. La gigantesque quantité de données produites nécessite le recours aux capacités de calcul sans cesse croissantes des ordinateurs (cf dossier sur l'ordinateur).



Au Génomoscope, les ordinateurs sont les précieux alliés du séquençage du plancton.
 Crédit : Tara Expéditions

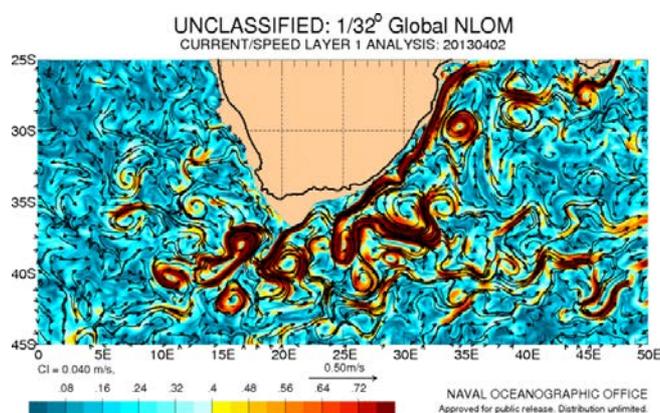


Le Génomoscope, centre national de séquençage . Crédit : Google

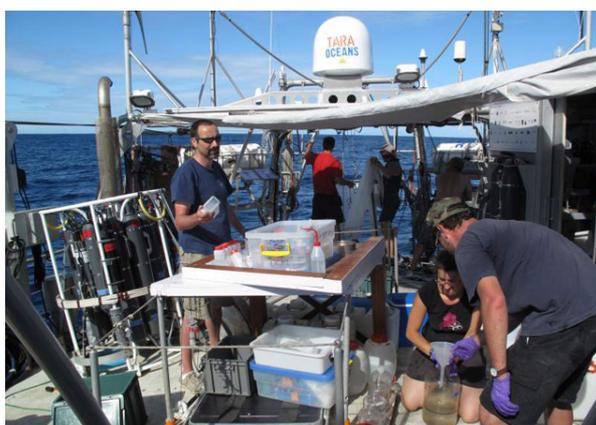


Caractériser la diversité entre individus d'une même espèce

Le barcode moléculaire présente un niveau de variabilité intéressant : les individus d'une même espèce peuvent avoir de légères différences dans les séquences de cet ADN dues à des mutations au cours du temps. Une espèce est ainsi constituée d'une communauté de barcodes moléculaires très proches les uns des autres, plutôt que d'un seul. Cette caractéristique permet aux scientifiques de suivre l'évolution dans le temps et dans l'espace d'une population, et d'essayer de déterminer les facteurs de l'environnement qui l'affecte. En particulier, les scientifiques embarqués lors de Tara Océans se sont intéressés au courant des Aiguilles, une série de tourbillons qui se forme au large de l'Afrique du Sud, et qui isole les communautés planctoniques du reste de l'océan.



Représentation numérique du courant des Aiguilles
Crédit : Google



Une station scientifique dans l'Océan Indien.
Crédit : Bourmaud

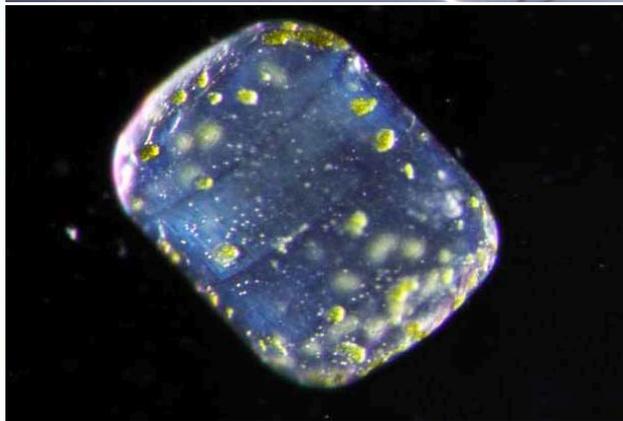


Observation des prélèvements dans l'Océan Indien. Crédit : Bourmaud



Les premiers résultats de Tara Océans

En mai 2015, trois ans après la fin de l'expédition Tara Océans qui avait récolté près de 35000 échantillons de plancton, l'équipe scientifique de Tara Océans a présenté les premiers résultats. Les analyses menées sur ces échantillons constituent le plus grand travail de séquençage jamais effectué pour des organismes marins. Environ 40 millions de gènes microbiens ont été révélés, dont la grande majorité sont totalement nouveaux, démontrant une diversité planctonique jusqu'alors insoupçonnée. Les analyses ont également révélé l'importance du facteur température sur les espèces présentes. Ceci laisse présager d'un impact potentiel du changement climatique sur l'écosystème planctonique.



En haut à droite : Plancton - Larves de poissons. Crédit :C.Sardet

En bas à droite : Plancton-diatomées. Crédit: C.Sardet

A gauche : Tara relève ses filets à planctons. Crédit: J.Bastion



Au cœur de l'action

Décembre 2010 : la goélette est en pleine mission Tara Océans, quelque part dans le sud de l'Océan Atlantique. Dans le carré, Nigel Grimsley, chercheur en biologie à l'Observatoire Océanologique de Banyuls prépare les feuilles de prélèvement, indispensables pour éviter toute erreur notamment lors des analyses ADN des échantillons.



Crédit : V.Hilaire

Informations complémentaires :

Qu'est-ce qu'un barcode moléculaire ?

<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/barcode/barcode.htm>

Un article sur la métagénomique et Tara Océans

http://www.pourlascience.fr/ewb_pages/a/article-l-avenement-de-la-metagenomique-32171.php

Un article des chercheurs Gaby Gorsky et Valérian MORZADEC sur le courant des aiguilles

<http://oceans.taraexpeditions.org/jdb/les-courants-de-locean-indien-sud-influencent-locean-atlantique-sud/>

Communiqué de presse du CNRS sur les premiers résultats de Tara Océans

<http://www2.cnrs.fr/presse/communiqu/4063.htm>



Glossaire

Cellule : unité de base de tout organisme (excepté les virus). Sa membrane permet de créer une entité, séparée du milieu extérieur dans le cas des organismes unicellulaires, ou des autres cellules dans le cas des organismes pluricellulaires. La cellule contient les chromosomes et de nombreuses autres molécules biologiques.

Chromosomes : structure complexe située dans le noyau des cellules eucaryotes (et directement dans les cellules pour les procaryotes) et constitué notamment de molécules d'ADN.

Gène : segment d'ADN constitué de 2000 à 5 millions de nucléotides et qui contient l'information nécessaire à la synthèse de molécules fonctionnelles. L'espèce humaine possède près de 30000 gènes qui constituent le génome d'un individu.

