

# *Les OGM*

*5 décembre 2008*

Nicole Mounier

Université Claude Bernard Lyon 1  
CGMC, bâtiment Gregor Mendel  
43, boulevard du 11 Novembre 1918  
69622 Villeurbanne Cedex

# OGM

## Organismes Génétiquement Modifiés

### Transfert de gènes

Bactéries

Eucaryotes

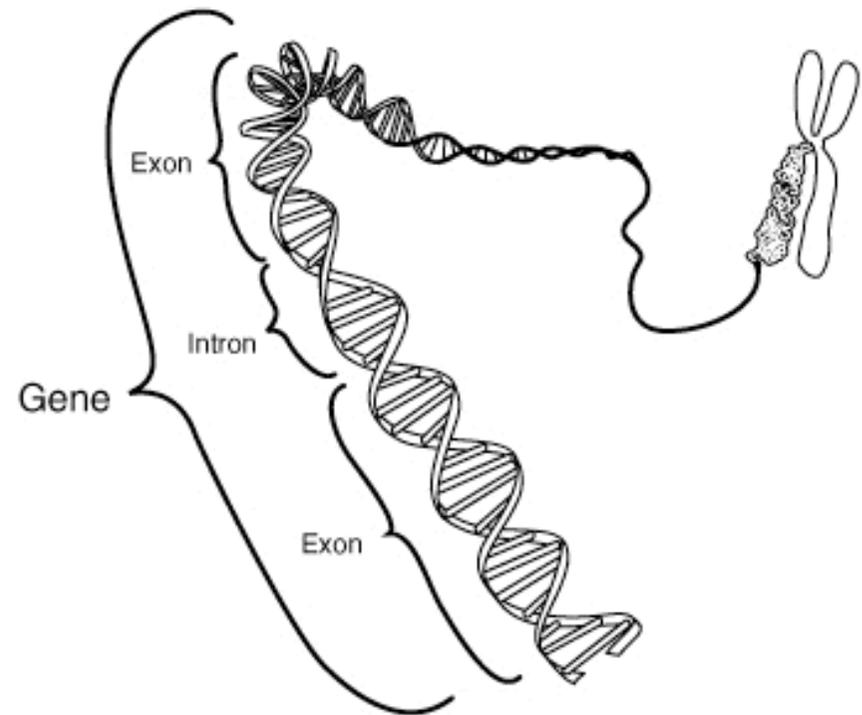
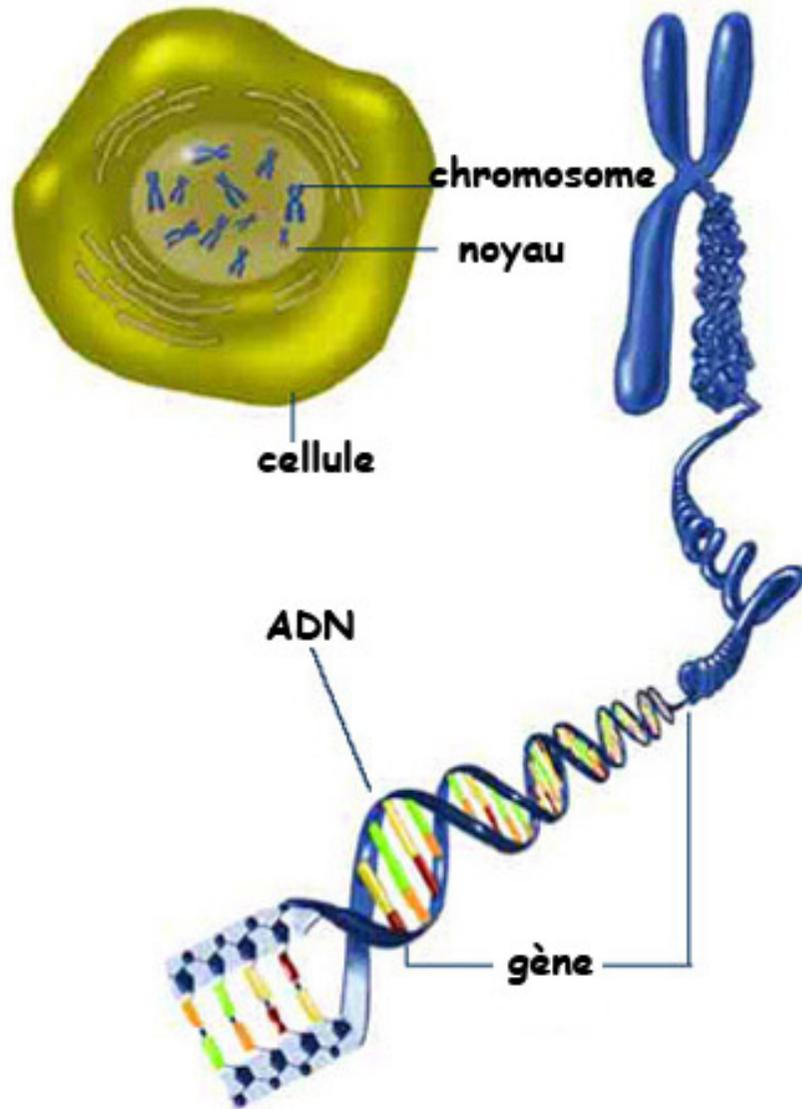
Microorganismes

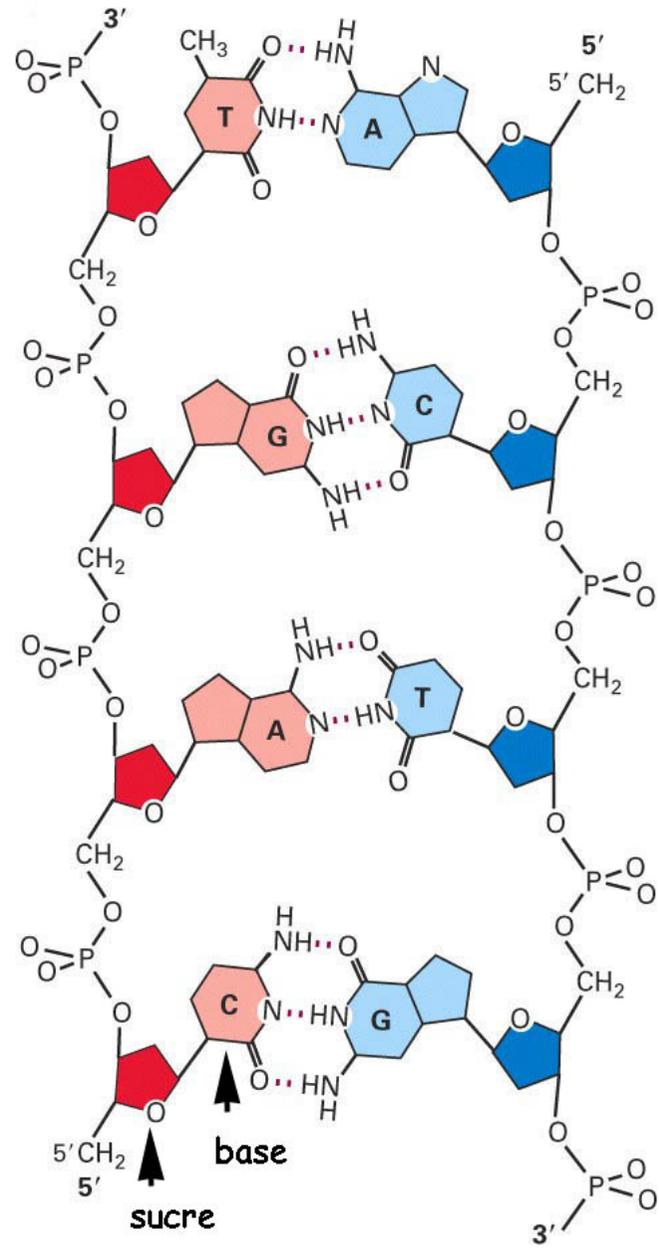
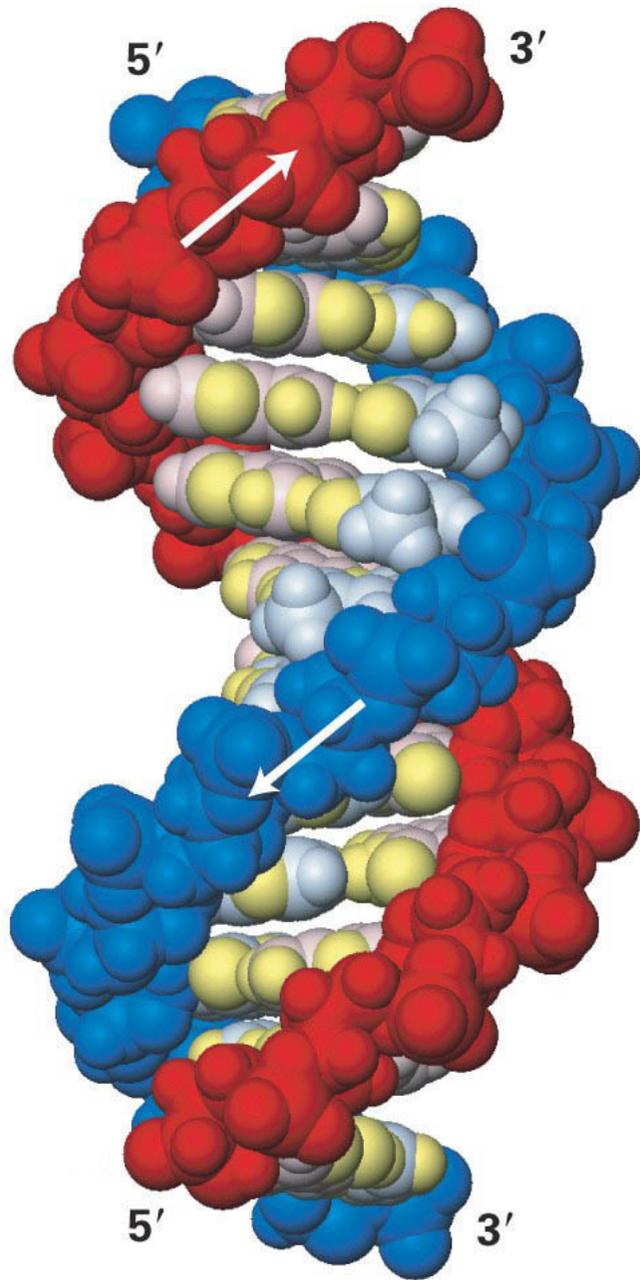
Animaux

Végétaux

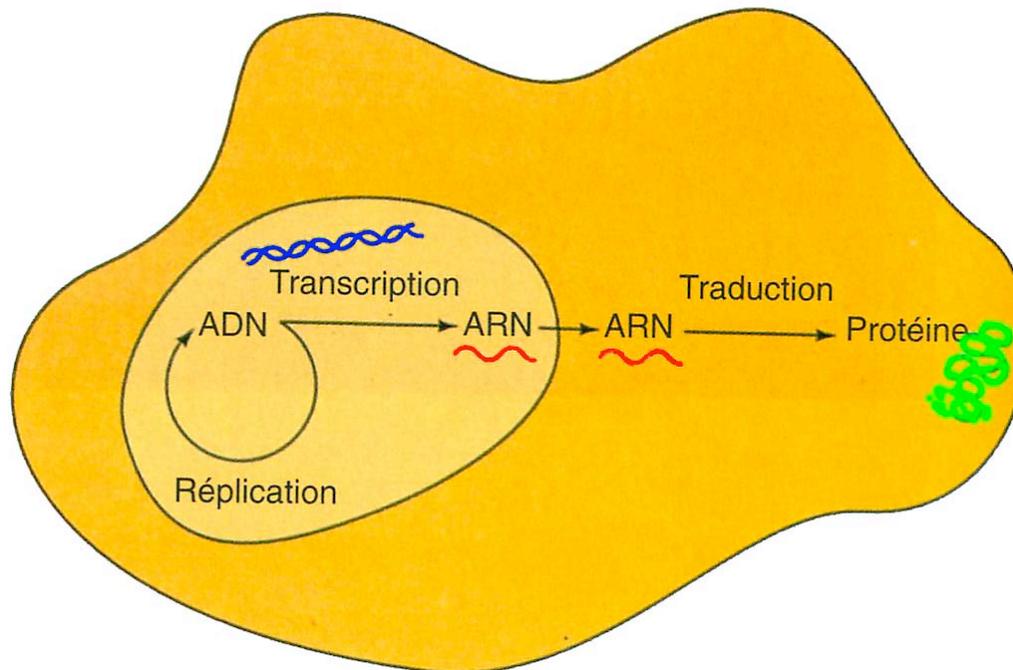
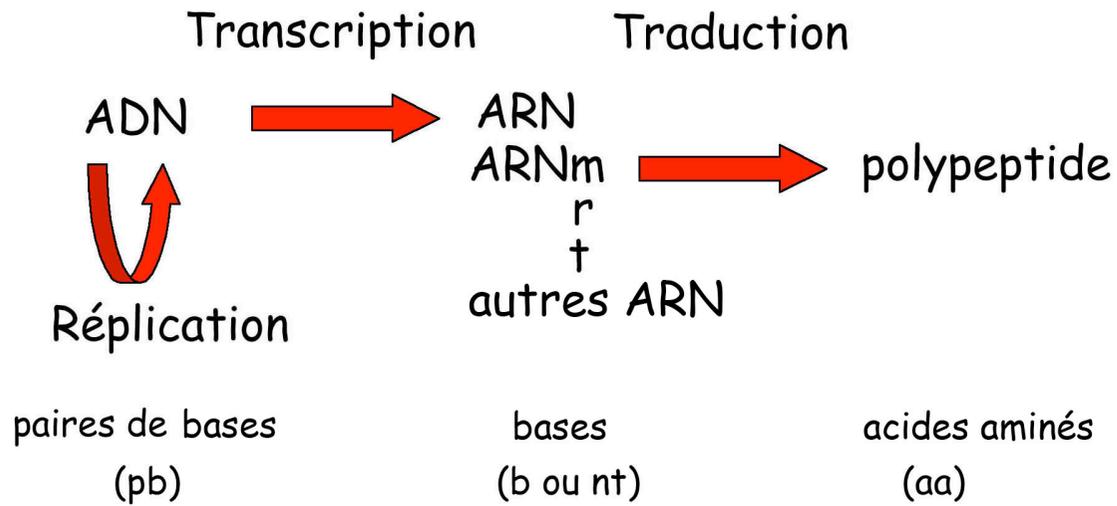
### Transfert nucléaire

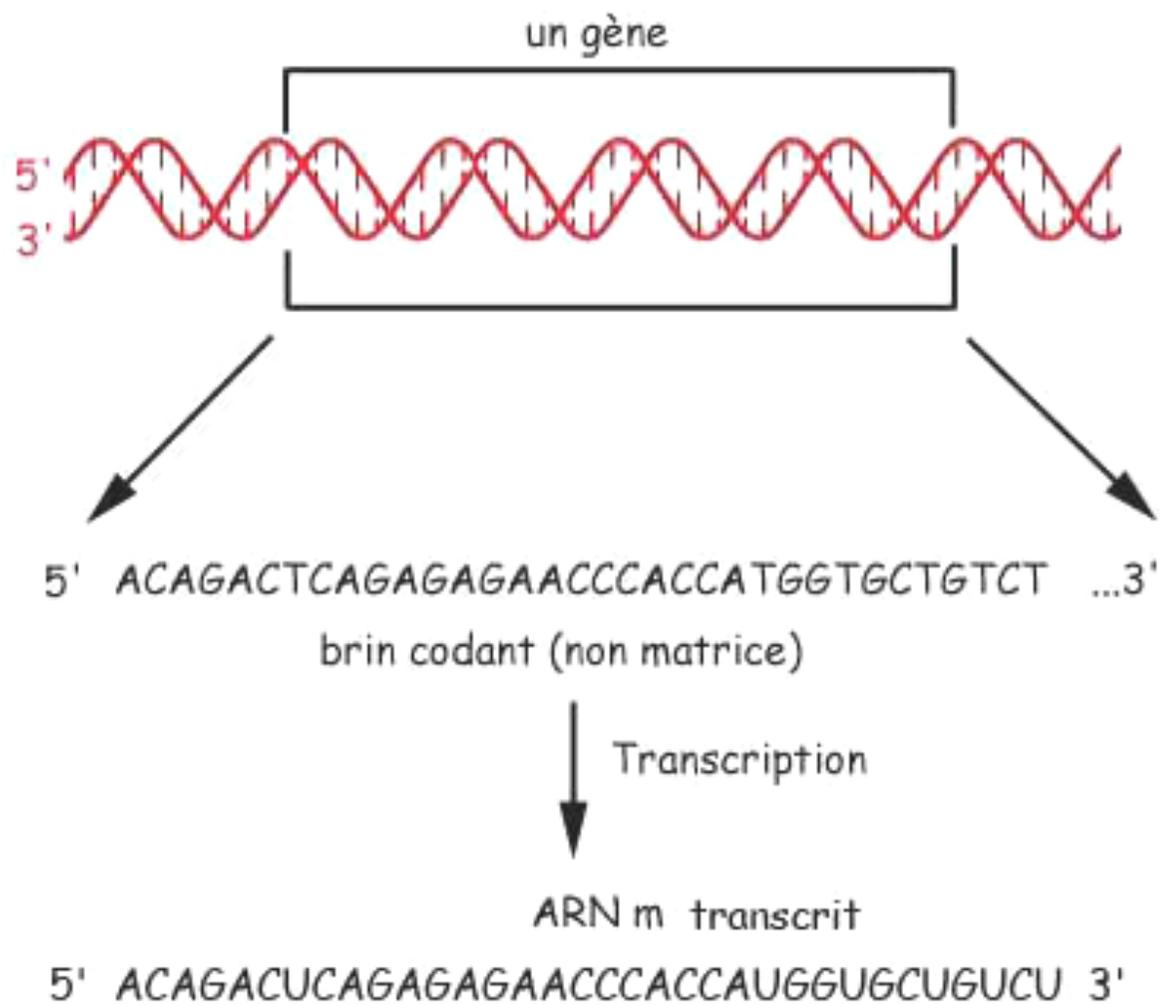
# Rappels





# Comment fonctionne un gène ?





# Comment manipuler l'ADN et les gènes ?

Effet attendu au niveau du produit du gène dans  
la cellule  
l'organisme  
la population d'organisme

Les outils enzymatiques

Couper, copier, coller l'ADN

Couper un ADN  
par une enzyme de restriction

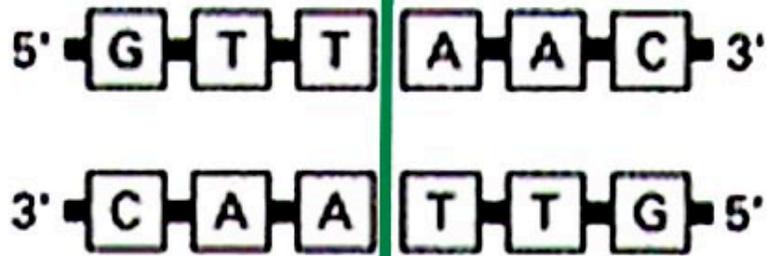
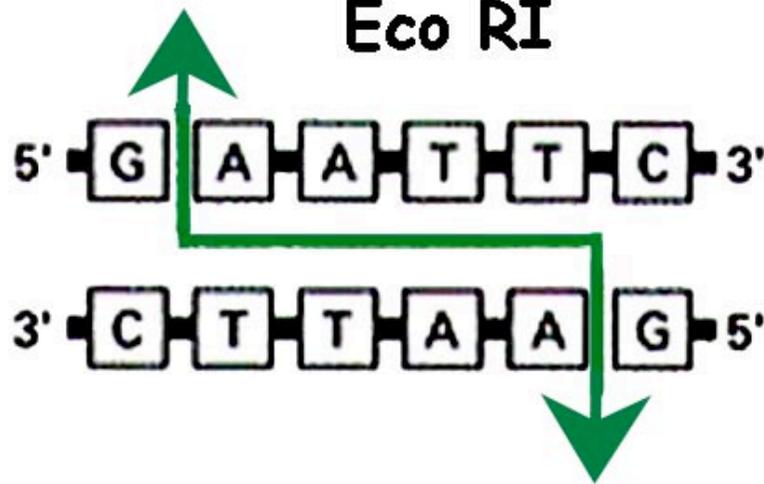
5 ' ATCGCGTAACGTATTCGAATTCTTCAGGCTAAGCTA 3 '  
3 ' TAGCGCATTGCATAAGCTTAAGAAGTCCGATTCGAT 5 '

5 ' ATCGCGTAACGTATTC**GAATTC**TTTCAGGCTAAGCTA 3 '  
3 ' TAGCGCATTGCATAAG**CTTAAG**AAGTCCGATTCGAT 5 '

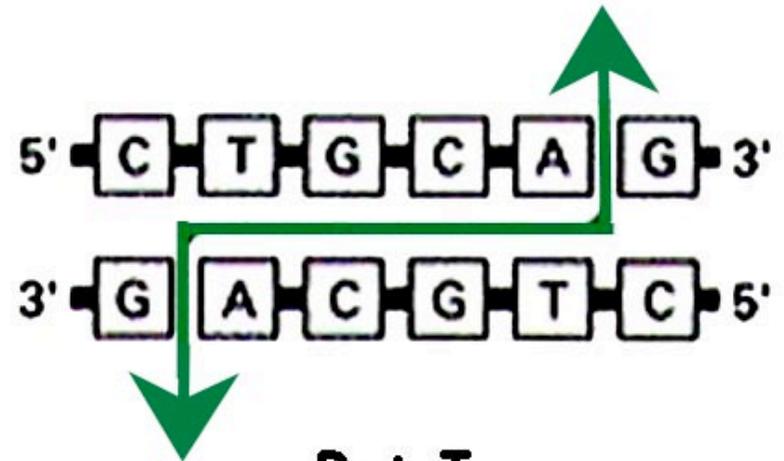
5 ' ATCGCGTAACGTATTC**G** **AATTC**TTTCAGGCTAA  
3 ' TAGCGCATTGCATAAG**CTTAA** **G**AAGTCCGATT

site de coupure

Eco RI

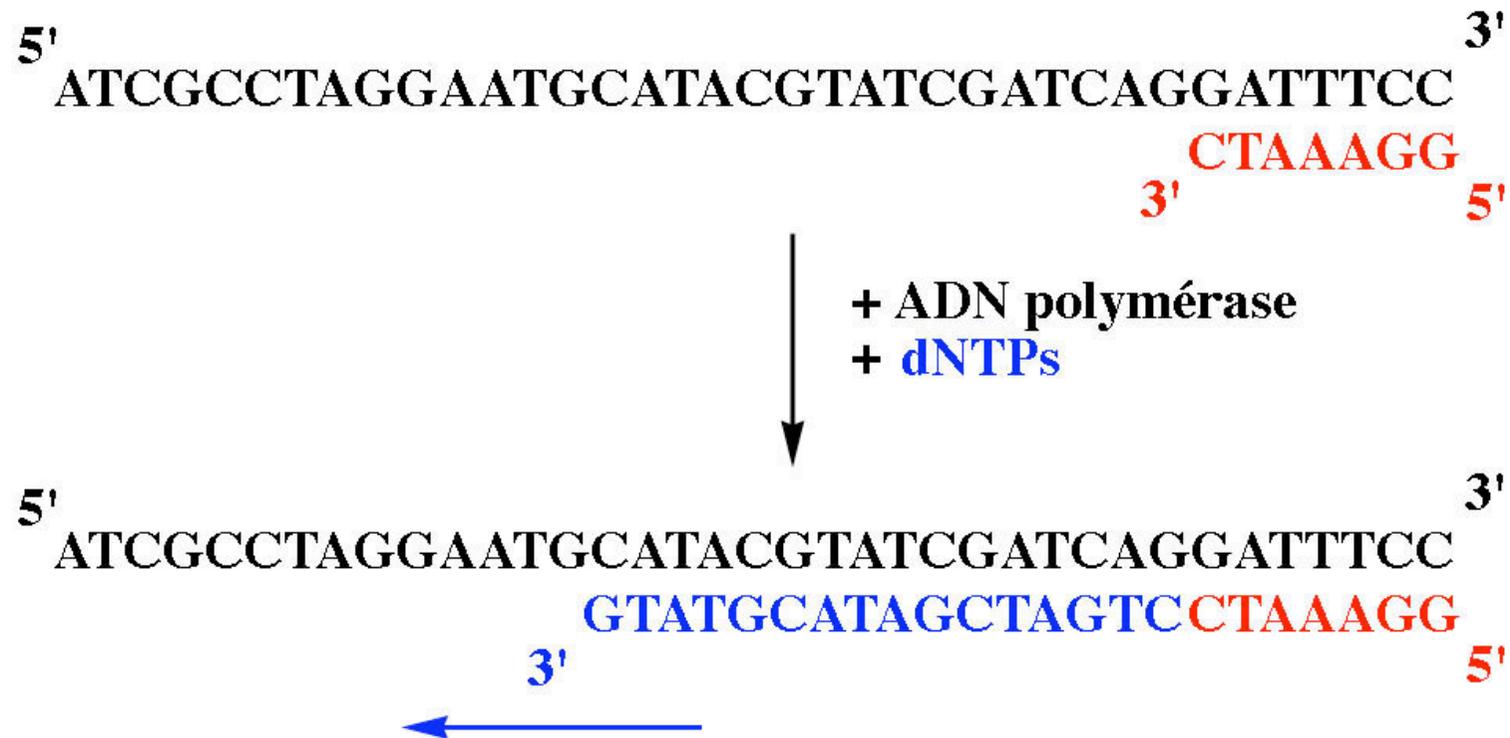


Hpa I



Pst I

# Copier, recopier un ADN grâce à une ADN polymérase



# Coller deux fragments d'ADN

5' ... TCGCATCACG  
3' ... AGCGTAGTGCTTAA

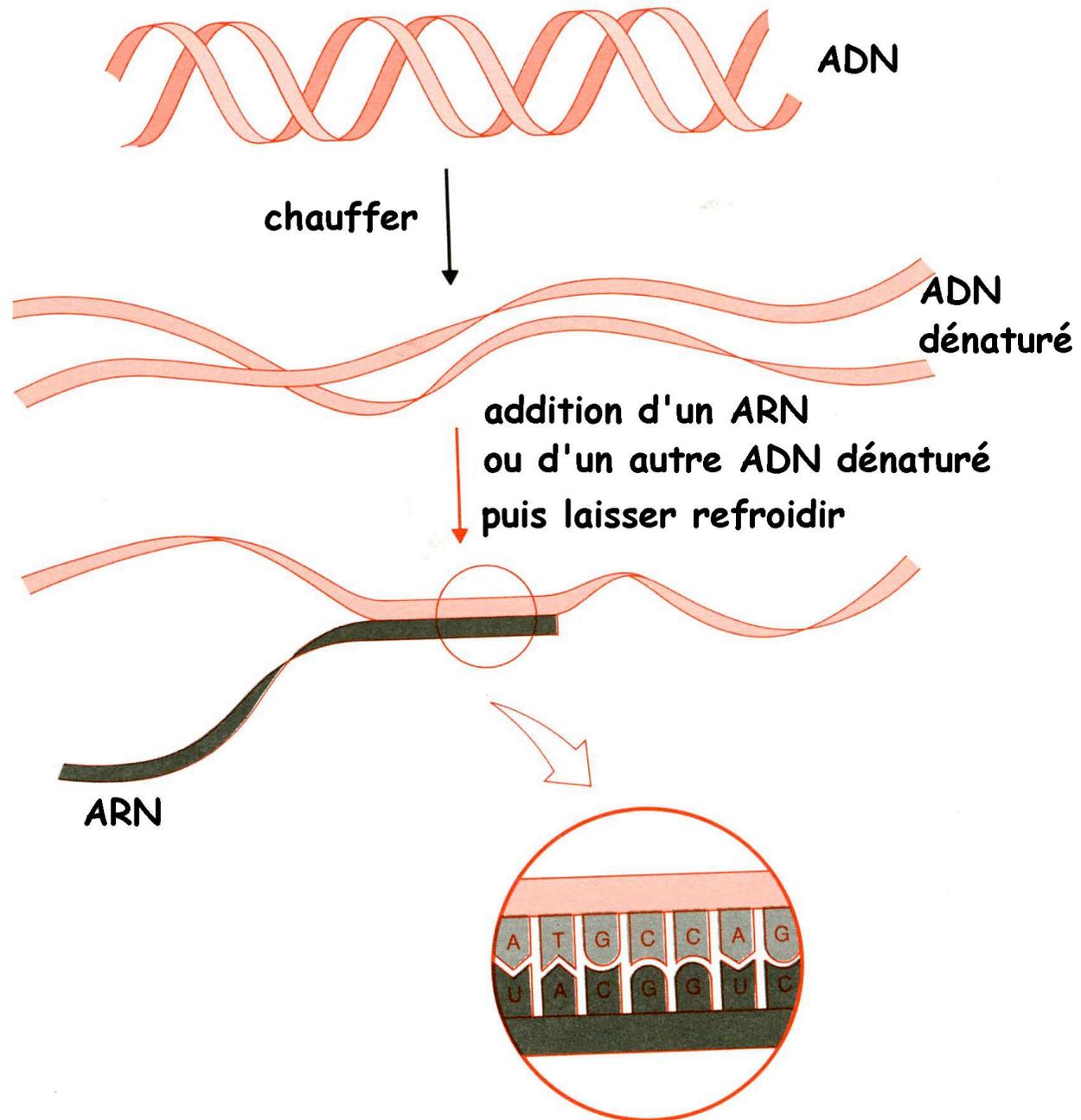
AATTCCGATCA ... 3'  
GGCTAGT ... 5'

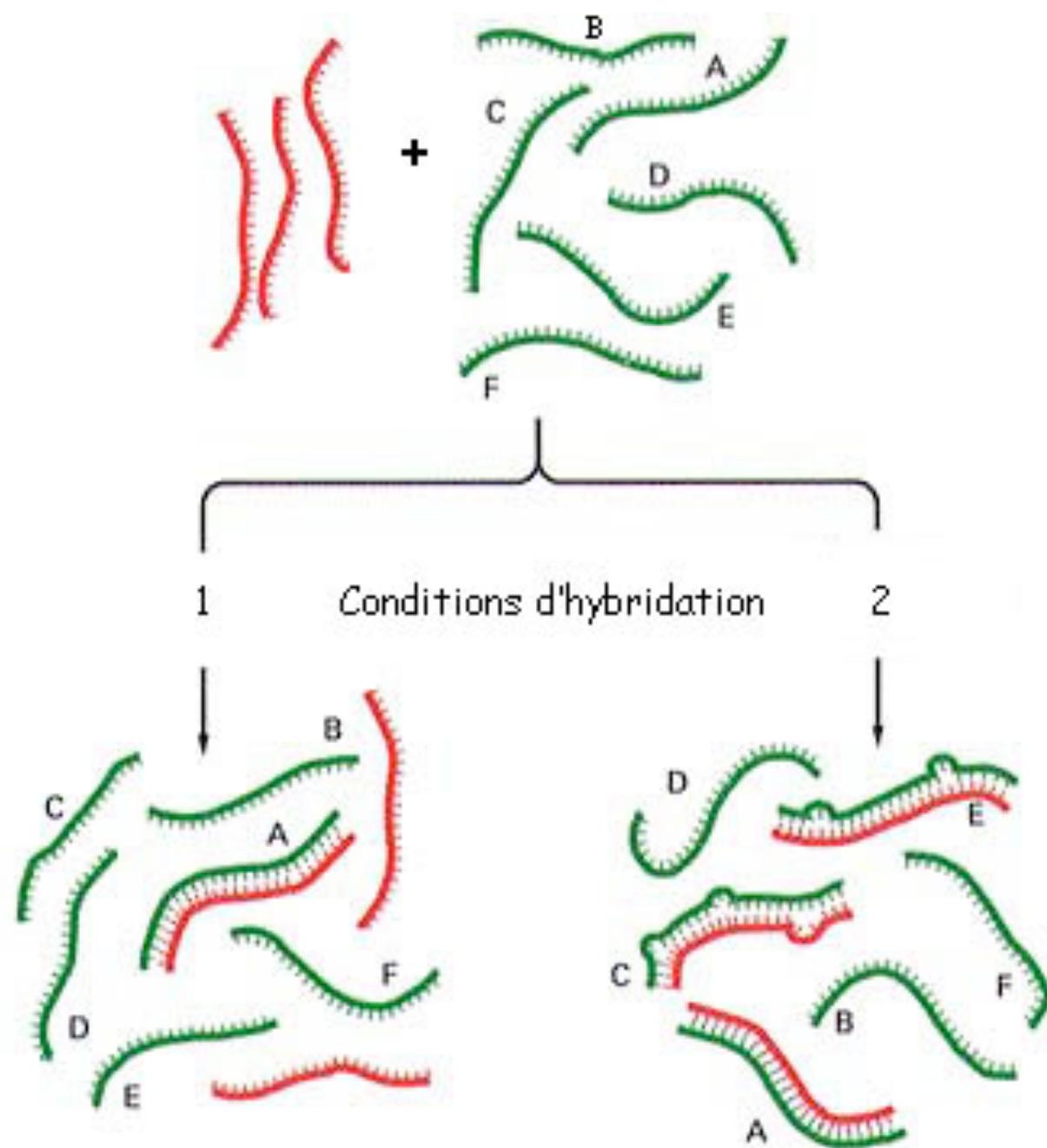


+ ADN ligase

5' ... TCGCATCACGAATTCCGATCA ... 3'  
3' ... AGCGTAGTGCTTAAGGCTAGT ... 5'

# Hybridation moléculaire





# Sonde

5' ... TCGATTGCTCGATGGTCGTAATGCGCTATGGATCGTCAGCT ... 3'  
3' ... AGCTAACGAGCTACCAGCATTACGCGATACCTAGCAGTCGA ... 5'

5' ...  TCGATTGCTCGATGGTCGTAATGCGCTATGGATCGTCAGCT ... 3'  
3' ... AGCTAACGAGCTACCAGCATTACGCGATACCTAGCAGTCGA ... 5' 

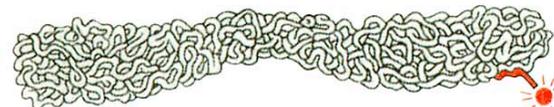
5' ...  TCGATTGCTCGATGGTCGTAATGCGCTATGGATCGTCAGCT ... 3'  
3' ... AGCTAACGAGCTACCAGCATTACGCGATACCTAGCAGTCGA ... 5'  
     



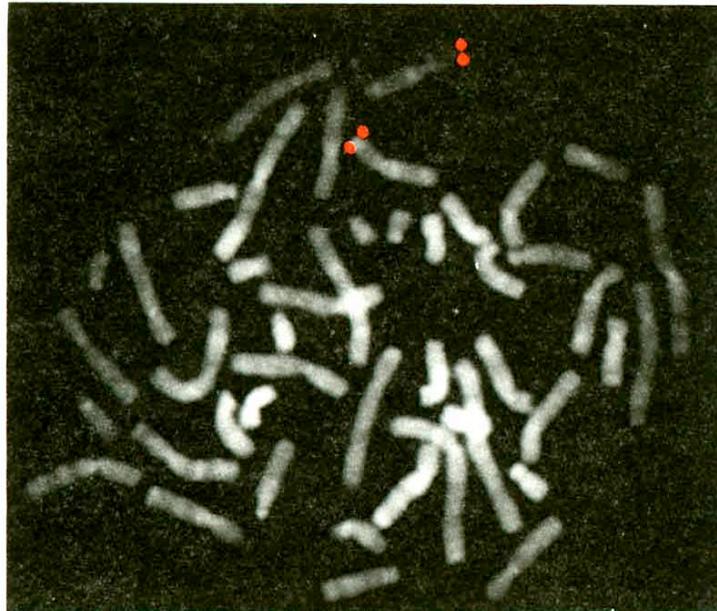
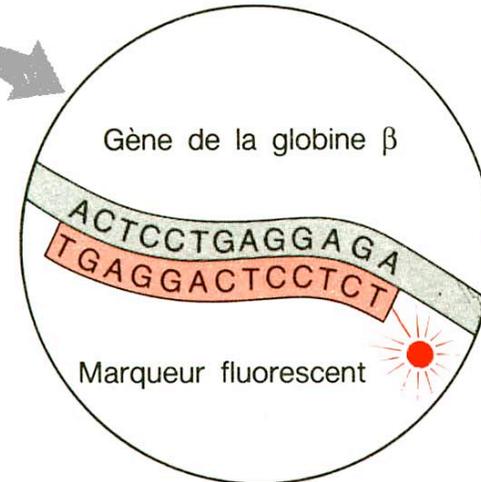
Déroulement des fibres

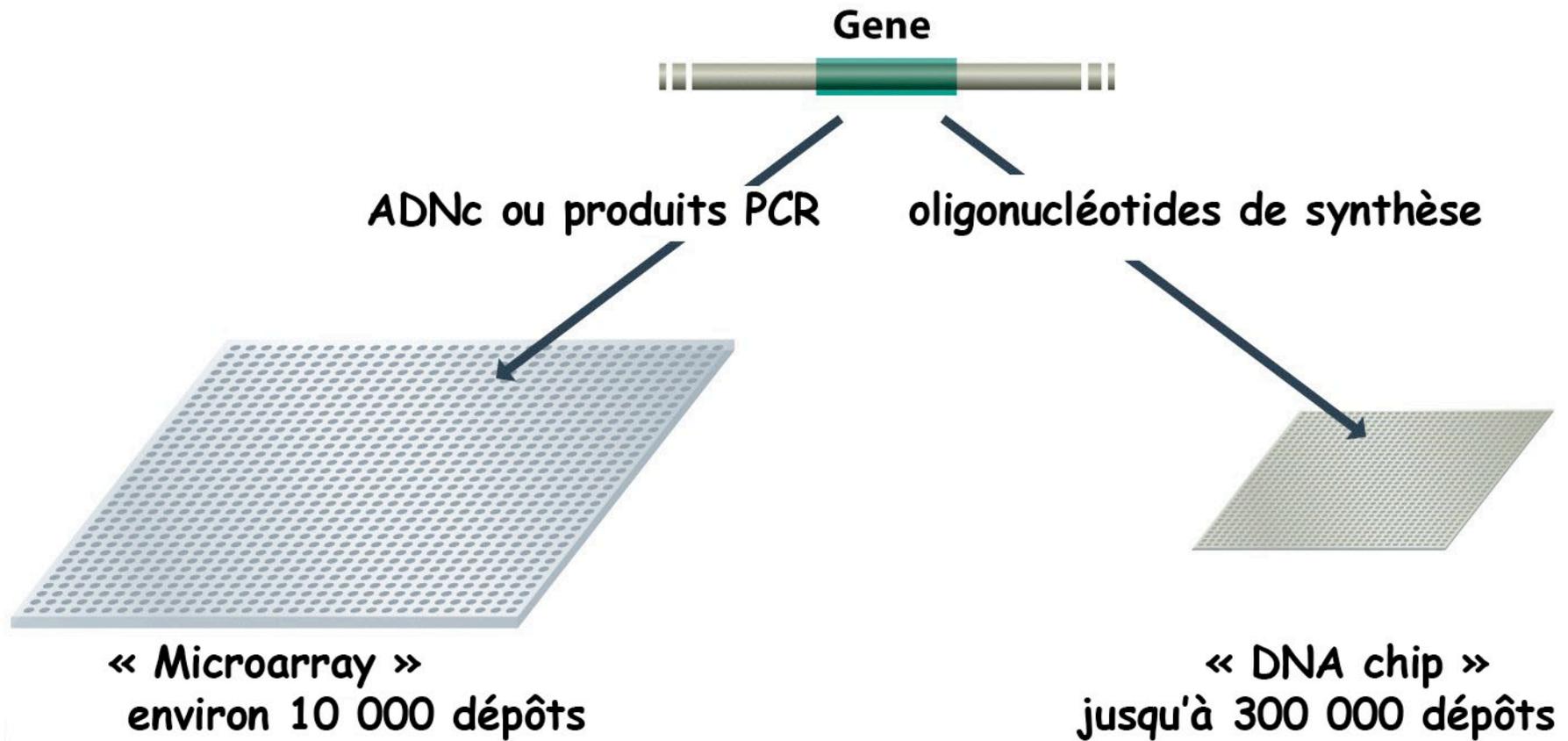


Hybridation avec une sonde  
fluorescente du gène de globine  $\beta$

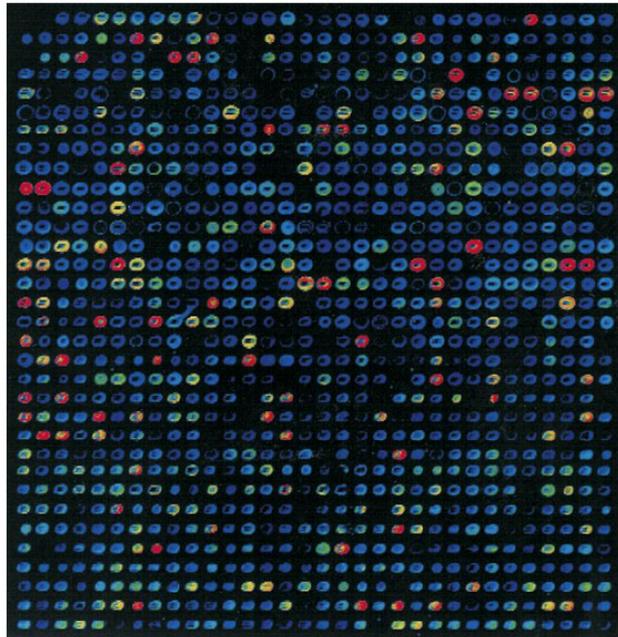
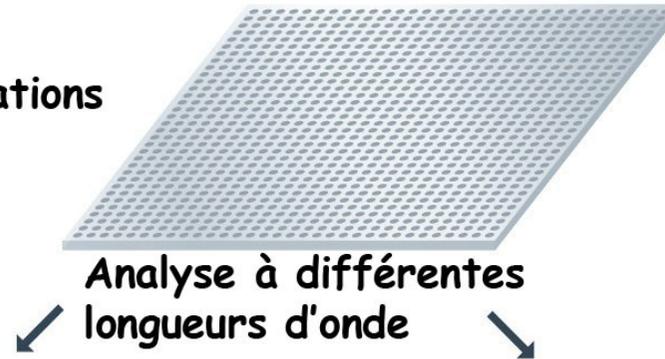


ADN marqué au gène de la globine  $\beta$

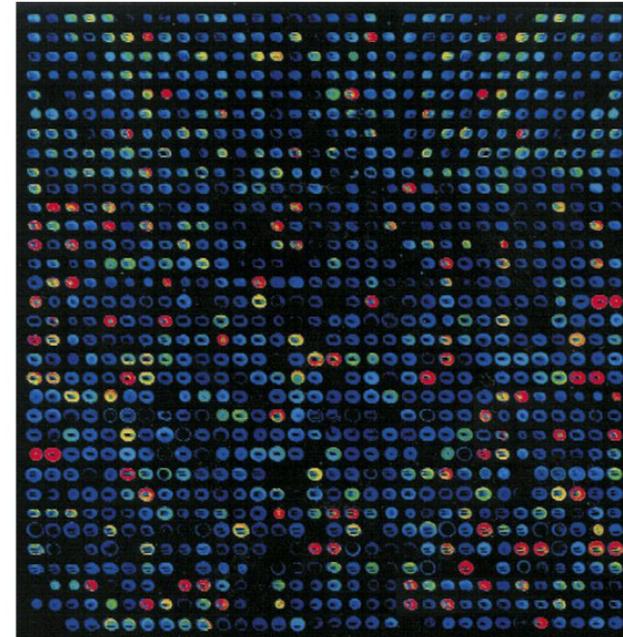




Puce hybridée  
avec 2 préparations  
d'ADNc



Transcriptome 1



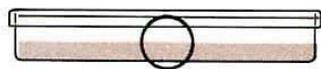
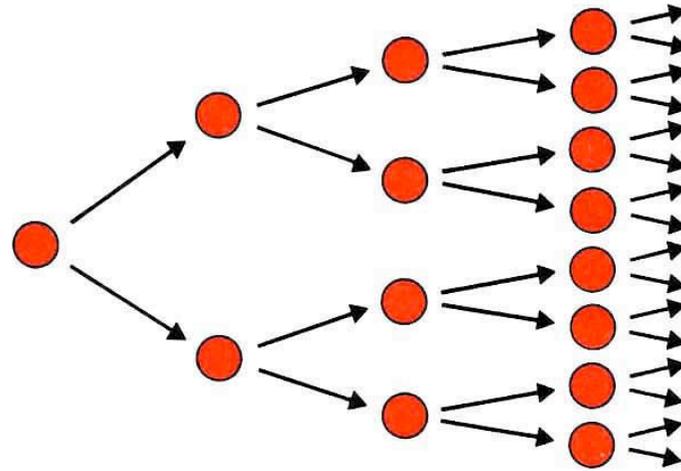
Transcriptome 2

puce = terme générique

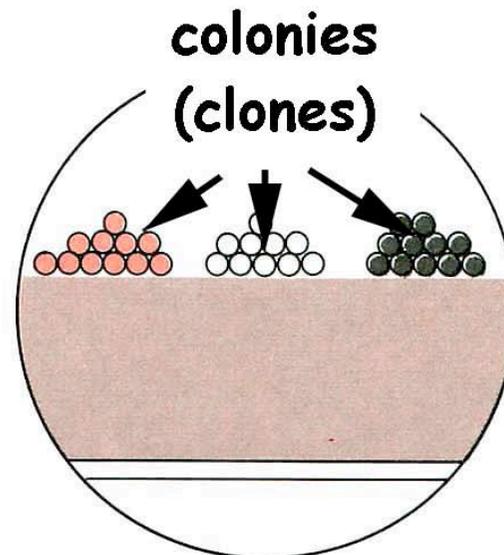
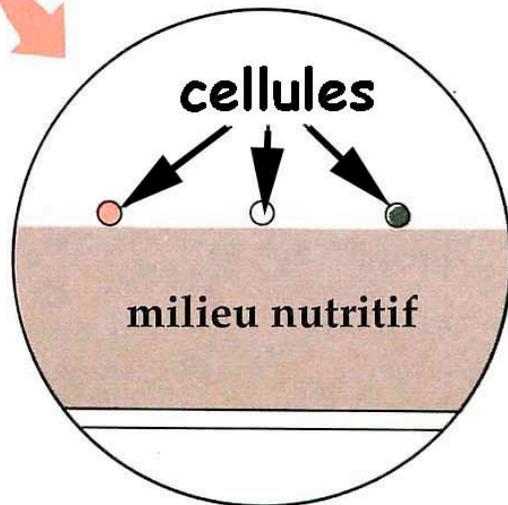
sonde : ADNc marqué par un composé fluorescent  
détectée par laser

l'intensité du signal est convertie en une pseudo couleur  
rouge réponse la plus élevée, orange, jaune ...  
bleu violet, réponse la plus faible

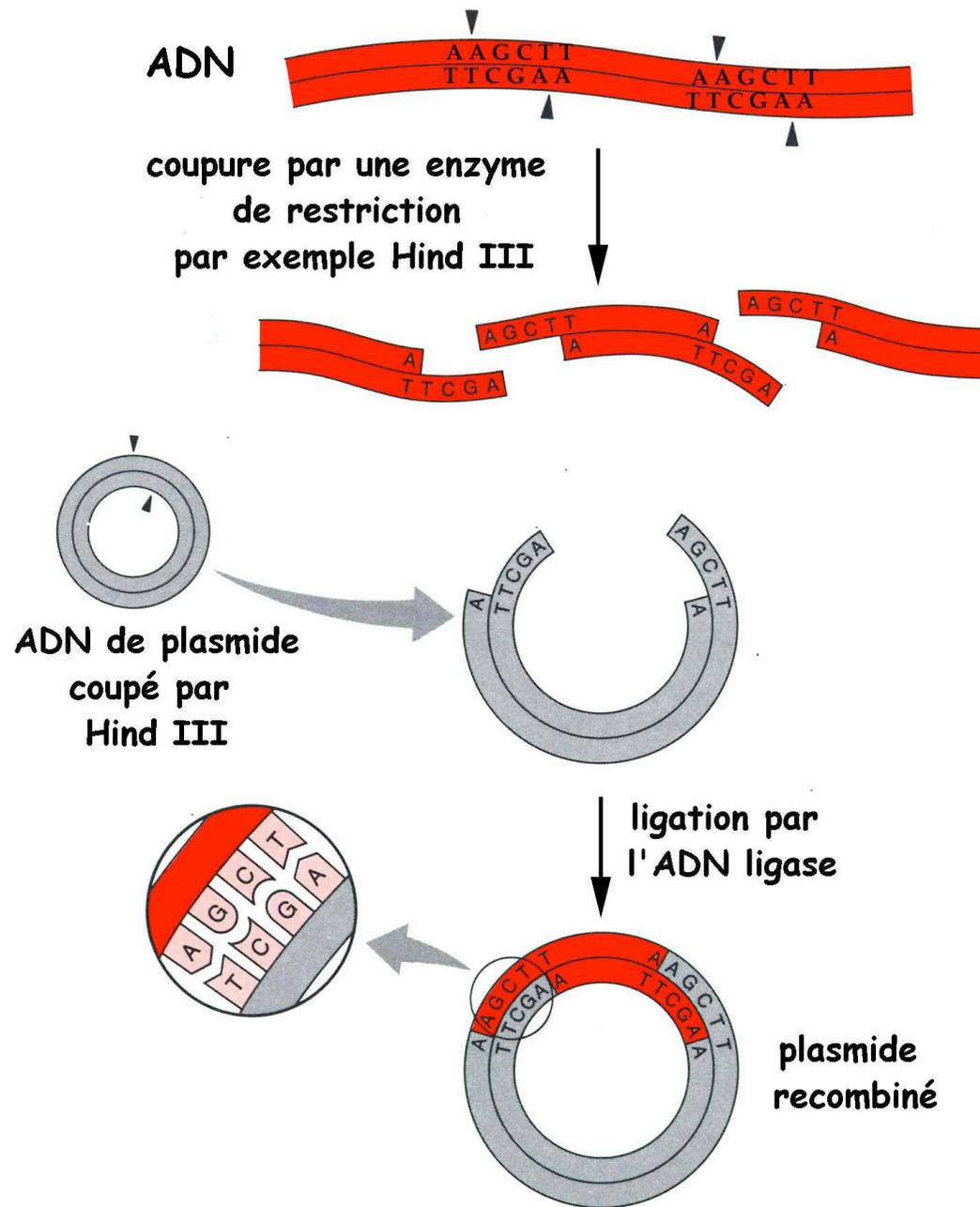
# Le clonage

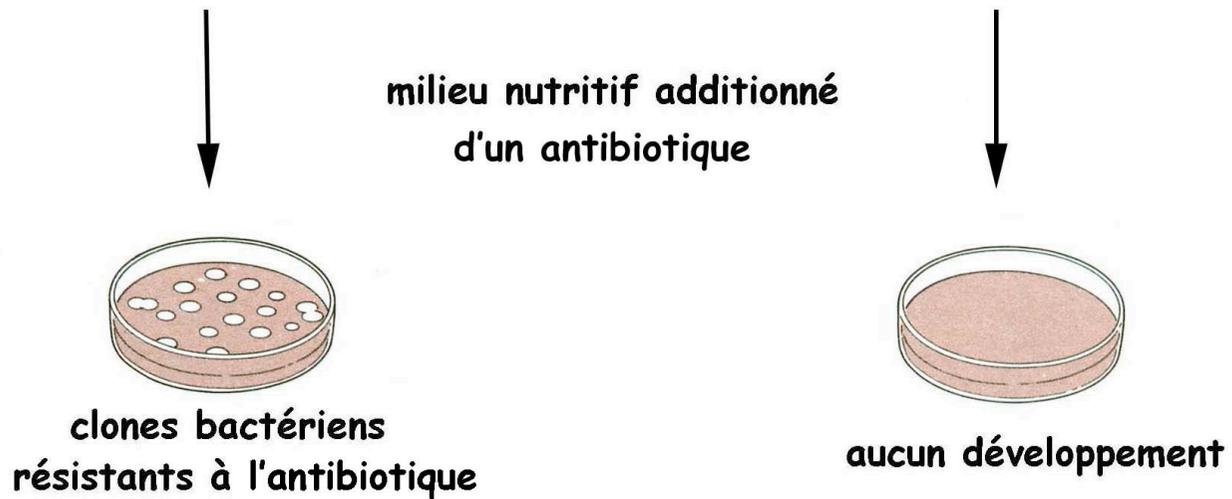
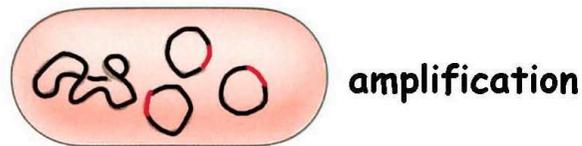
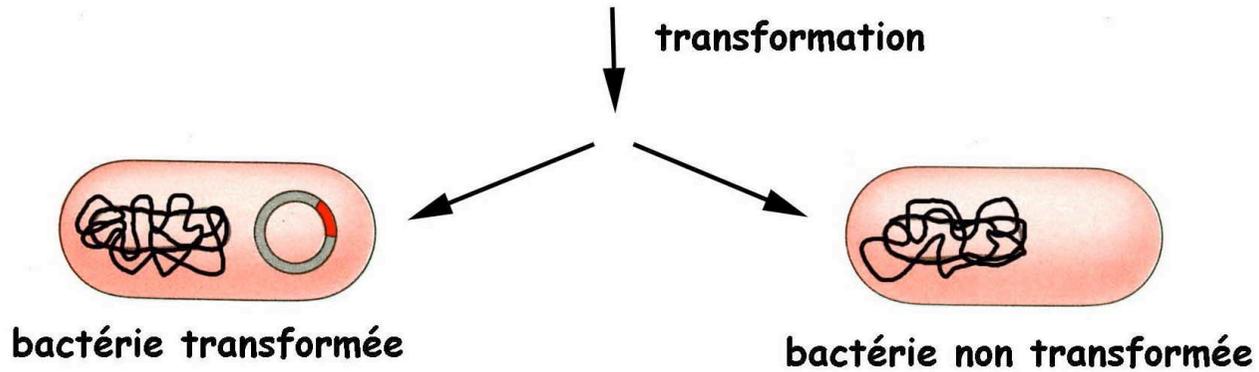
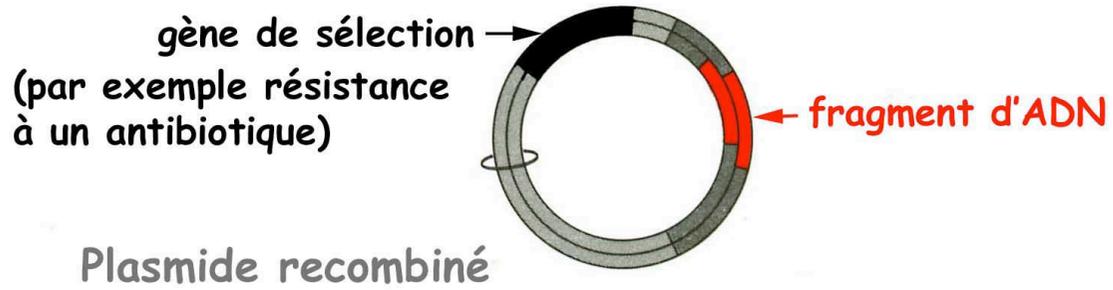


## Boîte de Pétri



# Comment cloner un fragment d'ADN ?





Bactérie transformée

=

OGM

Protéines produites par des bactéries  
génétiquement modifiées :

Insuline

Hormone de croissance

Erythropoïétine

Facteur VIII

Interféron gamma

Facteurs de croissance

Activateur tissulaire du plasminogène

Interleukine-2

...

Enzymes impliquées dans

la fromagerie

la boulangerie

la pâtisserie

la dégradation des graisses

le blanchiment du papier, des textiles

la dépollution

la manipulation de l'ADN

Taq polymérase

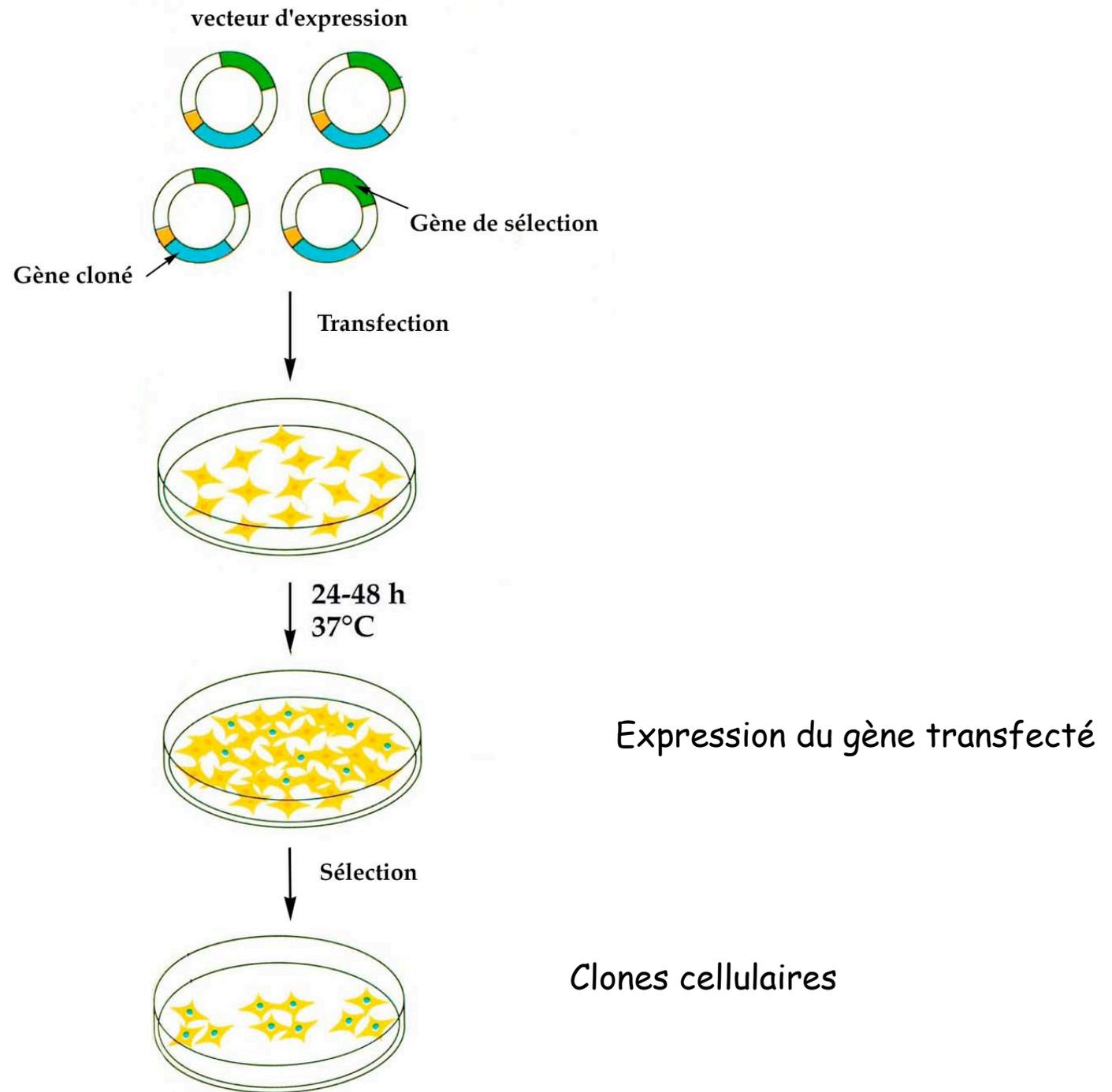
séquenase

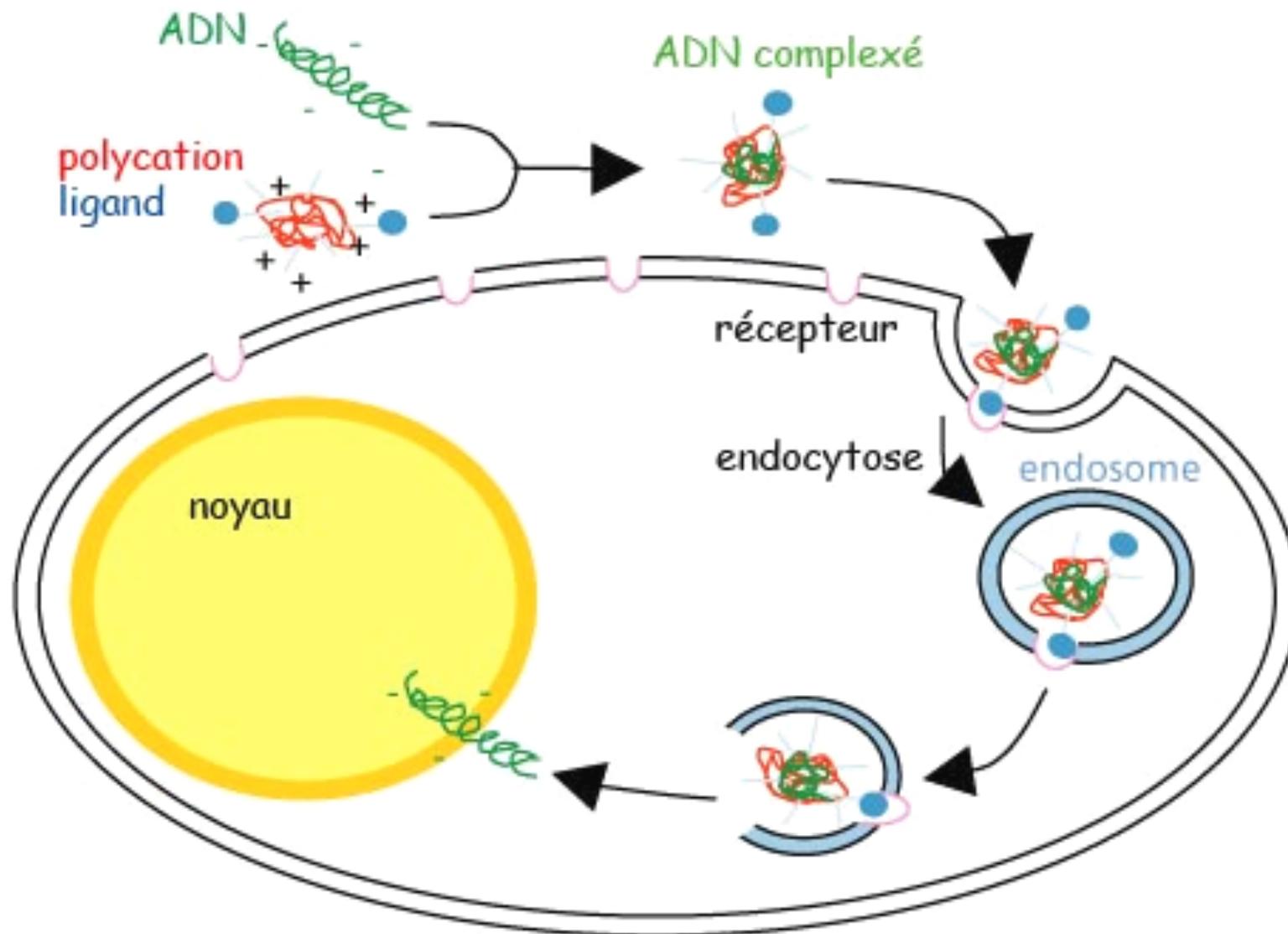
# Transfert de gènes chez les eucaryotes

Transfert de gènes dans des cellules en culture

=

transfection





Analyse de l'ARNm, ou de la protéine,  
ou de l'effet sur la cellule

## Transgènes

- gène d'intérêt, avec ou non ses propres séquences régulatrices

- gène rapporteur

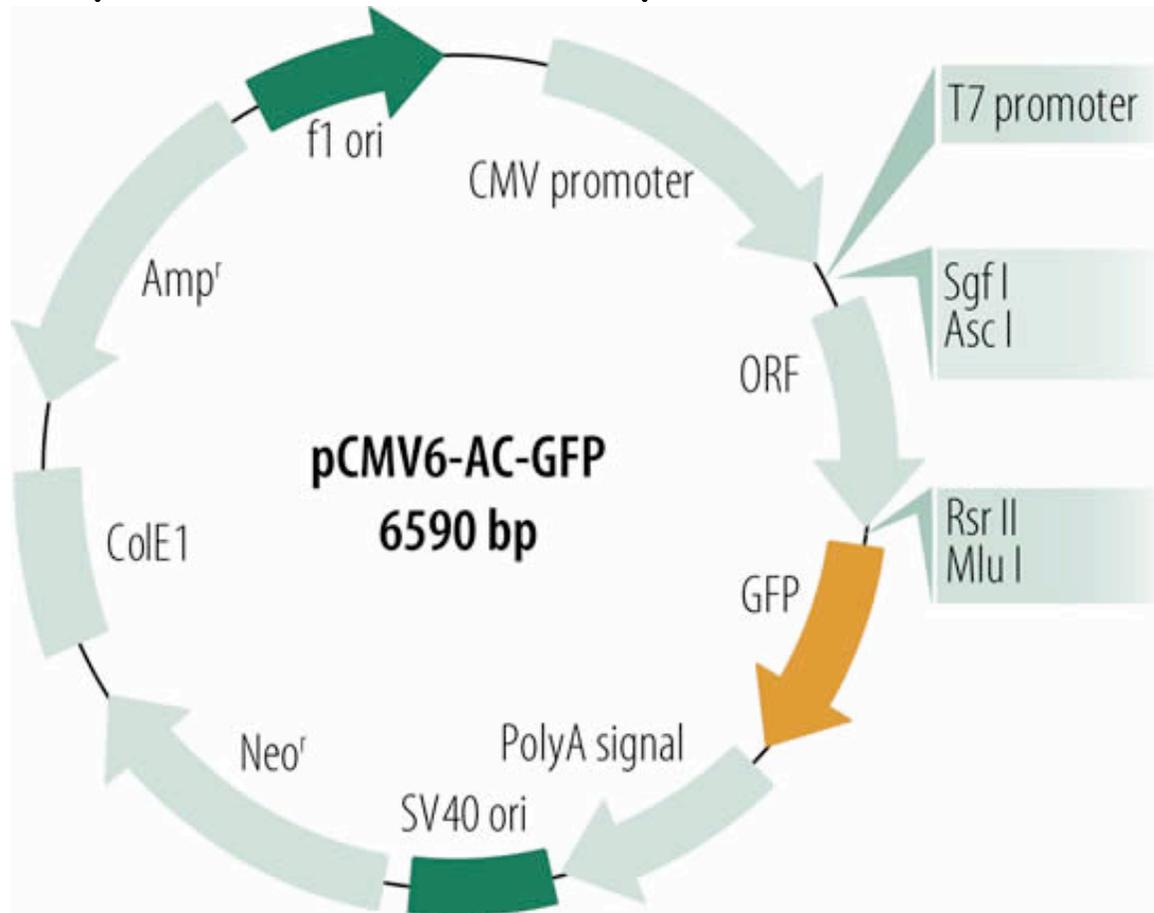
CAT

lacZ

GFP

luciférase

# Vecteur d'expression : un exemple

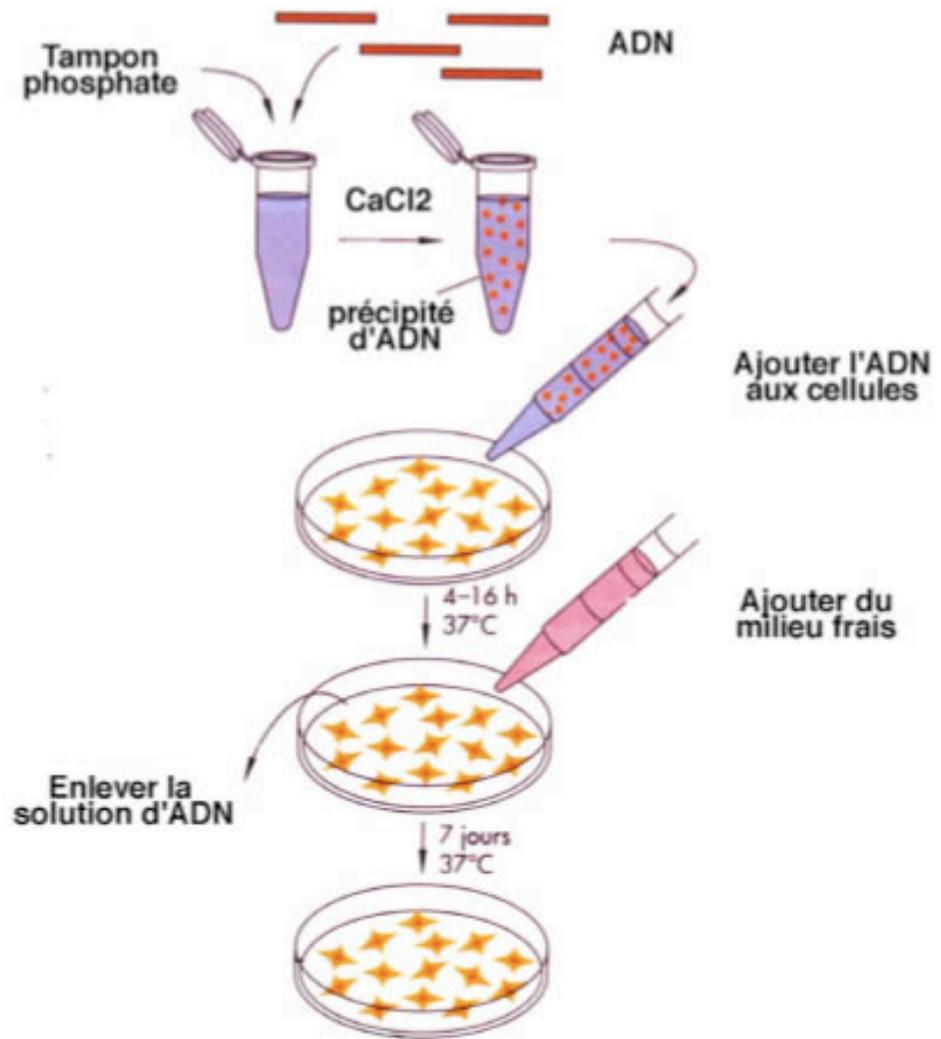


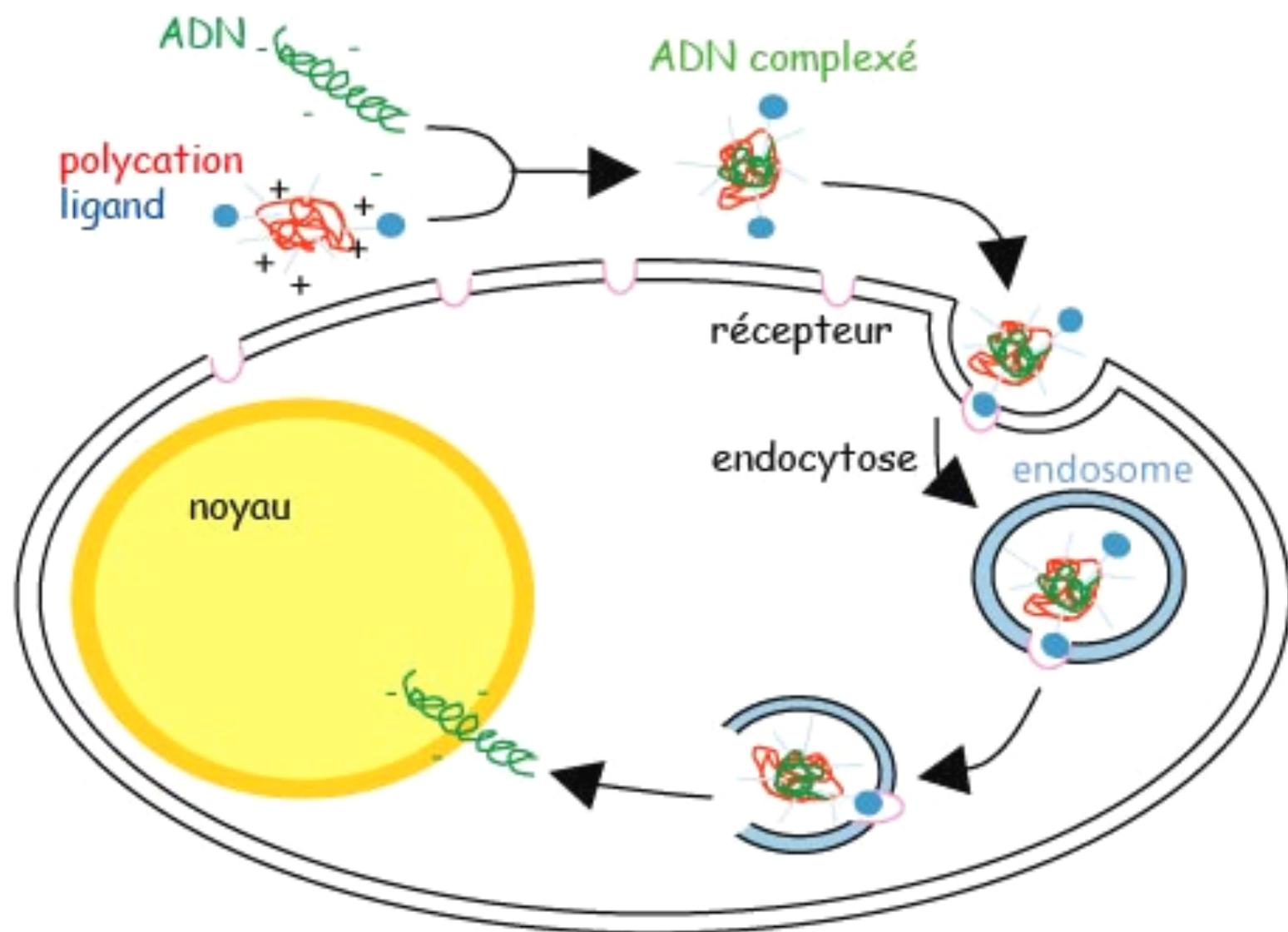
<i>EcoRI</i>	<i>BamHI</i>	<i>KpnI</i>	RBS	Kozac Consensus		<i>SgfI</i>	<i>AscI</i>
CTATAGGGCGGCCGGGAATTCGTCGACTGGATCCGGTACCAGGAGATCTGCCGCCGCGATCGCCGGCGCCAGATCT							
<i>HindIII</i>	<i>NheI</i>	<i>RsrII</i>	<i>MluI</i>	<i>NotI</i>	<i>XhoI</i>	GFP Tag	
CAAGCTTAAGCTAGCTAGCGGACCG ACG CGT ACG CGG CCG CTC GAG ATG GAG AGC GAC --- ---							
T R T R P L E M E S D - - -							
			<i>PmeI</i>	<i>FseI</i>			
--- --- GAA GAA AGA GTT TAA ACGGCCGGCCCGGAGCT							
- - E E R V Stop							

# Méthodes

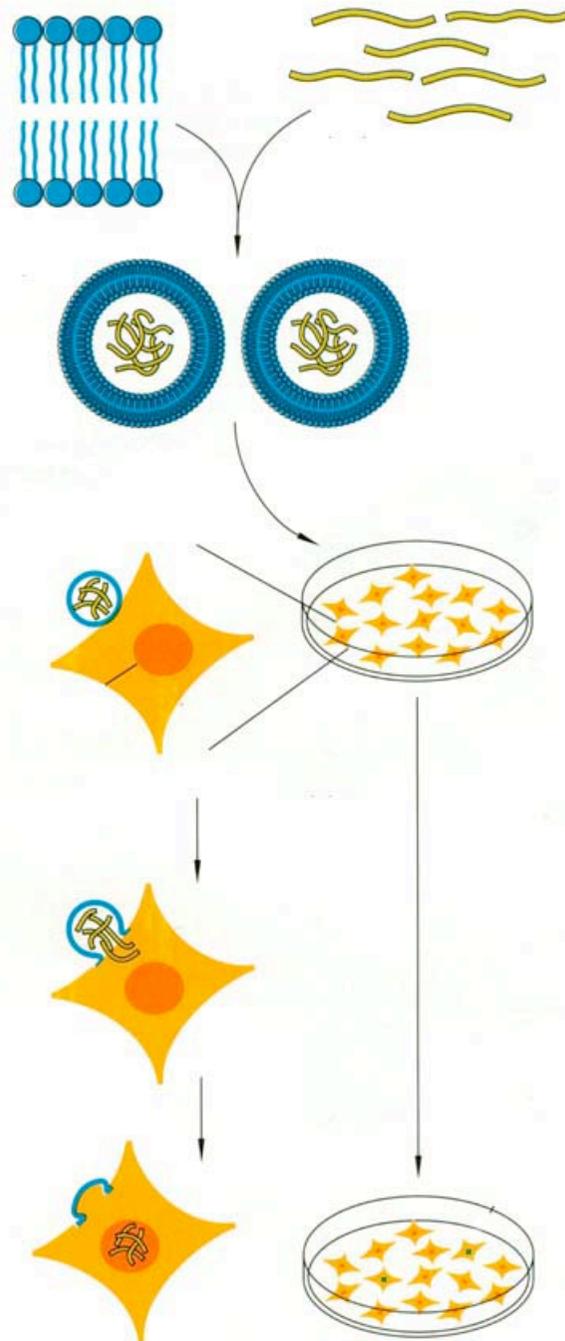
chimiques  
biologiques  
mécaniques

# Phosphate de calcium





liposomes



Vecteurs viraux

SV40

adenovirus

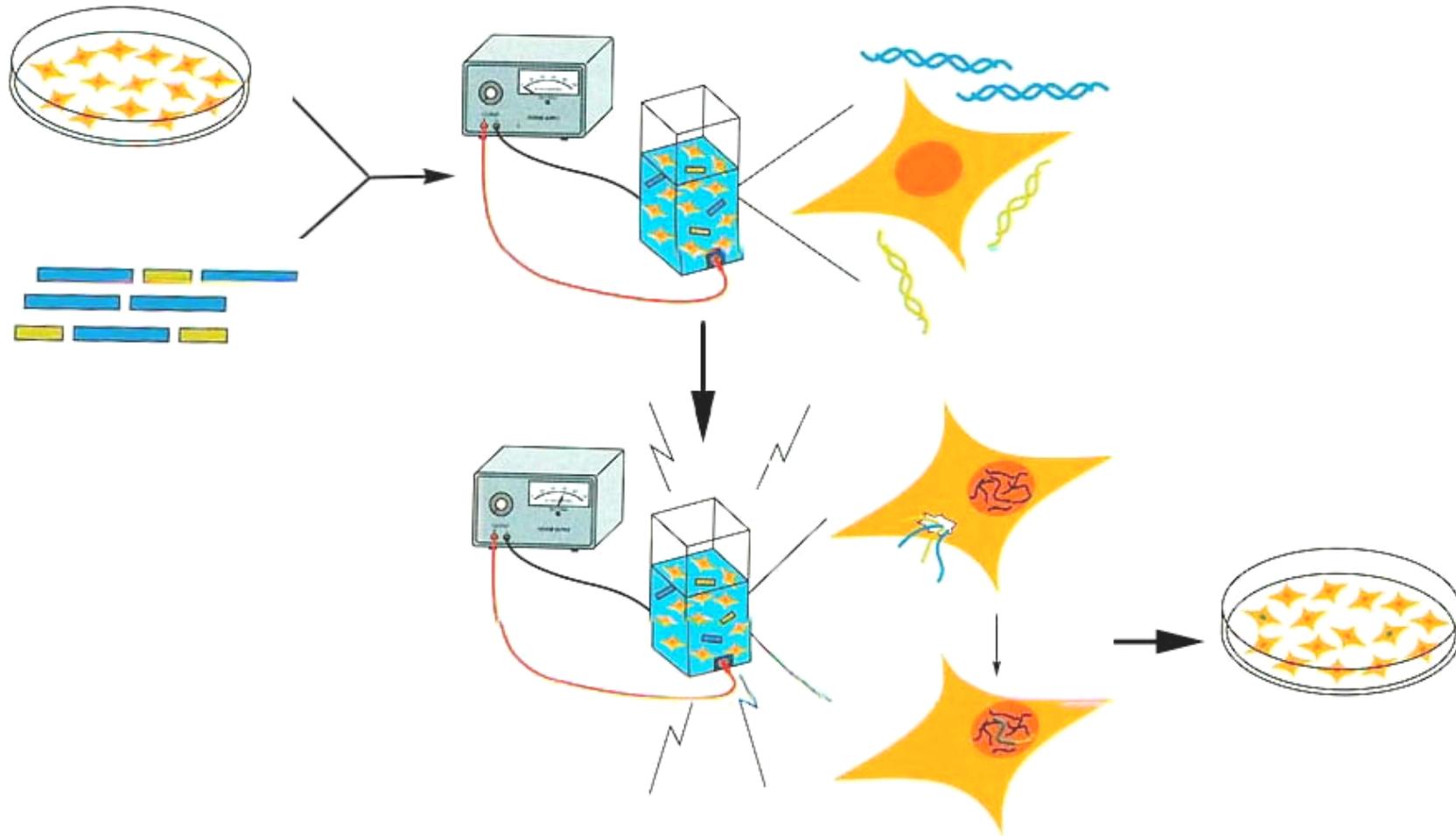
virus Herpès

retrovirus

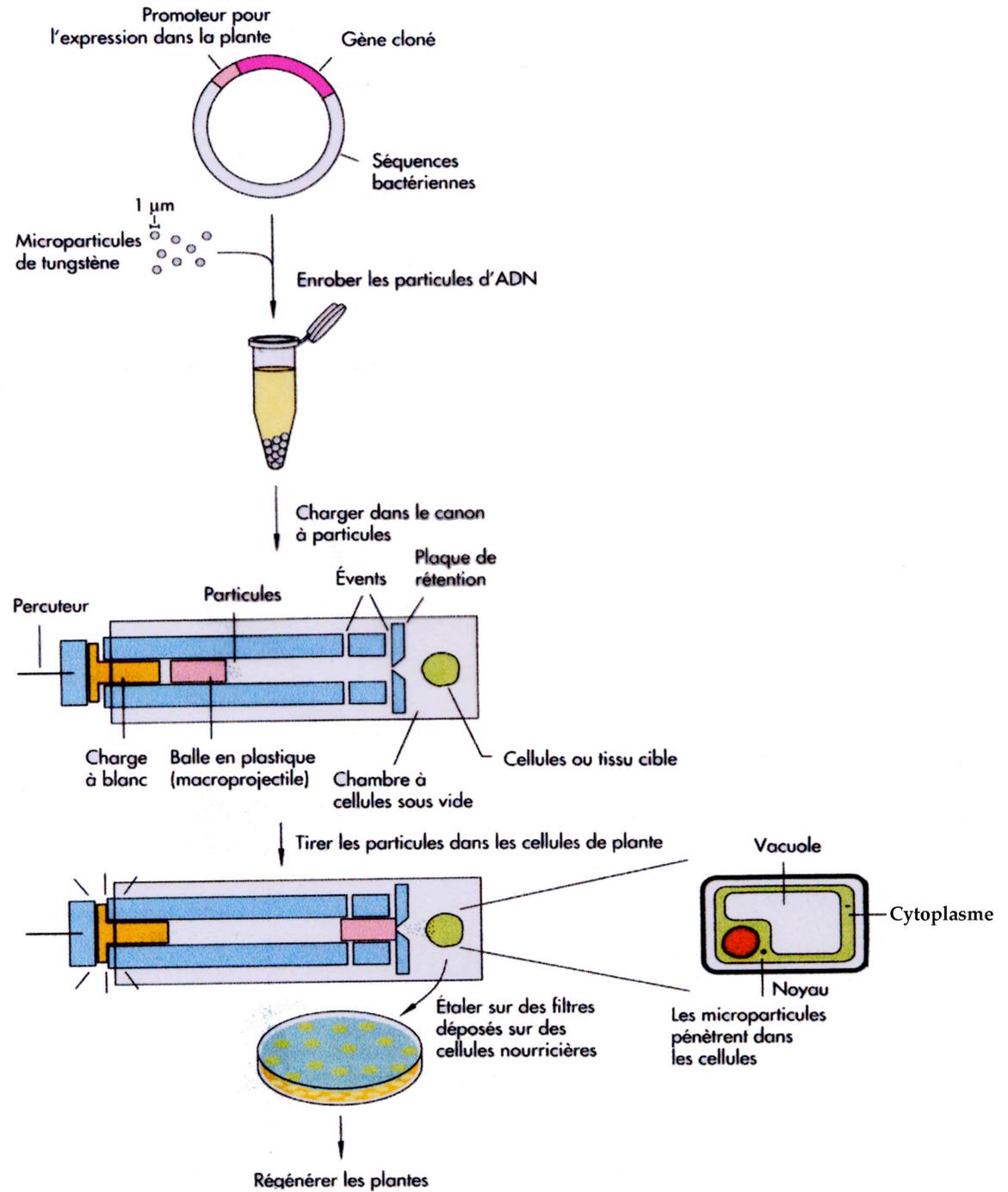
baculovirus

...

# électroporation



# Canon à particules



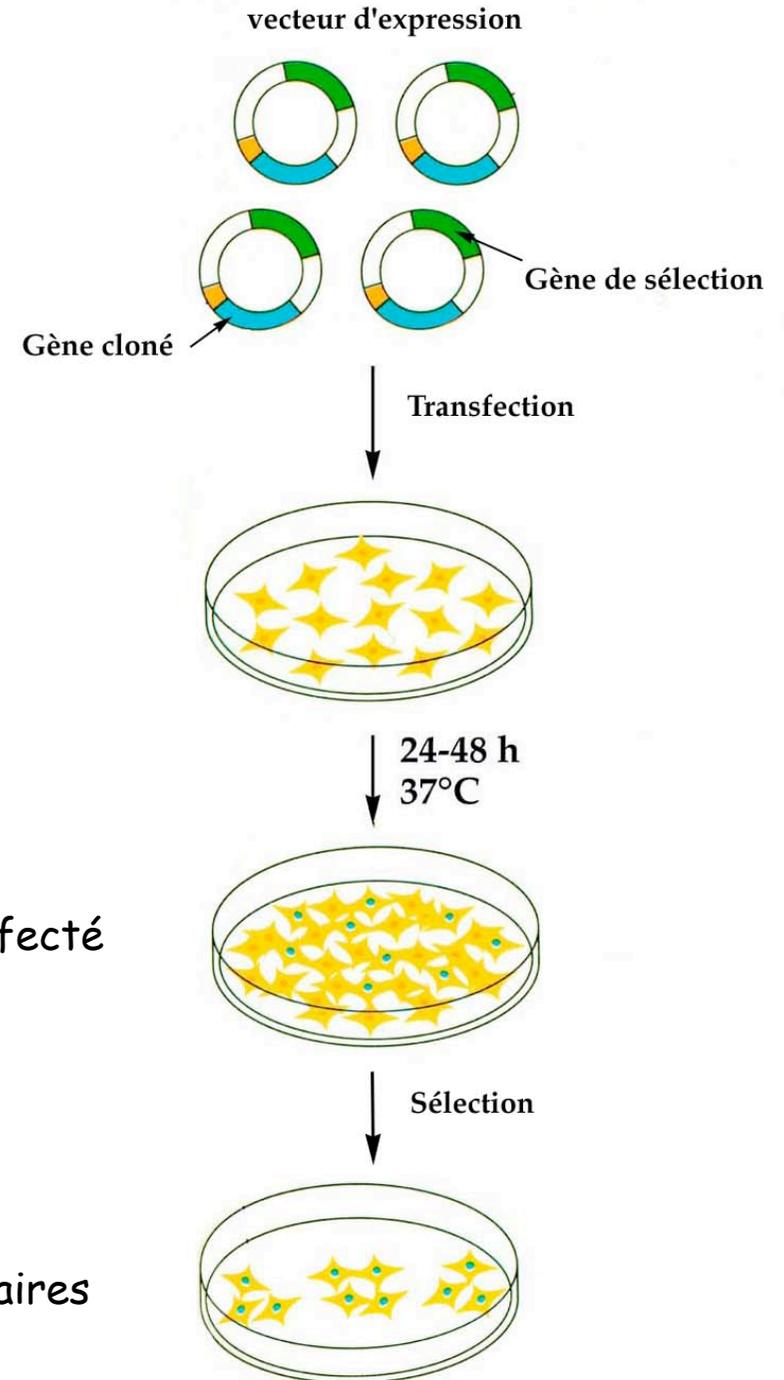
## Micro injection dans le noyau

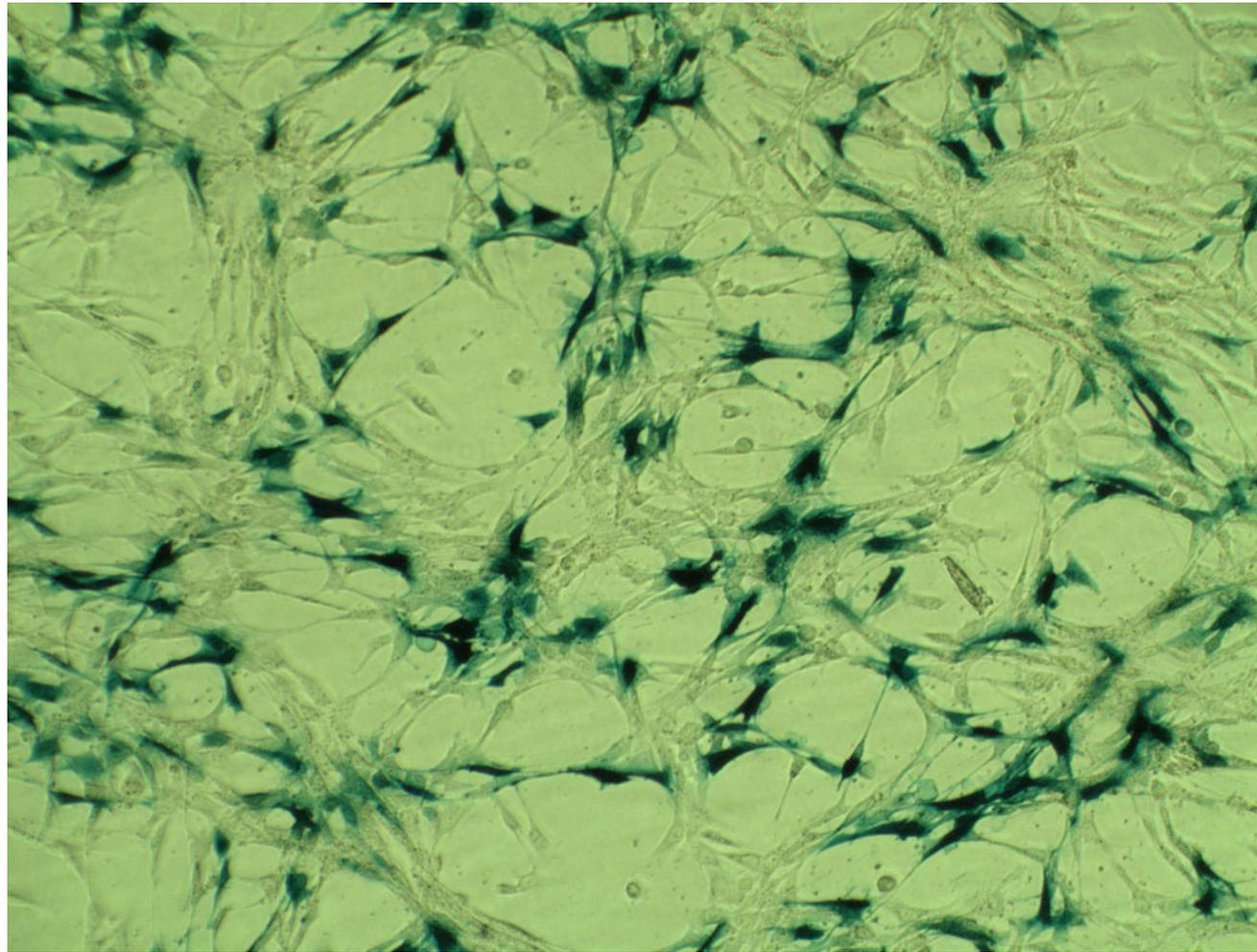


Expression transitoire  
ou expression stable  
du gène transfecté

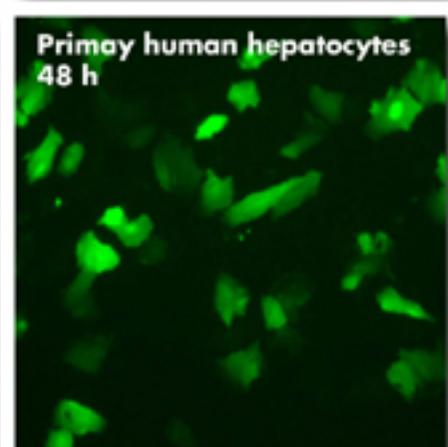
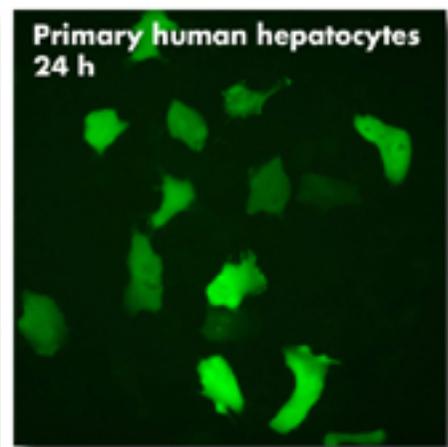
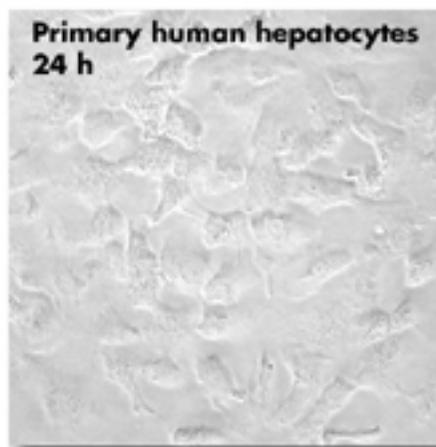
Expression du gène transfecté

Clones cellulaires

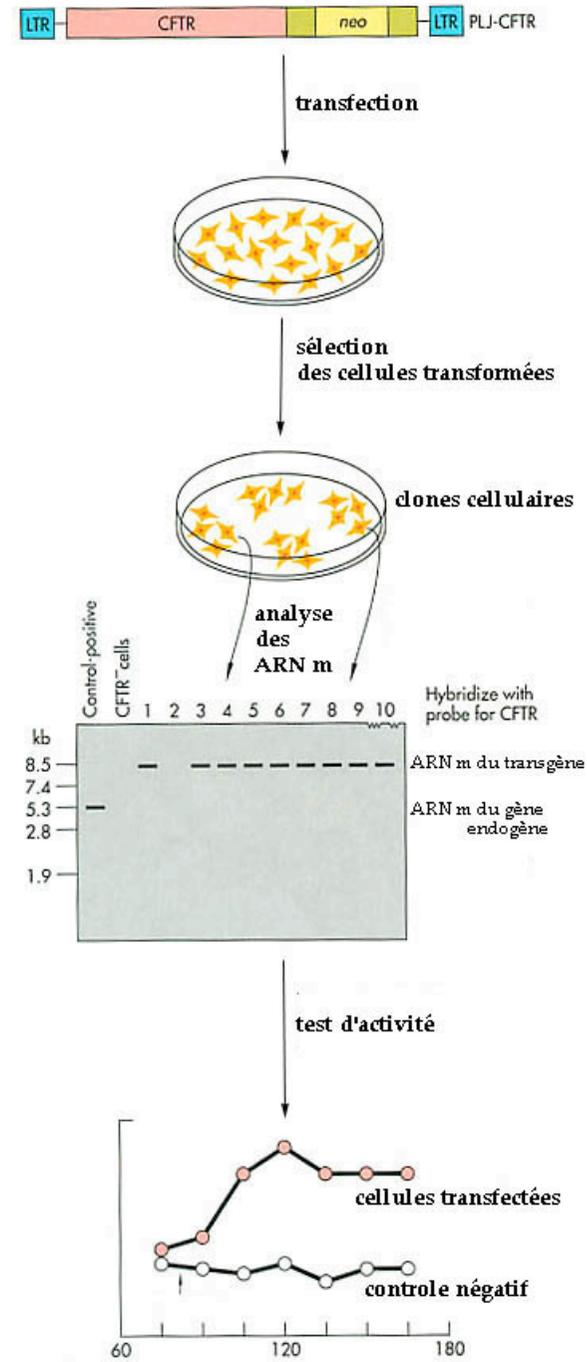


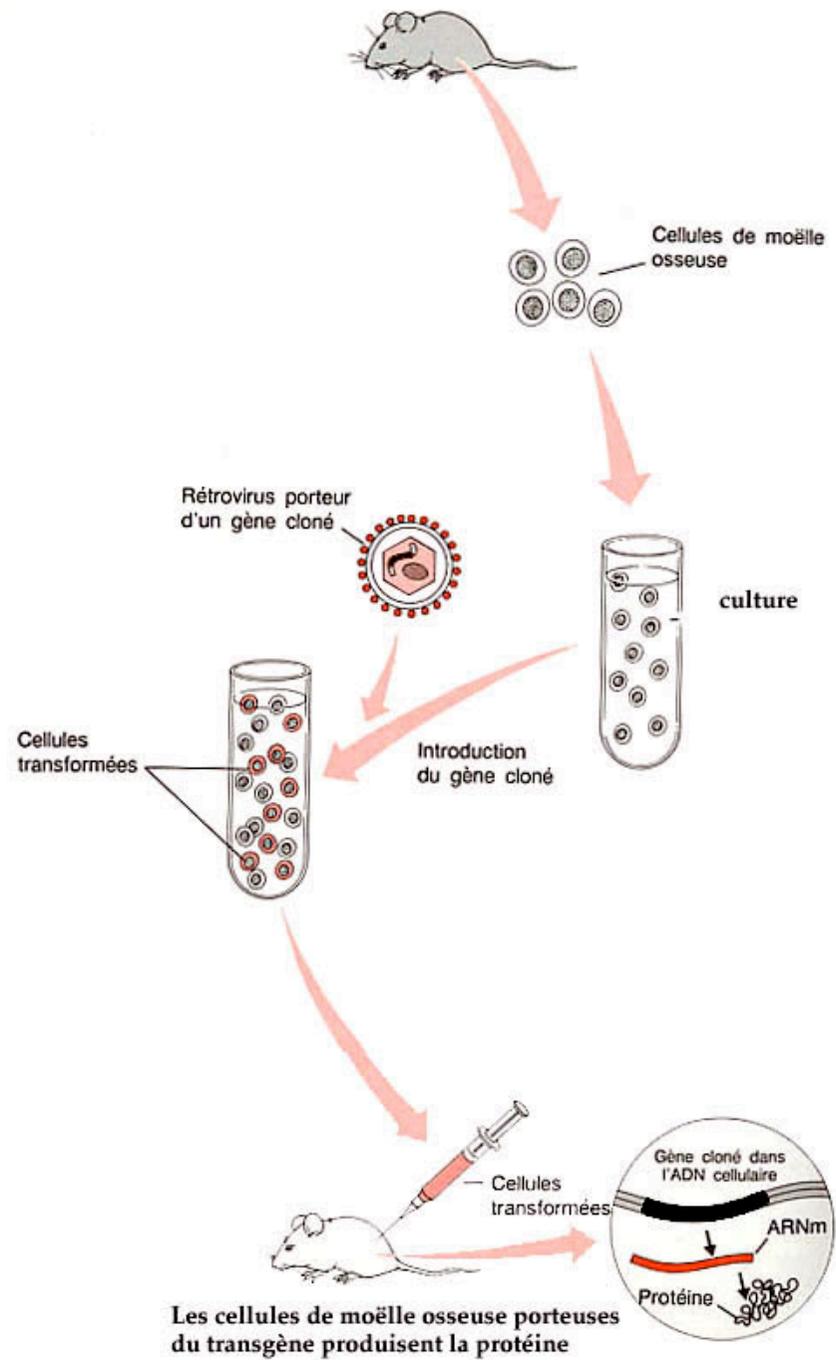


Fibroblastes  
24h après transfection



# Application correction génique



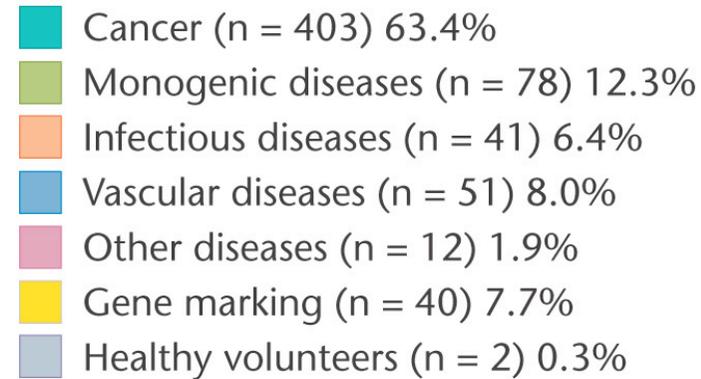
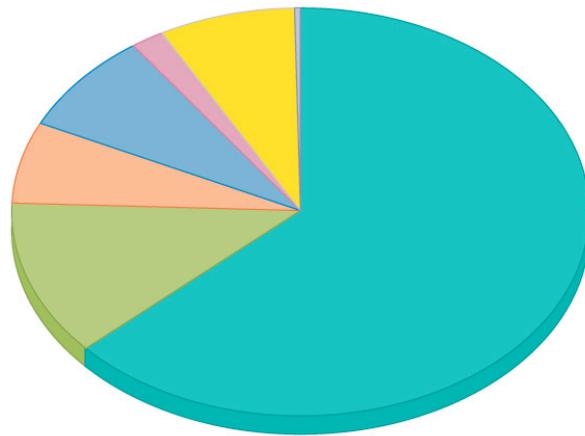


(SCID)-X1  
Severe Combined ImmunoDeficiency  
liée à X

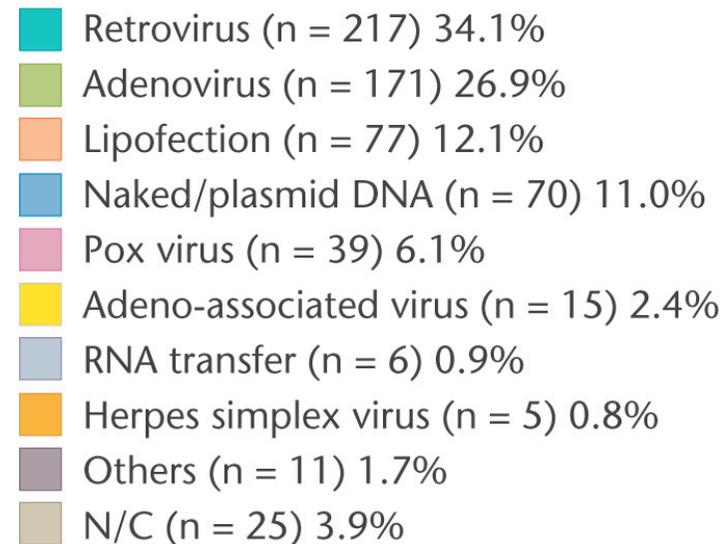
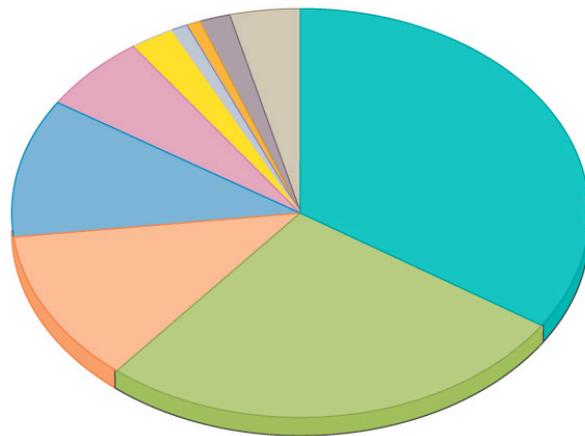
Avril 2000  
Hôpital Necker

# sur 630 essais de thérapie génique (somatique) :

(a)



(b)



# Thérapie génique (somatique)

*ex vivo*

*in vivo*

*in situ*

*Beaucoup d'espoir*

*Peu de réussite à ce jour ...*

**Transgenèse**

**=**

**Transfert d'un gène  
dans un organisme pluricellulaire**

# Transgenèse

=

Transfert d'un gène  
dans un organisme pluricellulaire

Organismes génétiquement modifiés OGM

Bactéries

Levures

Animaux

mammifères

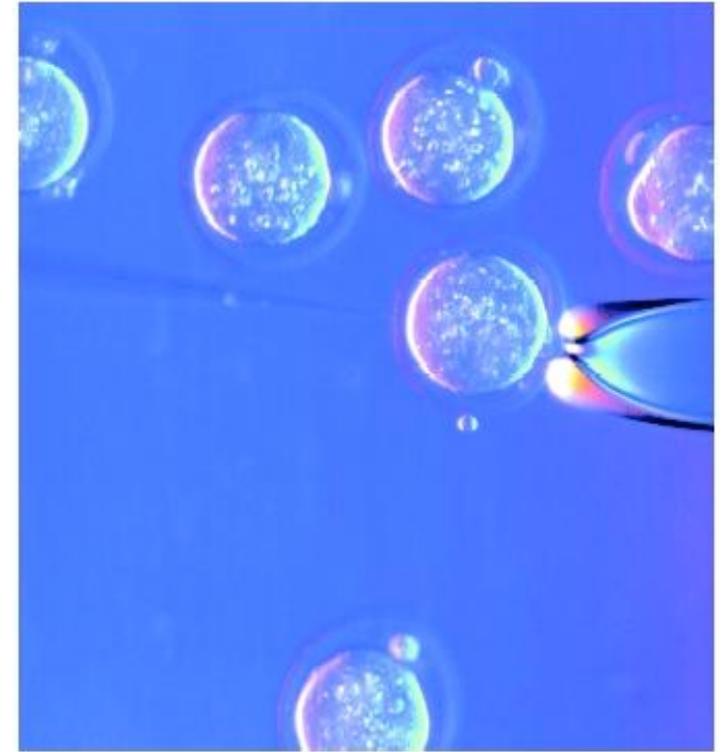
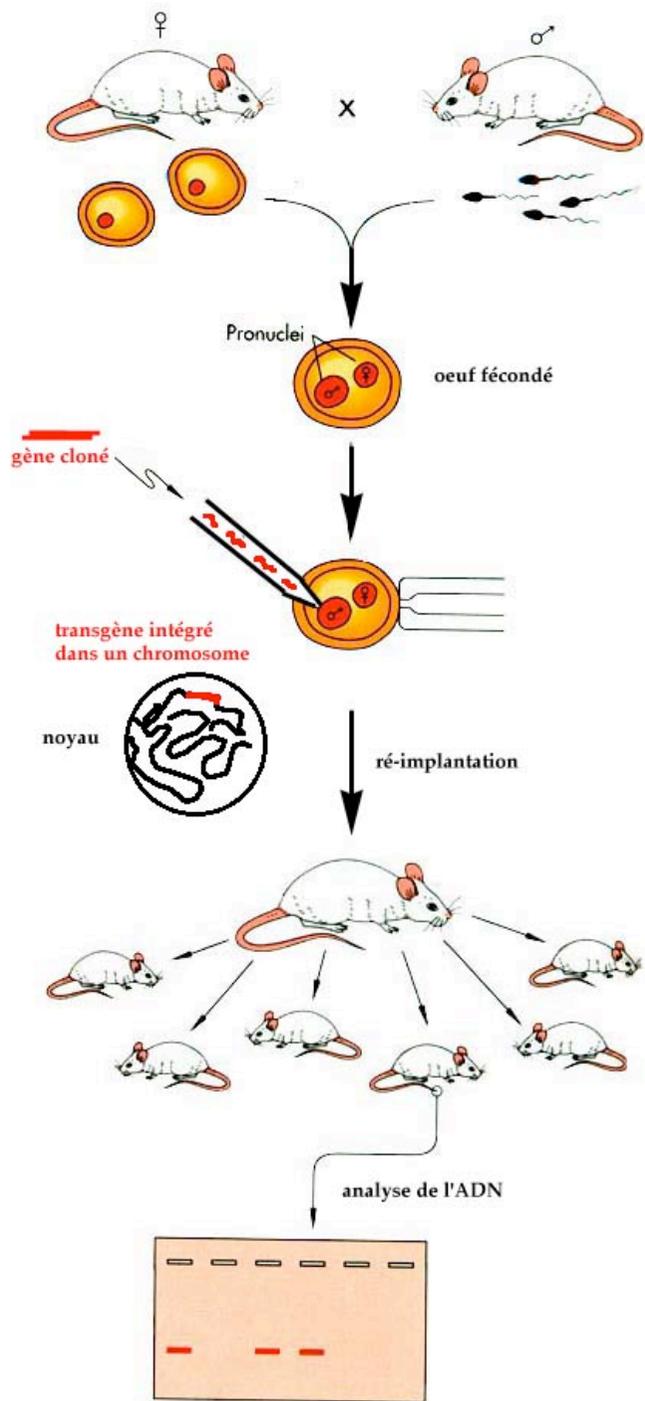
oiseaux

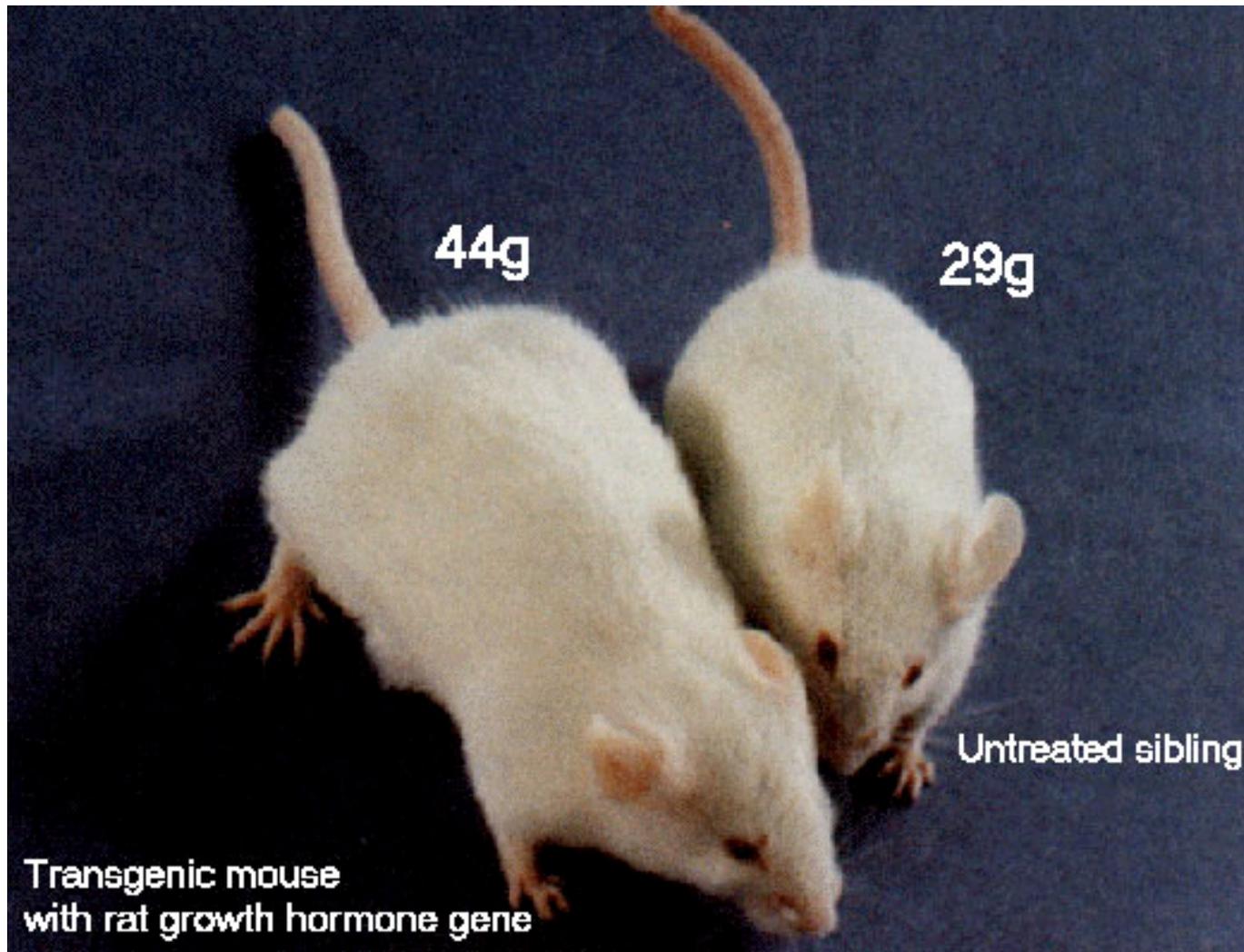
poissons ...

Plantes

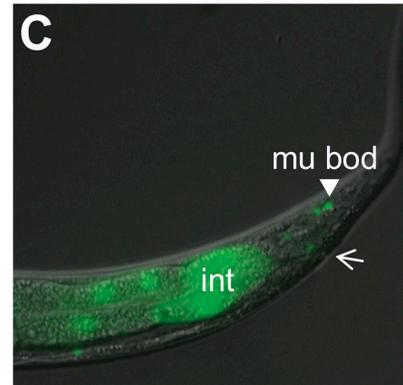
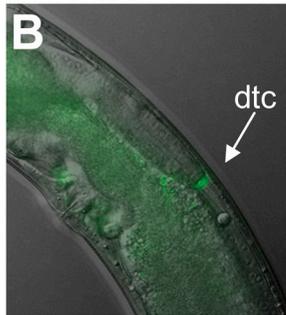
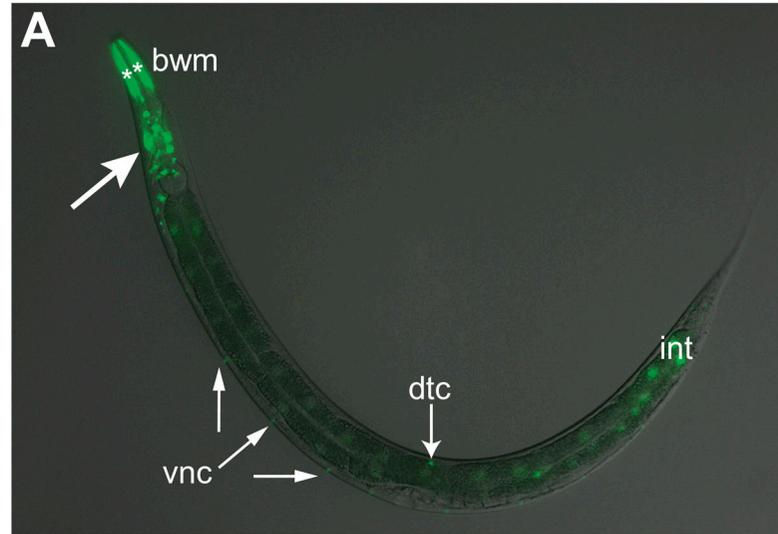
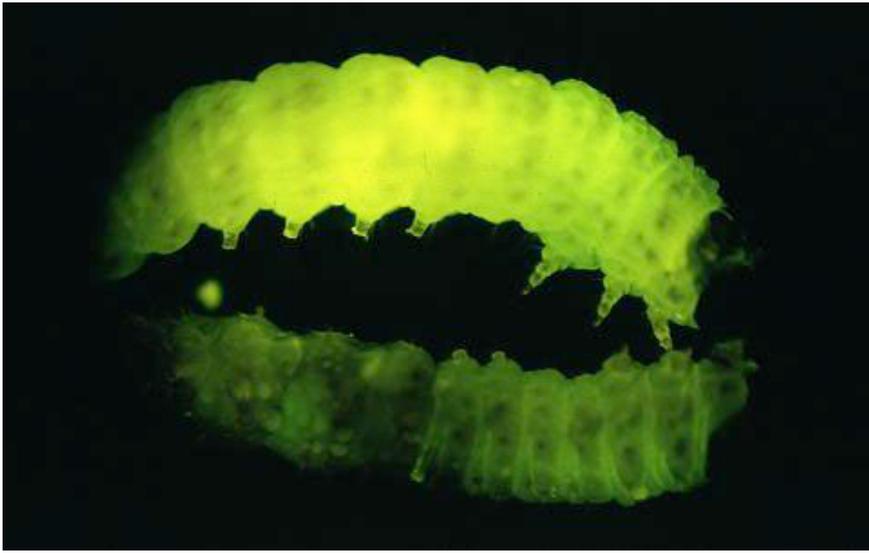
Exemple : chez la souris

Transfert de gènes : souris transgéniques





1982

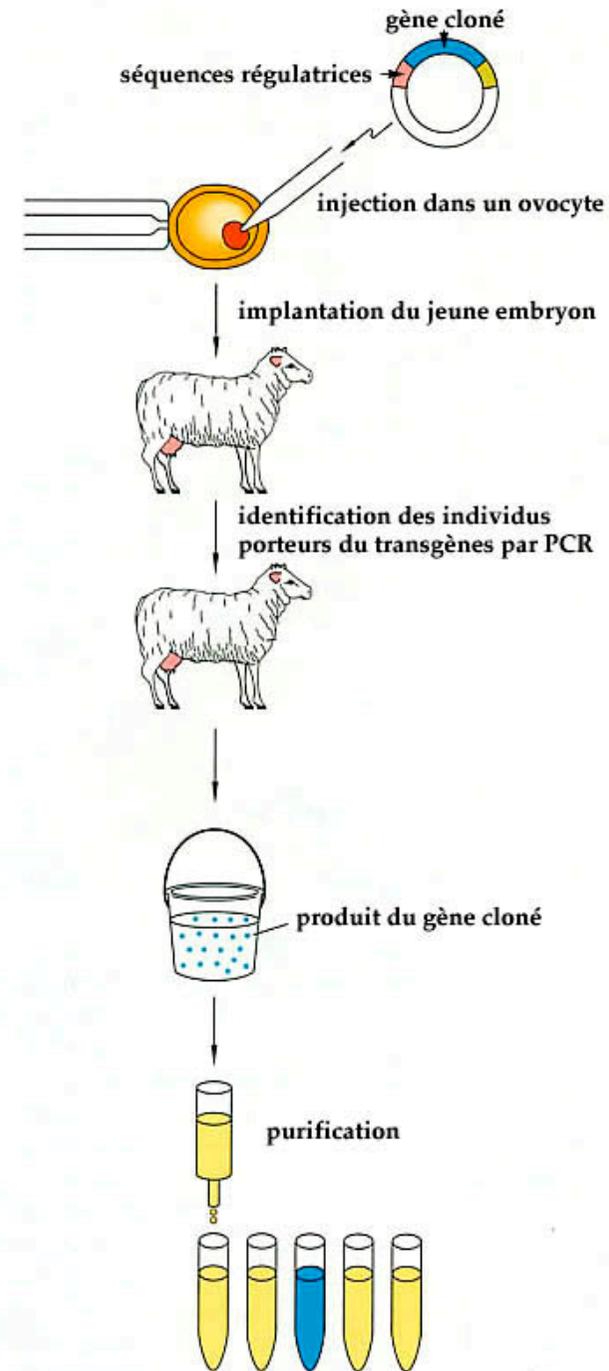


*Caenorhabditis elegans*  
transgénique CCA-1-GFP  
(Calcium Channel Antagonist)  
transmission neuromusculaire

## Animaux transgéniques

- Amélioration
- « bioréacteurs »
- Xénogreffes
- Lutte contre certaines pandémies
- Modèle animal pour étude des maladies humaines





production de molécules  
à intérêt  
pharmaceutique  
industriel

Janvier 2007  
Poules transgéniques

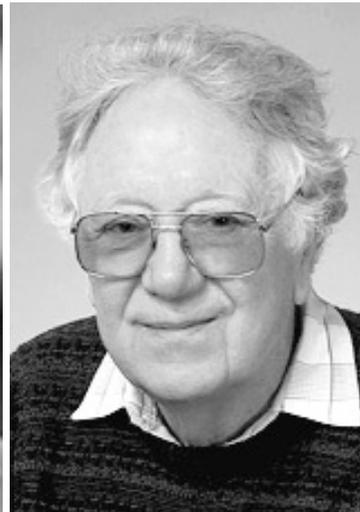
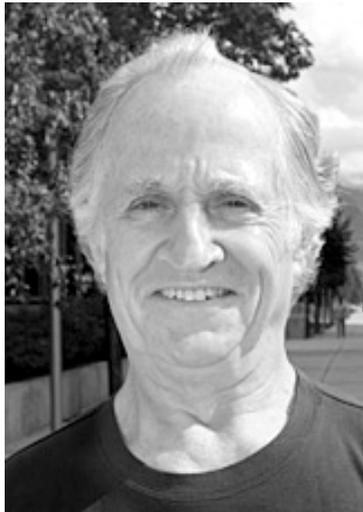
Transgène sur-exprimé dans le blanc d'oeuf  
- interféron  
- un anticancéreux potentiel

Transgenèse  
par transformation  
de cellules souches embryonnaires



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007

**"for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells"**



Mario R. Capecchi    Sir Martin J. Evans    Oliver Smithies

1/3 of the prize    1/3 of the prize    1/3 of the prize

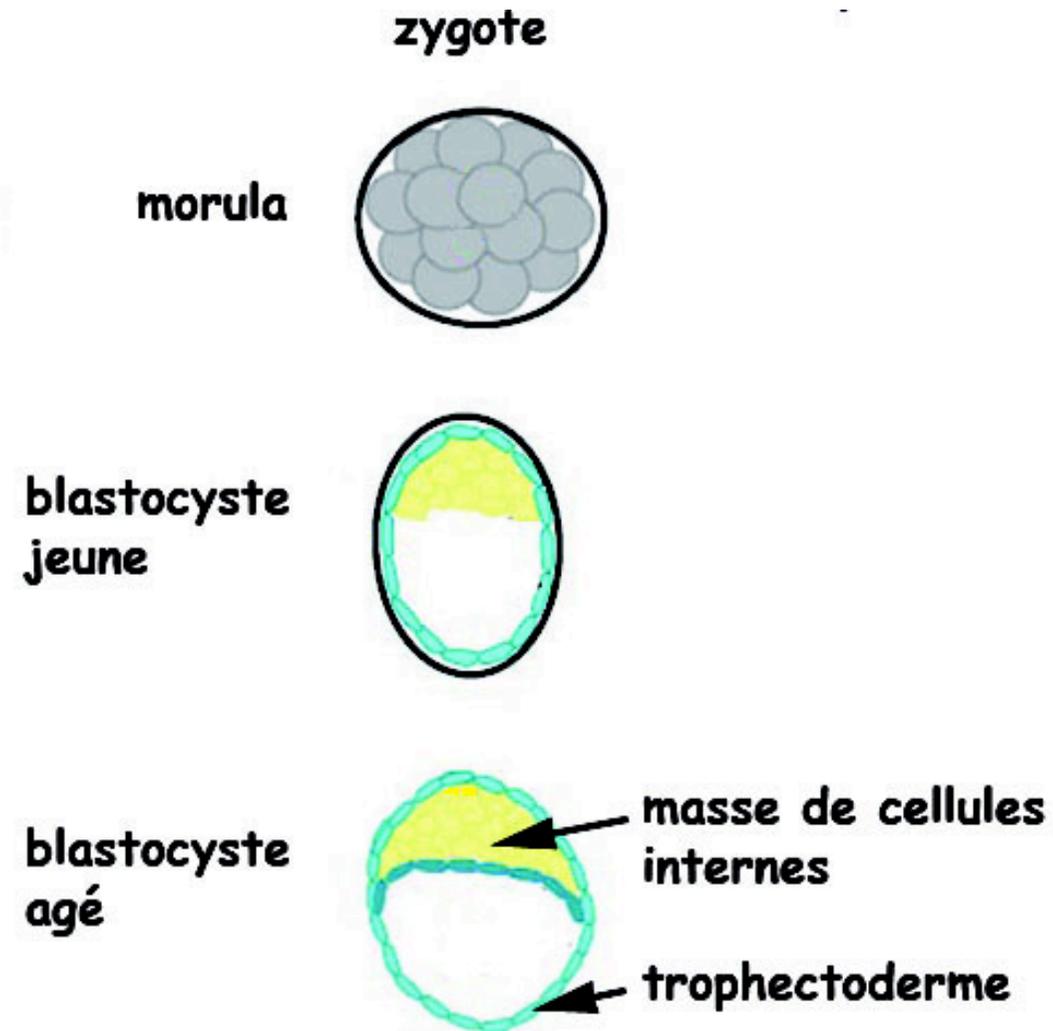
USA

United Kingdom

USA

# Fécondation

## Développement embryonnaire



Invalidation ciblée de gène

Construction d'une version invalidée  
du gène d'intérêt dans un vecteur de ciblage

Intégration du gène invalidé

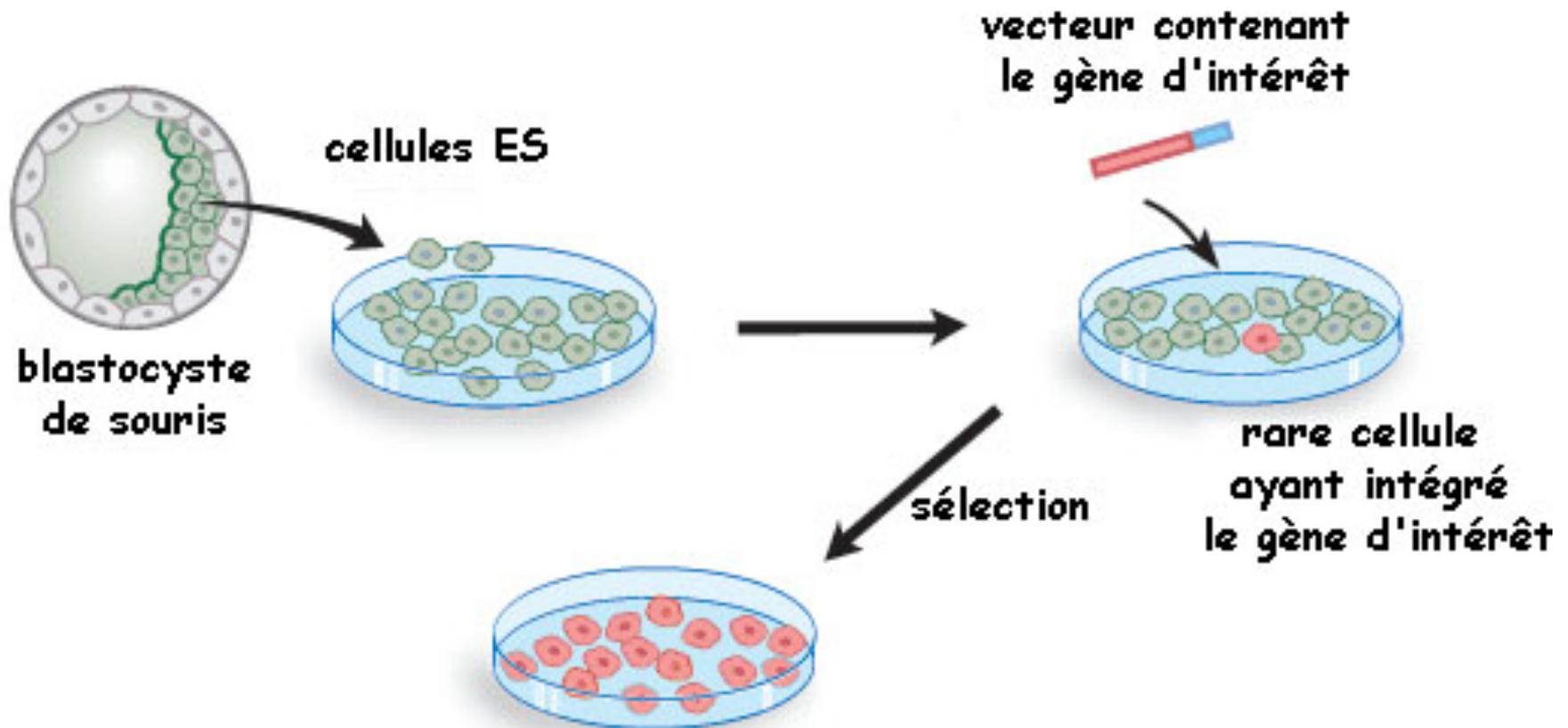
à la place du gène « normal » dans les cellules ES:

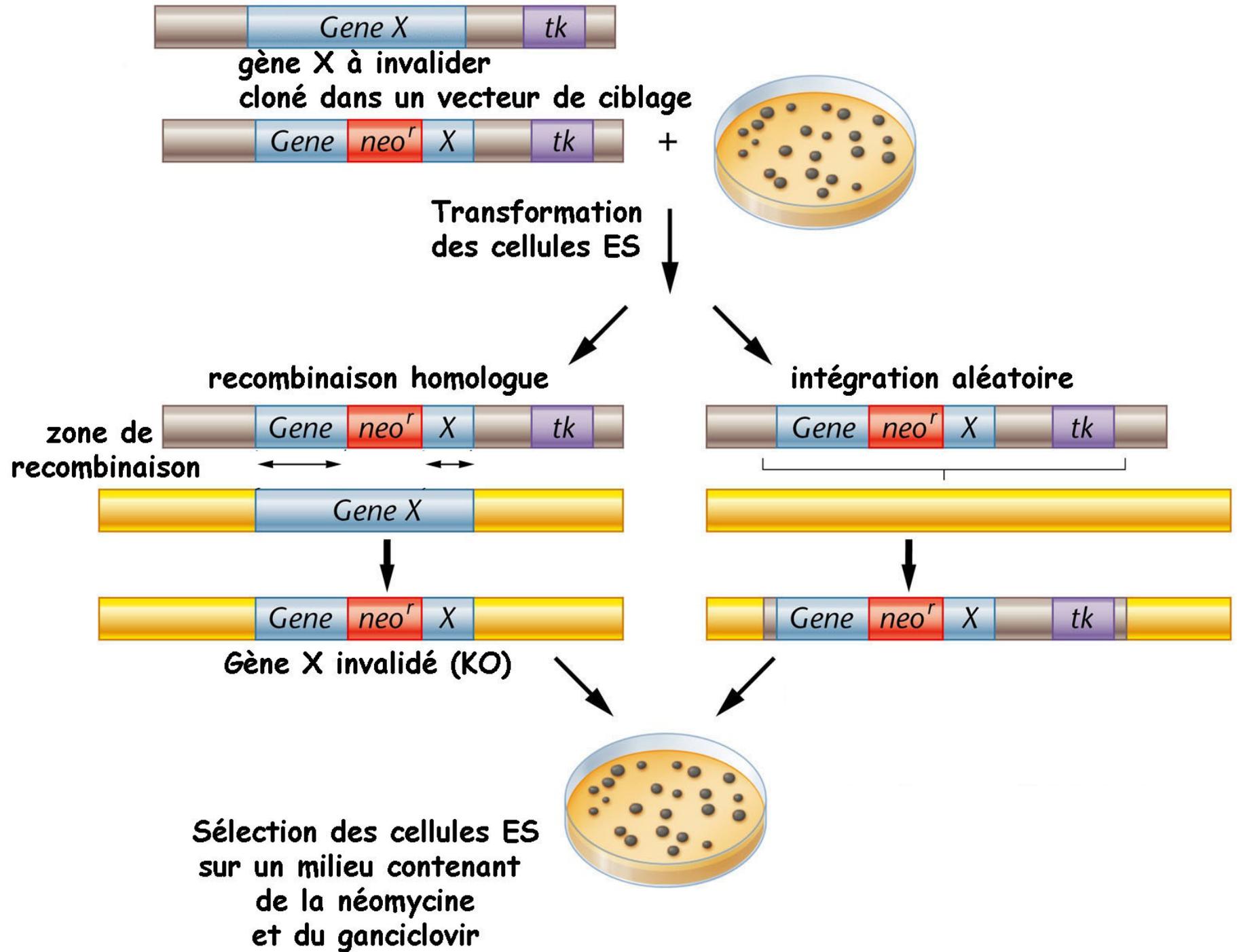
- Transformation des cellules ES avec le vecteur de ciblage contenant le gène invalidé
- Sélection des cellules ES *knock out (KO)* pour le gène d'intérêt

Injection des cellules ES *KO* dans un blastocyste et implantation dans une souris receveuse

Souris *KO* pour le gène d'intérêt

# Obtention de cellules ES recombinaées (par ciblage génétique, recombinaison homologue)





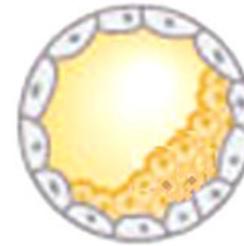
# Injection des cellules ES *KO* dans un blastocyste et implantation dans une souris receveuse

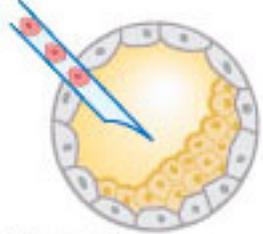


**cellules ES**

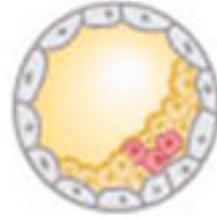


**blastocyste**





**injection dans  
un blastocyste**



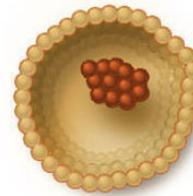
**implantation chez  
une receveuse**



cellules ES



blastocyste



+/ko

×



+/ko



+/+



+/+



+/+



ko/ko

KO conditionnels

*Knock out*

et

*Knock in*

Transgenèse chez la drosophile

Transposon : élément P

Transgenèse chez les plantes

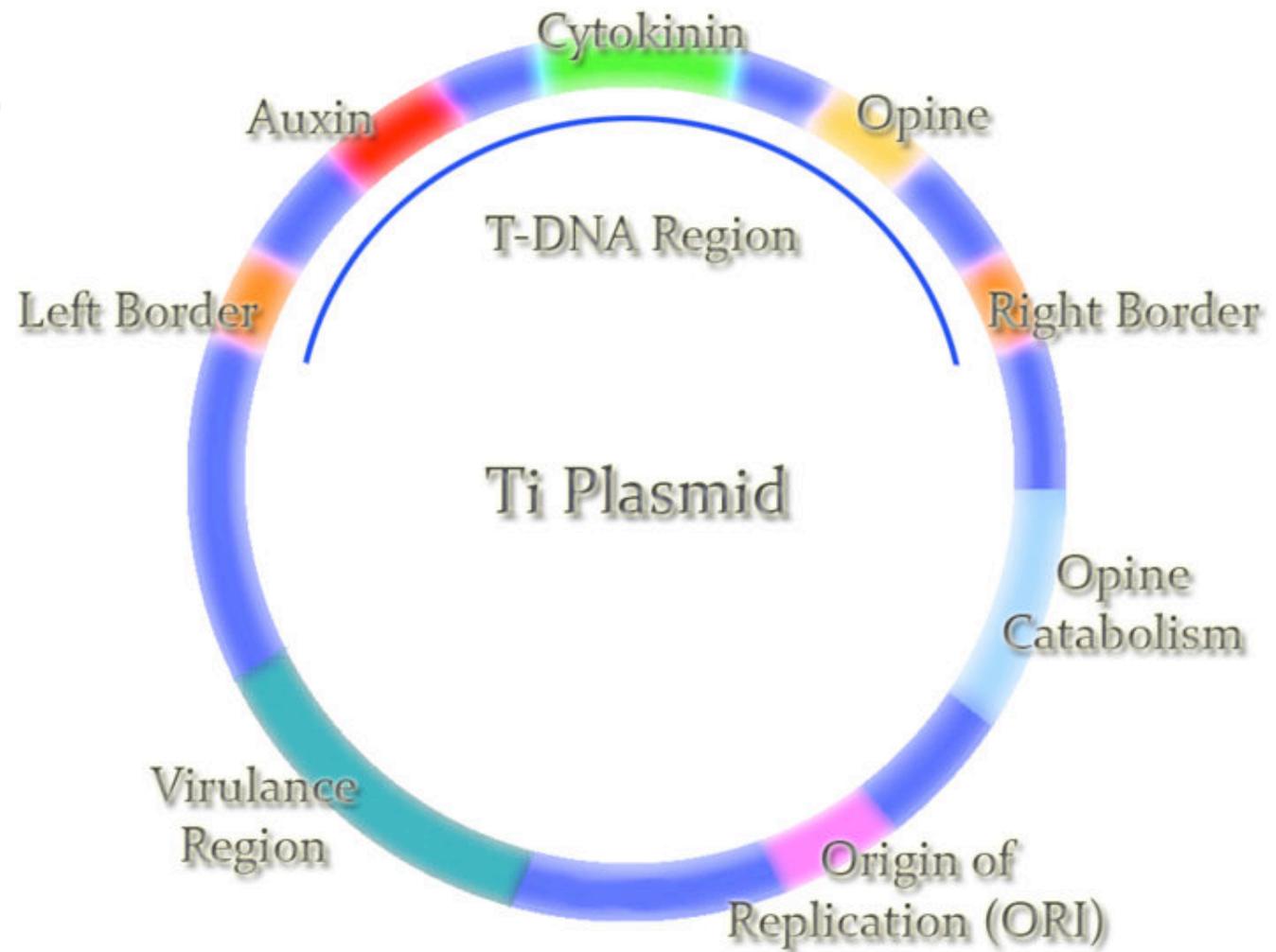
Protoplastes

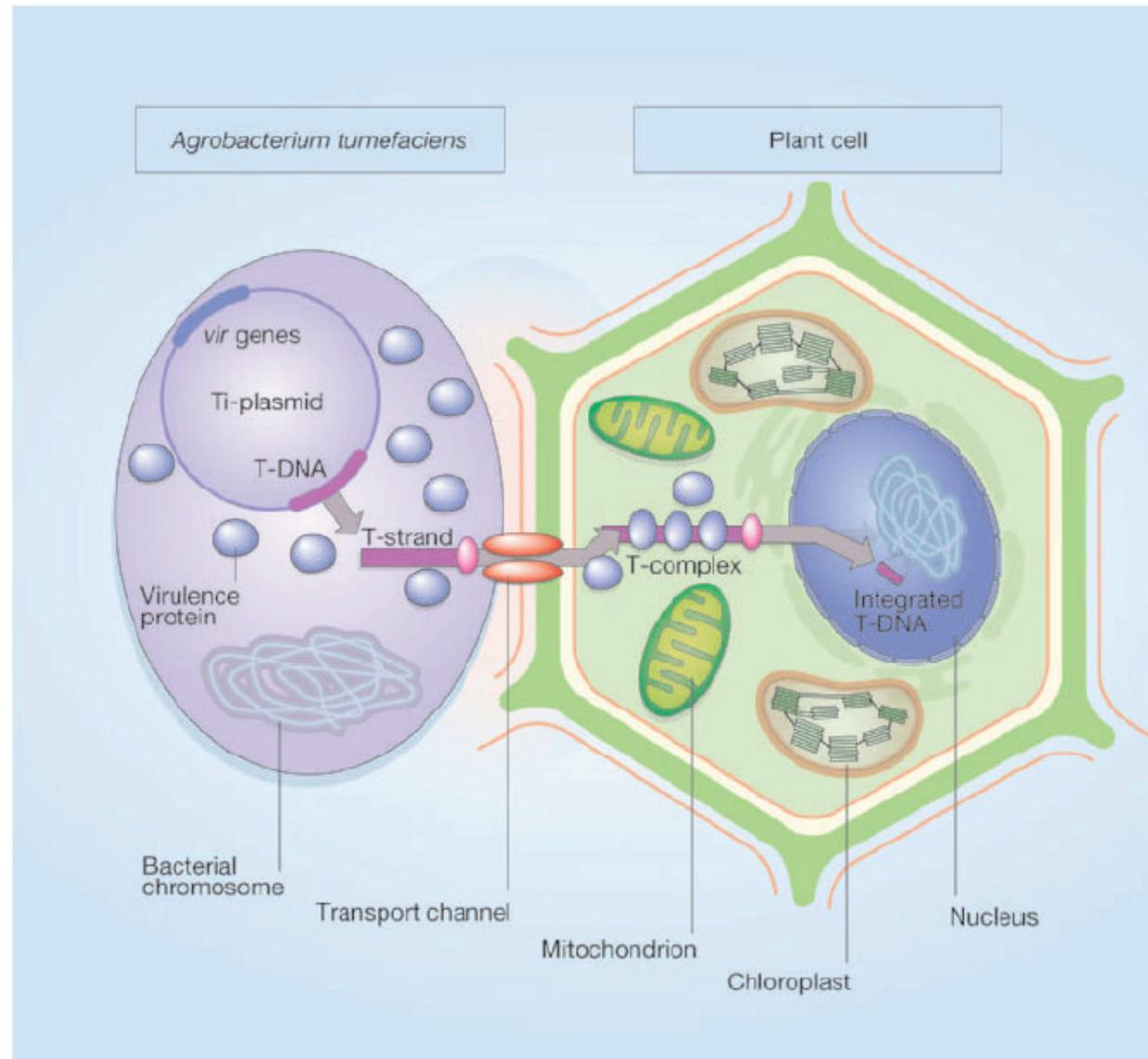
Canon à particules

Plasmide Ti *d'Agrobacterium tumefaciens*

## Plasmide Ti (*Tumor inducing*)

- 206 kb
- 196 gènes
- ADN-T :  
transfert

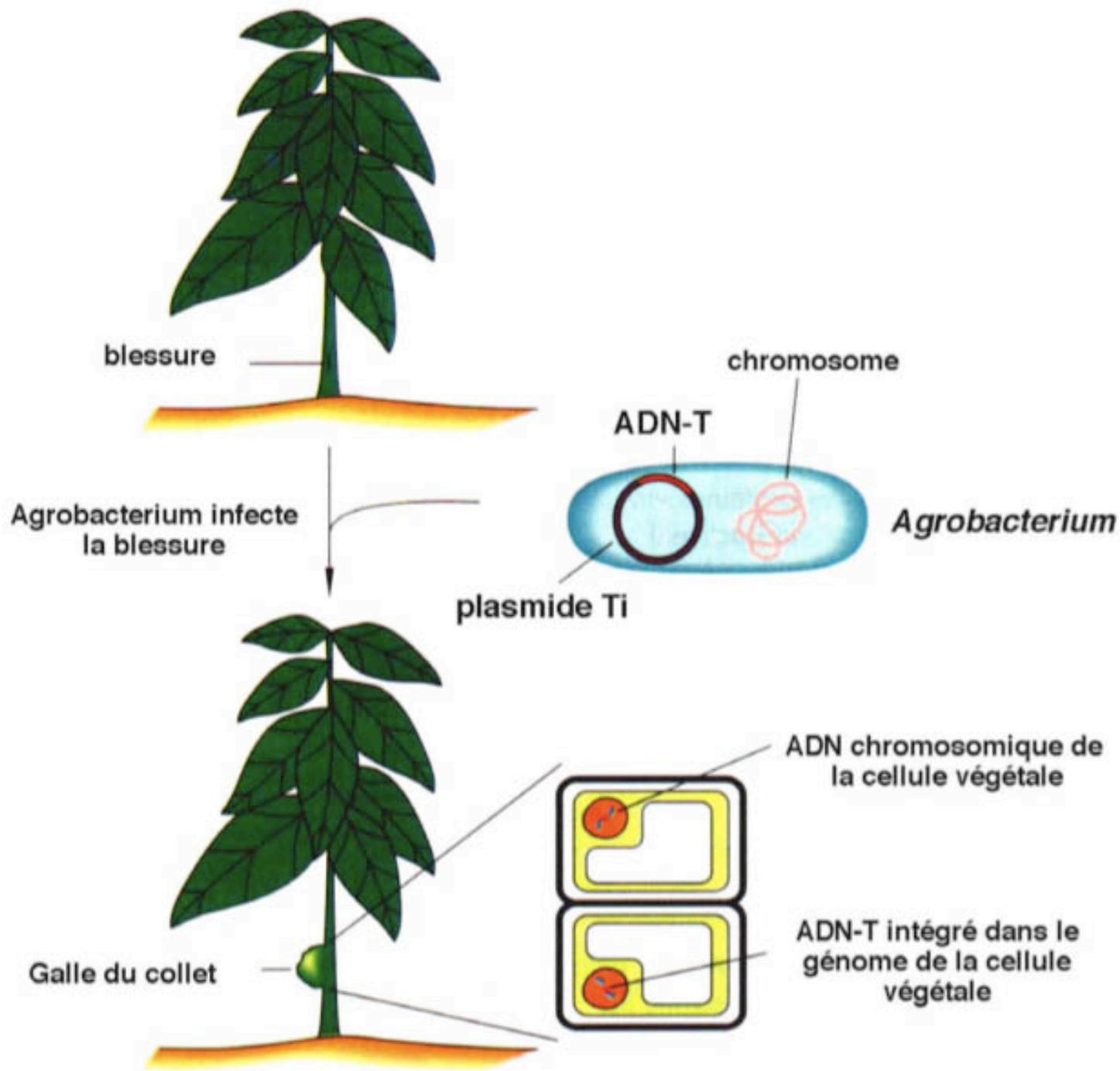




### Interaction plante-*Agrobacterium*

Si blessure, induction de l'expression des gènes *vir*.

Les protéines *vir* excisent l'ADN-T (= brin T) qui est transféré dans la plante

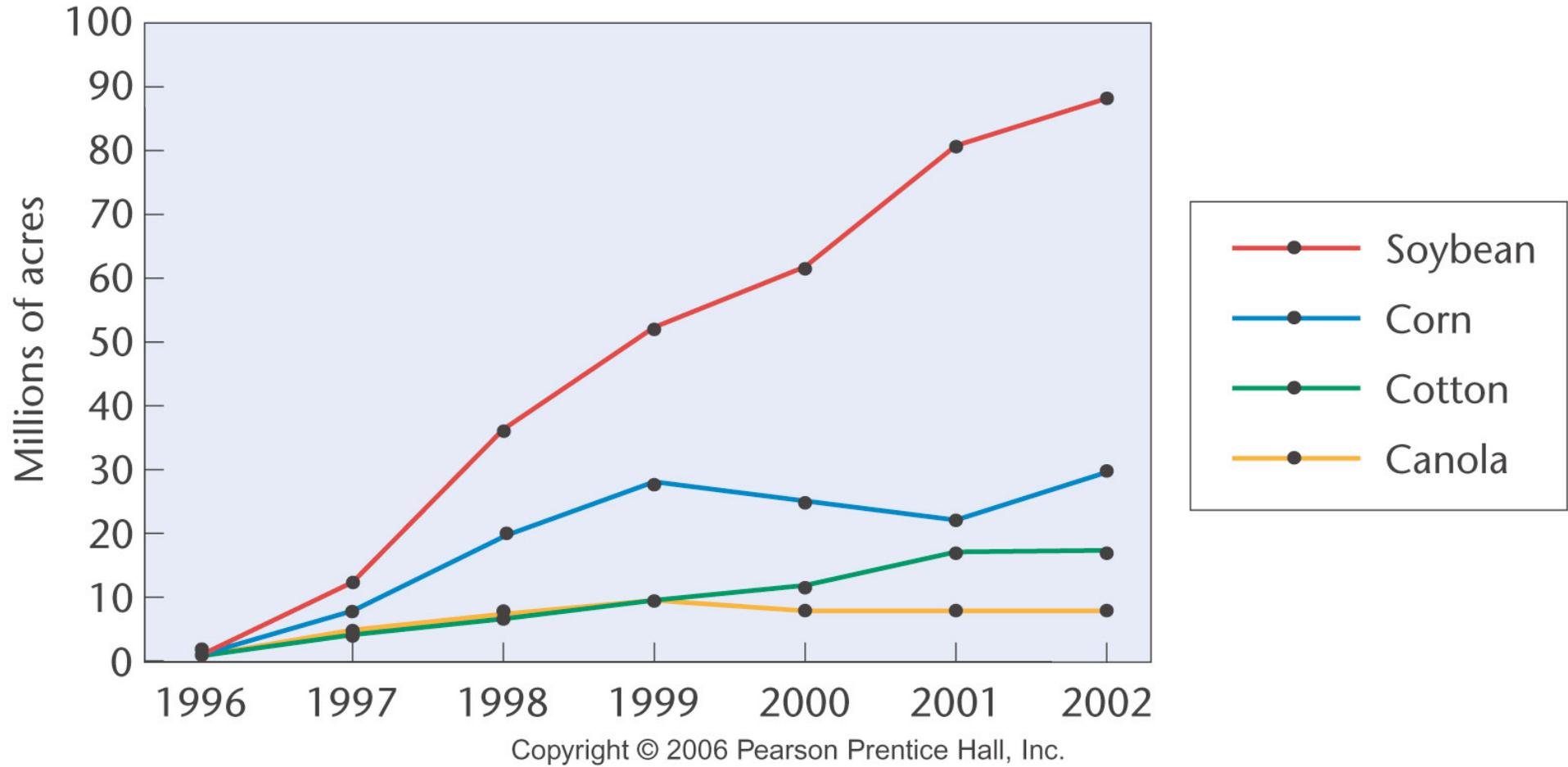


Résistance aux herbicides  
aux insectes nuisibles

Amélioration nutritionnelle

Production de molécules à usage thérapeutique

Global area of transgenic crops 1996-2002  
by crop (millions of acres)



USA : 2/3 de la production mondiale

## Riz doré

produit  
du beta-carotène  
(précurseur de  
la vitamine A)



Risques

<http://www.ogm.gouv.fr>

<http://www.ogm.gouv.fr>

**Site interministériel**  
**sur les OGM**  
[ogm.gouv.fr](http://ogm.gouv.fr)

Liberté • Égalité • Fraternité  
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Accueil | Actualité | Communiqués / Dossiers de presse | Liens utiles | Glossaire

Les Français se posent de nombreuses questions sur les organismes génétiquement modifiés (OGM). Ce site interministériel répond aux interrogations les plus fréquentes, reprises ci-dessous. L'internaute peut approfondir ses connaissances en consultant les fiches thématiques (en savoir plus), les dossiers sur la réglementation, les expérimentations en cours ou à venir, et la mise sur le marché européen.

**Actualités :**

**Appel à candidatures en vue de la nomination des membres du Comité scientifique du Haut Conseil des Biotechnologies :**

- appel à candidature : [version PDF \(.pdf\)](#) - [version Word \(.doc\)](#)
- déclaration d'intérêts : [version PDF \(.pdf\)](#) - [version Word \(.doc\)](#)
- notice explicative pour la déclaration d'intérêt : [version PDF \(.pdf\)](#)

**OGM : définitions et réglementation**

- Qu'est-ce qu'un OGM ?
- Pourquoi a-t-on fabriqué des OGM ?
- Quels sont les avantages que sont susceptibles de présenter les plantes génétiquement modifiées ?
- Les OGM permettent-ils d'utiliser moins de pesticides ?
- Quels sont les risques que présentent les OGM pour l'environnement ou la santé ?
- Quelle est la réglementation en vigueur ? Quelles sont les évolutions prévues ?
- Quelles sont les négociations internationales en cours ?

**Cultures et expérimentations**

- Qu'entend-on par la levée du "moratoire de fait" sur les OGM ?
- Les OGM sont-ils couramment cultivés en France ?
- Pourquoi mener des essais en plein champ ? En quoi consiste un essai en plein champ ?
- Comment sont contrôlés les essais ?
- La France peut-elle abandonner la recherche sur les OGM ?
- Les agricultures biologique et conventionnelle peuvent-elles co exister avec les cultures OGM ?

**Alimentation et OGM**

- Y a t'il déjà des OGM dans nos assiettes ?
- En quoi consiste l'étiquetage des denrées alimentaires pouvant contenir des OGM ou leurs dérivés ?
- Les OGM font-ils l'objet d'une surveillance après leur mise sur le marché ?
- Les OGM peuvent-ils créer des allergies ou des maladies chez l'homme ?
- Le colza transgénique est-il autorisé en France ?

**Commerce international et OGM**

- Que représentent les OGM dans le commerce mondial ?
- Les entreprises contrôlent-elles les OGM ?
- Peut-on interdire les importations d'OGM en provenance de pays tiers ?
- Aux Etats-Unis, toutes les cultures sont-elles OGM ?
- Pourquoi doit-on importer des semences des Etats-Unis ? Les semences non-OGM qui sont importées sont-elles séparées des semences OGM ?
- Des études ont montré qu'une grande part des semences commercialisées en France étaient OGM. Est-ce vrai ?

Questions fréquemment posées

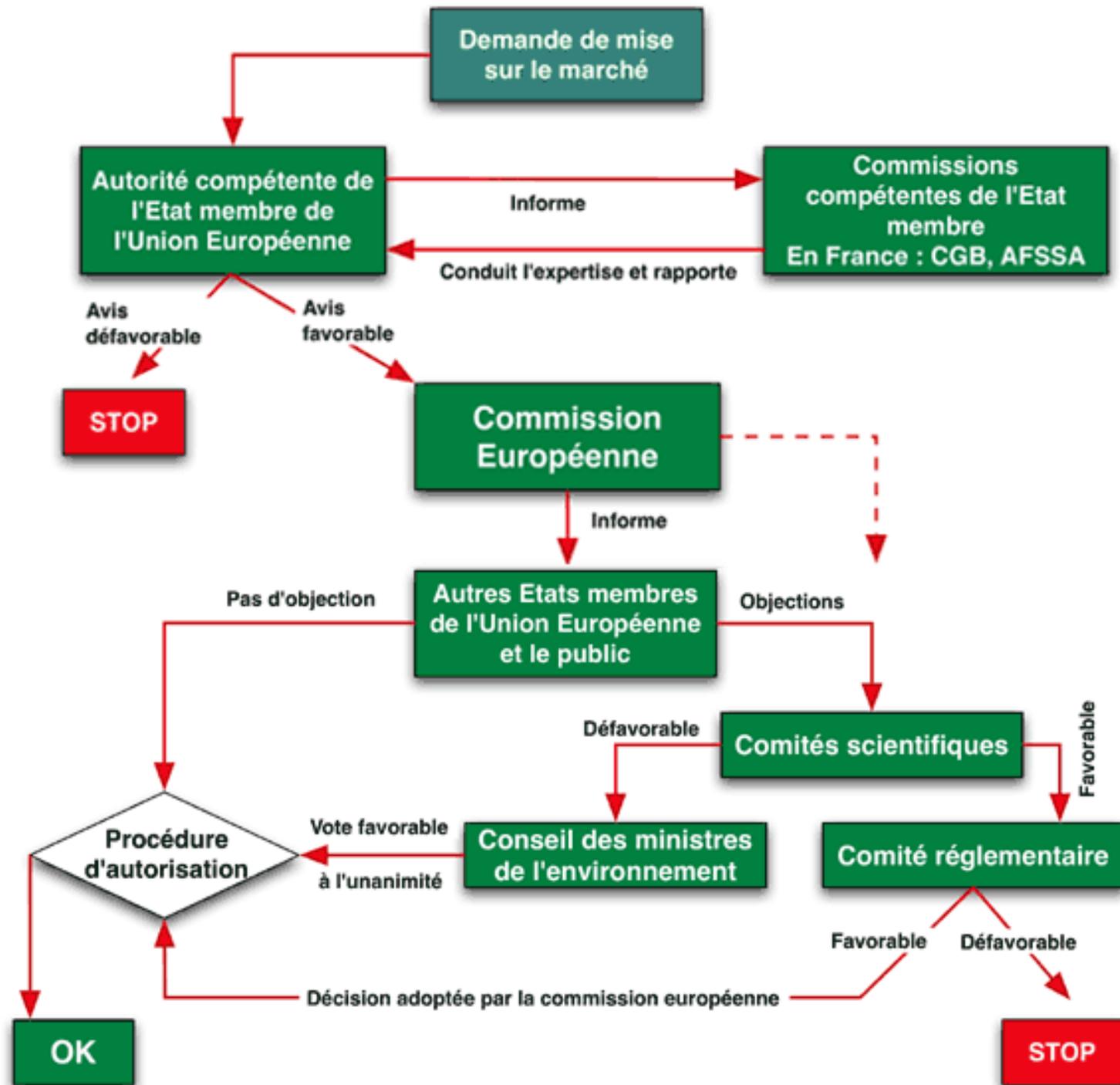
En savoir plus

Les acteurs

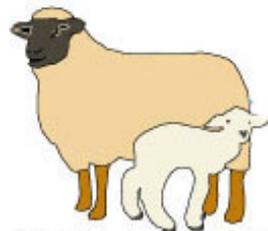
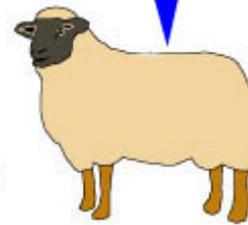
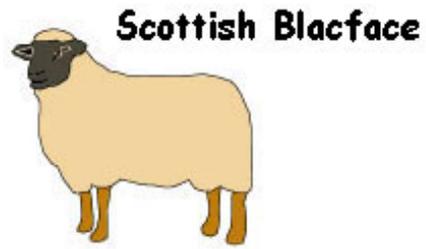
La réglementation

Expérimentations en France

Mise sur le marché



# Clonage par transfert nucléaire



**Dolly (à tête blanche)**

1997

Clonage reproductif

Clonage thérapeutique

Interdit en France  
(chez l'homme)