

Biologie moléculaire

La **biologie moléculaire** (parfois abrégée **bio. mol.** ou **BM**) est une discipline scientifique au croisement de la génétique, de la biochimie et de la physique, dont l'objet est la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire. Le terme « biologie moléculaire », utilisé la première fois en 1938 par Warren Weaver, désigne également l'ensemble des techniques de manipulation d'acides nucléiques (ADN, ARN), appelées aussi techniques de génie génétique.

La biologie moléculaire est apparue au xx^e siècle, à la suite de l'élaboration des lois de la génétique, la découverte des chromosomes et l'identification de l'ADN comme support chimique de l'information génétique.

Après la découverte de la structure en double hélice de l'ADN en 1953 par James Watson (1928-), Francis Crick (1916-2004), Maurice Wilkins (1916-2004) et Rosalind Franklin (1920-1958) la biologie moléculaire a connu d'importants développements pour devenir un outil incontournable de la biologie moderne à partir des années 1970.

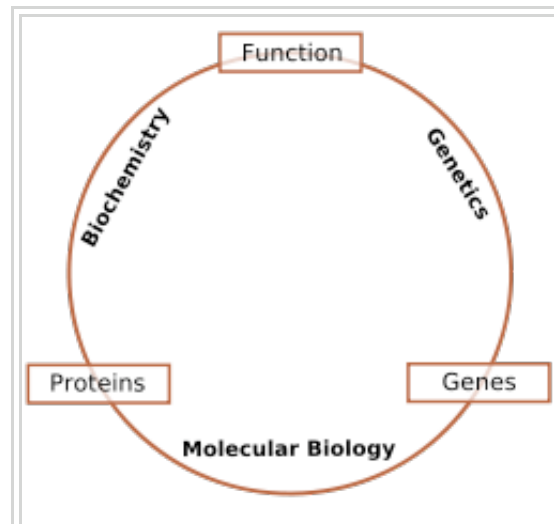
Sommaire

- 1 Relation avec les autres sciences biologiques « à l'échelle moléculaire »
- 2 Techniques de biologie moléculaire
 - 2.1 Clonage d'expressions
 - 2.2 Réaction en chaîne par polymérase
 - 2.3 Électrophorèse
 - 2.4 Southern blot
 - 2.5 Northern blot
 - 2.6 Western blot
 - 2.7 Puce à ADN
 - 2.8 Technologie abandonnée
 - 2.9 Histoire
- 3 Liste de quelques biologistes moléculaires connus
- 4 Notes et références
- 5 Voir aussi
 - 5.1 Bibliographie
 - 5.2 Articles connexes
 - 5.3 Liens externes

Relation avec les autres sciences biologiques « à l'échelle moléculaire »

Les chercheurs en biologie moléculaire utilisent des techniques spécifiques pour la biologie moléculaire (voir plus loin *Techniques de biologie moléculaire*), mais les combinent de plus en plus avec les techniques et les idées provenant de la génétique et de la biochimie. Il n'y a pas de frontière bien définie entre ces disciplines, bien qu'il y en ait eu à une certaine époque. La figure ci-contre illustre une vue possible de la relation entre les domaines :

- 1 La *biochimie* est l'étude des substances chimiques et des processus vitaux qui se produisent dans les organismes vivants.
- 1 La *génétique* est l'étude des effets des différences génétiques entre les organismes. Souvent cela peut être déduit par l'absence d'un composant normal (par exemple un gène). L'étude des « mutants » — organismes dont il manque un ou plusieurs composants fonctionnels par rapport au soi-disant « type naturel » ou au phénotype normal. Les interactions génétiques telles que les épistasies mettent souvent en défaut les interprétations simples de ces études par « élimination ».
- 1 La *biologie moléculaire* est l'étude des processus de réplication, de transcription et de traduction du matériel génétique. Le dogme central de la biologie moléculaire où le matériel génétique est transcrit en ARN, puis traduit en protéines, bien qu'il soit une image très simpliste et sans fondement de la biologie moléculaire, fournit encore un bon point de départ pour comprendre ce domaine. Cette image, cependant, doit être révisée à la lumière des nouveaux rôles qu'on découvre à l'ARN.



Relation schématique entre la biochimie (*biochemistry*), la génétique (*genetics*) et la biologie moléculaire (*molecular biology*)

L'essentiel du travail en biologie moléculaire est quantitatif, et récemment beaucoup de travaux ont été faits à l'intersection de la biologie moléculaire et de l'informatique, dans la bio-informatique et dans la biologie calculatoire. Depuis les années 2000, l'étude de la structure et de la fonction des gènes, la génétique moléculaire, fait partie des sous-domaines les plus saillants de la biologie moléculaire.

De plus en plus, de nombreux autres domaines de la biologie se concentrent sur les molécules, soit directement, en étudiant leurs interactions propres comme en biologie cellulaire et en biologie du développement, soit indirectement, quand les techniques de la biologie moléculaire sont utilisées pour déduire les attributs historiques des populations ou des espèces, comme dans les domaines de la biologie de l'évolution telles que la génétique des populations et la phylogénie. Il y a également une longue tradition d'étude des biomolécules « à partir du bas » en biophysique.

Techniques de biologie moléculaire

Depuis la fin des années 1950 et le début des années 1960, les biologistes moléculaires ont appris à caractériser, isoler et manipuler les composants moléculaires des cellules et des organismes. Ces composants incluent l'ADN, support de l'information génétique, l'ARN, proche de l'ADN dont les fonctions vont de la copie provisoire d'ADN jusqu'aux réelles fonctions structurales et enzymatiques et qui est une partie fonctionnelle et structurale de l'appareil traductionnel, et les protéines, molécules structurales et enzymatiques les plus importantes des cellules.

Clonage d'expressions

Une des techniques les plus élémentaires en biologie moléculaire pour étudier le rôle des protéines est le clonage d'expressions. Dans cette technique, l'ADN codant la protéine qui nous intéresse est cloné en utilisant la réaction en chaîne par polymérase (PCR en anglais pour *Polymerase Chain Reaction*) et/ou des enzymes de restriction dans un plasmide (qu'on appelle vecteur d'expression). Ce plasmide peut avoir des éléments de séquences promotrices spéciales pour diriger la production de la protéine en question et peut aussi avoir des marqueurs de résistance antibiotique pour aider à suivre le plasmide.

Ce plasmide peut être inséré dans des cellules, soit de bactérie, soit d'animal. Introduire de l'ADN dans des cellules bactériennes est appelé transformation, et cela peut être complété de plusieurs manières : électroporation, micro-injection, consommation passive et conjugaison. Introduire de l'ADN dans des cellules d'eucaryotes, telles que des cellules animales, est appelé transfection. Plusieurs techniques différentes de transfection sont disponibles : transfection calcium phosphate, transfection de liposomes ou lipofection, électroporation ou encore par réactifs de transfection propriétaires tels que le Fugene. L'ADN peut alors être introduit dans les cellules en utilisant des virus ou des bactéries pathogènes comme transporteurs. Dans de tels cas, la technique est appelée transduction virale/bactérienne, et les cellules sont dites transduites.

Dans les deux cas, le codage ADN pour la protéine qui nous intéresse est maintenant à l'intérieur d'une cellule, et la protéine peut maintenant s'exprimer. Une variété de systèmes, tels que des promoteurs inductibles et des facteurs spécifiques signalant les cellules, sont disponibles pour aider la protéine qui nous intéresse à s'exprimer à haut niveau. De grandes quantités de protéines peuvent alors être extraites de la cellule bactérienne ou eucaryote. La protéine peut être testée pour connaître son activité enzymatique dans une variété de situations, elle peut être cristallisée pour qu'on puisse étudier sa structure tertiaire, ou, dans l'industrie pharmaceutique, on peut étudier l'activité de nouveaux médicaments sur la protéine en question.

Réaction en chaîne par polymérase

La réaction en chaîne par polymérase (PCR en anglais, pour *Polymerase Chain Reaction*) est une technique extrêmement flexible de copie d'ADN. En gros, la PCR permet à une simple séquence d'ADN d'être copiée des millions de fois, ou d'être altérée par des moyens prédéterminés. Par exemple, la PCR peut être utilisée pour introduire des sites d'enzymes de restriction, ou pour muter (changer) des bases particulières de l'ADN. La PCR peut aussi être utilisée pour déterminer si un fragment particulier d'ADN se trouve dans une bibliothèque d'ADN complémentaires. La PCR a de nombreuses variations, comme la PCR à transcription inversée (RT-PCR en anglais pour *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) pour l'amplification de l'ARN, et, plus récemment, la PCR temps réel (qPCR) qui permet des mesures quantitatives de molécules d'ADN et d'ARN.

Électrophorèse

L'électrophorèse est un des principaux outils de biologie moléculaire. Le principe de base est que l'ADN, l'ARN et les protéines peuvent être séparées par des champs électriques. Dans l'électrophorèse en gel d'agarose, l'ADN et l'ARN peuvent être séparés en fonction de leur taille en faisant circuler l'ADN à travers un gel d'agarose. Les protéines peuvent être séparées en fonction de leur taille en utilisant un gel SDS-PAGE. Les protéines peuvent aussi être séparées par leur charge électrique, en utilisant ce qu'on appelle un gel isoélectrique.

Southern blot

Nommé ainsi d'après le nom de son inventeur, le biologiste Edwin Southern, le southern blot est une méthode pour sonder la présence d'une séquence précise d'ADN à l'intérieur d'un échantillon d'ADN. Des échantillons d'ADN avant ou après digestion par une enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse et transférés sur une membrane par marquage via action capillaire. La membrane peut alors être testée en utilisant une sonde ADN marquée avec un complément de la séquence en question. À l'origine, la plupart des protocoles utilisaient des marqueurs radioactifs ; cependant, maintenant, il existe des possibilités de marquages non radioactifs. Le Southern blot est utilisé moins souvent dans les laboratoires, du fait que la PCR permet déjà de détecter des séquences ADN spécifiques à partir d'échantillons d'ADN. Cependant, ces marquages sont encore utilisés pour certaines applications, telles que la mesure du nombre de copies transgéniques dans les souris transgéniques, ou dans l'ingénierie de lignes de cellules souches embryonnaires à gènes invalidés.

Northern blot

Le Northern blot est utilisé pour étudier les modèles d'expression d'un type spécifique de molécule d'ARN en comparaison relative avec un ensemble de différents échantillons d'ARN. C'est essentiellement une combinaison d'une dénaturation d'électrophorèse d'ARN, et d'un *blot*. Dans ce processus, l'ARN est séparé en fonction de la taille, puis est transféré sur une membrane qui est alors sondée avec un complément marqué pour la séquence intéressante. Les résultats peuvent être visualisés d'une variété de façons selon le marquage utilisé ; cependant, la plupart conduisent à une révélation de bandes représentant la taille de l'ARN détecté dans l'échantillon. L'intensité de ces bandes est liée à la quantité d'ARN ciblé dans les échantillons analysés. Le procédé est utilisé généralement pour étudier quand et combien d'expressions de gènes se produisent en mesurant la quantité de cet ARN présent dans les différents échantillons. C'est un des outils les plus fondamentaux pour déterminer quand certains gènes s'expriment dans les tissus vivants.

Western blot

Séparation des protéines par électrophorèse SDS-PAGE uniquement en fonction de leur taille (le SDS, ou sodium dodécylsulfate, dénature les structures tertiaire et quaternaire des protéines et les charge toutes négativement), puis transfert des protéines séparées sur membrane pour les rendre accessibles à divers marquages immunologiques ou autres.

Les anticorps pour la plupart des protéines peuvent être créés par injection de petites quantités de protéine cible dans les animaux tels que la souris, le lapin, le mouton ou l'âne (anticorps polyclonaux) ou produits dans une culture de cellules (anticorps monoclonaux). Ces anticorps peuvent être utilisés dans une variété de techniques analytiques et préparatives.

Dans le Western blot (immunobuvardage), les protéines sont d'abord séparées en fonction de leur taille, dans un gel fin pris entre deux plaques de verre par une technique qu'on appelle SDS-PAGE (pour *Sodium Dodecyl Sulphate Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis*). Les protéines dans le gel sont alors transférées sur un PVDF, nitrocellulose, nylon ou autre membrane de support. Cette membrane peut alors être sondée avec des solutions d'anticorps. Les anticorps qui s'attachent spécifiquement à la protéine en question peuvent alors être visualisés selon une variété de techniques, dont la colorimétrie, la chimiluminescence ou

l'autoradiographie.

Des méthodes analogues de Western blot peuvent aussi être utilisées pour marquer directement des protéines spécifiques dans des cellules et des sections de tissus. Cependant, ces méthodes de marquages immunologiques sont plutôt associées à la biologie cellulaire qu'à la biologie moléculaire.

Les termes *Western* et *Northern* sont des jeux de mots : les premiers *blots* étaient sur l'ADN, et comme ils ont été faits par Edwin Southern, ils ont pris le nom de *Southern* (*southern* veut dire « du sud » en anglais ; tandis que *western* signifie « de l'ouest » et *northern*, « du nord »). Il est peu probable que Patricia Thomas, inventeuse du *blot* ARN, qui est devenu le *Northern blot*, utilise vraiment ce terme¹. Pour pousser la plaisanterie plus loin, on peut trouver, dans la littérature [1] (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>), des références vers des *south-westerns* (« du sud-ouest ») (interactions protéine-ADN) et des *far-westerns* (du « far-ouest ») (interactions protéine-protéine).

Puce à ADN

Une puce à ADN, aussi appelée microarray, est une collection de milliers de puits microscopiques sur un support solide tel qu'une lame de microscope; chaque puits contient un grand nombre de fragments d'ADN identiques qui permet de mesurer l'expression d'un gène particulier par complémentarité de séquence avec ARN correspondant. Les puces permettent ainsi de connaître le transcriptome, c'est-à-dire l'ensemble des gènes transcrit à un moment donné dans un groupe de cellules données.

Il y a plusieurs manières différentes de fabriquer des puces à ADN ; les plus courantes sont les puces à silicium, lames de microscope dont les taches ont 100 microns de diamètre, les puces qu'on peut adapter à ses besoins, et celles avec des taches plus grosses sur des membranes poreuses (macropuces).

Les puces peuvent aussi être fabriquées pour des molécules autres que l'ADN. Par exemple, une puce à anticorps peut être utilisée pour déterminer quelle protéine ou bactérie est présente dans un échantillon de sang.

Technologie abandonnée

Au fur et à mesure que de nouvelles procédures et de nouvelles technologies sont devenues disponibles, les anciennes sont rapidement abandonnées. Des exemples typiques sont les méthodes pour déterminer la taille des molécules d'ADN. Avant l'électrophorèse, avec agarose et polyacrylamide, on calculait la taille de l'ADN par sédimentation dans des gradients sucrés, une technologie lente et laborieuse nécessitant une instrumentation coûteuse ; et avant les gradients sucrés, on utilisait la viscosimétrie.

Indépendamment de leur intérêt historique, il est intéressant de connaître les anciennes techniques car cela peut être utile pour résoudre des problèmes particuliers.

Histoire

La biologie moléculaire est apparue dans les années 1930, le terme n'ayant cependant été inventé qu'en 1938 par Warren Weaver. Warren Weaver était à l'époque directeur des Sciences Naturelles pour la Fondation Rockefeller et pensait que la biologie était sur le point de vivre une période de changements significatifs étant données les avancées récentes dans les domaines tels que la diffractométrie de rayons X.

Il a donc investi des sommes importantes provenant de l'Institut Rockefeller dans les domaines biologiques.

Liste de quelques biologistes moléculaires connus

- † Francis Crick
- † James D. Watson
- † Maurice Wilkins
- † Erwin Chargaff
- † Rosalind Franklin
- † Max Perutz
- † Susumu Tonegawa
- † Christiane Nüsslein-Volhard
- † Frederick Sanger
- † François Jacob
- † Jacques Monod

Notes et références

- ↑ Patricia S. Thomas, « Hybridization of denatured RNA and small DNA fragments transferred to nitrocellulose » (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC350025/pdf/pnas00496-0184.pdf>) , *PNAS*, vol. 77, pp. 5201-5205 (1980).

Voir aussi

Bibliographie

- † Michel Morange, *Histoire de la biologie moléculaire*, Éditions La Découverte, 2003.
- † Christophe Ronsin, *L'histoire de la biologie moléculaire (Pionniers & héros)*, De Boeck Université, 2005.

Articles connexes

- † ADN - ARN - Protéine
- † Théorie fondamentale de la biologie moléculaire
- † Code génétique
- † ADN recombinant

Liens externes

- † **(fr)** « Il était une fois ... l'ADN »: un site éducatif sur les bases de la génétique classique et moléculaire (<http://edumed.unige.ch/dnaftb/>)
- † **(fr)** Ecole de l'ADN, Nîmes (FRANCE) (<http://www.ecole-adn.fr/>)
- † **(fr)** Introduction à la biologie moléculaire et cellulaire, BTS biochimie (FRANCE) (http://leroukar.free.fr/fichiers/htm/BCM_cours_1.htm)

Ce document provient de « http://fr.wikipedia.org/wiki/Biologie_mol%C3%A9culaire ».

Dernière modification de cette page le 6 mai 2011 à 05:07.

Droit d'auteur : les textes sont disponibles sous licence Creative Commons paternité partage à l'identique ; d'autres conditions peuvent s'appliquer. Voyez les conditions d'utilisation pour plus de détails, ainsi que les crédits graphiques. En cas de réutilisation des textes de cette page, voyez comment citer les auteurs et mentionner la licence.

Wikipedia® est une marque déposée de la Wikimedia Foundation, Inc., organisation de bienfaisance régie par le paragraphe 501(c)(3) du code fiscal des États-Unis.