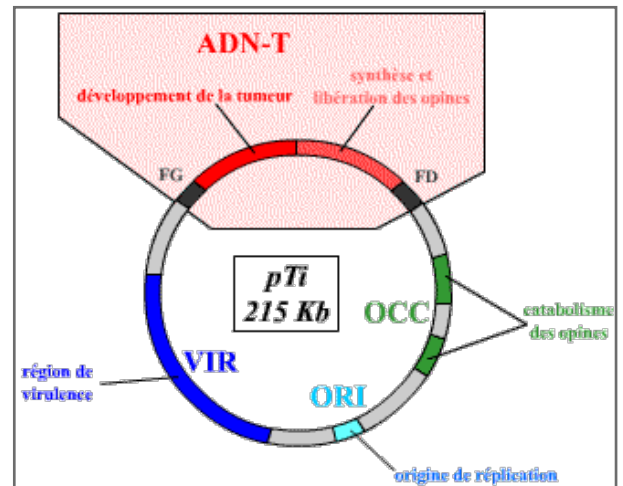
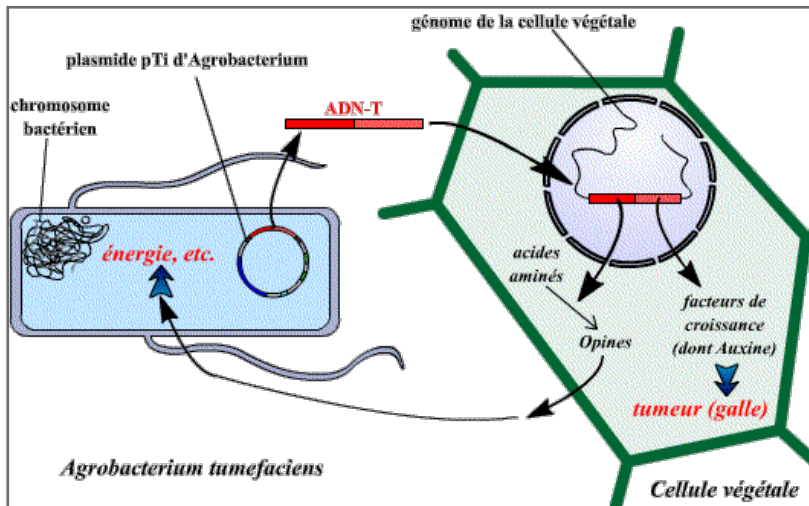


Transgénèse végétale

Une bactérie infectant naturellement les végétaux supérieurs

Agrobacterium tumefaciens est une bactérie en forme de bâtonnet, de la famille des Rhizobium. Elle se développe dans le sol. Elle est attirée par des composés phénoliques dégagés par les plantes dicotylédones lorsqu'elles sont blessées. Au niveau de cette blessure, *Agrobacterium* est capable de se fixer sur les cellules du végétal. A la suite de ce contact, ces cellules végétales se multiplient de manière importante, donnant naissance à une formation tumorale. Elle est en général située au niveau du collet, d'où le nom de cette formation : la galle du collet (crown gall).

Les cellules de la galle libèrent des composés chimiques particuliers dans le milieu : les opines, molécules formées de deux acides aminés couplés. Les bactéries *Agrobacterium* présentes près de la galle, dans le sol, sont capables d'utiliser alors ces opines comme source d'azote, mais aussi de carbone et d'énergie. *Agrobacterium tumefaciens* est donc capable d'induire, chez une plante dicotylédone, la formation d'une galle lui fournissant un substrat. Depuis 1974, on sait que cette induction est due au transfert d'un petit ADN plasmidique (le plasmide Ti) depuis la bactérie jusque dans le génome des cellules de la plante. (Schéma de gauche)



Le plasmide Ti d'Agrobactérium tumefaciens (schéma de droite)

Le plasmide Ti (Ti pour *tumor inducing*) est un petit plasmide, de 215 milliers de paires de bases. Ce plasmide comporte plusieurs régions :

ADN-T: Région transférée de la bactérie à la cellule végétale: Cette région est flanquée de deux zones de bordures (FD à droite et FG à gauche), importantes pour la réalisation du transfert. L'ADN-T comporte une région permettant le développement de la tumeur (galle) chez la plante infectée. L'ADN-T comporte aussi les gènes permettant la synthèse et la libération des opines par les cellules végétales.

VIR: Région de virulence: Cette région comporte une série de gènes, qui permettent la fixation de la bactérie aux cellules végétales et le transfert de l'ADN-T.

OCC: Région de catabolisme des opines: Cette région permet à la bactérie d'utiliser les opines libérées par le végétal suite à son infection par l'ADN-T.

ORI: Origine de réplication: Cette région permet au plasmide de se multiplier dans la bactérie.

Une manipulation de laboratoire

Le principe de la transformation génétique par *Agrobacterium* est utilisé en laboratoire pour introduire des gènes d'intérêt dans une plante et construire un OGM. *Agrobacterium* et son plasmide Ti sont utilisés comme vecteur de gène d'intérêt.

Les étapes de fabrication d'un OGM sont:

- identification, isolement et multiplication du gène d'intérêt (transgène) par des méthodes de génie génétique (Southern blot / clonage...).
- insertion du gène d'intérêt dans un vecteur de transformation (plasmide Ti contenant l'ADN-T désarmé, c'est à dire sans les gènes de tumeur et de synthèse des opines, et dans lequel on a inséré le gène d'intérêt + le gène de sélection, par exemple un gène de résistance à un antibiotique). (Manipulations possibles grâce aux enzymes de restriction)
- mise en contact des cellules végétales et des bactéries contenant le vecteur de transformation: c'est l'infection.
- sélection des transformants (cellules végétales ayant incorporé le transgène) en présence d'un agent sélectif toxique pour les cellules sauvages. Seules les cellules transformées exprimant le gène de sélection (gène de résistance à l'agent sélectif) développent une résistance à cet agent toxique et survivent sur le milieu de sélection.
- régénération in vitro des plantes entières à partir des explants végétaux transformés (technique basée sur la totipotence des cellules végétales)
- analyse des transformants: lors de ce contrôle on s'assure de la bonne intégration du transgène dans le génome hôte (Southern blot) et de son expression correcte.

L'ensemble des opérations est long et très lourd : il faut plusieurs semaines à plusieurs mois pour construire un OGM et le pourcentage de réussite est faible. De nombreuses plantes sont récalcitrantes à l'infection par *Agrobacterium* et il existe d'autres techniques de transformation par introduction directe du transgène, sans utiliser *Agrobacterium*.

LES DIFFERENTES APPLICATIONS DES OGM

Transformer pour comprendre

La recherche fondamentale est le premier grand domaine d'application des OGM. L'étude de la fonction physiologique d'un gène est facilitée par la transgénèse. Le gène dont la fonction est inconnue est introduit dans une plante-modèle, Arabidopsis thaliana, la tomate ou le tabac, afin de modifier le phénotype de la plante.

Plusieurs approches sont possibles :

– par la technique de **surexpression d'un gène** : un gène peut être introduit par transgénèse afin d'augmenter son expression dans la plante hôte. La présence accrue du produit du gène modifie le phénotype de l'OGM et permet de comprendre la fonction du gène d'intérêt ;

– par la technique de **répression d'un gène**, grâce à l'utilisation des ARN antisens : on introduit par transgénèse la séquence du gène d'intérêt « à l'envers » dans la plante ; elle est transcrite dans les cellules en un ARN messager antisens complémentaire de l'ARN messager normal. Les deux ARN complémentaires interagissent et s'hybrident dans le cytoplasme de la cellule transformée, rendant ainsi impossible la traduction de l'ARN. L'absence de la protéine codée par le gène d'intérêt modifie le phénotype de la plante et permet de comprendre la fonction du produit du gène lorsque celui-ci est normalement présent.

Transformer pour améliorer

L'un des objectifs visés par la technique de transgénèse est l'amélioration des plantes cultivées, par transfert d'un gène d'intérêt agronomique. Les OGM construits doivent produire plus ou produire mieux :

– produire plus, c'est augmenter les rendements de la culture, par exemple en diminuant l'impact des ravageurs pathogènes. C'est aussi désherber plus efficacement une culture afin de diminuer la concurrence entre la plante agronomique et les mauvaises herbes (adventices).

– produire mieux, c'est pouvoir réduire les épandages de produits chimiques polluants et ainsi préserver l'environnement. C'est aussi, même si ce dernier but reste encore au stade expérimental, construire des plantes résistantes à des sols pauvres ou à des climats difficiles, dans l'espoir de reconquérir par la culture, des surfaces de terre dégradées ou inutilisées.

Transformer pour produire

Un OGM peut produire une molécule étrangère en grande quantité, dans des conditions de culture simples et à moindre coût par rapport à l'utilisation des microorganismes élevés en bio fermenteurs ou par rapport à la synthèse chimique. Les applications concernent deux grands domaines :

– les molécules d'intérêt thérapeutiques produites par une plante sont exemptes de toute contamination potentielle, contrairement à celles extraites de tissus animaux ou de cultures bactériennes. Il n'existe en effet pas de maladies connues transmissibles de la plante à l'homme. De plus, dans le cas des molécules vaccins, l'extraction et la purification de la molécule ne sont pas nécessaires puisqu'elles sont biologiquement ou immunologiquement actives par simple ingestion du végétal transformé. Le stockage des vaccins s'en trouve aussi grandement simplifié et adapté aux conditions précaires des pays nécessitant des campagnes de vaccination massive des populations.

– les molécules produites pour l'industrie sont utilisables en lieu et place d'autres produits trop coûteux ou dangereux pour l'environnement. On tente ainsi de construire des OGM végétaux capable de produire des molécules entièrement biodégradables (polymères proches des plastiques), ne nécessitant pas de traitement de recyclage particulier après usage.

LES RISQUES POTENTIELS DES OGM

Des risques pour la santé

Les gènes de sélection, introduits dans la plante en même temps que le gène d'intérêt, sont en général des gènes de résistance à un antibiotique d'origine bactérienne. Ils pourraient être transmis des OGM végétaux aux microorganismes proches de la flore intestinale de l'homme ou de la flore du sol. De tels flux de gènes sont connus entre microorganismes (par conjugaison bactérienne) et des bactéries pathogènes pour l'homme pourraient ainsi acquérir une résistance à un antibiotique qu'elles ne possédaient pas naturellement. Les antibiotiques utilisés en médecine seraient alors moins efficaces, voire même impuissants à combattre un nouveau microorganisme très virulent.

Un autre problème est lié à l'introduction aléatoire du transgène dans le génome de la plante. Il peut, en s'insérant dans certaines séquences d'ADN, provoquer des mutations et conduire à la perturbation du métabolisme de l'OGM, voire même à la production de molécules nouvelles, qui seraient dangereuses pour le consommateur.

Des risques pour l'environnement

Les OGM construits pour résister à un agent pathogène exercent une pression de sélection sur la population-cible de ravageurs. Des individus résistants peuvent apparaître par mutations. Ils peuvent se reproduire, transmettre à leur descendance l'allèle de résistance apparue. L'agriculteur, qui cherche à maintenir le rendement de sa culture, va utiliser davantage de produits phytosanitaires pour éliminer les individus ravageurs résistants, et donc, en définitive, l'effet inverse de celui escompté : la pollution des sols.

Des pratiques culturales préconisant l'établissement de zones « refuges » permettent aux individus devenus résistants de trouver des partenaires sexuels sauvages en nombre et leur croisement autorise la dilution de l'allèle de résistance.

Un autre risque pour l'environnement est la dissémination des pollens transgéniques (« flux de gènes ») vers les populations de mauvaises herbes envahissantes, d'espèces proches de celle de l'OGM cultivé. Des croisements interspécifiques pourraient conduire à transformer des plantes voisines. C'est la biodiversité végétale elle-même qui se trouve menacée. De plus, les mauvaises herbes risquent d'intégrer un gène censé procurer un avantage à l'OGM. Si celui-ci est une résistance aux herbicides, les mauvaises herbes deviendraient résistantes et les doses d'herbicide employées pour les éliminer seraient décuplées, menaçant de pollution l'environnement.

Avantages et inconvénients des OGM

Les OGM représentent une technologie de manipulation du vivant, lourde et coûteuse mais qui autorise des modifications phénotypiques potentiellement intéressantes. Les applications dans le domaine de la recherche, de l'alimentation, de la santé ou de l'industrie sont multiples. Cependant, la méconnaissance des risques potentiels et des conséquences éventuelles à long terme sur la santé humaine et sur l'environnement laisse la voie ouverte à toutes les polémiques, scientifiques, économiques, politiques et même éthiques.

