

# Une prouesse technique remarquable

## La synthèse<sup>1</sup> *de novo* par voie chimique et génie génétique du chromosome complet d'une bactérie.

Le génome d'une bactérie se résume à un seul chromosome ; ce chromosome est circulaire. Le chromosome est à l'intérieur de la cellule sans être enfermé dans un noyau comme les cellules des plantes ou des animaux. Le chromosome bactérien contient tous les gènes nécessaires à sa survie et à sa multiplication. Les gènes dictent la synthèse des protéines propres à la bactérie. La nouveauté ici est qu'un chromosome a été obtenu par synthèse à partir de produits chimiques simples : les 4 nucléotides<sup>2</sup> constituant l'ADN (acide désoxyribonucléique), **Figure 1**. Le chromosome synthétique a la séquence<sup>3</sup> du chromosome d'une bactérie **A**, séquence qui avait été préalablement déterminée par les méthodes classiques, celles qui ont servi à séquencer les génomes de l'homme de nombreuses bactéries et de différents animaux et plantes.

Le chromosome synthétique a été injecté dans une bactérie<sup>4</sup> **B** dont le chromosome avait été préalablement éliminé, « *bactérie B dépourvue de chromosome* ». On obtient ainsi une bactérie **CS** (chromosome synthétique) qui est vivante et se multiplie activement (**Figure 2**). La bactérie **CS** a le chromosome de la bactérie **A** et les protéines de la bactérie **B**, momentanément. Cependant, la bactérie **CS** synthétise les protéines selon les gènes de la bactérie **A** et donc après quelques divisions, les protéines de la bactérie **B** deviennent minoritaires et après quelques dizaines de divisions<sup>5</sup>, les bactéries **CS** sont, quant à leurs protéines, strictement identiques à la bactérie **A**.

Cette prouesse technique réside dans le fait que les 1 077 947 nucléotides du chromosome de la bactérie **CS** ont été liés les uns aux autres à partir des 4 nucléotides A, T, G, C. La construction est remarquablement présentée dans le schéma ci-dessous. Les nucléotides purs sont prélevés à la demande dans les 4 flacons marqués AGCT. Des oligonucléotides issus de la synthèse chimique sont assemblés dans le bon ordre pour donner des segments de 1080 nucléotides<sup>6</sup> (1078 segments) qui sont, à leur tour, assemblés pour donner des segments de 10 080 nucléotides (109 segments) puis des gros segments de 100 000 nucléotides (11 segments) et enfin un chromosome de 1 080 000 nucléotides qui est cyclisé (fermé sur lui-même) pour donner le chromosome bactérien de synthèse de 1 077 947 nucléotides.

C'est ce chromosome synthétique qui a été injecté dans la « *bactérie B dépourvue de chromosome* ». Ceci rappelle la manœuvre d'énucléation d'un ovocyte de brebis suivi de l'injection du noyau (l'ensemble des chromosomes) d'une cellule de la glande mammaire d'une autre brebis, ce qui a permis de faire naître une brebis clonée, appelée Dolly.

---

<sup>1</sup> Ce travail est dû à l'équipe de J. Craig Venter, un génie de la biologie moléculaire, qui a été une cheville ouvrière incontournable dans la détermination de la première séquence du génome humain. Science 2010

<sup>2</sup> Nucléotide : élément fondamental des acides nucléiques. Dans l'ADN, il y a 4 nucléotides : A, T, G, C. C'est la position des nucléotides dans un gène qui détermine la structure de la protéine codée par ce gène. Ces nucléotides sont présents dans tous les génomes de tous les êtres vivants.

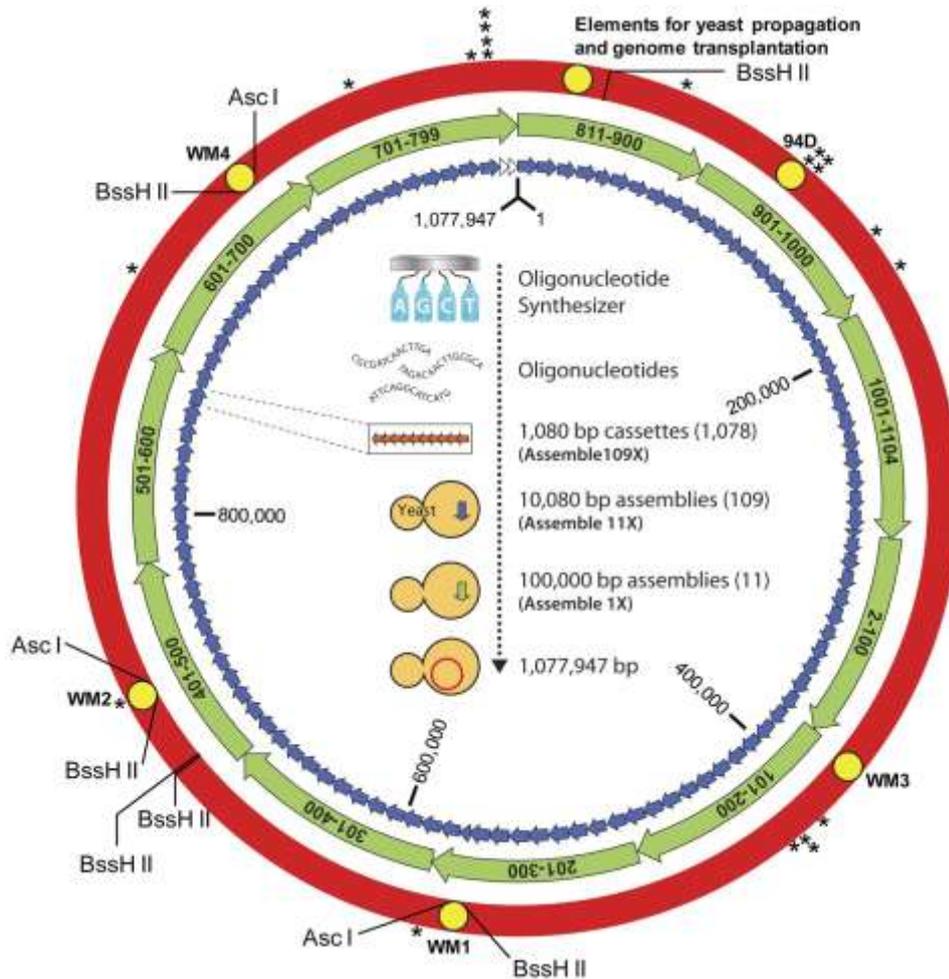
<sup>3</sup> Séquence : la séquence correspond à la position des nucléotides dans le chromosome, comme les lettres d'un roman, la lettre par lettre de la première ligne à la dernière.

<sup>4</sup> Cette bactérie **CS** est une cousine de la bactérie **A**. Les protéines de la bactérie **B** sont suffisamment différentes de celles de la bactérie **A** pour différencier la bactérie **A** (ainsi que les descendants de la bactérie **CS** avec leur chromosome synthétique) de la bactérie **B**. En outre, dans le chromosome synthétique, les auteurs ont introduit un gène codant une enzyme (la bêta galactosidase) utilisée traditionnellement pour détecter les cellules transgéniques car cette enzyme qui n'est pas présente dans le chromosome de la bactérie (mycoplasme) permet de conférer aux cellules transgéniques une coloration bleue par simple addition d'un « substrat » incolore dans le milieu. En effet l'enzyme coupe le substrat en 2 éléments dont l'un est un colorant bleu.

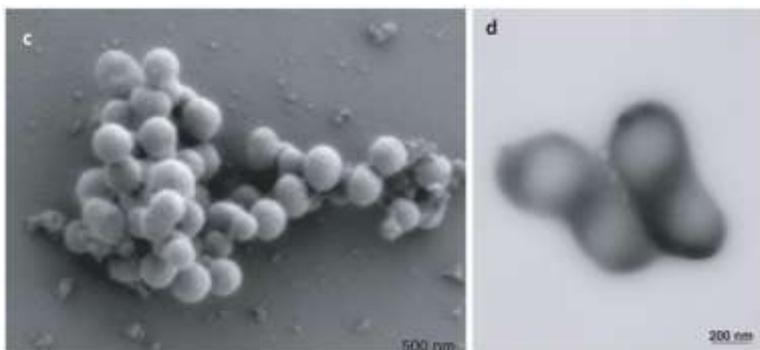
<sup>5</sup> Après 10 divisions, elles ne représentent que le millième des protéines **A**, après 20 divisions, elles ne sont plus qu'un millionième, c'est-à-dire qu'elles ne sont plus détectables.

<sup>6</sup> Chaque segment est terminé à ses 2 extrémités par un segment de 40 nucléotides qui permettent de placer correctement les segments les uns par rapport aux autres au cours de la synthèse des segments plus longs.

Ce présent travail est remarquable mais, **il ne s'agit, en aucun cas, de la création d'un organisme vivant à partir de produits chimiques simples.** Il s'agit ici du transfert d'un ensemble de gènes (le chromosome) dans une cellule qui, à part le chromosome, dispose de l'intégralité des caractéristiques et de la machinerie d'une cellule vivante : l'ensemble des molécules (protéines, lipides, glucides, etc.), mais aussi l'organisation tridimensionnelle et environnementale de ses constituants, et en particulier, de la membrane plasmique qui entoure la bactérie et en assure l'intégrité, etc. Il ne s'agit que d'une substitution du chromosome à l'instar de la substitution du noyau pour obtenir les clones de mammifère.



**Figure 1.** Les étapes de synthèse du chromosome de la bactérie A. Les premières étapes sont strictement chimiques (Synthetizer), les étapes suivantes permettent par les techniques de biologie moléculaire, de lier entre eux dans le bon ordre les oligonucléotides synthétisés dans l'étape précédente. Des levures sont utilisées pour permettre d'arriver au chromosome complet et fermé sur lui-même. Le cercle bleu intérieur représente les 109 cassettes (contenant 1 078 nucléotides) obtenues à partir des oligonucléotides. Le cercle vert représente les segments de quelque 100 000 nucléotides. Le cercle rouge représente le chromosome synthétique complet.



**Figure 2 -** Bactéries filles en paquets (à gauche) et 2 cellules en cours de division (à droite).