

CHRONIQUE DU CSM

Comment une bactérie est devenue indispensable aux chercheurs ?

Cette chronique aborde normalement la diversité du vivant en présentant le résultat du travail des chercheurs. Mais ces études ne pourraient avoir lieu sans un équipement technique dont l'évolution permanente permet à la recherche de progresser. Cette chronique et les suivantes aborderont désormais cet aspect souvent mal connu de la recherche scientifique. Ce premier volet présente la technique clé de la série télévisée des « Experts », la PCR, qui permet à partir d'un cheveu de déterminer l'auteur d'un crime... et bien d'autres choses. Comme le microphone qui amplifie la voix, la PCR amplifie l'ADN normalement présent en quantité infime.

La découverte en 1953 de la structure de l'ADN par James Watson et Francis Crick allait bouleverser la recherche scientifique en permettant d'accéder à l'information génétique contenue dans cette molécule, véritable bibliothèque du vivant. Mais pour accéder à cette information, de grandes quantités d'ADN étaient nécessaires pour déterminer une à une les « lettres » qui codent l'information génétique (c'est-à-dire les quatre bases nucléiques, adénine, cytosine, guanine et thymine ou respectivement A, C, G, T). Cette limitation sera levée par l'invention d'une technique d'amplification de l'ADN appelée « amplification en chaîne par polymérase » ou encore « réaction de polymérisation en chaîne » (en anglais Polymerase Chain Reaction ou PCR), inventée en 1986 par le biochimiste américain Kary Mullis, qui travaillait à l'époque pour la société de biotechnologie Cetus Corporation. Il obtiendra le Prix Nobel de Chimie en 1993 pour cette découverte. Le principe de cette technique est simple : on chauffe jusqu'à 90°C la molécule d'ADN à analyser afin de provoquer sa dénaturation et de séparer les deux brins dont elle est composée. On introduit alors un court brin artificiel d'ADN, l'amorce, ainsi qu'une enzyme extraite de la bactérie *Escherichia coli*, l'ADN polymérase. L'amorce va se fixer sur une séquence de



Utilisation d'un thermocycleur dans les laboratoires du CSM.

l'un des brins d'ADN et l'enzyme va alors provoquer la synthèse d'une copie de ce brin. La même chose se produit sur le second brin. A la fin de ce cycle, on obtient donc deux molécules d'ADN double brin. On peut alors refaire le même protocole pour multiplier les molécules d'ADN et donc amplifier le signal. Cette méthode reste cependant très longue puisqu'il faut à chaque cycle d'amplification plonger les tubes contenant la préparation dans des bains à différentes températures en

ajoutant à chaque fois l'enzyme ADN polymérase que la chaleur détruit à chaque cycle.

Extrémophile

Et c'est là que la nature va venir à la rencontre de la technologie. En 1969, le microbiologiste Thomas Brock découvre dans les sources chaudes à 80°C du Parc national américain du Yellowstone, une bactérie, qu'il nomma *Thermus aquaticus*. Ce fut une surprise totale car on n'imaginait pas à l'époque qu'un organisme vivant pouvait vivre à de

telles températures. Un mot fut d'ailleurs inventé en 1974 pour qualifier ces organismes de l'extrême : *Extrêmophile*. En 1976, quelques années après la découverte de Thomas Brock, la biologiste Alice Chien et ses collègues de l'Université de Cincinnati, dans l'Ohio, décrivent l'ADN polymérase de cette bactérie, qu'ils appellent *Taq Polymerase* (pour *Thermus aquaticus* polymérase). Sa particularité : elle conserve son activité enzymatique jusqu'à 97,5°C ! Kary Mullis, l'inventeur de la PCR, et Randall Saiki, et leurs collègues de Cetus Corporation imaginent alors l'intérêt de cette enzyme : sa thermostabilité va éviter d'avoir à rajouter de l'ADN polymérase à chaque cycle, et la réaction va pouvoir être automatisée. En 1988, le journal *Science* publie la description de la première PCR utilisant l'ADN polymérase de *Thermus aquaticus* : la PCR moderne était née. En 1991, la société pharmaceutique suisse Hoffmann-La Roche rachète les droits sur la PCR à Cetus pour la somme de 300 millions de dollars.

Le thermocycleur

Aujourd'hui cette technique est présente dans tous les laboratoires de biologie du monde entier sous la forme d'un appareil compact, de petite taille, le thermocycleur, qui permet en une trentaine de cycles d'obtenir à partir d'une seule copie de l'ADN de départ, un milliard de copies ! Qualifiée de photocopieuse de l'ADN, cette technique donne la possibilité d'amplifier une molécule d'ADN, permet ainsi d'identifier une séquence présente simplement dans un échantillon en très faible concentration.

L'ADN environnemental

Les domaines d'applications de la PCR sont innombrables : recherche fondamentale, médecine (diagnostic de maladies génétiques, d'infections parasitaires, de cancers), médecine légale (test de paternité, identification de suspects), agroalimentaire (détection d'OGM dans les aliments, identi-

fication d'espèces) mais aussi en histoire pour retracer les liens de parenté entre individus. Les chercheurs du CSM l'utilisent au quotidien aussi bien en biologie marine qu'en biologie médicale ou en

“ Dans le cadre des Explorations de Monaco, les chercheurs du CSM, « Les Experts de Monaco », vont utiliser cette technique. ”

biologie polaire. Dans le cadre des Explorations de Monaco, les chercheurs du CSM, « Les Experts de Monaco », vont utiliser cette technique pour tenter de faire l'inventaire de la diversité des coraux en amplifiant l'ADN présent en quantité infime dans l'eau de mer, appelé ADN environnemental...

● Professeur Denis ALLEMAND

Directeur scientifique du Centre Scientifique de Monaco

Retrouvez la Chronique du CSM et d'autres

informations sur www.centrescientifique.mc

prenons soin de notre avenir
piyamu cūra du nostru avegni



- Nettoyage
- Enlèvement d'encombrants
- Bacs roulants
- Compacteurs - Caissons
- Collectes sélectives
- Toilettes autonomes
- Curage 24 h / 24 et 7j / 7

SOCIÉTÉ MONÉGASQUE
D'ASSAINISSEMENT



www.epi.mc

12, avenue de Fontvieille - B.P. 498 - 98012 MONACO cedex
Tél. +377 92 05 75 16 • Fax +377 92 05 92 56 • www.sma.mc • E-mail : sma@sma.mc