

Transgénèse végétale

I. Principe général:

1. Définition
2. Différentes stratégies
3. Différentes étapes

II. Transformation génétique:

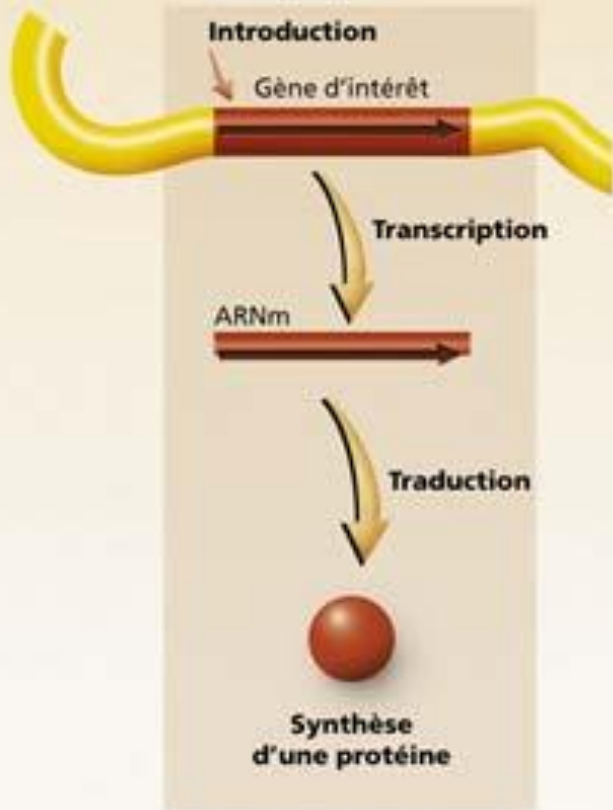
1. Réalisation de la construction génétique
 - 1.1. Identifier et isoler le gène d'intérêt
 - 1.2. Intégrer le gène d'intérêt dans une construction génétique
2. Transfert du gène
 - 2.1. Transformation biologique par *Agrobacterium*
 - 2.2. Transfert direct de gènes
 - 2.2.1. Transformation de protoplastes
 - 2.2.2. Transformation de cellules, tissus ou organes
3. Sélection de cellules transformées
4. Régénération des plantes transformées
5. Incorporation dans une variété commerciale



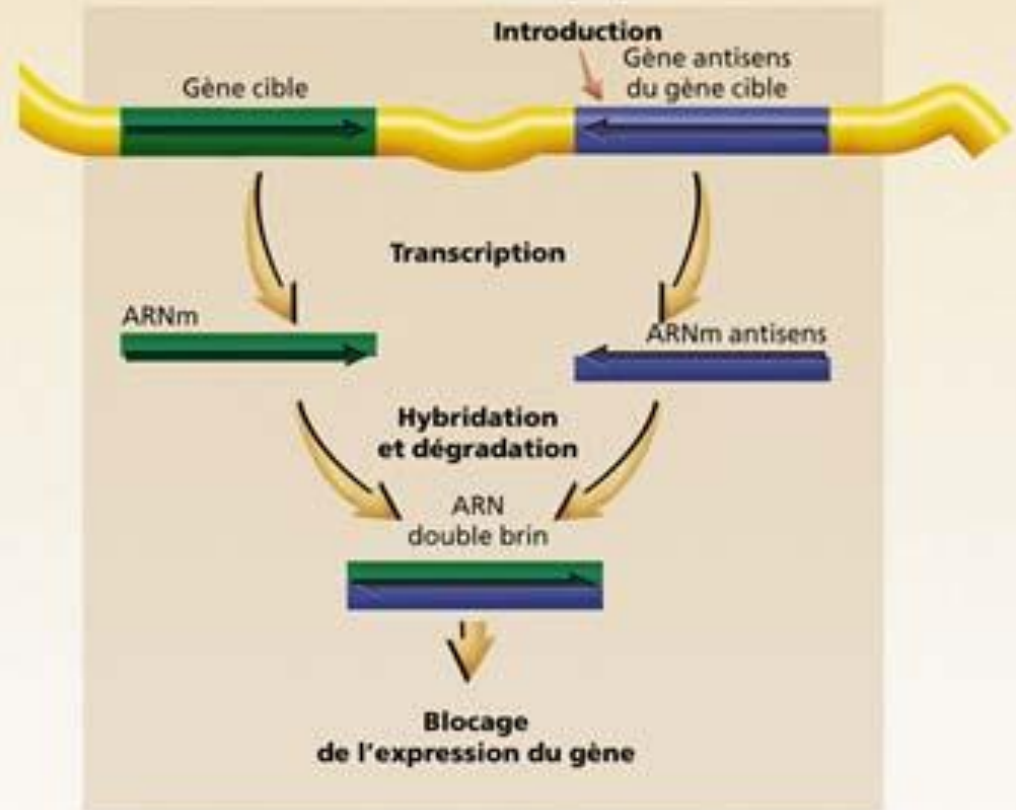
III. Applications

Différentes stratégies

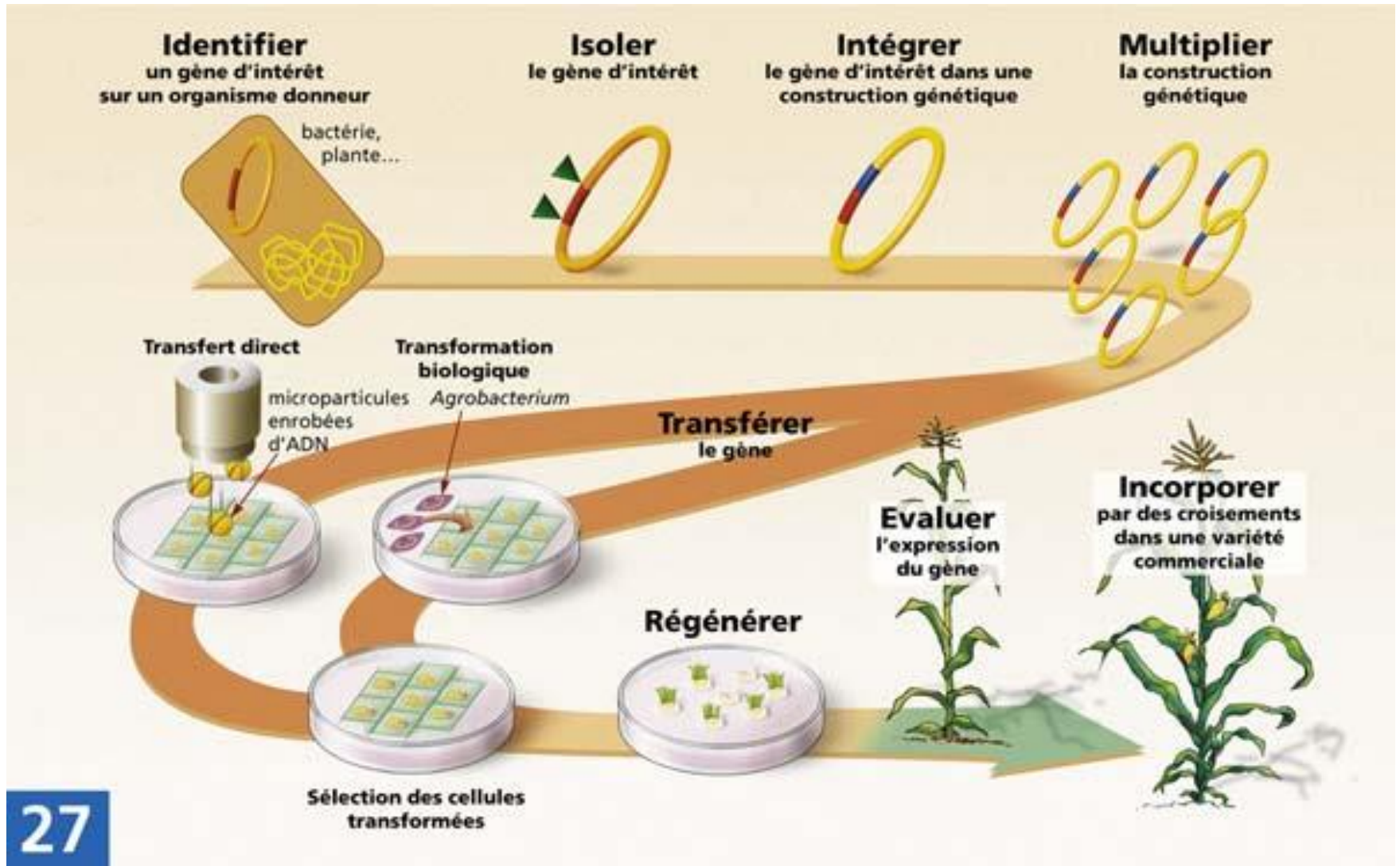
Introduire un nouveau caractère



Inactiver un caractère Exemple de la stratégie antisens



Différentes étapes



Conditions de succès de la transgénèse

- Pénétration de l'ADN étranger jusqu'aux noyaux des cellules végétales
- Intégration dans le génome de l'hôte afin que le transgène puisse se répliquer et devenir stable au sein du génome et ainsi être transmis aux cellules filles
- Aptitude des transgènes à être exprimés, suite à la transcription dans le noyau et la traduction dans le cytoplasme
- Sélection et régénération des plantes entières à partir des cellules génétiquement modifiées

Transgénèse végétale

I. Principe général:

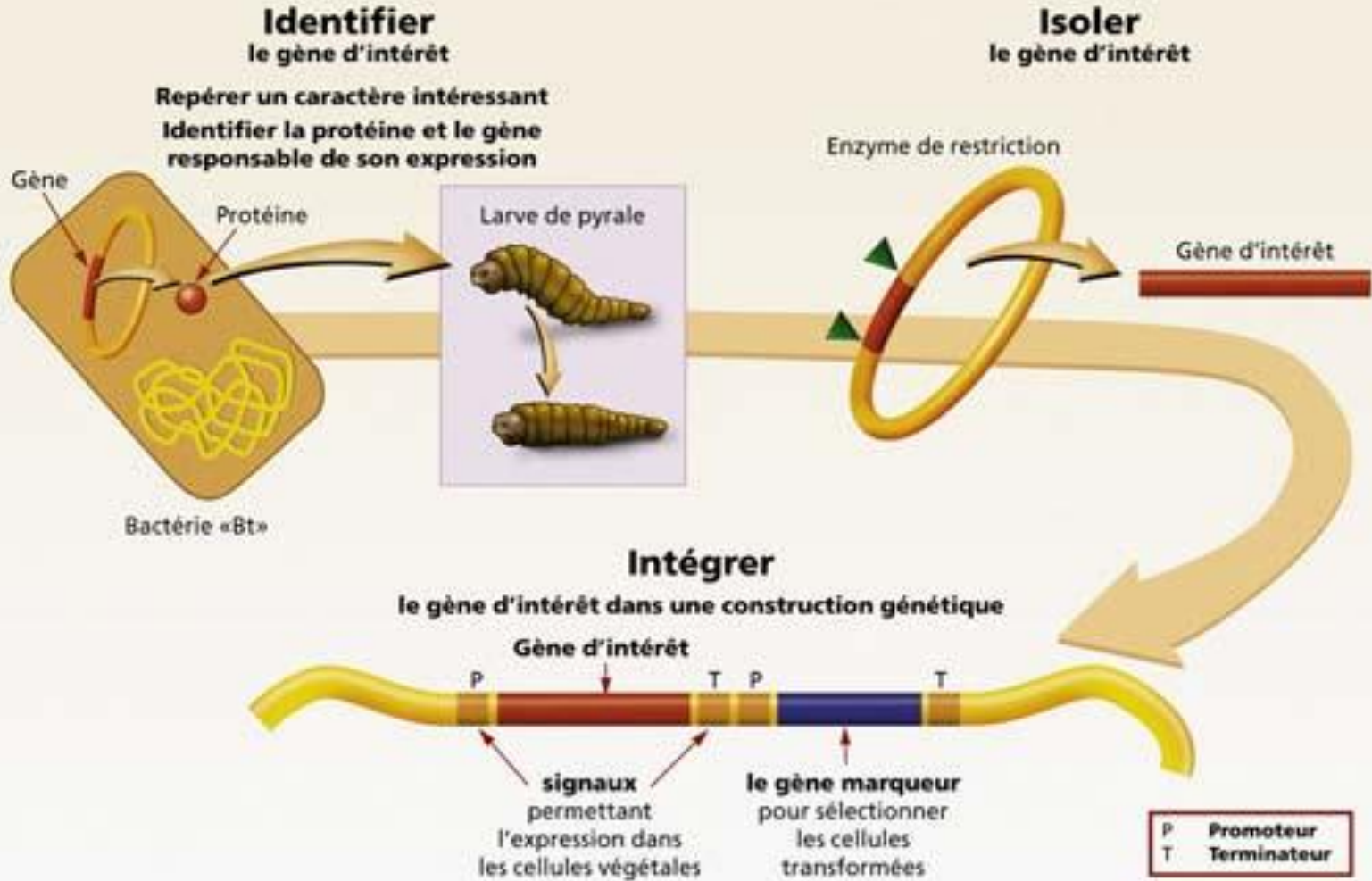
1. Définition
2. Différentes stratégies
3. Différentes étapes

II. Transformation génétique:

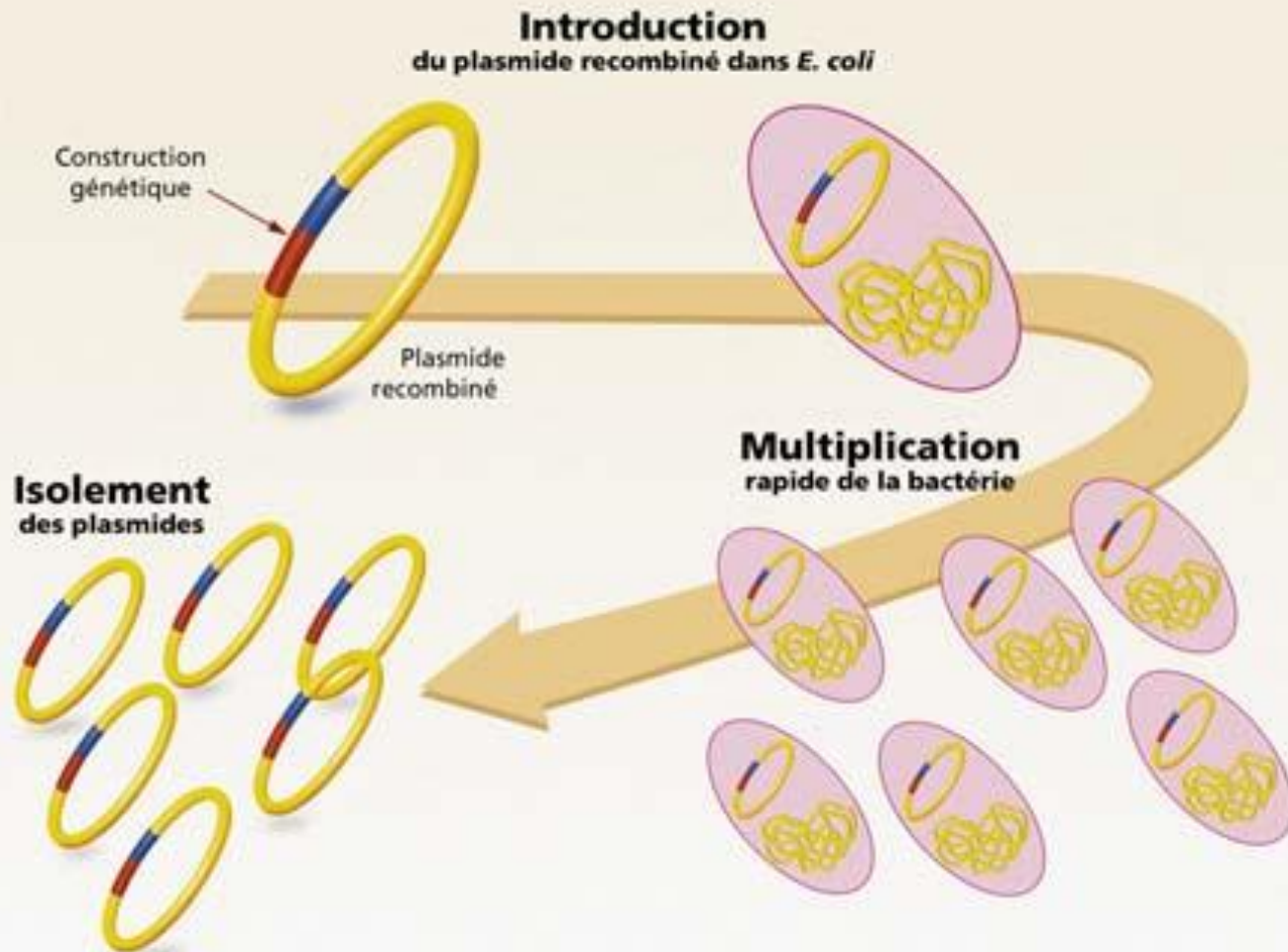
1. Réalisation de la construction génétique
 - 1.1. Identifier et isoler le gène d'intérêt
 - 1.2. Intégrer le gène d'intérêt dans une construction génétique
2. Transfert du gène
 - 2.1. Transformation biologique par *Agrobacterium*
 - 2.2. Transfert direct de gènes
 - 2.2.1. Transformation de protoplastes
 - 2.2.2. Transformation de cellules, tissus ou organes
3. Sélection de cellules transformées
4. Régénération des plantes transformées
5. Incorporation dans une variété commerciale

III. Applications

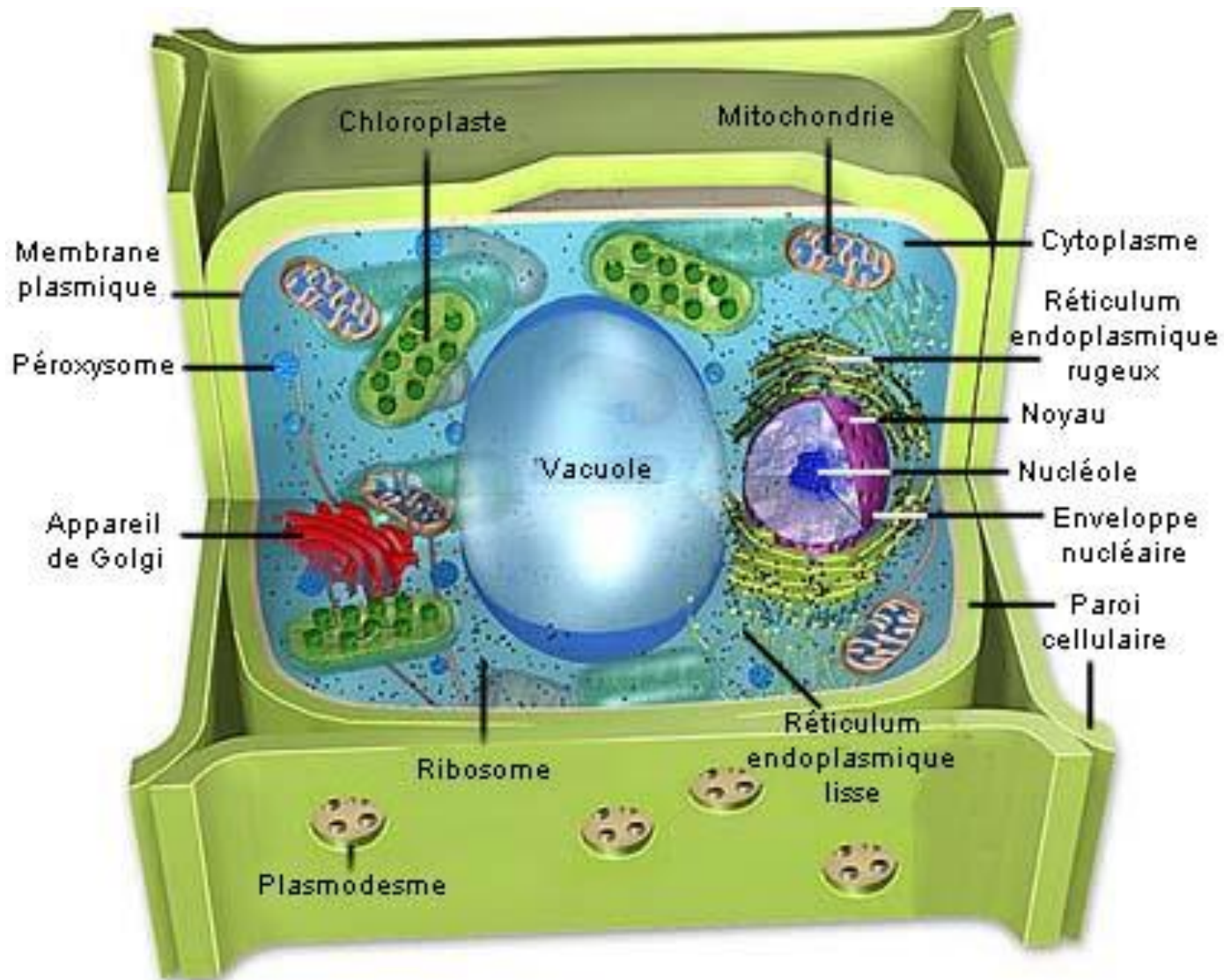
Identifier, isoler et intégrer le gène d'intérêt



Multiplier le gène d'intérêt

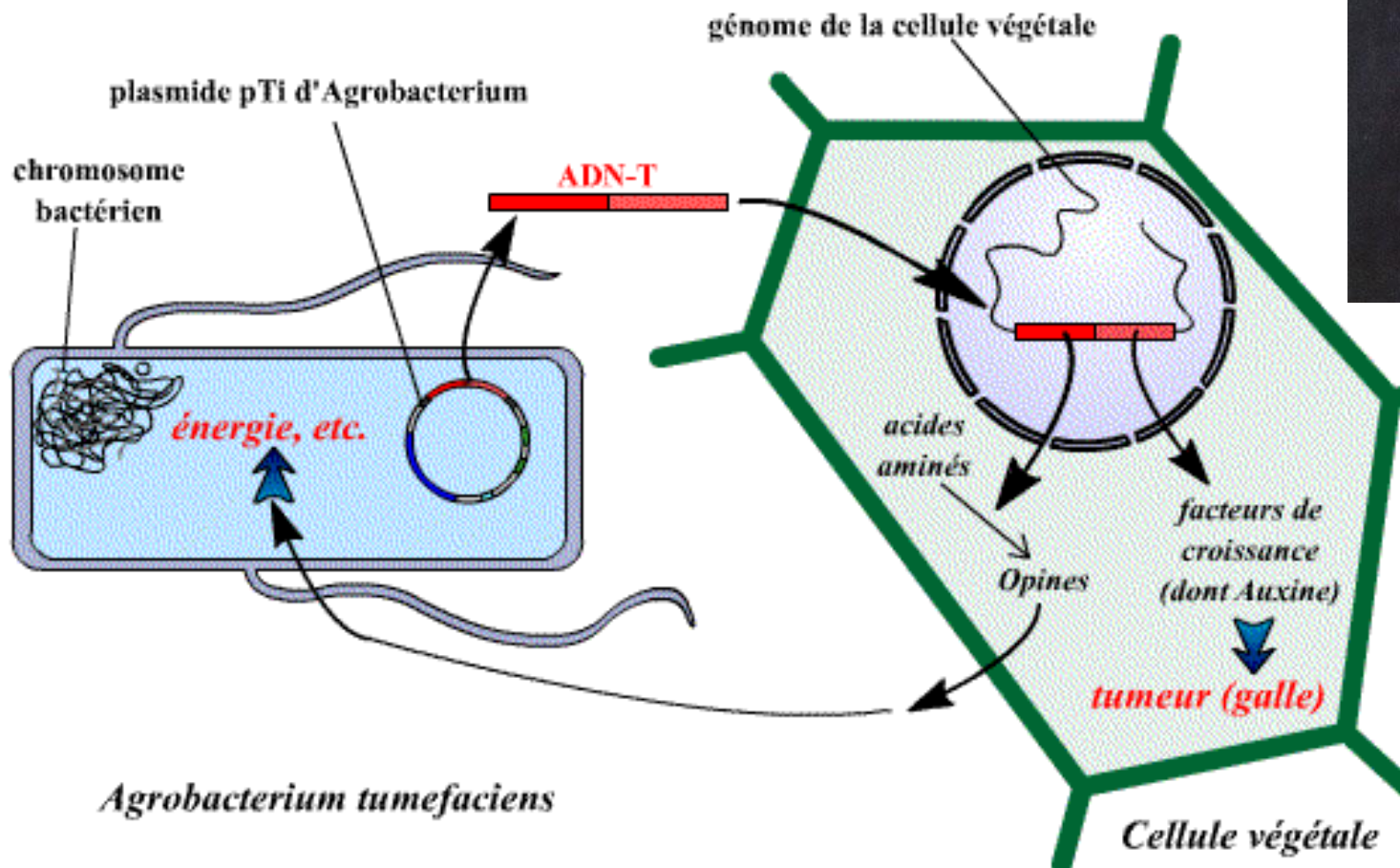


Organisation de la cellule végétale



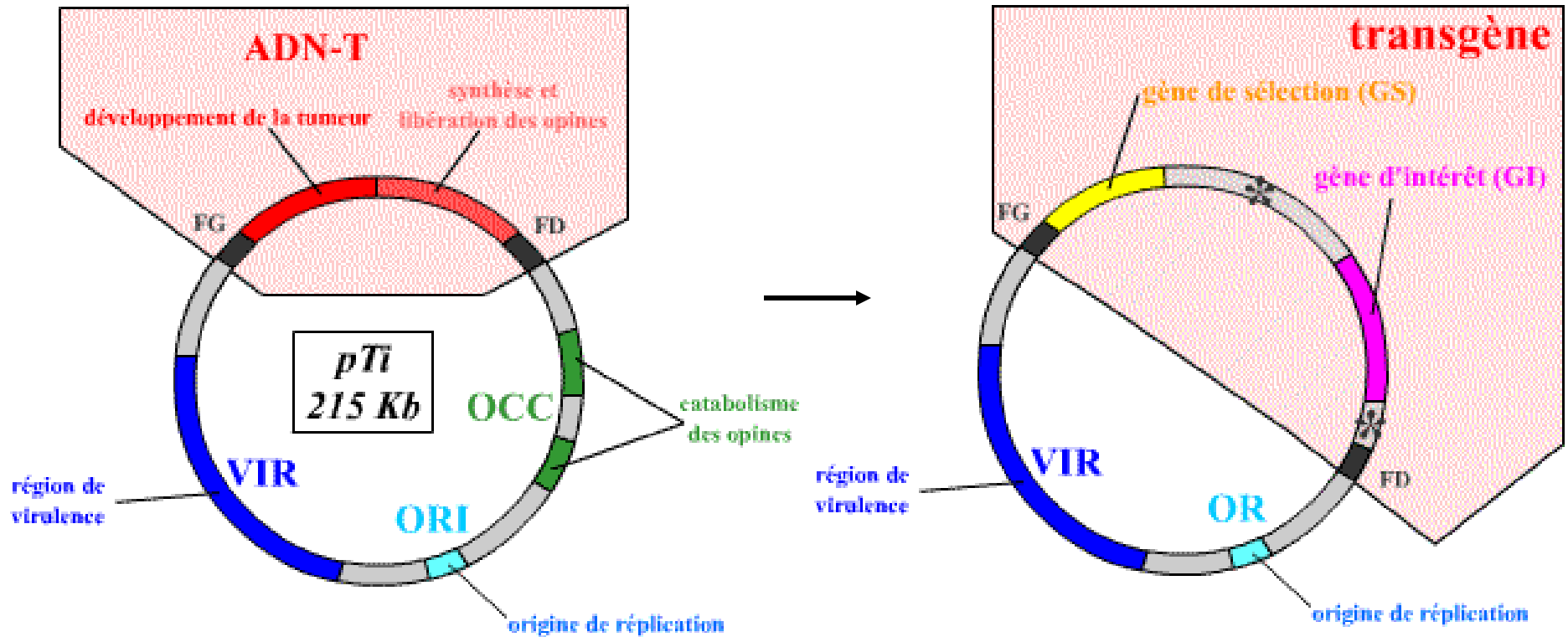
Transformation biologique par *Agrobacterium*

Galle du collet



Transformation biologique par *Agrobacterium*

Modifications du plasmide Ti



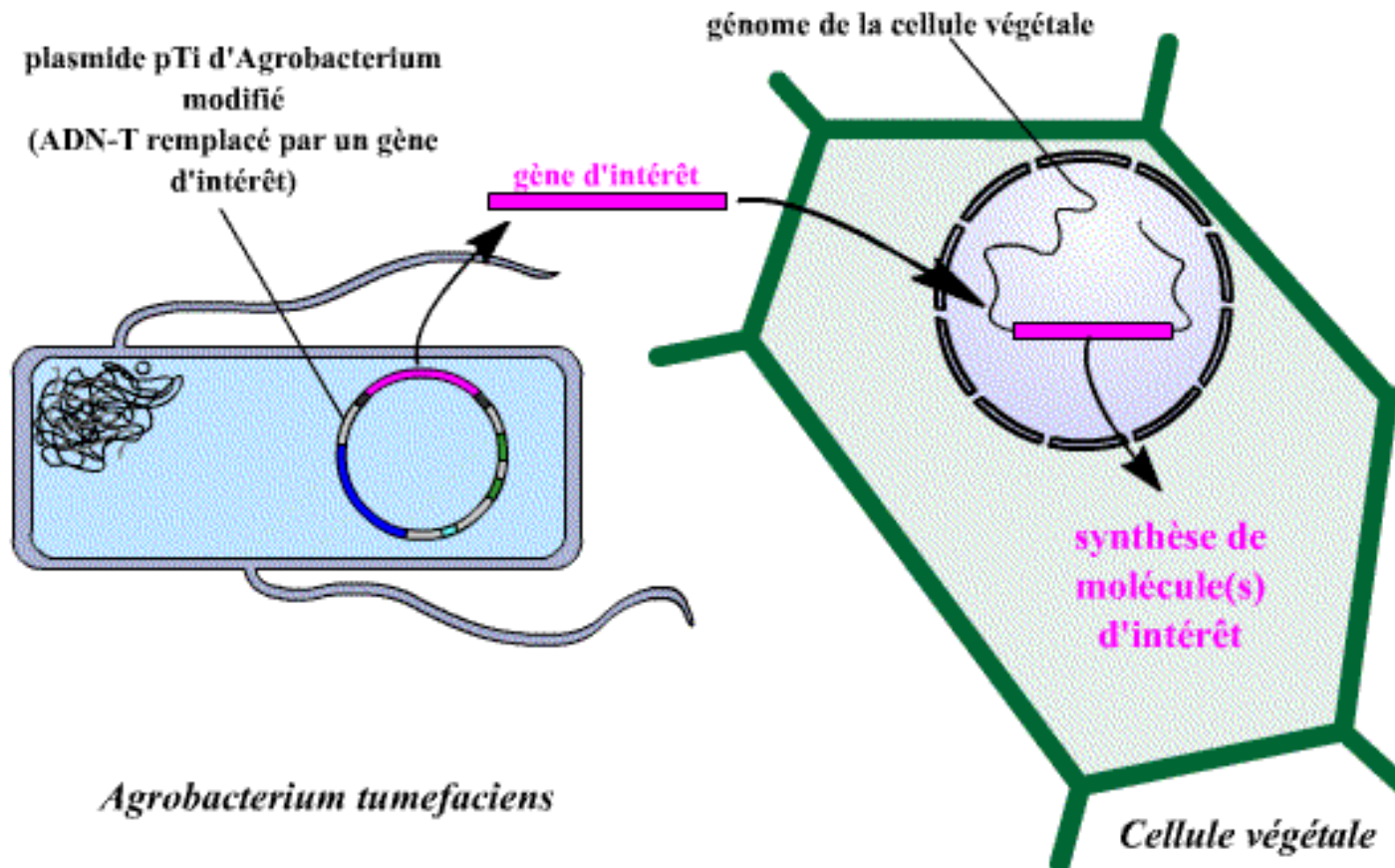
Transformation biologique par *Agrobacterium*

Transformation par le plasmide Ti recombinant



Transformation biologique par *Agrobacterium*

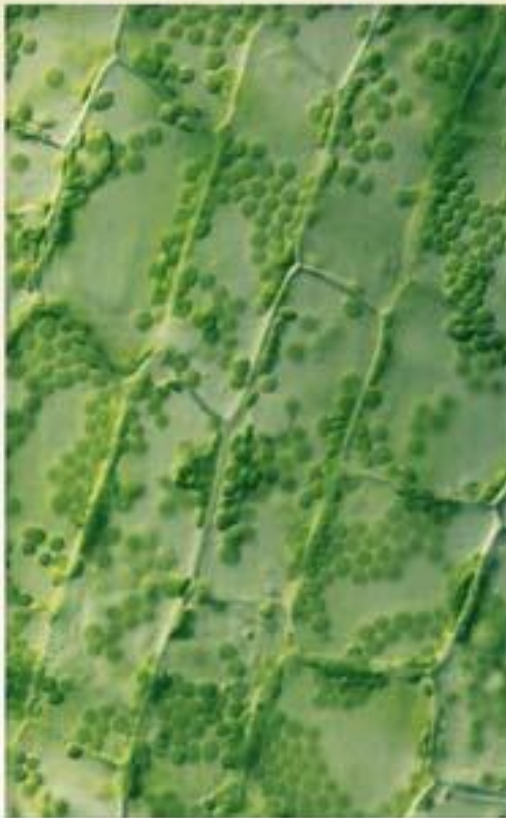
Transformation par le plasmide Ti recombinant



Transfert direct

Transformation des protoplastes

**Parenchyme
de jeunes feuilles**



**Digestion
enzymatique
de la paroi**

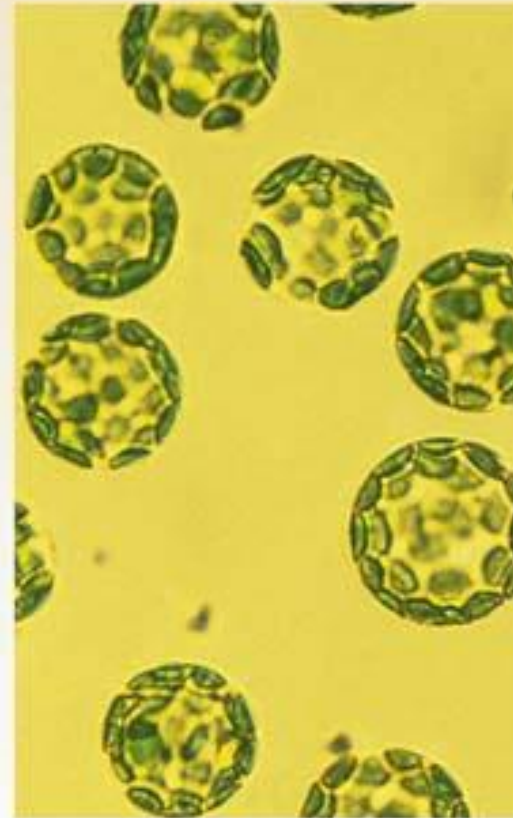


**Enzymes
de lyse
de la paroi
pectocellulosique**



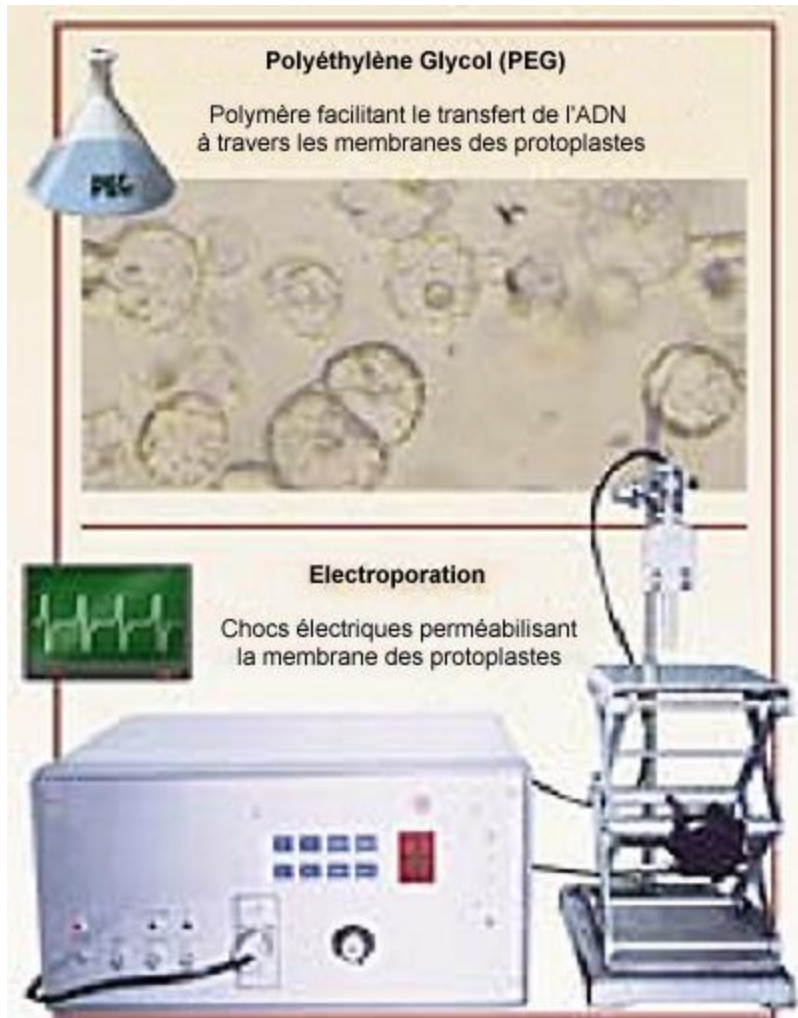
**Ajouts
d'éléments
stabilisants**
sucres,
sels minéraux

**Suspension
de protoplastes**

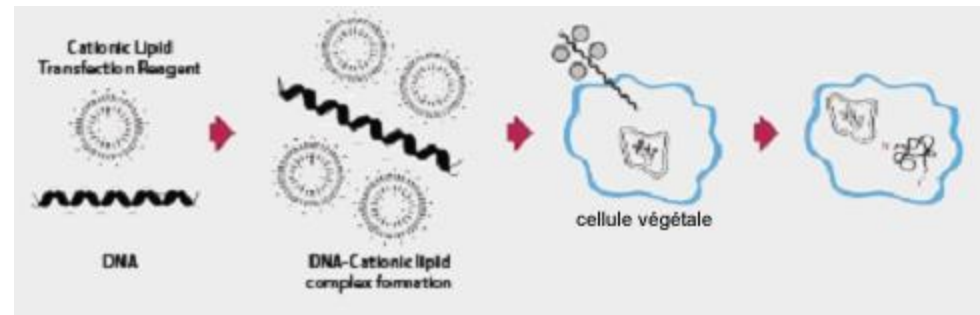


Transfert direct

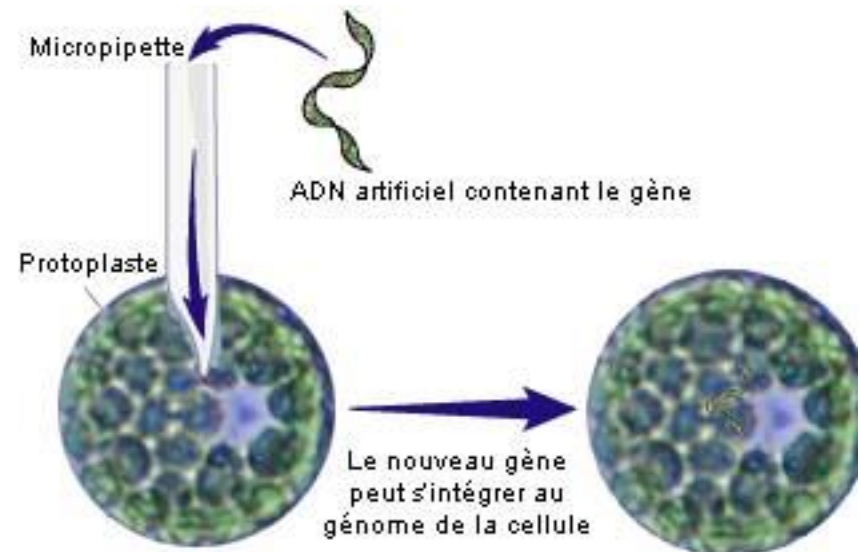
Transformation des protoplastes



Lipofection



Microinjection

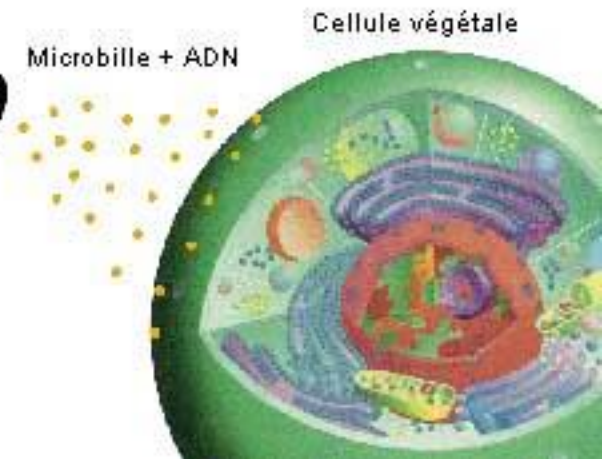


Transfert direct

Transformation des cellules, tissus ou organes



Biolistique

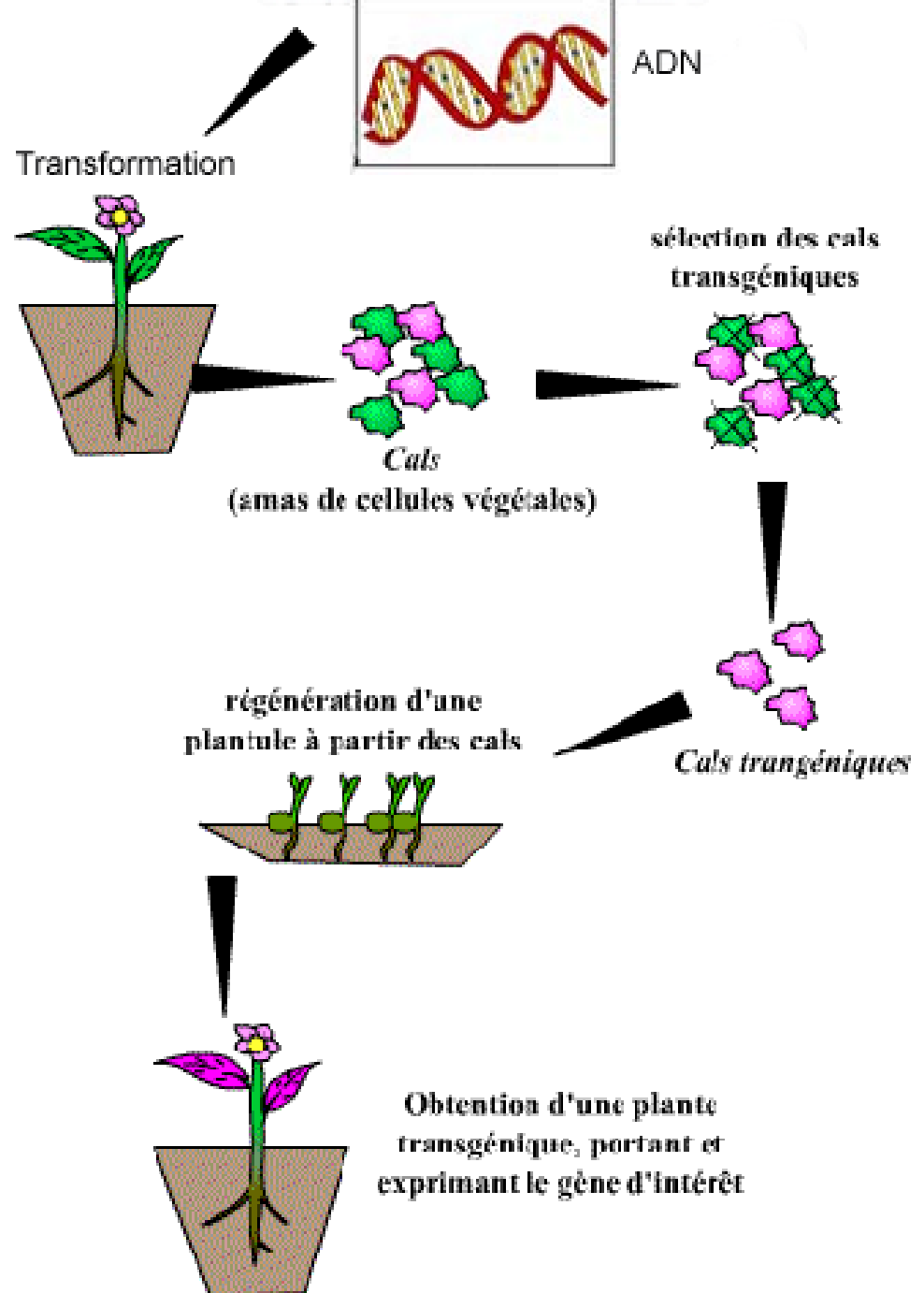


Efficacité des méthodes de transfert

	Monoco-tylédones	Dicoty-lédones
Micro-injection (protoplastes)	+	+
Transfection (protoplastes, Ca ²⁺)	0	+
Électroporation (protoplastes)	0	+
Technique de la biolistique	++	+
ADN-T	+	++
Virus végétaux	0	0

0 parfois réussi + possible ++ méthode de choix

Sélection et régénération des plantes transformées



Transgénèse végétale

I. Principe général:

1. Définition
2. Différentes stratégies
3. Différentes étapes

II. Transformation génétique:

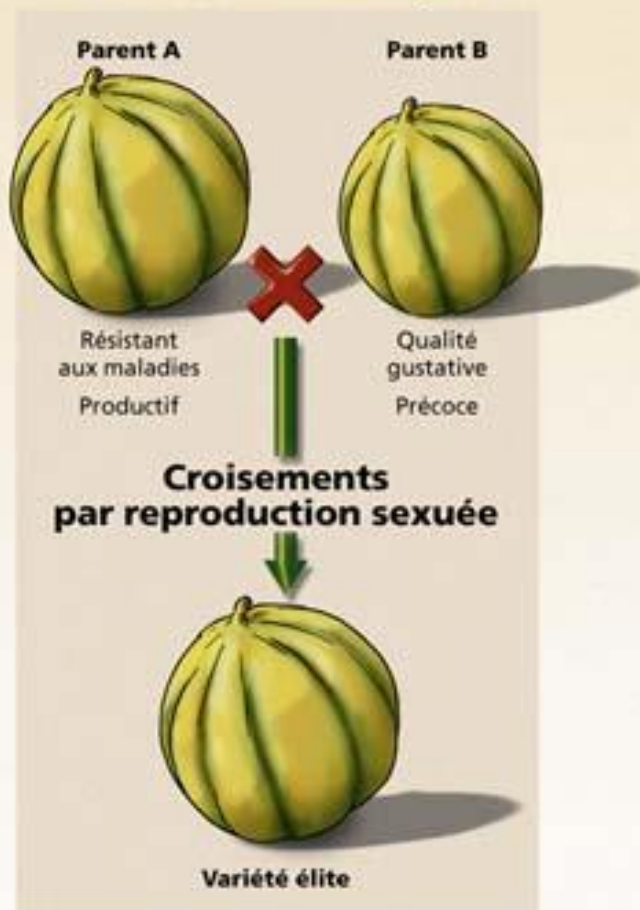
1. Réalisation de la construction génétique
 - 1.1. Identifier et isoler le gène d'intérêt
 - 1.2. Intégrer le gène d'intérêt dans une construction génétique
2. Transfert du gène
 - 2.1. Transformation biologique par *Agrobacterium*
 - 2.2. Transfert direct de gènes
 - 2.2.1. Transformation de protoplastes
 - 2.2.2. Transformation de cellules, tissus ou organes
3. Sélection de cellules transformées
4. Régénération des plantes transformées
5. Incorporation dans une variété commerciale

III. Applications

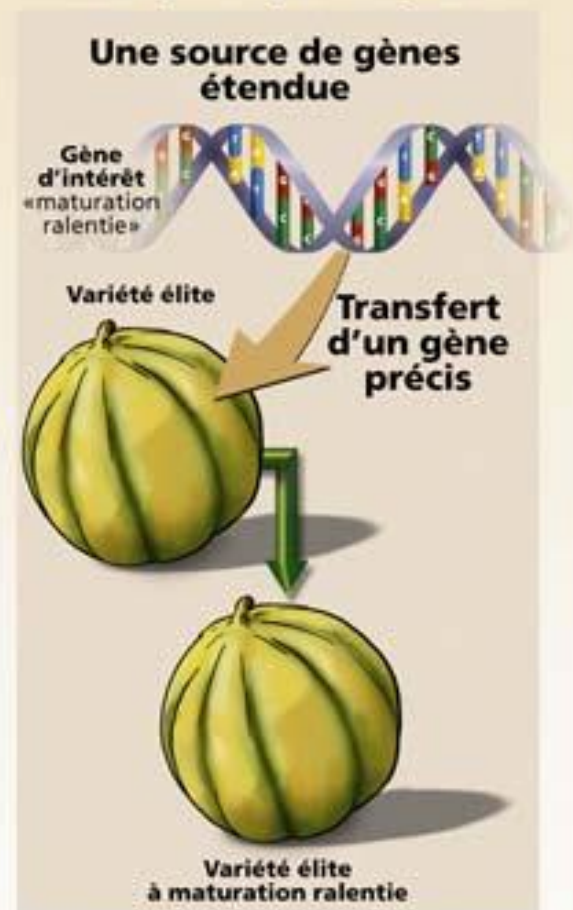
Applications

Amélioration variétale

La sélection classique



Le génie génétique



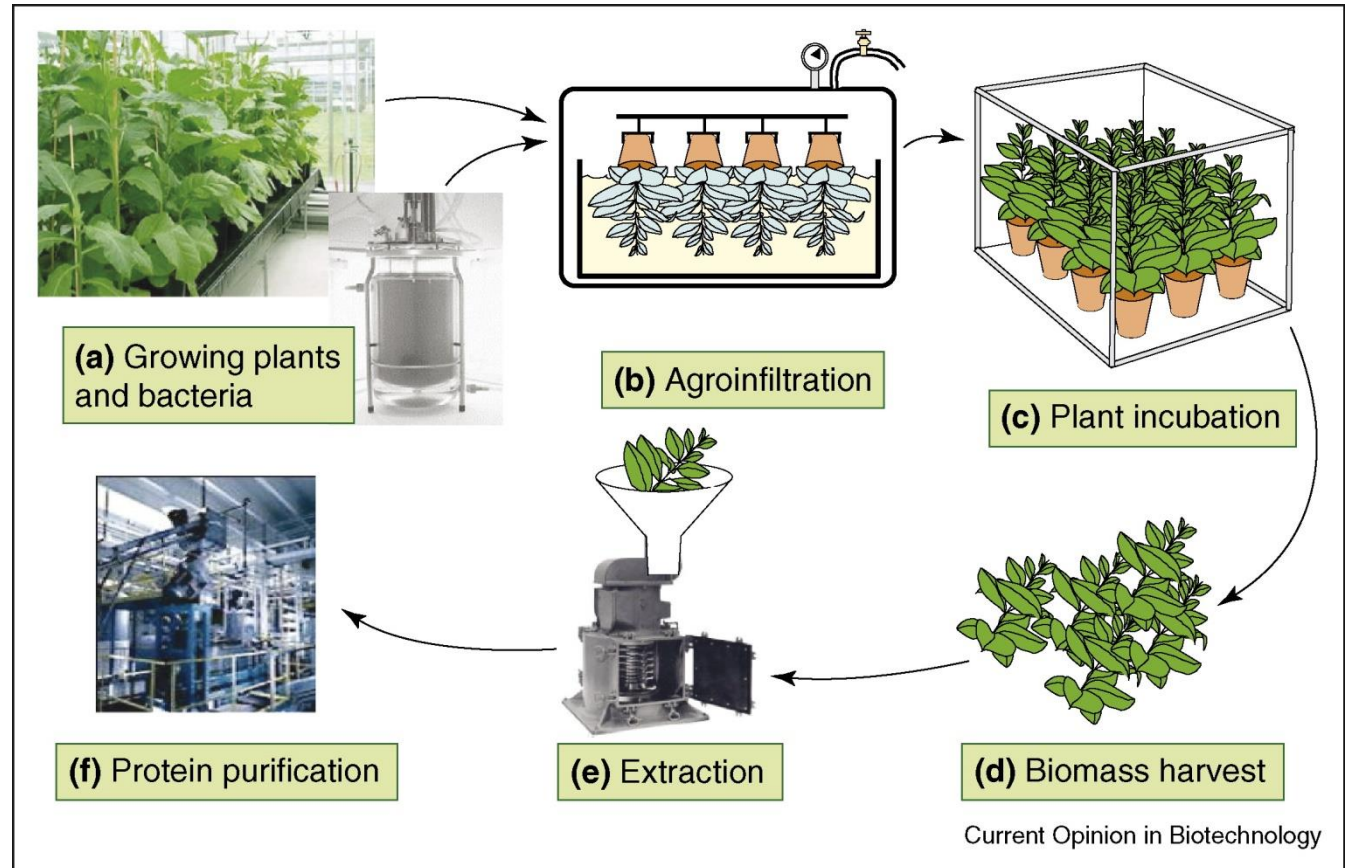
Applications

Exemples de plantes transgéniques

Plante	Gène surexprimé/étranger/modifié ou inactivé	Caractère souhaité	Méthode de transformation	Société/groupe de travail
Coton	Acétolactate-synthase	Résistance à la sulphonyl-urée		DuPont
Maïs	δ -endotoxine BT	Résistance à la pyrale du maïs		DeKalb, Monsanto
	Glutamine-synthase, transacétylase, EPSP-synthase	Résistance à la phosphinotricine et au glyphosate		AgrEvo, Novartis, Monsanto
	δ -endotoxine BT et EPSP-synthase	Résistance à la pyrale du maïs et au glyphosate		Monsanto
Soja	Glutamine-synthase, transacétylase, EPSP-synthase	Résistance à la phosphinotricine et au glyphosate		AgrEvo, Novartis, Monsanto
Pomme de terre		Résistance aux doryphores		Monsanto
	Polyphénol-oxydase	Prévention du brunissage	Construction antisens	AgrEvo, Novartis, Monsanto
Papaye		Résistance au virus ringspot de la papaye		Cornell-University/ University of Hawaii
Tomate	Polygalacturonase	Maturation retardée	Construction antisens	Calgene, Monsanto « <i>Flavr-Savr</i> »
		Peau plus épaisse, maturation retardée		Zeneca
	Monelline	Plus sucrée	Plasmide Ti	
Pétunia	Dihydro-kaempferol-réductase du maïs	Pétales panachés	Construction <i>sens</i>	Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung
Rose	Dihydroquercétine-5'-hydroxylase	Pigment bleu	Construction <i>sens</i>	Suntory/Calgene

Applications

Exemples de plantes transgéniques



Applications

Vignes transgéniques

- Deux parties pouvant être modifiées:
 - porte-greffe: pied de la vigne, pas raisin transgénique
 - greffon: raisin transgénique

 - Porte-greffe: résistant au court noué (V)
 - maladie de Pierce (B= Xylella)
 - insecte suceurs (Phylloxera): cyanure d'hydrogène
 - au froid Canada

 - Greffon: mildiou (C): toxine synthétique
 - botrytis (C): inhibiteur enzyme dégradation parois cellulaires
 - oidium (C)
- } USA
- } USA
} Allemagne
} Chili
- Vignes modifiées pour améliorer la qualité du fruit
 - Vignes modifiées pour modifier la couleur du fruit
- } Australie

Applications

Vignes transgéniques

Vignes transgéniques résistantes au virus du court-noué (jaunissement du feuillage, atrophie des grappes) (un essai réalisé à l'INRA, Colmar):

- Porte-greffe OGM exprimant un transgène d'origine virale visant à induire une protection contre le Grapevine fanleaf virus (GFLV), responsable de la maladie du court-noué et transmis au vignoble par des nématodes (vers du sol qui s'alimentent au niveau des racines)
- Sinon lutte biologique visant à utiliser les propriétés «nématocides» de certaines plantes comme la tagète (*Tagetes minuta*)