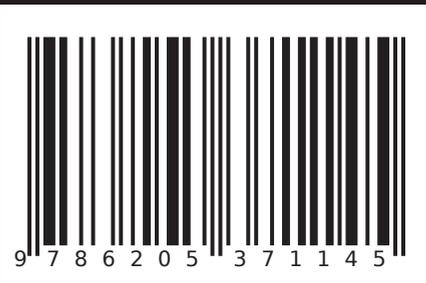


Fondements de la biologie médicale et de la biologie moléculaire médicale

Biologie, étude des êtres vivants et de leurs processus vitaux. Le domaine traite de tous les aspects physico-chimiques de la vie. La tendance moderne à la recherche interdisciplinaire et à l'unification des connaissances scientifiques et de l'investigation dans différents domaines a entraîné un chevauchement important du domaine de la biologie avec d'autres disciplines scientifiques. Le concept d'homéostasie selon lequel les êtres vivants maintiennent un environnement interne constant a été suggéré pour la première fois au XIX^e siècle par le physiologiste français Claude Bernard, qui a déclaré que « tous les mécanismes vitaux, aussi variés soient-ils, n'ont qu'un seul objet : celui de maintenir constantes les conditions de la vie ». La RT-PCR peut être utilisée pour diagnostiquer une maladie génétique telle que le syndrome de Lesch-Nyhan. Cette maladie génétique est causée par un dysfonctionnement du gène HPRT1 qui conduit cliniquement à des calculs urinaires mortels d'acide urique et à des symptômes similaires à la goutte. L'analyse d'une mère enceinte et d'un fœtus pour les niveaux d'expression de l'ARNm de HPRT1 révélera si la mère est porteuse et si le fœtus développera probablement le syndrome de Lesch-Nyhan.



Elle est titulaire d'un doctorat. en biotechnologie, avec une microbiologie, génie génétique, génétique moléculaire et génie des protéines, chercheur, créateur, inventeur et auteur, enseignant au Collège universitaire du collège universitaire Al-Turath, un baccalauréat en microbiologie et une maîtrise en biologie moléculaire en microbiologie d'Al-Mustan.

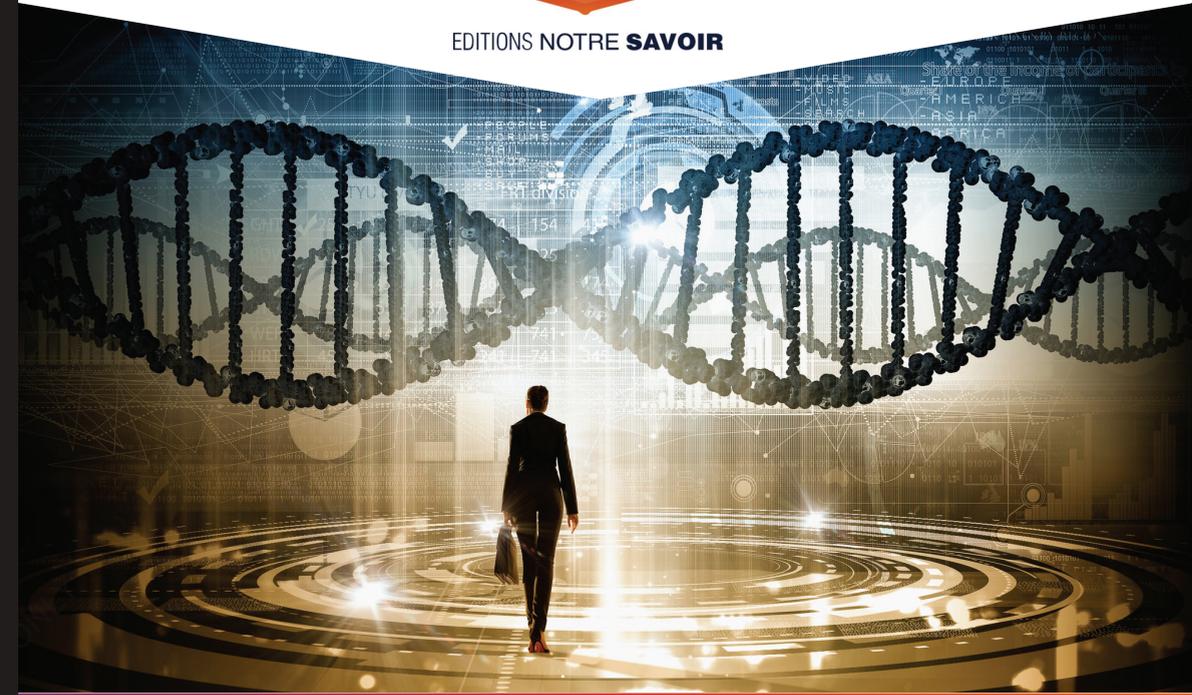


EDITIONS NOTRE SAVOIR

Nebras Rada Mohammed



EDITIONS NOTRE SAVOIR



Fondements de la biologie médicale et de la biologie moléculaire médicale

Biologie cellulaire et biologie moléculaire spécialisée

Nebras Rada Mohammed

Nebras Rada Mohammed

**Fondements de la biologie médicale et de la biologie moléculaire
médicale**

FOR AUTHOR USE ONLY

FOR AUTHOR USE ONLY

Nebras Rada Mohammed

Fondements de la biologie médicale et de la biologie moléculaire médicale

**Biologie cellulaire et biologie moléculaire
spécialisée**

FOR AUTHOR USE ONLY

ScienciaScripts

Imprint

Any brand names and product names mentioned in this book are subject to trademark, brand or patent protection and are trademarks or registered trademarks of their respective holders. The use of brand names, product names, common names, trade names, product descriptions etc. even without a particular marking in this work is in no way to be construed to mean that such names may be regarded as unrestricted in respect of trademark and brand protection legislation and could thus be used by anyone.

Cover image: www.ingimage.com

This book is a translation from the original published under ISBN 978-620-5-50208-2.

Publisher:

Scientia Scripta

is a trademark of

Dodo Books Indian Ocean Ltd. and OmniScriptum S.R.L Publishing group
Str. Armeneasca 28/1, office 1, Chisinau MD-2012, Republic of Moldova,
Europe

Printed at: see last page

ISBN: 978-620-5-37114-5

Copyright © Nebras Rada Mohammed

Copyright © 2022 Dodo Books Indian Ocean Ltd. and OmniScriptum S.R.L
Publishing group

FOR AUTHOR USE ONLY

Fondements de la biologie médicale et de la biologie moléculaire médicale

Sous titre

**Biologie cellulaire et biologie moléculaire
spécialisée**

Par

Nebras Rada Mohammed

Collège universitaire Al-Turath

Département d'ingénierie biomédicale

Irak

Contenu

1-Biologie	6
1-1 Les types de cellules.....	65
A-cellule eucaryote.....	84
B- Cellule procaryote.....	92
1-2 Composants des cellules procaryotes.....	96
Mur de cellules A	101
B-Nucléus	106
Membrane des cellules C.....	117
D- Organelles.....	143
E - Acides nucléiques	158
1-3 Références.....	259

A propos de l'auteur



Nebras Rada Mohammed

Elle est titulaire d'un doctorat en biotechnologie, avec une micro-spécialisation, le génie génétique, la génétique moléculaire et l'ingénierie des protéines, un chercheur, un créateur, un inventeur et un auteur, un enseignant au collège universitaire de l'université Al-Turath, une licence en microbiologie et une maîtrise en biologie moléculaire en microbiologie de l'université Al-Mustansiriya, un arbitre, un résident international et un consultant dans les laboratoires médicaux, un expert dans les laboratoires médicaux et un détenteur du titre de projet scientifique, un arbitre, un éditeur distingué, un supporter argenté de plateformes scientifiques, un président d'un comité dans une société scientifique, recevant des accolades de la propriété intellectuelle internationale, le prix de la meilleure femme arabe 2020, également le prix de la meilleure personnalité communautaire, le prix de la meilleure recherche 2019, également le prix de la meilleure recherche 2020 et un prix américain pour l'invention de 2020 par le GUIDY américain la Commission mondiale de l'investissement en Amérique.

Préface

Biologie, étude des êtres vivants et de leurs processus vitaux. Ce domaine traite de tous les aspects physico-chimiques de la vie. La tendance moderne à la recherche transdisciplinaire et à l'unification des connaissances et des recherches scientifiques de différents domaines a entraîné un chevauchement important du domaine de la biologie avec d'autres disciplines scientifiques.

Le concept d'homéostasie, selon lequel les êtres vivants maintiennent un milieu interne constant, a été suggéré pour la première fois au XIXe siècle par le physiologiste français Claude Bernard, qui a déclaré que "tous les mécanismes vitaux, si variés qu'ils soient, n'ont qu'un seul objet : celui de conserver constantes les conditions de la vie".

La RT-PCR peut être utilisée pour diagnostiquer une maladie génétique telle que le syndrome de Lesch-Nyhan. Cette maladie génétique est causée par un dysfonctionnement du gène HPRT1 qui entraîne cliniquement la formation d'un calcul urinaire d'acide urique fatal et des symptômes similaires à ceux de la goutte. L'analyse des niveaux d'expression de l'ARNm de l'HPRT1 chez une mère enceinte et un fœtus révélera si la mère est porteuse et si le fœtus est susceptible de développer le syndrome de Lesch-Nyhan. Détection du cancer Les scientifiques travaillent sur les moyens d'utiliser la RT-PCR dans la détection du cancer afin

d'améliorer le pronostic et de surveiller la réponse au traitement. Les cellules tumorales en circulation produisent des transcriptions d'ARNm uniques en fonction du type de cancer. L'objectif est de déterminer les transcriptions d'ARNm qui constituent les meilleurs biomarqueurs pour un type particulier de cellules cancéreuses, puis d'analyser leurs niveaux d'expression par RT-PCR.

FOR AUTHOR USE ONLY

Bienvenue en biologie

1-Biologie

Biologie, étude des êtres vivants et de leurs processus vitaux. Ce domaine traite de tous les aspects physico-chimiques de la vie. La tendance moderne à la recherche transdisciplinaire et à l'unification des connaissances et des recherches scientifiques de différents domaines a entraîné un chevauchement important du domaine de la biologie avec d'autres disciplines scientifiques. Les principes modernes d'autres domaines - chimie, médecine et physique, par exemple - sont intégrés à ceux de la biologie dans des domaines tels que la biochimie, la biomédecine et la biophysique.

Pour des raisons de commodité d'étude, la biologie est subdivisée en plusieurs branches distinctes, bien que toutes les subdivisions soient liées entre elles par des principes de base. Ainsi, s'il est d'usage de séparer l'étude des plantes (botanique) de celle des animaux (zoologie), et l'étude de la structure des organismes (morphologie) de celle de leur fonction (physiologie), tous les êtres vivants ont en commun certains phénomènes biologiques, par exemple les divers moyens de reproduction, la division cellulaire et la transmission du matériel génétique.

La biologie est l'étude scientifique de la vie. Il s'agit d'une science naturelle dont le champ d'application est vaste, mais qui possède

plusieurs thèmes unificateurs qui la relient en tant que domaine unique et cohérent. Par exemple, tous les organismes sont constitués de cellules qui traitent les informations héréditaires codées dans les gènes, qui peuvent être transmises aux générations futures. Un autre thème majeur est l'évolution, qui explique l'unité et la diversité de la vie. Enfin, tous les organismes ont besoin d'énergie pour se déplacer, croître et se reproduire, ainsi que pour réguler leur propre environnement interne.

Les biologistes sont capables d'étudier la vie à de multiples niveaux d'organisation. De la biologie moléculaire d'une cellule à l'anatomie et la physiologie des plantes et des animaux, en passant par l'évolution des populations. Il existe donc de nombreuses sous-disciplines au sein de la biologie, chacune étant définie par la nature de ses questions de recherche et les outils qu'elle utilise. Comme les autres scientifiques, les biologistes utilisent la méthode scientifique pour faire des observations, poser des questions, émettre des hypothèses, réaliser des expériences et tirer des conclusions sur le monde qui les entoure.

La vie sur Terre, qui est apparue il y a plus de 3,7 milliards d'années, est immensément diversifiée. Les biologistes ont cherché à étudier et à classer les différentes formes de vie, des organismes procaryotes comme les archées et les bactéries aux organismes eucaryotes comme les protistes, les champignons, les plantes et les animaux. Ces divers organismes contribuent à la biodiversité d'un

écosystème, où ils jouent des rôles spécialisés dans le cycle des nutriments et de l'énergie.

La biologie est souvent abordée sur la base de niveaux qui traitent des unités fondamentales de la vie. Au niveau de la biologie moléculaire, par exemple, la vie est considérée comme une manifestation des transformations chimiques et énergétiques qui se produisent parmi les nombreux constituants chimiques qui composent un organisme. Grâce au développement d'instruments et de techniques de laboratoire de plus en plus puissants et précis, il est possible de comprendre et de définir avec une grande précision et exactitude non seulement l'organisation physico-chimique ultime (ultrastructure) des molécules de la matière vivante, mais aussi la façon dont celle-ci se reproduit au niveau moléculaire. L'essor de la génomique à la fin du XXe siècle et au début du XXIe siècle a été particulièrement déterminant pour ces progrès.

La biologie cellulaire est l'étude des cellules, les unités fondamentales de structure et de fonction des organismes vivants. Les cellules ont été observées pour la première fois au XVIIe siècle, lorsque le microscope composé a été inventé. Auparavant, l'organisme individuel était étudié comme un tout dans un domaine appelé biologie organismique ; ce domaine de recherche reste une composante importante des sciences biologiques. La biologie des populations traite des groupes ou des populations d'organismes qui

habitent une zone ou une région donnée. À ce niveau, on trouve des études sur les rôles que des types spécifiques de plantes et d'animaux jouent dans les interrelations complexes et perpétuelles qui existent entre le monde vivant et le monde non vivant, ainsi que des études sur les contrôles construits qui maintiennent ces relations de façon naturelle. Ces niveaux généraux - molécules, cellules, organismes entiers et populations - peuvent être subdivisés pour l'étude, donnant lieu à des spécialisations telles que la morphologie, la taxonomie, la biophysique, la biochimie, la génétique, l'épigénétique et l'écologie. Un domaine de la biologie peut se consacrer à l'étude d'un seul type d'être vivant, par exemple l'étude des oiseaux en ornithologie, l'étude des poissons en ichthyologie ou l'étude des micro-organismes en microbiologie.

Étymologie

La biologie dérive des mots grecs anciens βίος romanisé bios signifiant "vie" et -λογία ; romanisé -logia signifiant "branche d'étude" ou "parler". Ces éléments combinés donnent le mot grec βιολογία romanisé biología signifiant 'biologie'. Malgré cela, le terme βιολογία dans son ensemble n'existait pas en grec ancien. Les premiers à l'emprunter furent les Anglais et les Français (biologie). Historiquement, il existait un autre terme pour la biologie en anglais, lifelore ; il est rarement utilisé aujourd'hui.

La forme latine du terme est apparue pour la première fois en 1736 lorsque le scientifique suédois Carl Linnaeus (Carl von Linné) a utilisé *biologi* dans sa *Bibliotheca Botanica*. Il est de nouveau utilisé en 1766 dans un ouvrage intitulé *Philosophiae naturalis sive physicae : tomus III, continens geologian, biologian, phytologian generalis*, par Michael Christoph Hanov, un disciple de Christian Wolff. Le premier usage allemand, *Biologie*, se trouve dans une traduction de 1771 de l'ouvrage de Linné. En 1797, Theodor Georg August Roose utilise le terme dans la préface d'un livre, *Grundzüge der Lehre van der Lebenskraft*. Karl Friedrich Burdach a utilisé le terme en 1800 dans un sens plus restreint de l'étude des êtres humains d'un point de vue morphologique, physiologique et psychologique (*Propädeutik zum Studien der gesammten Heilkunst*). Le terme est entré dans son usage moderne avec le traité en six volumes *Biologie, oder Philosophie der lebenden Natur* (1802-22) de Gottfried Reinhold Treviranus, qui annonce.

Histoire

Les premières racines de la science, qui inclut la médecine, remontent à l'Égypte et à la Mésopotamie antiques, entre 3000 et 1200 avant notre ère. Leurs contributions ont ensuite pénétré et façonné la philosophie naturelle grecque de l'Antiquité classique. Les philosophes de la Grèce antique tels qu'Aristote (384-322 avant J.-C.) ont largement contribué au développement des

connaissances biologiques. Ses œuvres, telles que l'Histoire des animaux, étaient particulièrement importantes car elles révélaient ses penchants naturalistes et, plus tard, des travaux plus empiriques axés sur la causalité biologique et la diversité de la vie. Le successeur d'Aristote au Lycée, Théophraste, a écrit une série d'ouvrages sur la botanique qui ont survécu comme la plus importante contribution de l'Antiquité aux sciences végétales, même au Moyen Âge. Parmi les savants du monde islamique médiéval qui ont écrit sur la biologie, citons al-Jahiz (781-869), Al-Dīnawarī (828-896), qui a écrit sur la botanique, et Rhazes (865-925), qui a écrit sur l'anatomie et la physiologie. La médecine était particulièrement bien étudiée par les savants islamiques qui travaillaient dans la tradition des philosophes grecs, tandis que l'histoire naturelle s'inspirait fortement de la pensée aristotélicienne, notamment en soutenant une hiérarchie fixe de la vie.

La biologie a commencé à se développer et à croître rapidement avec l'amélioration spectaculaire du microscope par Anton van Leeuwenhoek. C'est alors que les savants ont découvert les spermatozoïdes, les bactéries, les infusoires et la diversité de la vie microscopique. Les recherches de Jan Swammerdam ont suscité un nouvel intérêt pour l'entomologie et ont permis de développer les techniques de base de la dissection et de la coloration microscopiques.

Les progrès de la microscopie ont également eu un impact profond sur la pensée biologique. Au début du XIXe siècle, un certain nombre de biologistes ont souligné l'importance centrale de la cellule. Puis, en 1838, Schleiden et Schwann ont commencé à promouvoir les idées désormais universelles suivantes :

(1) L'unité de base des organismes est la cellule.

(2) Que les cellules individuelles ont toutes les caractéristiques de la vie, bien qu'ils se soient opposés à l'idée que.

(3) Toutes les cellules proviennent de la division d'autres cellules. Toutefois, grâce aux travaux de Robert Remak et Rudolf Virchow, la plupart des biologistes ont accepté, dans les années 1860, les trois principes de ce que l'on a appelé la théorie cellulaire.

Pendant ce temps, la taxonomie et la classification sont devenues le centre d'intérêt des historiens de la nature. Carl Linné a publié en 1735 une taxonomie de base pour le monde naturel (dont des variantes ont été utilisées depuis lors) et, dans les années 1750, il a introduit des noms scientifiques pour toutes ses espèces. Georges-Louis Leclerc, comte de Buffon, considérait les espèces comme des catégories artificielles et les formes vivantes comme malléables, suggérant même la possibilité d'une descendance commune. Bien qu'il ait été opposé à l'évolution, Buffon est une figure clé de l'histoire de la pensée évolutionniste ; ses travaux ont influencé les théories évolutionnistes de Lamarck et de Darwin.



Figure (1) : En 1842, Charles Darwin rédige sa première ébauche de l'Origine des espèces.

La pensée évolutionniste sérieuse est née des travaux de Jean-Baptiste Lamarck, qui a été le premier à présenter une théorie cohérente de l'évolution. Il postulait que l'évolution était le résultat du stress environnemental sur les propriétés des animaux, c'est-à-dire que plus un organe était utilisé fréquemment et rigoureusement, plus il devenait complexe et efficace, adaptant ainsi l'animal à son environnement. Lamarck pensait que ces caractères acquis pouvaient ensuite être transmis à la progéniture de l'animal, qui les développerait et les perfectionnerait. Cependant, c'est le naturaliste britannique Charles Darwin, combinant l'approche biogéographique de Humboldt, la géologie uniformitariste de Lyell, les écrits de Malthus sur la croissance de la population, ainsi que sa propre expertise morphologique et ses observations naturelles approfondies, qui a forgé une théorie de

l'évolution plus aboutie, fondée sur la sélection naturelle ; un raisonnement et des preuves similaires ont conduit Alfred Russel Wallace à parvenir indépendamment aux mêmes conclusions. La théorie de l'évolution par la sélection naturelle de Darwin s'est rapidement répandue dans la communauté scientifique et est rapidement devenue un axiome central de la science de la biologie, qui se développait rapidement.

La base de la génétique moderne a commencé avec les travaux de Gregor Mendel, qui a présenté son article "Versuche über Pflanzenhybriden" ("Expériences sur l'hybridation des plantes"), en 1865,^[30] qui exposait les principes de l'hérédité biologique, servant de base à la génétique moderne. Cependant, l'importance de son travail n'a été réalisée qu'au début du 20e siècle, lorsque l'évolution est devenue une théorie unifiée, la synthèse moderne réconciliant l'évolution darwinienne et la génétique classique. Dans les années 1940 et au début des années 1950, une série d'expériences menées par Alfred Hershey et Martha Chase a permis de découvrir que l'ADN était le composant des chromosomes qui contenait les unités porteuses de caractères connues sous le nom de gènes. L'intérêt porté à de nouveaux types d'organismes modèles tels que les virus et les bactéries, ainsi que la découverte de la structure à double hélice de l'ADN par James Watson et Francis Crick en 1953, ont marqué la transition vers l'ère de la génétique moléculaire. Des années 1950 à aujourd'hui, la biologie s'est

considérablement développée dans le domaine moléculaire. Le code génétique a été déchiffré par Har Gobind Khorana, Robert W. Holley et Marshall Warren Nirenberg après avoir compris que l'ADN contenait des codons. Enfin, le projet du génome humain a été lancé en 1990 dans le but de cartographier le génome humain général. Ce projet s'est essentiellement achevé en 2003, et d'autres analyses sont encore publiées. Le projet du génome humain a été la première étape d'un effort mondialisé visant à intégrer les connaissances accumulées en biologie dans une définition fonctionnelle et moléculaire du corps humain et des corps d'autres organismes.

Concepts de base de la biologie

Principes biologiques

Homéostasie

Le concept d'homéostasie, selon lequel les êtres vivants maintiennent un milieu interne constant, a été suggéré pour la première fois au XIXe siècle par le physiologiste français Claude Bernard, qui a déclaré que "tous les mécanismes vitaux, si variés qu'ils soient, n'ont qu'un seul objet : celui de conserver constantes les conditions de la vie".

Telle que conçue à l'origine par Bernard, l'homéostasie s'appliquait à la lutte d'un seul organisme pour sa survie. Le concept a ensuite été étendu à tout système biologique, de la cellule à l'ensemble de la biosphère, c'est-à-dire toutes les zones de la Terre habitées par des êtres vivants.

Unité

Tous les organismes vivants, indépendamment de leur caractère unique, ont en commun certaines caractéristiques biologiques, chimiques et physiques. Tous, par exemple, sont composés d'unités de base appelées cellules et des mêmes substances chimiques, qui, lorsqu'elles sont analysées, présentent des similitudes notables, même dans des organismes aussi disparates que les bactéries et les humains. En outre, comme l'action de tout organisme est déterminée par la manière dont ses cellules interagissent et que toutes les cellules interagissent à peu près de la même manière, le fonctionnement de base de tous les organismes est également similaire.

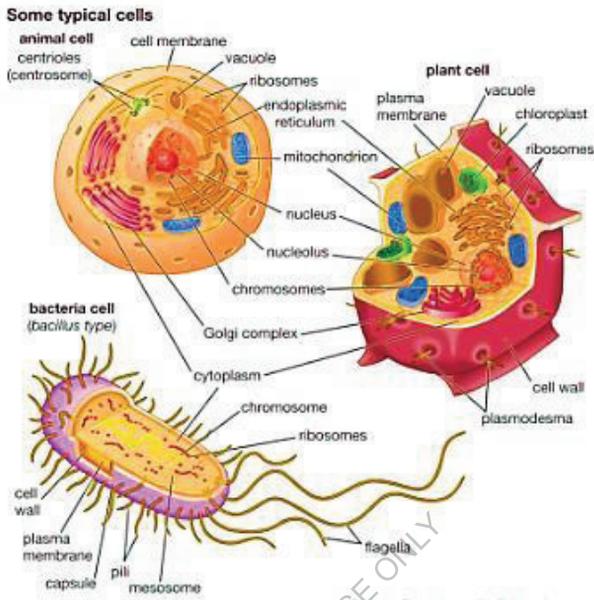


Figure (2) : Les cellules animales et végétales contiennent des organites liés à une membrane, dont un noyau distinct. En revanche, les cellules bactériennes ne contiennent pas d'organites.

Il existe non seulement une unité de substance vivante de base et de fonctionnement, mais aussi une unité d'origine de tous les êtres vivants. Selon une théorie proposée en 1855 par le pathologiste allemand Rudolf Virchow, "toutes les cellules vivantes proviennent de cellules vivantes préexistantes". Cette théorie semble être vraie pour tous les êtres vivants à l'heure actuelle dans les conditions environnementales existantes. Si, toutefois, la vie est apparue sur Terre plus d'une fois dans le passé, le fait que tous les organismes présentent une similitude de structure de base, de

composition et de fonction semble indiquer qu'un seul type original a réussi.

Une origine commune de la vie expliquerait pourquoi, chez l'homme ou la bactérie et dans toutes les formes de vie intermédiaires, la même substance chimique, l'acide désoxyribonucléique (ADN), sous forme de gènes, explique la capacité de toute matière vivante à se répliquer exactement et à transmettre l'information génétique du parent à la progéniture. En outre, les mécanismes de cette transmission suivent un schéma identique dans tous les organismes.

Chaque fois qu'un changement dans un gène (une mutation) se produit, il y a un changement d'une certaine nature dans l'organisme qui contient le gène. C'est ce phénomène universel qui donne lieu aux différences (variations) dans les populations d'organismes parmi lesquelles la nature sélectionne pour la survie ceux qui sont les mieux à même de faire face aux conditions changeantes de l'environnement.

Evolution

Un concept d'organisation central en biologie est que la vie change et se développe par l'évolution, qui est le changement des caractéristiques héréditaires des populations au cours de

générations successives. L'évolution est désormais utilisée pour expliquer les grandes variations de la vie sur Terre. Le terme "*évolution*" a été introduit dans le lexique scientifique par Jean-Baptiste de Lamarck en 1809 et cinquante ans plus tard, Charles Darwin et Alfred Russel Wallace ont formulé la théorie de l'évolution par sélection naturelle. Selon cette théorie, les individus diffèrent les uns des autres par leurs traits héréditaires, ce qui entraîne des taux de survie et de reproduction différents. En conséquence, les caractères les mieux adaptés à leur environnement ont plus de chances d'être transmis aux générations suivantes. Darwin n'était pas au courant des travaux de Mendel sur l'hérédité et le mécanisme exact de l'hérédité qui sous-tend la sélection naturelle n'a donc pas été bien compris jusqu'au début du 20^e siècle, lorsque la synthèse moderne a réconcilié l'évolution darwinienne avec la génétique classique, ce qui a établi une perspective néodarwinienne de l'évolution par la sélection naturelle. Selon cette perspective, l'évolution se produit lorsqu'il y a des changements dans les fréquences des allèles au sein d'une population d'organismes qui se croisent. En l'absence de tout processus évolutif agissant sur une grande population d'accouplement aléatoire, les fréquences alléliques resteront constantes au fil des générations, comme le décrit le principe de Hardy-Weinberg.

Un autre processus à l'origine de l'évolution est la dérive génétique, c'est-à-dire les fluctuations aléatoires des fréquences

alléliques au sein d'une population d'une génération à l'autre. Lorsque les forces sélectives sont absentes ou relativement faibles, les fréquences alléliques ont la même probabilité de **dériver** vers le haut ou vers le bas à chaque génération successive, car les allèles sont sujets à des erreurs d'échantillonnage. Cette dérive s'arrête lorsqu'un allèle finit par se fixer, soit en disparaissant de la population, soit en remplaçant entièrement les autres allèles. La dérive génétique peut donc éliminer certains allèles d'une population par le seul effet du hasard.

Dans sa théorie de la sélection naturelle, dont nous parlerons plus en détail plus loin, Charles Darwin a suggéré que la "survie du plus apte" était à la base de l'évolution biologique (le changement des êtres vivants avec le temps). L'évolution elle-même est un phénomène biologique commun à tous les êtres vivants, même si elle a conduit à leurs différences. Les preuves à l'appui de la théorie de l'évolution proviennent principalement des archives fossiles, d'études comparatives de la structure et de la fonction, d'études du développement embryologique et d'études de l'ADN et de l'ARN (acide ribonucléique).

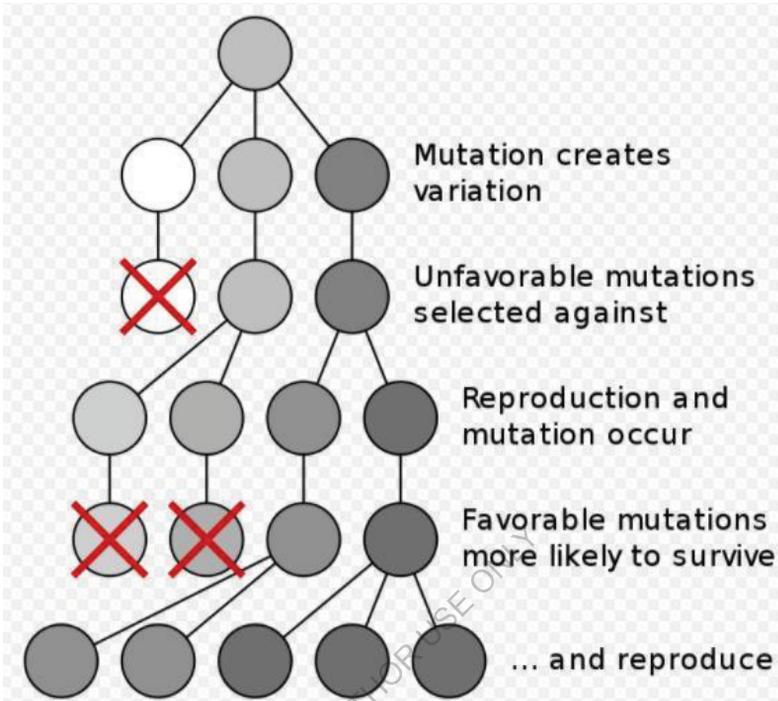


Figure (3) : La mutation crée la variation.

Diversité

Malgré les similitudes biologiques, chimiques et physiques fondamentales que l'on retrouve chez tous les êtres vivants, il existe une diversité de vie non seulement entre les espèces, mais aussi au sein de chaque population naturelle. Le phénomène de la diversité a fait l'objet d'une longue histoire d'études, car un grand nombre des variations qui existent dans la nature sont visibles à l'œil nu. Le

fait que les organismes ont changé au cours de la préhistoire et que de nouvelles variations évoluent constamment peut être vérifié par des documents paléontologiques ainsi que par des expériences de reproduction en laboratoire. Bien après que Darwin ait supposé que les variations existaient, les biologistes ont découvert qu'elles sont causées par un changement dans le matériel génétique (ADN). Cette modification peut être une légère altération de la séquence des constituants de l'ADN (nucléotides), un changement plus important tel qu'une altération structurelle d'un chromosome, ou un changement complet du nombre de chromosomes. Dans tous les cas, une modification du matériel génétique dans les cellules reproductrices se manifeste par une sorte de changement structurel ou chimique dans la descendance. Les conséquences d'une telle mutation dépendent de l'interaction de la progéniture mutante avec son environnement.

Il a été suggéré que la reproduction sexuée est devenue le type de reproduction dominant parmi les organismes en raison de son avantage inhérent de variabilité, qui est le mécanisme permettant à une espèce de s'adapter à des conditions changeantes. De nouvelles variations sont potentiellement présentes dans les différences génétiques, mais la prépondérance d'une variation dans un pool génétique dépend du nombre de descendants que les mutants ou les variants produisent (reproduction différentielle). Il est possible qu'une nouveauté génétique (nouvelle variation) se propage dans le

temps à tous les membres d'une population, surtout si cette nouveauté augmente les chances de survie de la population dans l'environnement dans lequel elle existe. Ainsi, lorsqu'une espèce est introduite dans un nouvel habitat, soit elle s'adapte au changement par sélection naturelle ou par un autre mécanisme évolutif, soit elle finit par disparaître. Comme chaque nouvel habitat implique de nouvelles adaptations, les changements d'habitat sont à l'origine des millions d'espèces différentes et de l'hétérogénéité au sein de chaque espèce.

Le nombre total d'espèces animales et végétales existantes est estimé entre 5 et 10 millions environ, dont 1,5 million ont été décrites par les scientifiques. L'utilisation de la classification comme moyen de produire une sorte d'ordre à partir du nombre stupéfiant de différents types d'organismes est apparue dès le livre de la Genèse - avec des références au bétail, aux bêtes, aux oiseaux, aux reptiles, aux arbres, etc. La première tentative scientifique de classification est toutefois attribuée au philosophe grec Aristote, qui a tenté d'établir un système indiquant la relation de toutes les choses entre elles. Il a tout disposé le long d'une échelle, ou "échelle de la nature", avec les choses non vivantes en bas, les plantes en dessous des animaux et l'humanité au sommet. D'autres schémas ont été utilisés pour regrouper les espèces, notamment les grandes similitudes anatomiques, comme les ailes ou les nageoires, qui

indiquent une relation naturelle, ainsi que les similitudes dans les structures de reproduction.

La taxonomie a été fondée sur deux hypothèses majeures : l'une est que la construction similaire des corps peut être utilisée comme critère pour un regroupement de classification ; l'autre est que, en plus des similarités structurelles, les relations évolutives et moléculaires entre les organismes peuvent être utilisées comme moyen de déterminer la classification.

Comportement et interrelations

L'étude des relations des êtres vivants entre eux et avec leur environnement est connue sous le nom d'écologie. Parce que ces interrelations sont si importantes pour le bien-être de la Terre et parce qu'elles peuvent être sérieusement perturbées par les activités humaines, l'écologie est devenue une branche importante de la biologie.

Continuité

Qu'un organisme soit un être humain ou une bactérie, sa capacité à se reproduire est l'une des caractéristiques les plus importantes de la vie. Comme la vie ne vient que de la vie préexistante, ce n'est

que par la reproduction que les générations successives peuvent perpétuer les propriétés d'une espèce.

L'étude de la structure

Les êtres vivants sont définis en termes d'activités ou de fonctions qui font défaut aux êtres non vivants. Les processus vitaux de chaque organisme sont réalisés par des matériaux spécifiques assemblés en structures définies. Ainsi, un être vivant peut être défini comme un système, ou une structure, qui se reproduit, change avec son environnement au cours d'une période donnée, et maintient son individualité par un métabolisme constant et continu.

Les cellules et leurs constituants

Les biologistes dépendaient autrefois du microscope optique pour étudier la morphologie des cellules des plantes supérieures et des animaux. Le fonctionnement des cellules des organismes unicellulaires et multicellulaires était alors postulé à partir de l'observation de leur structure ; la découverte des chloroplastes dans la cellule, par exemple, a conduit à l'étude du processus de photosynthèse. Avec l'invention du microscope électronique, l'organisation fine des plastides a pu être utilisée pour des études

quantitatives supplémentaires des différentes parties de ce processus.

Les analyses qualitatives et quantitatives en biologie font appel à une variété de techniques et d'approches pour identifier et estimer les niveaux d'acides nucléiques, de protéines, d'hydrates de carbone et d'autres constituants chimiques des cellules et des tissus. Beaucoup de ces techniques utilisent des anticorps ou des sondes qui se lient à des molécules spécifiques dans les cellules et qui sont marquées avec un produit chimique, généralement un colorant fluorescent, un isotope radioactif ou un colorant biologique, ce qui permet ou améliore la visualisation ou la détection microscopique des molécules d'intérêt.

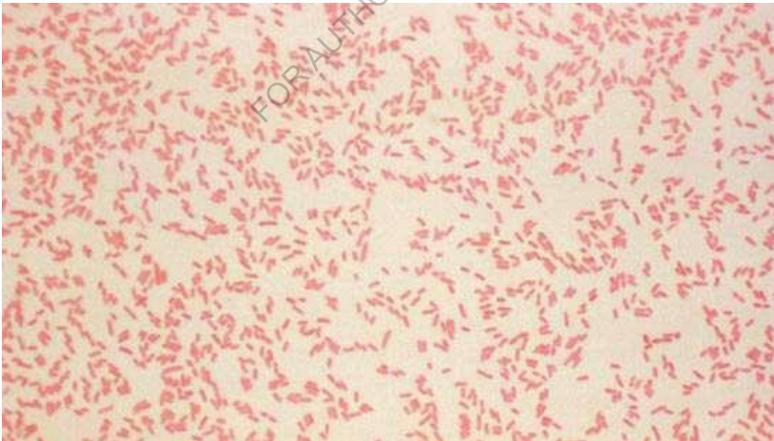


Figure (4) : Les cellules et leurs constituants

Yersinia enterocolitica

Photomicrographie de la coloration de Gram de *Yersinia enterocolitica*, l'agent responsable de la yersiniose.

Les marqueurs chimiques sont des moyens puissants grâce auxquels les biologistes peuvent identifier, localiser ou tracer des substances dans la matière vivante. Parmi les exemples de tests largement utilisés qui incorporent des marqueurs, citons la coloration de Gram, qui est utilisée pour l'identification et la caractérisation des bactéries ; l'hybridation in situ par fluorescence, qui est utilisée pour la détection de séquences génétiques spécifiques dans les chromosomes et les tests à la luciférase qui mesurent la bioluminescence produite par les réactions luciférine-luciférase, ce qui permet de quantifier un large éventail de molécules.

Tissus et organes

Les premiers biologistes considéraient leur travail comme une étude de l'organisme. L'organisme, qui était alors considéré comme l'unité fondamentale de la vie, est toujours la principale préoccupation de certains biologistes modernes, et la compréhension de la façon dont les organismes maintiennent leur environnement interne reste une partie importante de la recherche biologique. Pour mieux comprendre la physiologie des organismes,

les chercheurs étudient les tissus et les organes dont ils sont composés. La clé de ce travail est la capacité de maintenir et de faire croître des cellules *in vitro* ("dans du verre"), autrement dit la culture de tissus.

Certaines des premières tentatives de culture de tissus ont été faites à la fin du 19^e siècle. En 1885, le zoologiste allemand Wilhelm Roux a maintenu des tissus d'un embryon de poulet dans une solution saline. La première grande percée dans la culture de tissus a toutefois eu lieu en 1907 avec la croissance de processus de cellules nerveuses de grenouille par le zoologiste américain Ross G. Harrison. Quelques années plus tard, les chercheurs français Alexis Carrel et Montrose Burrows ont affiné les méthodes de Harrison et introduit le terme de *culture tissulaire*. Grâce à des techniques de laboratoire rigoureuses, les chercheurs ont pu maintenir en vie des cellules et des tissus dans des conditions de culture pendant de longues périodes. Les techniques de maintien en vie des organes en vue de leur transplantation sont issues de ces expériences.

Les progrès de la culture de tissus ont permis d'innombrables découvertes en biologie. Par exemple, de nombreuses expériences ont été menées pour mieux comprendre la différenciation biologique, en particulier les facteurs qui la contrôlent. Le développement, à la fin du XX^e siècle, de méthodes de culture tissulaire permettant la croissance de cellules souches

embryonnaires de mammifères et, finalement, de cellules souches embryonnaires humaines sur des plaques de culture a été crucial pour ces études.

L'histoire de la biologie

Il y a des moments dans l'histoire de toutes les sciences où des progrès remarquables sont réalisés dans des périodes de temps relativement courtes. Ces bonds en avant dans la connaissance résultent en grande partie de deux facteurs : le premier est la présence d'un esprit créatif - un esprit suffisamment perspicace et original pour écarter les idées jusqu'alors acceptées et formuler de nouvelles hypothèses, le second est la capacité technologique de tester les hypothèses par des expériences appropriées. L'esprit le plus original et le plus curieux est gravement limité s'il ne dispose pas des outils appropriés pour mener une enquête ; inversement, l'équipement technologique le plus sophistiqué ne peut à lui seul permettre de comprendre un processus scientifique.

Découvrez comment le moine catholique et botaniste autrichien Gregor Mendel a observé les propriétés de l'hérédité.

Une introduction aux études sur l'hérédité de Gregor Mendel, botaniste autrichien, enseignant et prélat augustinien.

Un exemple de la relation entre ces deux facteurs est la découverte de la cellule. Pendant des centaines d'années, on a spéculé sur la structure de base des plantes et des animaux. Mais ce n'est que lorsque les instruments optiques ont été suffisamment développés pour révéler les cellules qu'il a été possible de formuler une hypothèse générale, la théorie cellulaire, qui explique de manière satisfaisante l'organisation des plantes et des animaux. De même, l'importance des études de Gregor Mendel sur le mode d'hérédité du pois de jardin est restée négligée pendant de nombreuses années, jusqu'à ce que les progrès technologiques permettent la découverte des chromosomes et du rôle qu'ils jouent dans la division cellulaire et l'hérédité. En outre, grâce au développement relativement récent d'instruments extrêmement sophistiqués, tels que le microscope électronique, l'ultracentrifugeuse et les machines de séquençage automatisé de l'ADN, la biologie est passée d'une science essentiellement descriptive - qui s'intéresse aux cellules et aux organismes entiers - à une discipline qui met de plus en plus l'accent sur les aspects subcellulaires et moléculaires des organismes et qui tente d'associer structure et fonction à tous les niveaux de l'organisation biologique.

Le patrimoine ancien

Bien que l'on ne sache pas quand l'étude de la biologie a commencé, les premiers humains devaient avoir une certaine connaissance des animaux et des plantes qui les entouraient. La

survie de l'homme dépendait de la reconnaissance précise des plantes alimentaires non toxiques et de la compréhension des habitudes des prédateurs dangereux. Les archives archéologiques indiquent qu'avant même le développement de la civilisation, les humains avaient domestiqué pratiquement tous les animaux disponibles et avaient développé un système agricole suffisamment stable et efficace pour satisfaire les besoins d'un grand nombre de personnes vivant en communauté. Il est donc clair qu'une grande partie de l'histoire de la biologie est antérieure à l'époque où l'humanité a commencé à écrire et à conserver des documents.

Les plus anciens enregistrements biologiques

Pratiques biologiques chez les Assyriens et les Babyloniens

Une grande partie de l'histoire la plus ancienne de la biologie provient des bas-reliefs assyriens et babyloniens représentant des plantes cultivées et des sculptures illustrant la médecine vétérinaire. Les illustrations de certains sceaux révèlent que les Babyloniens avaient appris que le palmier-dattier se reproduisait sexuellement et que le pollen pouvait être prélevé sur la plante mâle et utilisé pour fertiliser les plantes femelles. Bien qu'il n'existe pas de datation précise de ces premiers documents, un contrat commercial babylonien de la période Hammurabi (*vers* 1800 AVANT J.-C.) mentionne la fleur mâle du palmier-dattier comme

un article de commerce, et les descriptions de la récolte des dattes remontent à 3500 AVANT J.-C. environ.

Une autre source d'information concernant l'étendue des connaissances biologiques de ces premiers peuples a été la découverte de plusieurs papyrus relatifs à des sujets médicaux ; l'un d'eux, qui daterait de 1600 AVANT NOTRE ÈRE, contient des descriptions anatomiques ; un autre (*vers* 1500 AVANT NOTRE ÈRE) indique que l'importance du cœur avait été reconnue. Comme ces documents anciens, qui contenaient un mélange de faits et de superstitions, résumaient probablement les connaissances de l'époque, on peut supposer que certains de leurs contenus étaient connus des générations précédentes.

Connaissances biologiques des Égyptiens, des Chinois et des Indiens

Les papyrus et les objets trouvés dans les tombes et les pyramides indiquent que les Égyptiens possédaient également des connaissances médicales considérables. Leurs momies bien conservées démontrent qu'ils avaient une connaissance approfondie des propriétés de conservation des herbes nécessaires à l'embaumement ; des colliers de plantes et des bas-reliefs provenant de diverses sources révèlent également que les anciens Égyptiens étaient bien conscients de la valeur médicinale de

certaines plantes. Une compilation égyptienne connue sous le nom de papyrus Ebers (*vers 1550 AVANT NOTRE ÈRE*) est l'un des plus anciens textes médicaux connus.



Figure (5) : Connaissances biologiques des Égyptiens, des Chinois et des Indiens.

Le papyrus Ebers

Prescription du papyrus Ebers pour le traitement de l'asthme.

Dans la Chine ancienne, trois empereurs mythiques. Fu Xi, Shennong et Huangdi, dont les périodes de règne supposées s'étendaient du 29^e au 27^e siècle AVANT NOTRE ÈRE, étaient réputés posséder des connaissances médicales. Selon la légende, Shennong a décrit les pouvoirs thérapeutiques de nombreuses plantes médicinales et a décrit de nombreuses plantes alimentaires importantes, comme le soja. La plus ancienne trace écrite connue de la médecine en Chine est cependant le *Huangdi neijing*

(*Classique de médecine interne de l'empereur jaune*), qui date du 3^e siècle AVANT NOTRE ÈRE. Outre la médecine, les anciens Chinois possédaient des connaissances dans d'autres domaines de la biologie. Par exemple, ils utilisaient non seulement le ver à soie *Bombyx mori* pour produire de la soie à des fins commerciales, mais comprenaient également le principe de la lutte biologique, en employant un type d'insecte, une fourmi entomophage (mangeuse d'insectes), pour détruire les insectes qui s'enfoncent dans les arbres.

Dès 2500 AVANT NOTRE ÈRE, LES habitants du nord-ouest de l'Inde avaient une science de l'agriculture bien développée. Les ruines de Mohenjo-daro ont livré des graines de blé et d'orge qui étaient cultivées à cette époque. Le millet, les dattes, les melons et d'autres fruits et légumes, ainsi que le coton, étaient connus de cette civilisation. Les plantes n'étaient cependant pas seulement une source de nourriture. Un document, datant vraisemblablement du 6^e siècle AVANT NOTRE ÈRE, décrit l'utilisation d'environ 960 plantes médicinales et contient des informations sur des sujets tels que l'anatomie, la physiologie, la pathologie et l'obstétrique.

Le monde gréco-romain

Bien que les Babyloniens, les Assyriens, les Égyptiens, les Chinois et les Indiens aient amassé de nombreuses informations

biologiques, ils vivaient dans un monde que l'on croyait dominé par des démons et des esprits imprévisibles. Les savants de ces premières cultures ont donc orienté leurs études vers la compréhension du monde surnaturel plutôt que naturel. Les anatomistes, par exemple, disséquaient les animaux non pas pour comprendre leur structure, mais pour étudier leurs organes afin de prédire l'avenir. Avec l'émergence de la civilisation grecque, cependant, ces attitudes mystiques ont commencé à changer. Vers 600 AVANT J.-C., une école de philosophes grecs a vu le jour, qui croyait que tout événement avait une cause et qu'une cause particulière produisait un effet particulier. Ce concept, connu sous le nom de causalité, a eu un effet profond sur les recherches scientifiques ultérieures. En outre, ces philosophes supposaient l'existence d'une "loi naturelle" qui régit l'univers et qui peut être comprise par les humains grâce à leurs facultés d'observation et de déduction. Bien qu'ils aient établi la science de la biologie, la plus grande contribution des Grecs à la science a été l'idée de la pensée rationnelle.

Théories sur l'humanité et l'origine de la vie

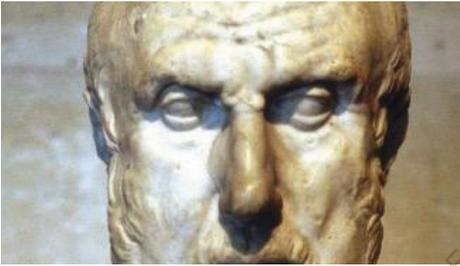
L'un des premiers philosophes grecs, Thalès de Milet (*vers le 7e siècle AVANT J.-C.*), soutenait que l'univers contenait une force créatrice qu'il appelait *physis*, un précurseur du terme *physique*, il postulait également que le monde et tous les êtres vivants qu'il contient étaient faits d'eau. Anaximandre, un élève de Thalès,

n'acceptait pas l'eau comme la seule substance dont les êtres vivants étaient dérivés ; il pensait qu'en plus de l'eau, les êtres vivants étaient constitués de terre et d'une substance gazeuse appelée *apeiron*, qui pouvait être divisée en chaud et froid. Divers mélanges de ces matières donnaient naissance aux quatre éléments : la terre, l'air, le feu et l'eau. Bien qu'il ait été l'un des premiers à décrire la Terre comme une sphère plutôt que comme un plan plat, Anaximandre a proposé que la vie soit apparue spontanément dans la boue et que les premiers animaux à émerger aient été des poissons recouverts d'une peau épineuse. Les descendants de ces poissons ont fini par quitter l'eau et se déplacer vers la terre ferme, où ils ont donné naissance à d'autres animaux par transmutation (la conversion d'une forme en une autre). C'est ainsi qu'une première théorie de l'évolution a été formulée.

À Crotona, dans le sud de l'Italie, où Pythagore avait créé une importante école de philosophie naturelle vers 500 AVANT J.-C., l'un de ses élèves, Alcmaeon, a étudié la structure des animaux et décrit la différence entre les artères et les veines, découvert le nerf optique et reconnu le cerveau comme le siège de l'intellect. Grâce à ses études sur le développement de l'embryon, Alcmaeon peut être considéré comme le fondateur de l'embryologie.

Bien que le médecin grec Hippocrate, qui a créé une école de médecine sur l'île égéenne de Cos vers 400 AVANT J.-C., n'était pas un chercheur au sens d'Alcmaeon, il a reconnu, en observant

ses patients, les relations complexes qui existent dans le corps humain. Il s'intéressait également à l'influence de l'environnement sur la nature humaine et pensait que les climats très contrastés avaient tendance à produire un type d'habitant puissant, tandis que les climats tempérés et uniformes étaient plus propices à l'indolence.



Hippocrate

Hippocrate, buste non daté.

© *Photos.com/Thinkstock*

Hippocrate et ses prédécesseurs se sont intéressés à la question philosophique centrale de savoir comment le cosmos et ses habitants ont été créés. Bien qu'ils aient accepté la physis comme la force créatrice, ils différaient quant à l'importance des rôles joués par la terre, l'air, le feu, l'eau et les autres éléments. Anaximène, par exemple, qui était peut-être un élève d'Anaximandre, adhérait au précepte alors populaire selon lequel la vie avait pris naissance

dans une masse de boue, mais il postulait que la véritable force créatrice se trouvait dans l'air et qu'elle était influencée par la chaleur du Soleil. Les membres de l'école hippocratique croyaient également que tous les corps vivants étaient constitués de quatre humeurs - le sang, la bile noire, le flegme et la bile jaune - censées provenir respectivement du cœur, de la rate, du cerveau et du foie. On pensait qu'un déséquilibre des humeurs pouvait rendre un individu sanguin, mélancolique, flegmatique ou colérique. Ces mots ont persisté dans la littérature médicale pendant des siècles, ce qui témoigne de la longue popularité de l'idée des influences humorales. Pendant des siècles, on a également cru qu'un déséquilibre des humeurs était la cause de la maladie, une croyance qui a donné lieu à la pratique courante de la saignée pour débarrasser le corps des humeurs excessives.

La découverte des cellules

Des cinq microscopistes, Robert Hooke était peut-être celui qui avait la plus grande prééminence intellectuelle. En tant que conservateur des instruments à la Royal Society de Londres, il était au courant de tous les nouveaux développements scientifiques et s'intéressait à des sujets aussi disparates que l'aviation et la construction d'horloges. En 1665, Hooke publia sa *Micrographia*, qui était principalement une revue d'une série d'observations qu'il

avait faites en suivant le développement et l'amélioration du microscope. Hooke décrit en détail la structure des plumes, le dard d'une abeille, la radula, ou "langue", des mollusques, et le pied de la mouche. C'est Hooke qui a inventé le mot *cellule* ; dans un dessin de la structure microscopique du liège, il a montré des parois entourant des espaces vides et a appelé ces structures des cellules. Il décrivit des structures similaires dans les tissus d'autres arbres et plantes et constata que dans certains tissus, les cellules étaient remplies d'un liquide alors que dans d'autres, elles étaient vides. Il a donc supposé que la fonction des cellules était de transporter des substances dans la plante.

Bien que les travaux de tous les microscopistes classiques semblent manquer d'un objectif précis, il faut se rappeler que ces hommes ont incarné le concept selon lequel l'observation et l'expérience étaient de première importance, et que de simples spéculations hypothétiques et philosophiques ne suffisaient pas. Il est remarquable que si peu d'hommes, travaillant en tant qu'individus totalement isolés les uns des autres, aient enregistré autant d'observations d'une importance aussi fondamentale. La grande signification de leurs travaux est qu'ils ont révélé, pour la première fois, un monde dans lequel les organismes vivants font preuve d'une complexité presque incroyable.

Les travaux sur le microscope composé ont languì pendant près de 200 ans, principalement parce que les premiers objectifs avaient

tendance à décomposer la lumière blanche en ses éléments constitutifs. Ce problème technique n'a pas été résolu avant l'invention des lentilles achromatiques, qui ont été introduites vers 1830. En 1878, un microscope composé achromatique moderne a été produit à partir de la conception du physicien allemand Ernst Abbe. Abbe a ensuite conçu un système d'illumination par sous-scène, qui, avec l'introduction d'un nouveau condenseur par sous-scène, a ouvert la voie aux découvertes biologiques de cette époque.

Le développement des principes taxonomiques

En 1687, le mathématicien, physicien et astronome anglais Isaac Newton publiait son grand ouvrage *Principia*, dans lequel il décrivait l'univers comme fixe, la Terre et les autres corps célestes se déplaçant harmonieusement selon des lois mathématiques. Cette approche de systématisation et de classification allait dominer la biologie aux 17^e et 18^e siècles. L'une des raisons en est que les "pères de la botanique" du XVI^e siècle s'étaient contentés de décrire et de dessiner les plantes, rassemblant un nombre énorme et diversifié qui ne cessait d'augmenter à mesure que les explorations de pays étrangers faisaient apparaître que chaque pays avait ses propres plantes et animaux indigènes.

Aristote a commencé le processus de classification lorsqu'il a utilisé le mode de reproduction et l'habitat pour distinguer les groupes d'animaux. En effet, les mots *genre* et *espèce* sont des traductions des mots grecs *genos* et *eidos* utilisés par Aristote. Le botaniste suisse Bauhin avait introduit un système de classification binomial, utilisant un nom générique et un nom spécifique. Cependant, la plupart des systèmes de classification proposés avant le 17^e siècle étaient confus et insatisfaisants.

L'utilisation de la structure pour classer les organismes

Deux systématiciens des 17^e et 18^e siècles sont le naturaliste anglais John Ray et le naturaliste et explorateur suédois Carolus Linnaeus. Ray, qui a étudié à Cambridge, s'est particulièrement intéressé aux travaux des anciens compilateurs d'herbiers, notamment ceux qui avaient tenté de formuler des moyens de classification. Reconnaissant la nécessité d'un système de classification qui s'appliquerait à la fois aux plantes et aux animaux, Ray a utilisé dans ses schémas de classification des descriptions extrêmement précises des genres et des espèces. En basant son système sur des structures, telles que la disposition des orteils et des dents chez les animaux, plutôt que sur la couleur ou l'habitat, Ray a introduit un concept nouveau et très important dans la biologie taxonomique.

Réorganisation des groupes d'organismes

Avant Linné, la plupart des taxonomistes commençaient leur système de classification en divisant tous les organismes connus en grands groupes, puis en les subdivisant en groupes de plus en plus petits. Contrairement à ses prédécesseurs, Linné a commencé par les espèces, les organisant en groupes plus importants ou genres, puis arrangeant les genres analogues pour former des familles et les familles apparentées pour former des ordres et des classes. S'appuyant probablement sur les travaux antérieurs de Grew et d'autres, Linné choisit la structure des organes reproducteurs de la fleur comme base de regroupement des plantes supérieures. Ainsi, il a distingué les plantes avec de vraies fleurs et des graines (phanérogames) de celles qui n'en ont pas (cryptogames), subdivisant les premières en formes hermaphrodites (bisexuelles) et unisexuelles. Pour les animaux, à la suite des travaux de Ray, Linné s'est appuyé sur les dents et les orteils comme caractéristiques de base des mammifères ; il a utilisé la forme du bec comme base de la classification des oiseaux. Ayant démontré qu'un système de classification binomiale fondé sur des descriptions concises et précises pouvait être utilisé pour le regroupement d'organismes, Linné a fait de la biologie taxonomique une discipline.

Les développements ultérieurs de la classification ont été initiés par les biologistes français Comte de Buffon, Jean-Baptiste

Lamarck et Georges Cuvier, qui ont tous apporté des contributions durables à la science biologique, en particulier aux études comparatives. Les systématiciens ultérieurs se sont principalement intéressés aux relations entre les animaux et se sont efforcés d'expliquer non seulement leurs similitudes mais aussi leurs différences en des termes généraux qui englobent, outre la structure, la composition, la fonction, la génétique, l'évolution et l'écologie.

Le développement des études biologiques comparatives

Une fois l'opprobre attaché à la dissection des corps humains dissipé au XVI^e siècle, les anatomistes ont orienté leurs efforts vers une meilleure compréhension de la structure humaine. Ce faisant, ils ont généralement ignoré les autres animaux, du moins jusqu'à la fin du XVII^e siècle, lorsque les biologistes ont commencé à se rendre compte que des études comparatives de tous les animaux, y compris les humains, pouvaient apporter des informations importantes. L'un des premiers anatomistes de ce type fut le médecin anglais Edward Tyson, qui étudia en détail l'anatomie d'un chimpanzé immature et la compara à celle d'un humain. En effectuant d'autres comparaisons entre le chimpanzé et d'autres primates, Tyson a clairement reconnu des points de similitude entre ces animaux et les humains. Il s'agissait non seulement d'une contribution majeure à l'anthropologie physique, mais aussi d'une

indication, près de deux siècles avant Darwin, de l'existence de relations entre les humains et les autres primates.

Parmi ceux qui ont donné aux études comparatives leur plus grand élan, citons Georges Cuvier, qui a utilisé de grandes collections de spécimens biologiques qui lui ont été envoyées du monde entier pour élaborer une organisation systématique du règne animal. En plus d'établir un lien entre l'anatomie systématique et l'anatomie comparée, il croyait qu'il existait une "corrélacion des parties" selon laquelle un type de structure donné, par exemple les plumes, est lié à une certaine formation anatomique, par exemple une aile, qui à son tour est liée à d'autres formations spécifiques, par exemple la clavicule, et ainsi de suite. En d'autres termes, il estimait qu'il était possible de déduire un grand nombre d'informations anatomiques sur un organisme, même si le spécimen entier n'était pas disponible. Cette intuition allait revêtir une grande importance pratique dans l'étude des fossiles, dans laquelle Cuvier a joué un rôle de premier plan. En effet, la publication en 1812 de *Recherches sur les ossemens fossiles de quadrupèdes* (traduit en 1835 sous le titre *Research on Fossil Bones*) a jeté les bases de la paléontologie. Mais afin de concilier ses découvertes scientifiques avec ses croyances religieuses personnelles, Cuvier a postulé une série d'événements catastrophiques qui pourraient expliquer à la fois la présence de fossiles et l'immuabilité des espèces existantes.

L'étude de l'origine de la vie

Génération spontanée

Si une espèce ne peut se développer qu'à partir d'une espèce préexistante, alors comment la vie est-elle apparue ? Parmi les nombreuses idées philosophiques et religieuses avancées pour répondre à cette question, l'une des plus populaires était la théorie de la génération spontanée, selon laquelle, comme nous l'avons déjà mentionné, les organismes vivants pouvaient naître de la matière non vivante. Cependant, avec le rythme croissant des découvertes au cours des 17^e et 18^e siècles, les chercheurs ont commencé à examiner d'un œil plus critique la croyance grecque selon laquelle les mouches et autres petits animaux naissaient de la boue au fond des ruisseaux et des étangs par génération spontanée. Puis, lorsque Harvey a annoncé son dicton biologique *ex ovo omnia* ("tout vient de l'œuf"), il semblait avoir résolu le problème, du moins en ce qui concerne les plantes à fleurs et les animaux supérieurs, qui se développent tous à partir d'un œuf. Mais la découverte ultérieure et inquiétante des animalcules par Leeuwenhoek a démontré l'existence d'un monde d'organismes densément peuplé mais jusque-là invisible, qu'il fallait expliquer.

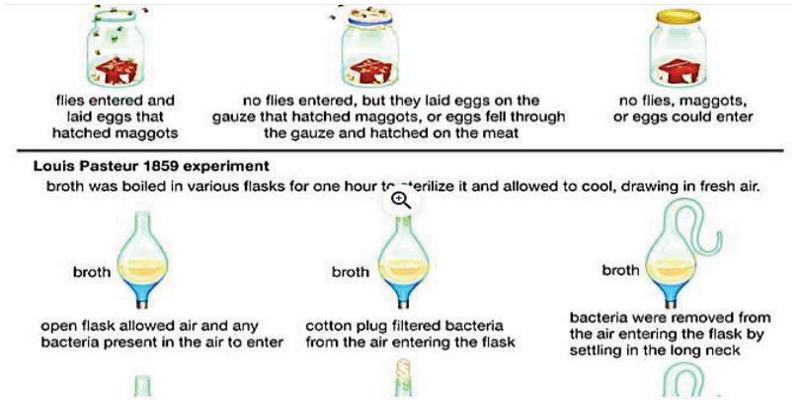


Figure (6) : L'hypothèse de la génération spontanée postulait que les organismes vivants se développaient à partir de matière non vivante. Cette idée a été réfutée à la suite d'expériences menées en 1668 par le médecin italien Francesco Redi et en 1859 par le chimiste et microbiologiste français Louis Pasteur.

Le médecin et poète italien Francesco Redi a été l'un des premiers à remettre en question l'origine spontanée des êtres vivants. Ayant observé le développement des asticots et des mouches sur de la viande en décomposition, Redi a conçu en 1668 un certain nombre d'expériences, qui aboutissent toutes à la même conclusion : si les mouches sont exclues de la viande pourrie, les asticots ne se développent pas. En revanche, sur une viande exposée à l'air, les œufs pondus par les mouches se transforment en asticots. Néanmoins, en 1745, le soutien à la génération spontanée a été renouvelé avec la publication de *An Account of Some New Microscopical Discoveries* par le naturaliste anglais et catholique romain John Turberville Needham. Needham a découvert qu'un

grand nombre d'organismes se développaient ensuite dans des infusions préparées de nombreuses substances différentes qui avaient été exposées à une chaleur intense dans des tubes scellés pendant 30 minutes. Partant du principe que ce traitement thermique avait dû tuer tous les organismes précédents, Needham a expliqué la présence de la nouvelle population par la génération spontanée. Ces expériences semblaient irréfutables jusqu'à ce que le physiologiste italien Lazzaro Spallanzani les répète et obtienne des résultats contradictoires. Il publia ses conclusions vers 1775, affirmant que Needham n'avait pas chauffé ses tubes assez longtemps et qu'il ne les avait pas fermés de manière satisfaisante. Bien que les résultats de Spallanzani auraient dû être convaincants, Needham avait le soutien de l'influent naturaliste français Buffon ; la question de la génération spontanée n'a donc pas été résolue.

La mort de la génération spontanée

Après que plusieurs recherches n'aient pas permis de résoudre le problème, l'Académie des sciences française a offert un prix pour une recherche qui "jetterait de nouvelles lumières sur la question de la génération spontanée". En réponse à ce défi, Louis Pasteur, qui était alors chimiste, a soumis des flacons contenant une solution de levure sucrée à diverses conditions. Pasteur a pu démontrer de manière concluante que tous les micro-organismes qui se développaient dans des milieux appropriés provenaient de micro-organismes présents dans l'air, et non de l'air lui-même, comme

Needham l'avait suggéré. Les résultats de Pasteur ont été confirmés en 1876 par le physicien anglais John Tyndall, qui a conçu un appareil pour démontrer que l'air avait la capacité de transporter des particules. Comme ces particules réfléchissent la lumière lorsque l'air est éclairé dans des conditions particulières, l'appareil de Tyndall pouvait être utilisé pour déterminer si l'air était pur. Tyndall a découvert qu'aucun organisme n'était produit lorsque l'air pur était introduit dans des milieux capables de supporter la croissance de micro-organismes. Ce sont ces résultats, ainsi que ceux de Pasteur, qui ont mis fin à la doctrine de la génération spontanée. Lorsque Pasteur a ensuite démontré que les micro-organismes parents ne génèrent que leur propre espèce, il a ainsi établi l'étude de la microbiologie. En outre, il a non seulement réussi à convaincre le monde scientifique que les microbes sont des créatures vivantes issues de formes préexistantes, mais il a également montré qu'ils étaient une composante immense et variée du monde organique, un concept qui devait avoir des implications importantes pour la science de l'écologie. En outre, en isolant diverses espèces de bactéries et de levures dans différents milieux chimiques, Pasteur a pu démontrer qu'elles provoquaient des changements chimiques de manière caractéristique et prévisible, apportant ainsi une contribution unique à l'étude de la fermentation et de la biochimie.

Le développement de la théorie cellulaire

Bien que les microscopistes du XVIIe siècle aient fait des descriptions détaillées de la structure des plantes et des animaux et que Hooke ait inventé le terme de *cellule* pour décrire les compartiments qu'il avait observés dans le tissu de liège, leurs observations manquaient d'une unité théorique sous-jacente. Ce n'est qu'en 1838 que le botaniste allemand Matthias Jacob Schleiden, qui s'intéressait à l'anatomie des plantes, a déclaré que "les plantes inférieures sont toutes constituées d'une seule cellule, tandis que les plantes supérieures sont composées de (nombreuses) cellules individuelles." Lorsque le physiologiste allemand Theodor Schwann, ami de Schleiden, étendit la théorie cellulaire aux animaux, il provoqua ainsi un rapprochement entre la botanique et la zoologie. La formation de la théorie cellulaire - toutes les plantes et tous les animaux sont constitués de cellules - a marqué une grande avancée conceptuelle en biologie, et a entraîné un regain d'attention pour les processus vivants qui se déroulent dans les cellules.

En 1846, après que plusieurs chercheurs eurent décrit le mouvement d'écoulement du cytoplasme dans les cellules végétales, le botaniste allemand Hugo von Mohl a inventé le mot *protoplasme* pour désigner la substance vivante de la cellule. Le concept de protoplasme comme base physique de la vie a conduit au développement de la physiologie cellulaire.

Une autre extension de la théorie cellulaire a été le développement de la pathologie cellulaire par le scientifique allemand Rudolf Virchow, qui a établi la relation entre les événements anormaux dans le corps et les activités cellulaires inhabituelles. Les travaux de Virchow ont donné une nouvelle orientation à l'étude de la pathologie et ont permis des avancées en médecine.

La description détaillée de la division cellulaire a été apportée par le cytologiste allemand Eduard Strasburger, qui a observé le processus mitotique dans les cellules végétales et a démontré que les noyaux n'émergent que de noyaux préexistants. Des travaux parallèles chez les mammifères ont été menés par l'anatomiste allemand Walther Flemming, qui a publié ses principales découvertes dans *Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung* ("Substance cellulaire, noyau et division cellulaire") en 1882.

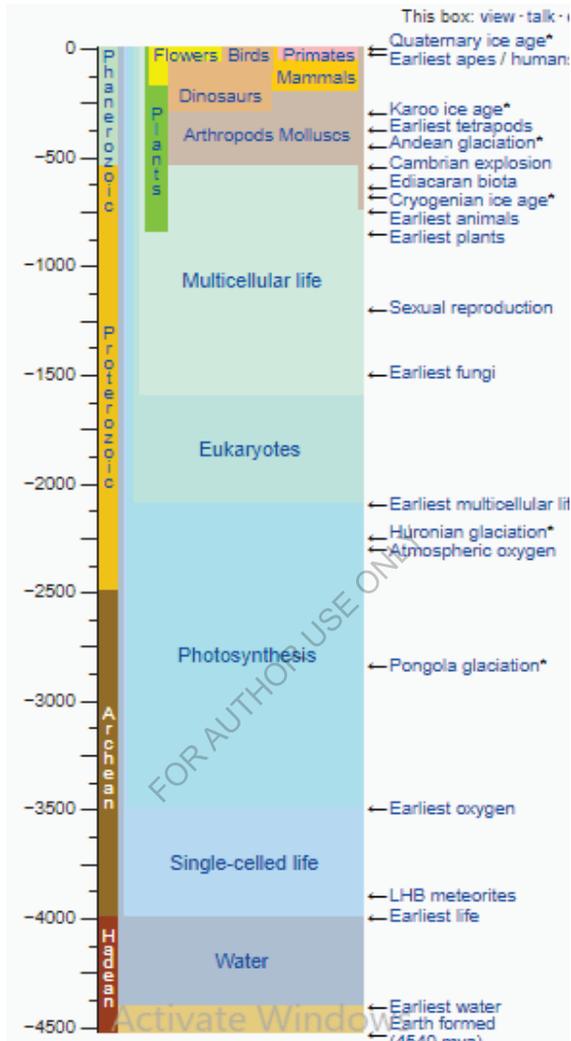


Figure (7) : Le développement de la théorie cellulaire.

La théorie de l'évolution

Alors que les connaissances sur les formes végétales et animales s'accumulaient au cours des 16e, 17e et 18e siècles, quelques biologistes ont commencé à spéculer sur l'ascendance de ces organismes, bien que l'opinion dominante soit celle promulguée par Linné, à savoir l'immuabilité des espèces. Parmi les premières spéculations émises au cours du 18e siècle, le médecin britannique Erasmus Darwin (grand-père de Charles Darwin) a conclu que les espèces descendent d'ancêtres communs et qu'il existe une lutte pour l'existence entre les animaux. Le biologiste français Jean-Baptiste Lamarck, l'un des plus importants évolutionnistes du 18e siècle, a reconnu le rôle de l'isolement dans la formation des espèces ; il a également perçu l'unité de la nature et a conçu l'idée de l'arbre de l'évolution.

Une théorie complète de l'évolution n'a toutefois pas été annoncée avant la publication, en 1859, de l'ouvrage de Charles Darwin intitulé *On the Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. Dans son livre, Darwin affirme que toutes les créatures vivantes se multiplient si rapidement que si rien n'est fait, le monde sera bientôt surpeuplé. Selon Darwin, le contrôle de la taille des populations est assuré par la concurrence pour les moyens de subsistance. Par conséquent, si un membre d'une espèce présente une différence qui le rend plus apte à survivre, il bénéficiera d'un avantage que sa progéniture sera susceptible de perpétuer. Les

travaux de Darwin reflètent l'influence de l'économiste britannique Thomas Robert Malthus, qui a publié en 1838 un essai sur la population dans lequel il prévient que si les humains se multiplient plus rapidement que leur approvisionnement en nourriture, il en résultera une compétition pour l'existence. Darwin a également été influencé par le géologue britannique Charles Lyell, qui s'est rendu compte, en étudiant les formations géologiques, que l'âge relatif des dépôts pouvait être estimé grâce à la proportion de mollusques vivants et disparus. Mais ce n'est qu'après ses voyages à bord du *Beagle* (1831-36), au cours desquels il a observé une grande richesse et diversité de la faune insulaire, que Darwin a commencé à développer sa théorie de l'évolution. Alfred Russel Wallace était parvenu à des conclusions similaires à celles de Darwin suite à ses études des plantes et des animaux de l'archipel malais. Un court article traitant de ce sujet envoyé par Wallace à Darwin a finalement abouti à la publication des propres théories de Darwin.

D'un point de vue conceptuel, cette théorie était de la plus haute importance, puisqu'elle rendait compte de la formation de nouvelles espèces. La découverte ultérieure de la base chromosomique de l'héritage et des lois de l'hérédité a permis de constater que la sélection naturelle n'implique pas l'alternative tranchante de la vie ou de la mort, mais résulte de la survie différentielle de variantes. Aujourd'hui, le principe universel de la

sélection naturelle, qui est le concept central de la théorie de Darwin, est fermement établi.

Développements conceptuels et technologiques importants

En utilisant des méthodes d'investigation modernes, telles que la diffraction des rayons X et la microscopie électronique, pour explorer les niveaux d'organisation cellulaire au-delà de ce qui est visible au microscope optique, l'ultrastructure de la cellule, de nouveaux concepts de la fonction cellulaire ont été produits. Par conséquent, l'étude de l'organisation moléculaire de la cellule a eu un impact considérable sur la biologie au cours des 20e et 21e siècles. Elle a également conduit directement à la convergence de nombreuses disciplines scientifiques différentes afin d'acquérir une meilleure compréhension des processus vitaux.

Des technologies telles que le séquençage de l'ADN et la réaction en chaîne de la polymérase ont également été mises au point, permettant aux biologistes d'examiner les plans génétiques qui donnent naissance aux organismes. Les technologies de séquençage de première génération sont apparues dans les années 1970 et ont été suivies plusieurs décennies plus tard par les technologies de séquençage dites de nouvelle génération, qui étaient supérieures en termes de vitesse et de rentabilité. Le

séquençage de nouvelle génération a fourni aux chercheurs des quantités massives de données génétiques, généralement des gigabases (1 gigabase = 1 000 000 000 de paires de bases d'ADN). La bioinformatique, qui relie les données biologiques aux outils et techniques d'analyse, de stockage et de distribution des données, est devenue un élément de plus en plus important des études biologiques, en particulier celles qui impliquent de très grands ensembles de données génétiques.

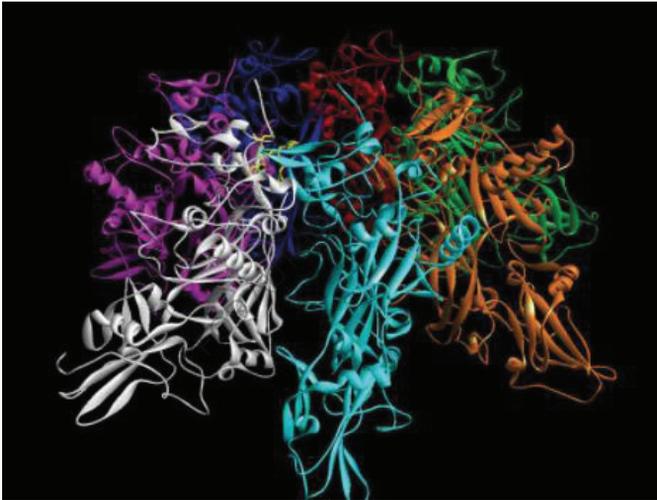


Figure (8) : Développements conceptuels et technologiques importants.

Cette image informatisée de l'anthrax montre les différentes relations structurelles de sept unités au sein de la protéine et illustre l'interaction d'un médicament (en jaune) lié à la protéine pour

bloquer l'unité dite du facteur létal. La bioinformatique joue un rôle important en permettant aux scientifiques de prédire où une molécule de médicament se fixera dans une protéine, compte tenu des structures individuelles des molécules.

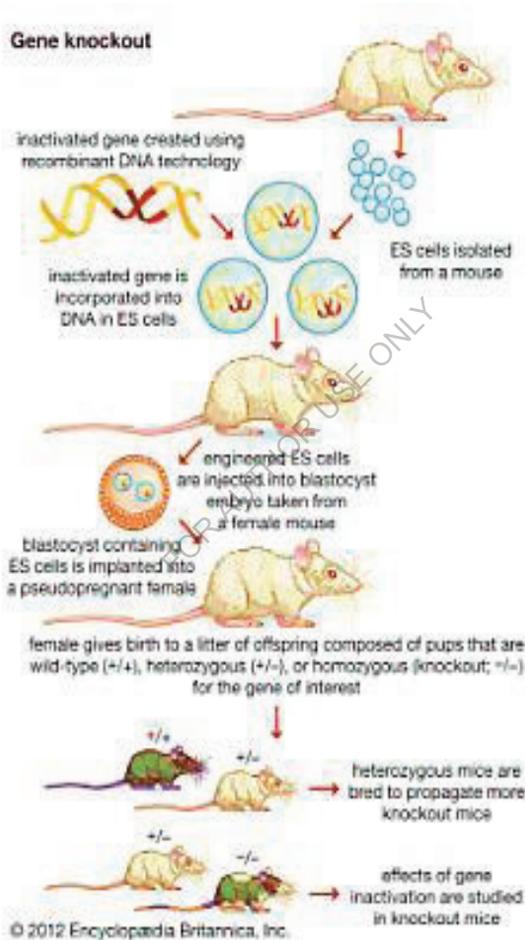


Figure (9) : Importants développements conceptuels et technologiques en matière d'élimination de gènes.

Dans le knock-out génétique, un gène fonctionnel est remplacé par un gène inactivé créé à l'aide de la technologie de l'ADN recombinant. Lorsqu'un gène est "neutralisé", le phénotype mutant (caractéristiques observables) qui en résulte révèle souvent la fonction biologique du gène.

Dans les années 1990 et au début des années 2000, les chercheurs du monde entier se sont de plus en plus réunis au sein de consortiums et d'autres groupes de collaboration pour accomplir des exploits majeurs en biologie. La première grande réussite de ces efforts a été le séquençage du génome humain, réalisé dans le cadre du projet du génome humain (PGH). Le HGP a débuté en 1990, soutenu par le ministère américain de l'énergie et les National Institutes of Health (NIH). Les chercheurs des NIH se sont ensuite associés à Celera Genomics, une entreprise du secteur privé, et le projet s'est achevé en 2003. D'autres projets de collaboration ont rapidement suivi, notamment le projet international HapMap, une excroissance du HGP, et le projet 1000 génomes, qui s'est appuyé sur les données de l'effort HapMap.

Les XXe et XXIe siècles ont également été marqués par des avancées majeures dans les domaines de la biologie traitant des

écosystèmes, de l'environnement et de la conservation. Au 20^e siècle, les scientifiques se sont rendu compte que l'homme est aussi dépendant des ressources naturelles de la Terre que les autres animaux. Cependant, l'homme contribue à la destruction progressive de l'environnement, notamment en raison de l'augmentation de la pression démographique et de certaines avancées technologiques. Les progrès de la médecine, par exemple, ont permis aux gens de vivre plus longtemps et ont entraîné une baisse spectaculaire des taux de mortalité (principalement dans les pays développés), contribuant ainsi à une augmentation explosive de la population humaine. Les contaminants chimiques introduits dans l'environnement par les procédés de fabrication, les pesticides, les émissions des voitures et d'autres moyens ont sérieusement mis en danger toutes les formes de vie. Les biologistes ont donc commencé à s'intéresser de plus près aux relations des êtres vivants entre eux ainsi qu'avec leur environnement biotique et abiotique.

L'importance croissante du changement climatique et de son impact sur les écosystèmes a alimenté les progrès de l'écologie, ainsi que le développement de domaines tels que la biologie et la génétique de la conservation. Comme dans presque tous les autres domaines de la biologie, la biologie moléculaire a joué un rôle important dans ces domaines, avec des techniques telles que le séquençage du génome entier utilisées pour recueillir des informations sur la diversité génétique des populations d'espèces

menacées, et des techniques telles que le clonage et l'édition du génome qui permettent d'envisager la résurrection d'espèces disparues (un processus connu sous le nom de "dé-extinction"). Les informations sur les séquences d'ADN d'un large éventail d'espèces ont également permis aux scientifiques de mieux comprendre l'évolution et la systématique (l'étude des relations évolutives et de la diversification de la vie).

Travail intra et interdisciplinaire

Au 21^e siècle, il existait de nombreuses catégories importantes dans les sciences biologiques et donc de nombreuses spécialités au sein des domaines. La botanique, la zoologie et la microbiologie traitent des types d'organismes et de leurs relations mutuelles. Ces disciplines ont longtemps été subdivisées en catégories plus spécialisées, par exemple l'ichtyologie, l'étude des poissons, et l'algologie, l'étude des algues. Les disciplines telles que l'embryologie et la physiologie, qui traitent du développement et du fonctionnement d'un organisme, ont été divisées en fonction du type d'organisme étudié, par exemple l'embryologie des invertébrés et la physiologie des mammifères. De nombreux développements en physiologie et en embryologie ont résulté d'études en biologie cellulaire, en biophysique et en biochimie. De même, la recherche en physiologie cellulaire et en cytochimie, ainsi que les études ultrastructurales, ont aidé les scientifiques à établir une corrélation

entre la structure et la fonction des cellules. L'écologie, qui se concentre sur les relations entre les organismes et leur environnement, comprend à la fois les caractéristiques physiques de l'environnement et les autres organismes qui peuvent être en compétition pour la nourriture et le logement. L'accent mis sur les différents environnements et certaines caractéristiques des organismes a entraîné la subdivision du domaine en une série de spécialités, telles que l'écologie des eaux douces, l'écologie marine et l'écologie des populations.

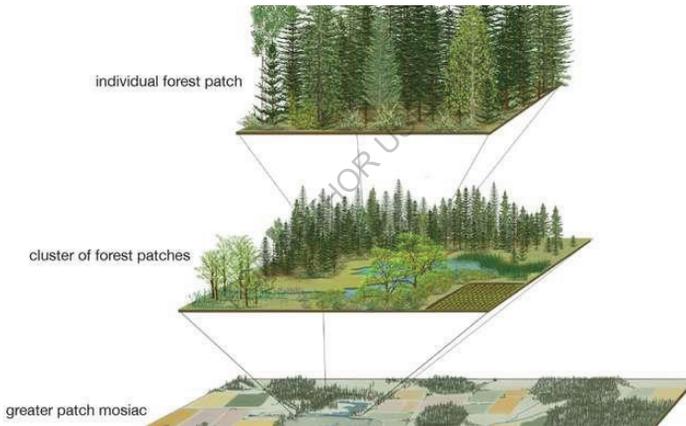


Figure (10) : Travail intra et interdisciplinaire.

L'échelle dans les études écologiques

Une parcelle de forêt nichée dans une mosaïque de paysages.

De nombreux domaines d'étude des sciences biologiques franchissent les frontières qui séparaient traditionnellement les différentes branches des sciences. En biophysique, par exemple, les chercheurs appliquent les principes et les méthodes de la physique pour étudier et trouver des solutions aux problèmes de la biologie. Les biologistes de l'évolution et les paléontologues connaissent les principes de la géologie et peuvent même travailler en étroite collaboration avec des géologues lorsqu'ils tentent de déterminer l'âge des restes biologiques. De même, les anthropologues et les archéologues appliquent leurs connaissances de la culture et de la société humaines aux découvertes biologiques afin de mieux comprendre l'humanité. L'astrobiologie est née des activités des scientifiques et des ingénieurs chargés de l'exploration de l'espace. Par conséquent, le domaine de la biologie a reçu des contributions de la part de nombreuses autres disciplines, tant dans le domaine des sciences humaines que dans celui des sciences, et a apporté sa contribution à ces dernières.

Au cours des XXe et XXIe siècles, alors que la biologie est devenue de plus en plus interconnectée avec d'autres domaines scientifiques, elle a également fini par englober un certain nombre de disciplines. Dans certaines de ces disciplines, de multiples niveaux d'organisation ont été reconnus - par exemple, la biologie des populations (l'étude des populations d'êtres vivants) et la biologie organismique (l'étude de l'organisme entier) ainsi que la

biologie cellulaire et la biologie moléculaire. Dans la dernière partie du XXe siècle, la biologie moléculaire a donné naissance à d'autres disciplines, et l'avènement de la génomique a conduit à l'émergence de sous-disciplines sophistiquées, telles que la génomique du développement et la génomique fonctionnelle. La génétique a continué à se développer, donnant naissance à de nouveaux domaines tels que la génétique de la conservation. Toutefois, malgré leur diversité, au XXIe siècle, de nombreux domaines des sciences biologiques continuent de s'appuyer sur des idées et des principes unificateurs communs, notamment ceux qui sont au cœur de la taxonomie, de la génétique et de l'évolution.

Susan Heyner Joshi Edna R. Green Kara Rogers.

Évolution des valeurs sociales et scientifiques

Aux 20e et 21e siècles, le rôle des biologistes dans la société ainsi que leur responsabilité morale et éthique dans la découverte et le développement de nouvelles idées ont conduit à une réévaluation des systèmes de valeurs sociales et scientifiques individuels. Les scientifiques ne peuvent se permettre d'ignorer les conséquences de leurs découvertes ; ils se préoccupent autant des utilisations abusives possibles de leurs résultats que de la recherche fondamentale à laquelle ils participent. Au 20e siècle, le rôle social et politique émergent du biologiste et de tous les autres scientifiques a nécessité une pesée des valeurs qui ne pouvait être effectuée avec la précision ou l'objectivité d'une balance de

laboratoire. En tant que membres de la société, les biologistes ont dû redéfinir leurs obligations et leurs fonctions sociales, en particulier lorsqu'il s'agissait de porter des jugements sur des problèmes éthiques, tels que le contrôle de l'environnement par l'homme ou la manipulation des gènes pour orienter le développement de l'évolution.

Faire face aux problèmes de l'avenir

Le développement du génie génétique a eu une conséquence particulière dans les sciences biologiques. Dans les cas de déficiences génétiques et de maladies, le génie génétique a ouvert la possibilité de corriger les défauts des gènes pour rétablir la fonction physiologique, ce qui pourrait améliorer la qualité de vie des patients. La thérapie génique, qui consiste à introduire un gène normal dans le génome d'un individu afin de réparer une mutation pathologique, était l'un des moyens par lesquels les chercheurs pouvaient potentiellement atteindre cet objectif. Cependant, les possibilités d'utilisation abusive du génie génétique sont vastes. Par exemple, les organismes génétiquement modifiés, en particulier les cultures modifiées, et leur impact sur la santé humaine et environnementale suscitent de vives inquiétudes. L'émergence des technologies de clonage, notamment le transfert de noyaux de cellules somatiques, a également suscité des inquiétudes. La Déclaration sur le clonage des êtres humains adoptée en 2005 par

les Nations unies appelle les États membres à interdire le clonage des êtres humains, tout en laissant ouverte la possibilité de procéder à des clonages thérapeutiques.

De même, en 2015, les chercheurs qui avaient mis au point des technologies d'édition de gènes, permettant aux scientifiques de personnaliser le patrimoine génétique d'un organisme en modifiant des bases spécifiques dans sa séquence d'ADN, ont appelé à un moratoire sur l'application de ces technologies chez l'homme. Les impacts de l'édition de gènes sur la génétique humaine étaient inconnus, et il n'existait aucune réglementation pour guider son utilisation. En effet, en l'absence de réglementation stricte, un scientifique chinois est allé de l'avant avec l'édition de gènes chez l'homme, revendiquant fin 2018 la naissance des premiers bébés au monde portant des génomes édités. Le scientifique a affirmé avoir modifié des embryons humains pour désactiver un gène qui facilite normalement l'entrée du VIH dans les cellules ; les embryons ont ensuite été implantés chez une femme et portés à terme. Pendant ce temps, des chercheurs aux États-Unis ont tenté d'utiliser l'édition de gènes pour modifier des gènes dans le sperme humain, ce qui permettrait de transmettre les gènes modifiés aux générations suivantes. Les chercheurs ont notamment cherché à modifier les gènes qui augmentent le risque de certains types de cancer, dans le but de réduire le risque de cancer dans la descendance. Le débat sur l'édition de gènes a relancé les discussions antérieures sur les

impacts éthiques et sociaux du génie génétique chez l'homme, en particulier sur son potentiel à être utilisé pour modifier des traits tels que l'intelligence et l'apparence.

Parmi les autres défis auxquels sont confrontés les biologistes figure la recherche de moyens de réduire la pollution de l'environnement sans interférer avec les efforts visant à améliorer la qualité de vie de l'humanité. Au problème de la pollution s'ajoute celui de l'excédent de population humaine. L'augmentation de la population mondiale a entraîné une plus grande pression sur les terres, en particulier dans le domaine de la production alimentaire, et a nécessité une augmentation des activités de l'industrie moderne, dont les déchets contribuent à la pollution de l'air, de l'eau et du sol. Pour trouver des solutions au réchauffement de la planète, à la pollution et à d'autres problèmes environnementaux, les biologistes ont travaillé avec des spécialistes des sciences sociales et d'autres membres de la société afin de déterminer les exigences nécessaires au maintien d'une planète saine et productive. En effet, bien que de nombreux problèmes actuels et futurs de l'humanité puissent sembler être essentiellement de nature sociale, politique ou économique, ils ont des ramifications biologiques qui pourraient affecter l'existence même de la vie.

1-1 Types de cellules

Cellules

La théorie cellulaire affirme que les cellules sont les unités fondamentales de la vie, que tous les êtres vivants sont composés d'une ou plusieurs cellules et que toutes les cellules proviennent de cellules préexistantes par division cellulaire. La plupart des cellules sont très petites, avec des diamètres allant de 1 à 100 micromètres, et ne sont donc visibles qu'au microscope optique ou électronique. Il existe généralement deux types de cellules : les cellules eucaryotes, qui contiennent un noyau, et les cellules procaryotes, qui n'en contiennent pas. Les procaryotes sont des organismes unicellulaires tels que les bactéries, tandis que les eucaryotes peuvent être unicellulaires ou multicellulaires. Dans les organismes multicellulaires, chaque cellule du corps de l'organisme est dérivée d'une cellule unique dans un œuf fécondé.

Structure cellulaire

Chaque cellule est enfermée dans une membrane cellulaire qui sépare son cytoplasme de l'espace extracellulaire. Une membrane cellulaire est constituée d'une bicouche lipidique, comprenant des cholestérols qui se logent entre les phospholipides pour maintenir leur fluidité à différentes températures. Les membranes cellulaires sont semi-perméables, ce qui permet aux petites molécules telles que l'oxygène, le dioxyde de carbone et l'eau de passer, tout en limitant le mouvement des plus grosses molécules et des particules

chargées telles que les ions. Les membranes cellulaires contiennent également des protéines membranaires, notamment des protéines membranaires intégrales qui traversent la membrane en servant de transporteurs membranaires, et des protéines périphériques qui se fixent de manière lâche sur le côté extérieur de la membrane cellulaire, agissant comme des enzymes façonnant la cellule. Les membranes cellulaires sont impliquées dans divers processus cellulaires tels que l'adhésion cellulaire, le stockage de l'énergie électrique et la signalisation cellulaire, et servent de surface d'attache pour plusieurs structures extracellulaires telles que la paroi cellulaire, le glycocalyx et le cytosquelette.

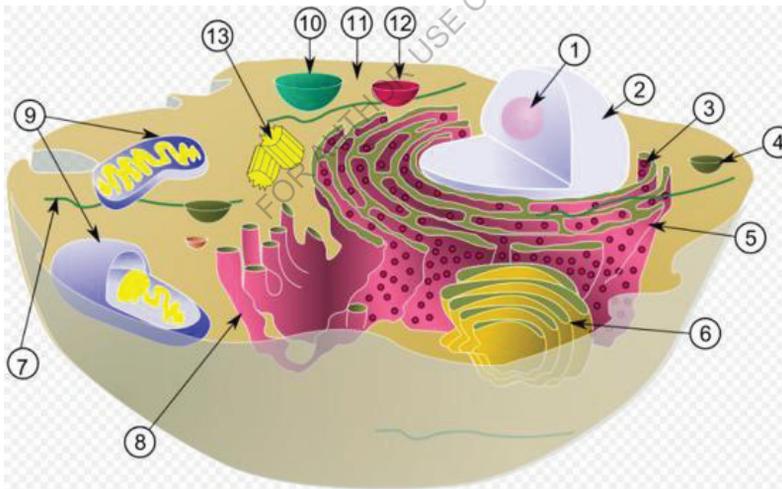


Figure (11) : Structure cellulaire.

Dans le cytoplasme d'une cellule, on trouve de nombreuses biomolécules telles que des protéines et des acides nucléiques.^[46]

En plus des biomolécules, les cellules eucaryotes possèdent des structures spécialisées appelées organelles qui possèdent leurs propres bicouches lipidiques ou sont des unités spatiales. Ces organites comprennent le noyau cellulaire, qui contient l'information génétique d'une cellule, ou la mitochondrie, qui produit de l'adénosine triphosphate (ATP) pour alimenter les processus cellulaires. D'autres organites, comme le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, jouent un rôle dans la synthèse et l'emballage des protéines, respectivement. Les biomolécules telles que les protéines peuvent être englouties par les lysosomes, un autre organite spécialisé. Les cellules végétales possèdent des organites supplémentaires qui les distinguent des cellules animales, comme la paroi cellulaire, les chloroplastes et la vacuole.

Métabolisme

Toutes les cellules ont besoin d'énergie pour maintenir les processus cellulaires. L'énergie est la capacité d'effectuer un travail qui, en thermodynamique, peut être calculé à l'aide de l'énergie libre de Gibbs. Selon la première loi de la thermodynamique, l'énergie est conservée, c'est-à-dire qu'elle ne peut être ni créée ni détruite. Par conséquent, les réactions chimiques dans une cellule ne créent pas de nouvelle énergie, mais sont plutôt impliquées dans la transformation et le transfert d'énergie. Néanmoins, tous les

transferts d'énergie entraînent une certaine perte d'énergie utilisable, ce qui augmente l'entropie (ou état de désordre), comme le stipule la deuxième loi de la thermodynamique. Par conséquent, un organisme a besoin d'un apport continu d'énergie pour maintenir un faible niveau d'entropie. Dans les cellules, l'énergie peut être transférée sous forme d'électrons pendant les réactions d'oxydoréduction (réduction-oxydation), stockée dans des liaisons covalentes et générée par le mouvement des ions (par exemple, hydrogène, sodium, potassium) à travers une membrane.

Le métabolisme est l'ensemble des réactions chimiques qui entretiennent la vie dans les organismes. Les trois principaux objectifs du métabolisme sont : la conversion des aliments en énergie pour faire fonctionner les processus cellulaires ; la conversion des aliments/carburants en éléments constitutifs des protéines, des lipides, des acides nucléiques et de certains glucides ; et l'élimination des déchets métaboliques. Ces réactions catalysées par des enzymes permettent aux organismes de croître et de se reproduire, de maintenir leurs structures et de réagir à leur environnement. Les réactions métaboliques peuvent être classées en deux catégories : cataboliques, c'est-à-dire la décomposition de composés (par exemple, la décomposition du glucose en pyruvate par la respiration cellulaire) ; ou anaboliques, c'est-à-dire la construction (synthèse) de composés (tels que les protéines, les

glucides, les lipides et les acides nucléiques). En général, le catabolisme libère de l'énergie, et l'anabolisme en consomme.

Les réactions chimiques du métabolisme sont organisées en voies métaboliques, dans lesquelles un produit chimique est transformé par une série d'étapes en un autre produit chimique, chaque étape étant facilitée par une enzyme spécifique. Les enzymes sont cruciales pour le métabolisme car elles permettent aux organismes d'entraîner des réactions souhaitables qui nécessitent de l'énergie et qui ne se produiront pas d'elles-mêmes, en les couplant à des réactions spontanées qui libèrent de l'énergie. Les enzymes agissent comme des catalyseurs, elles permettent à une réaction de se dérouler plus rapidement sans être consommée par celle-ci en réduisant la quantité d'énergie d'activation nécessaire pour convertir les réactifs en produits. Les enzymes permettent également de réguler la vitesse d'une réaction métabolique, par exemple en réponse à des changements dans l'environnement de la cellule ou à des signaux provenant d'autres cellules.

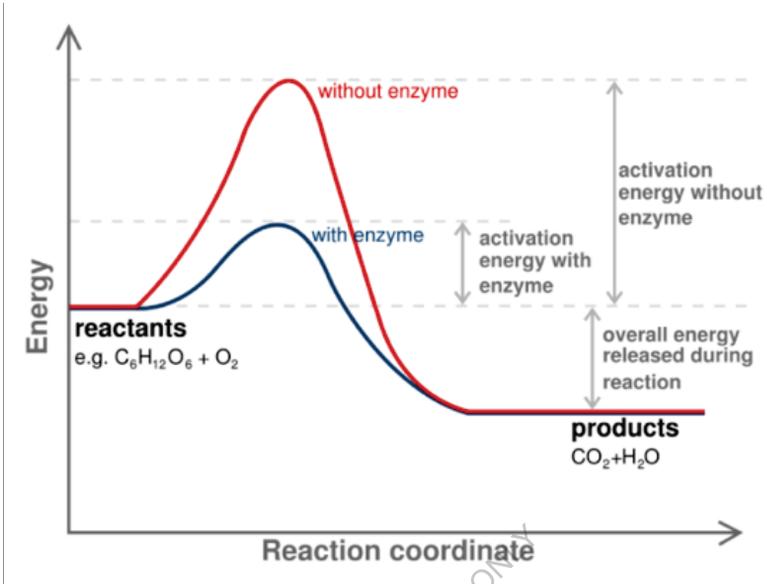


Figure (12) : Métabolisme.

La respiration cellulaire

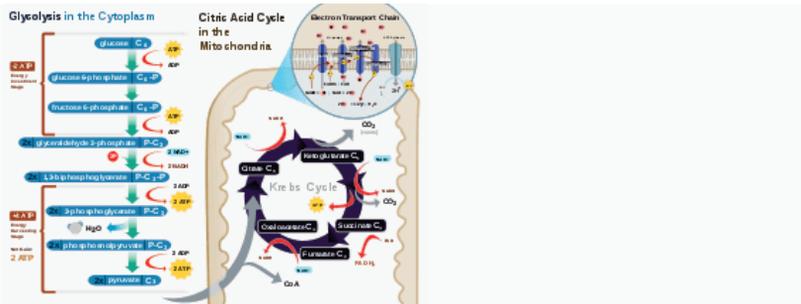


Figure (13) : Respiration dans une cellule eucaryote

La respiration cellulaire est un ensemble de réactions et de processus métaboliques qui ont lieu dans les cellules des organismes pour convertir l'énergie chimique des nutriments en adénosine triphosphate (ATP), puis libérer les déchets. Les réactions impliquées dans la respiration sont des réactions cataboliques, qui cassent les grandes molécules en plus petites, libérant de l'énergie parce que les liaisons faibles à haute énergie, en particulier dans l'oxygène moléculaire, sont remplacées par des liaisons plus fortes dans les produits. La respiration est l'un des principaux moyens par lesquels une cellule libère de l'énergie chimique pour alimenter l'activité cellulaire. La réaction globale se déroule en une série d'étapes biochimiques, dont certaines sont des réactions d'oxydoréduction. Bien que la respiration cellulaire soit techniquement une réaction de combustion, elle n'y ressemble pas du tout lorsqu'elle se produit dans une cellule, en raison de la libération lente et contrôlée de l'énergie issue de la série de réactions.

Le sucre sous forme de glucose est le principal nutriment utilisé par les cellules animales et végétales dans la respiration. La respiration cellulaire impliquant l'oxygène est appelée respiration aérobie, qui comporte quatre étapes : la glycolyse, le cycle de l'acide citrique (ou cycle de Krebs), la chaîne de transport des électrons et la phosphorylation oxydative. La glycolyse est un

processus métabolique qui se déroule dans le cytoplasme et au cours duquel le glucose est converti en deux pyruvates, avec une production simultanée de deux molécules nettes d'ATP. Chaque pyruvate est ensuite oxydé en acétyl-CoA par le complexe pyruvate déshydrogénase, qui génère également du NADH et du dioxyde de carbone. L'acétyl-Coa entre dans le cycle de l'acide citrique, qui se déroule à l'intérieur de la matrice mitochondriale. À la fin du cycle, le rendement total d'un glucose (ou de deux pyruvates) est de 6 NADH, 2 FADH₂ et 2 molécules d'ATP. Enfin, l'étape suivante est la phosphorylation oxydative, qui, chez les eucaryotes, se produit dans les cristaux mitochondriaux. La phosphorylation oxydative comprend la chaîne de transport des électrons, qui est une série de quatre complexes protéiques qui transfèrent les électrons d'un complexe à l'autre, libérant ainsi l'énergie du NADH et du FADH₂ qui est couplée au pompage des protons (ions hydrogène) à travers la membrane mitochondriale interne (chimiosmose), ce qui génère une force motrice protonique.^[50] L'énergie de la force motrice des protons pousse l'enzyme ATP synthase à synthétiser davantage d'ATP en phosphorylant les ADP. Le transfert d'électrons se termine par l'oxygène moléculaire, qui est le dernier accepteur d'électrons.

En l'absence d'oxygène, le pyruvate ne serait pas métabolisé par la respiration cellulaire mais subirait un processus de fermentation. Le pyruvate n'est pas transporté dans la mitochondrie mais reste

dans le cytoplasme, où il est transformé en déchets qui peuvent être éliminés de la cellule. L'objectif est d'oxyder les transporteurs d'électrons afin qu'ils puissent à nouveau effectuer la glycolyse et d'éliminer l'excès de pyruvate. La fermentation oxyde le NADH en NAD^+ afin qu'il puisse être réutilisé dans la glycolyse. En l'absence d'oxygène, la fermentation empêche l'accumulation de NADH dans le cytoplasme et fournit du NAD^+ pour la glycolyse. Ce déchet varie en fonction de l'organisme. Dans les muscles squelettiques, le déchet est l'acide lactique. Ce type de fermentation est appelé fermentation lactique. Lors d'un exercice intense, lorsque les demandes énergétiques dépassent l'apport énergétique, la chaîne respiratoire ne peut pas traiter tous les atomes d'hydrogène réunis par le NADH. Au cours de la glycolyse anaérobie, le NAD^+ se régénère lorsque les paires d'hydrogène se combinent au pyruvate pour former du lactate. La formation de lactate est catalysée par la lactate déshydrogénase dans une réaction réversible. Le lactate peut également être utilisé comme précurseur indirect du glycogène hépatique. Pendant la récupération, lorsque l'oxygène devient disponible, le NAD^+ se fixe à l'hydrogène du lactate pour former de l'ATP. Chez la levure, les déchets sont l'éthanol et le dioxyde de carbone. Ce type de fermentation est connu sous le nom de fermentation alcoolique ou éthanolique. L'ATP généré dans ce processus est fabriqué par phosphorylation au niveau du substrat, qui ne nécessite pas d'oxygène.

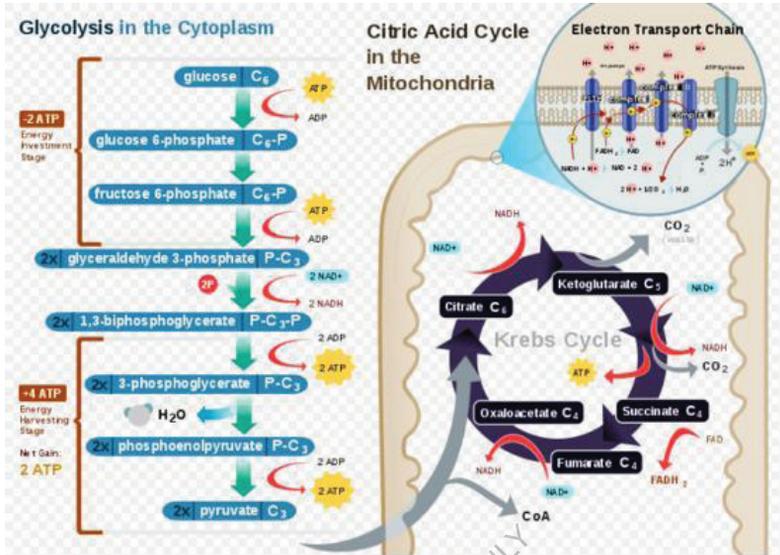


Figure (14) : La respiration dans une cellule eucaryote.

Signalisation cellulaire

La communication cellulaire (ou signalisation) est la capacité des cellules à recevoir, traiter et transmettre des signaux avec leur environnement et avec elles-mêmes. Les signaux peuvent être non chimiques, comme la lumière, les impulsions électriques et la chaleur, ou des signaux chimiques (ou ligands) qui interagissent avec des récepteurs, qui peuvent être intégrés dans la membrane cellulaire d'une autre cellule ou situés au plus profond d'une cellule. Il existe généralement quatre types de signaux chimiques : autocrine, paracrine, juxtacrine et hormones.^[58] Dans le cas de la

signalisation autocrine, le ligand affecte la même cellule qui le libère. Les cellules tumorales, par exemple, peuvent se reproduire de manière incontrôlée parce qu'elles libèrent des signaux qui déclenchent leur propre autodivision. Dans la signalisation paracrine, le ligand se diffuse vers les cellules voisines et les affecte. Par exemple, les cellules du cerveau appelées neurones libèrent des ligands appelés neurotransmetteurs qui se diffusent à travers une fente synaptique pour se lier à un récepteur sur une cellule adjacente, comme un autre neurone ou une cellule musculaire. Dans le cas de la signalisation juxtacrine, il y a un contact direct entre les cellules qui signalent et celles qui répondent. Enfin, les hormones sont des ligands qui voyagent à travers les systèmes circulatoires des animaux ou les systèmes vasculaires des plantes pour atteindre leurs cellules cibles. Une fois qu'un ligand se lie à un récepteur, il peut influencer le comportement d'une autre cellule, en fonction du type de récepteur. Par exemple, les neurotransmetteurs qui se lient à un récepteur inotrope peuvent modifier l'excitabilité d'une cellule cible. Parmi les autres types de récepteurs, on trouve les récepteurs de la protéine kinase, par exemple le récepteur de l'hormone insuline, et les récepteurs couplés à la protéine G. L'activation des récepteurs couplés à la protéine G se fait par l'intermédiaire d'un récepteur de l'insuline. L'activation des récepteurs couplés aux protéines G peut déclencher des cascades de seconds messagers. Le processus par lequel un signal chimique ou physique est transmis à travers une

cellule sous la forme d'une série d'événements moléculaires est appelé transduction du signal.

Cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est une série d'événements qui se produisent dans une cellule et qui provoquent sa division en deux cellules filles. Ces événements comprennent la duplication de son ADN et de certains de ses organites, puis la division de son cytoplasme en deux cellules filles dans un processus appelé division cellulaire. Chez les eucaryotes (c'est-à-dire les cellules animales, végétales, fongiques et protistes), il existe deux types distincts de division cellulaire : la mitose et la méiose.^[60] La mitose fait partie du cycle cellulaire, au cours duquel les chromosomes répliqués sont séparés en deux nouveaux noyaux. La division cellulaire donne naissance à des cellules génétiquement identiques dans lesquelles le nombre total de chromosomes est maintenu. En général, la mitose (division du noyau) est précédée de l'étape S de l'interphase (au cours de laquelle l'ADN est répliqué) et est souvent suivie de la télophase et de la cytokinèse, qui divise le cytoplasme, les organites et la membrane cellulaire d'une cellule en deux nouvelles cellules contenant des parts à peu près égales de ces composants cellulaires. Les différentes étapes de la mitose définissent toutes ensemble la phase mitotique du cycle cellulaire d'un animal : la division de la cellule mère en deux cellules filles génétiquement identiques.^[61] Le cycle cellulaire est un processus vital par lequel un œuf fécondé

unicellulaire se développe en un organisme mature, ainsi que le processus par lequel les cheveux, la peau, les cellules sanguines et certains organes internes sont renouvelés. Après la division cellulaire, chacune des cellules filles entame l'interphase d'un nouveau cycle. Contrairement à la mitose, la méiose donne naissance à quatre cellules filles haploïdes en subissant un cycle de réplication de l'ADN suivi de deux divisions. Les chromosomes homologues sont séparés lors de la première division (méiose I), et les chromatides sœurs sont séparées lors de la deuxième division (méiose II). Ces deux cycles de division cellulaire sont utilisés dans le processus de reproduction sexuée à un moment donné de leur cycle de vie. On pense qu'ils étaient tous deux présents chez le dernier ancêtre commun eucaryote.

Les procaryotes, par exemple les archées et les bactéries, peuvent également subir une division cellulaire (ou fission binaire). Contrairement aux processus de mitose et de méiose chez les eucaryotes, la fission binaire a lieu chez les procaryotes sans la formation d'un appareil fusiforme sur la cellule. Avant la fission binaire, l'ADN de la bactérie est étroitement enroulé. Après s'être déroulé et dupliqué, il est tiré vers les pôles séparés de la bactérie qui augmente sa taille pour se préparer à la fission. La croissance d'une nouvelle paroi cellulaire commence à séparer la bactérie (déclenchée par la polymérisation de FtsZ et la formation de l'"anneau Z"). La nouvelle paroi cellulaire (septum) se développe

complètement, ce qui entraîne la séparation complète de la bactérie. Les nouvelles cellules filles possèdent des tiges d'ADN étroitement enroulées, des ribosomes et des plasmides.

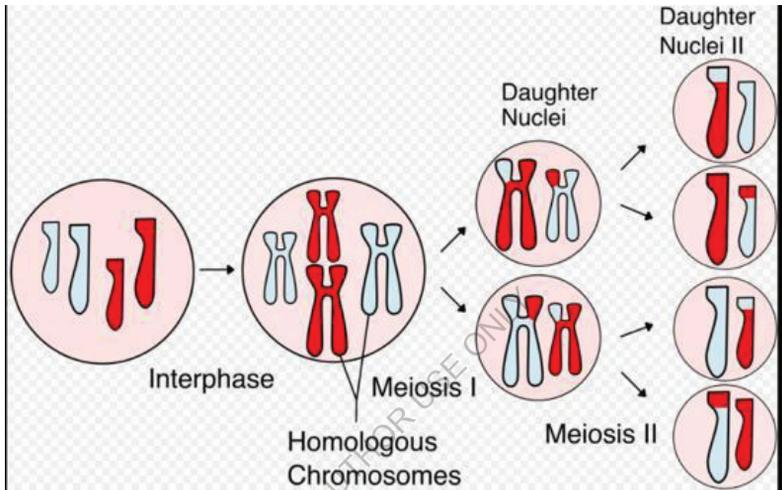


Figure (15) : Cycle cellulaire.

Au cours de la méiose, les chromosomes se dupliquent et les chromosomes homologues échangent des informations génétiques pendant la méiose I. Les cellules filles se divisent à nouveau au cours de la méiose II pour former des gamètes haploïdes.

Phylogénies

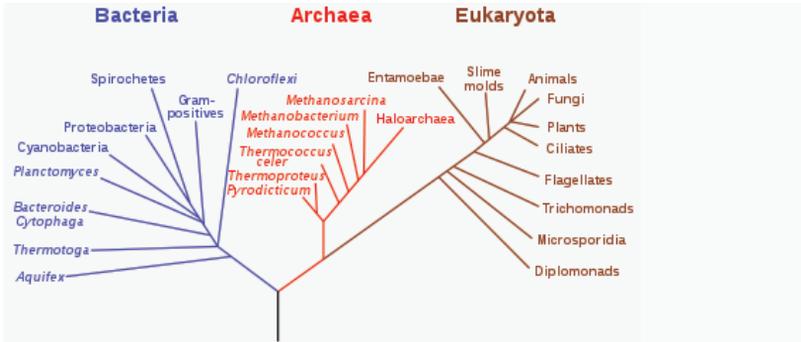


Figure (16) : Arbre phylogénétique montrant les domaines des bactéries, des archées et des eucaryotes.

Une phylogénie est l'histoire de l'évolution d'un groupe spécifique d'organismes ou de leurs gènes. Une phylogénie peut être représentée à l'aide d'un arbre phylogénétique, qui est un diagramme montrant les lignes de descendance entre les organismes ou leurs gènes. Chaque ligne tracée sur l'axe du temps d'un arbre représente une lignée de descendants d'une espèce ou d'une population particulière. Lorsqu'une lignée se divise en deux, elle est représentée par un nœud ou une division sur l'arbre phylogénétique. Plus il y a de scissions dans le temps, plus il y a de branches sur l'arbre, l'ancêtre commun de tous les organismes de cet arbre étant représenté par la racine de cet arbre. Les arbres phylogénétiques peuvent représenter l'histoire de l'évolution de toutes les formes de vie, d'un groupe évolutif majeur, par exemple les insectes, ou d'un groupe encore plus petit d'espèces étroitement liées. Dans un arbre, tout groupe d'espèces désigné par un nom est

un taxon, par exemple les humains, les primates, les mammifères ou les vertébrés, et un taxon constitué de tous ses descendants évolutifs est un clade, autrement dit un taxon monophylétique. Les espèces étroitement liées sont appelées espèces sœurs et les clades étroitement liés sont des clades sœurs. Contrairement à un groupe monophylétique, un groupe polyphylétique ne comprend pas son ancêtre commun, tandis qu'un groupe paraphylétique ne comprend pas tous les descendants d'un ancêtre commun.

Les arbres phylogénétiques sont la base de la comparaison et du regroupement de différentes espèces. Des espèces différentes qui partagent une caractéristique héritée d'un ancêtre commun sont décrites comme ayant des caractéristiques homologues. Les caractéristiques homologues peuvent être des traits héréditaires tels que la séquence d'ADN, les structures protéiques, les caractéristiques anatomiques et les comportements. La colonne vertébrale est un exemple de caractéristique homologue partagée par tous les animaux vertébrés. Les traits qui ont une forme ou une fonction similaire mais qui ne sont pas dérivés d'un ancêtre commun sont décrits comme des traits analogues. Les phylogénies peuvent être reconstituées pour un groupe d'organismes d'intérêt principal, appelé l'intergroupe. Une espèce ou un groupe étroitement apparenté à l'in-groupe mais phylogénétiquement extérieur à celui-ci est appelé l'outgroupe, qui sert de point de référence dans l'arbre. La racine de l'arbre est située entre

l'ingroupe et l'outgroupe. Lors de la reconstitution des arbres phylogénétiques, il est possible de générer plusieurs arbres avec des histoires évolutives différentes. Sur la base du principe de parcimonie (ou rasoir d'Occam), l'arbre qui est privilégié est celui qui présente le moins de changements évolutifs nécessaires pour être supposé sur tous les traits dans tous les groupes. Des algorithmes informatiques peuvent être utilisés pour déterminer comment un arbre a pu évoluer compte tenu des preuves.

La phylogénie constitue la base de la classification biologique, qui repose sur la taxonomie linnéenne développée par Carl Linnaeus au XVIII^e siècle.^[117] Ce système de classification est basé sur le rang, le rang le plus élevé étant le domaine, suivi du règne, du phylum, de la classe, de l'ordre, de la famille, du genre et de l'espèce. Tous les organismes peuvent être classés comme appartenant à l'un des trois domaines suivants : Archaea (à l'origine Archaeobacteria) ; bactéries (à l'origine eubacteria), ou eukarya (comprend les royaumes des protistes, des champignons, des plantes et des animaux). Une nomenclature binomiale est utilisée pour classer les différentes espèces. Selon ce système, chaque espèce reçoit deux noms, un pour son genre et un autre pour son espèce. Par exemple, l'homme est *Homo sapiens*, *Homo* étant le genre et *sapiens* l'espèce. Par convention, les noms scientifiques des organismes sont en italique, et seule la première lettre du genre est en majuscule.

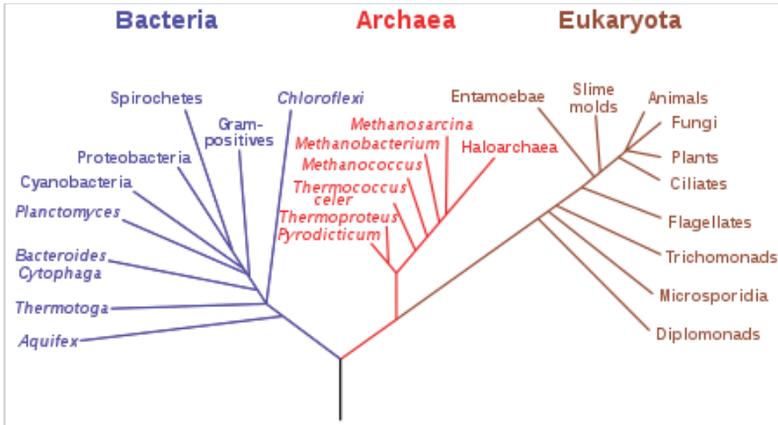


Figure (17) : Arbre phylogénétique montrant les domaines des bactéries, des archées et des eucaryotes.

A-cellule eucaryote

Une cellule eucaryote contient des organites liés à une membrane, comme un noyau, des mitochondries et un réticulum endoplasmique. Les organismes basés sur la cellule eucaryote comprennent les protozoaires, les champignons, les plantes et les animaux. Ces organismes sont regroupés dans le domaine biologique des eucaryotes. Les cellules eucaryotes sont plus grandes et plus complexes que les cellules procaryotes des domaines Archaea et Bacteria.

Une cellule eucaryote est l'un des deux types différents de cellules. Les organismes qui sont basés sur la cellule eucaryote sont appelés "eucaryotes" et comprennent les plantes, les animaux, les champignons et les protistes. Les seuls organismes qui ne sont pas basés sur la cellule eucaryote sont les organismes basés sur une structure cellulaire procaryote. Ces organismes se trouvent dans les domaines des archées et des bactéries. Il existe plusieurs différences entre une cellule eucaryote et une cellule procaryote qui peuvent vous aider à bien comprendre ce qui rend une cellule eucaryote.

Cellule eucaryote vs cellule procaryote

La différence entre une cellule eucaryote et une cellule procaryote est simple : les cellules eucaryotes possèdent des

organites liés à une membrane. Dans une cellule procaryote (comme une bactérie), l'ADN flotte simplement dans le cytoplasme. Les cellules procaryotes possèdent un type d'organite (les ribosomes), mais ces organites ne sont pas recouverts d'une membrane plasmique.

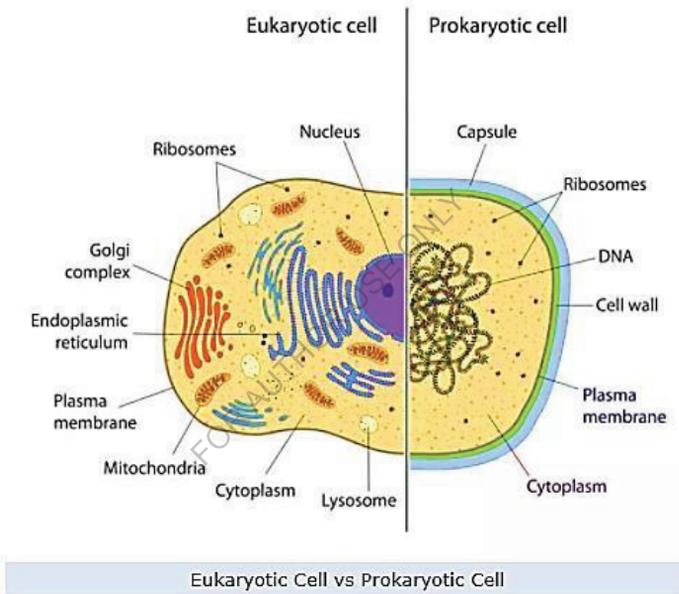


Figure (18) : Cellule eucaryote vs cellule procaryote

En revanche, les cellules eucaryotes sont pleines d'organites liés à une membrane qui divisent la cellule en de nombreux compartiments différents. Le noyau abrite l'ADN. Le réticulum endoplasmique crée de nombreuses chambres pour réaliser des réactions biochimiques spécifiques. L'appareil de Golgi plie et

emballe diverses protéines et produits cellulaires. Les lysosomes stockent les enzymes digestives pour décomposer les aliments qui arrivent. De plus, les cellules eucaryotes contiennent des mitochondries pour créer des molécules d'ATP à partir du glucose et des chloroplastes pour créer du glucose à partir de la lumière du soleil (uniquement chez les plantes et les algues).

Caractéristiques d'une cellule eucaryote

Les cellules eucaryotes contiennent une variété d'organites, qui remplissent diverses fonctions au sein de la cellule (décrites en détail ci-dessous). Tous les organites sont stabilisés et bénéficient d'un support physique grâce au cytosquelette, qui participe également à l'envoi de signaux d'une partie de la cellule à l'autre. Dans les cellules eucaryotes, le cytosquelette est composé principalement de trois types de filaments : les microtubules, les microfilaments et les filaments intermédiaires. La solution aqueuse qui entoure tous les organites de la cellule est appelée cytosol.

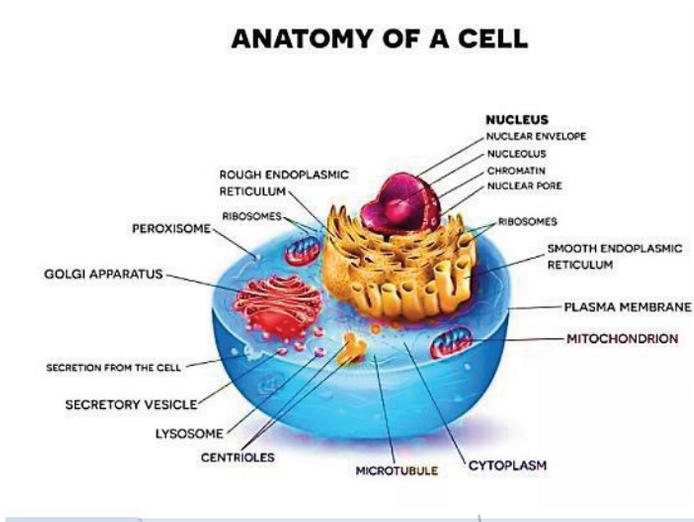


Figure (19) : Caractéristiques d'une cellule eucaryote

Le cycle cellulaire est le cycle de vie d'une cellule. Au cours de ce cycle, elle se développe et se divise. Des points de contrôle existent entre toutes les étapes afin que les protéines puissent déterminer si la cellule est prête à entamer la phase suivante du cycle.

Mitose (M)

La mitose, ou phase M, est le moment où la cellule commence à organiser son ADN dupliqué pour le séparer en deux cellules filles. Les chromosomes se séparent de façon à ce qu'un de chaque chromosome entre dans chaque cellule fille. Ainsi, les cellules filles ont des chromosomes identiques à ceux de la cellule mère. La

mitose elle-même est divisée en prophase, métaphase, anaphase et télophase. Chaque phase marque différents points dans le processus de séparation de l'ADN. La mitose est ensuite suivie d'un processus appelé cytokinèse, au cours duquel la cellule sépare ses noyaux et autres organites en vue de la division, puis se divise physiquement en deux cellules.

Cellule végétale

Les cellules végétales sont uniques parmi les cellules eucaryotes pour plusieurs raisons. Elles possèdent des parois cellulaires renforcées, relativement épaisses, faites de cellulose, qui contribuent à maintenir le soutien structurel de la plante. Chaque cellule végétale possède en son centre une grande vacuole qui lui permet de maintenir la pression de turgescence. La pression de turgescence résulte de l'eau contenue dans la vacuole centrale qui pousse vers l'extérieur sur les parois cellulaires. Les cellules végétales contiennent également des organites appelés chloroplastes qui contiennent la molécule de chlorophylle. Cette importante molécule est utilisée dans le processus de photosynthèse, qui permet aux plantes de fabriquer du sucre en utilisant l'énergie de la lumière.

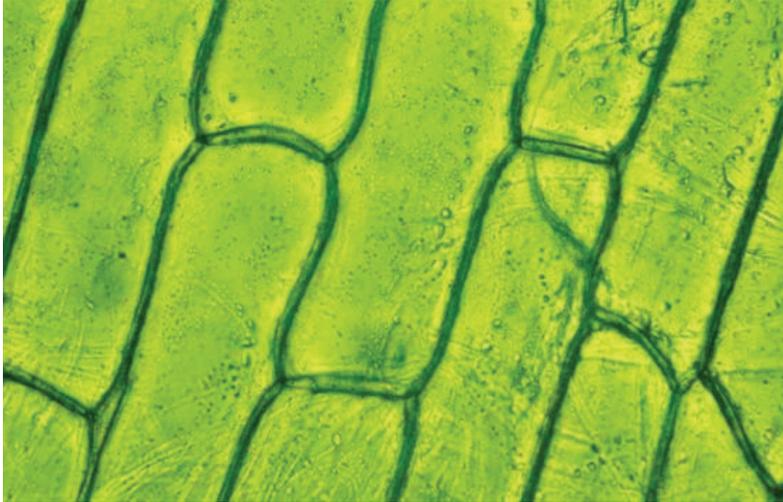


Figure (20) : Les cellules végétales sont des cellules eucaryotes.

Cellules fongiques

Comme les cellules végétales, les cellules fongiques possèdent également une paroi cellulaire, mais celle-ci est constituée de chitine (la même substance que l'on trouve dans les exosquelettes des insectes). Certains champignons ont des septa, qui sont des trous permettant aux organites et au cytoplasme de passer entre eux. Cela rend les frontières entre les différentes cellules moins claires. La plupart des champignons vivent sous terre ou dans des matières organiques en décomposition, où le réseau mycélien peut contenir des millions de cellules interconnectées.

FUNGI

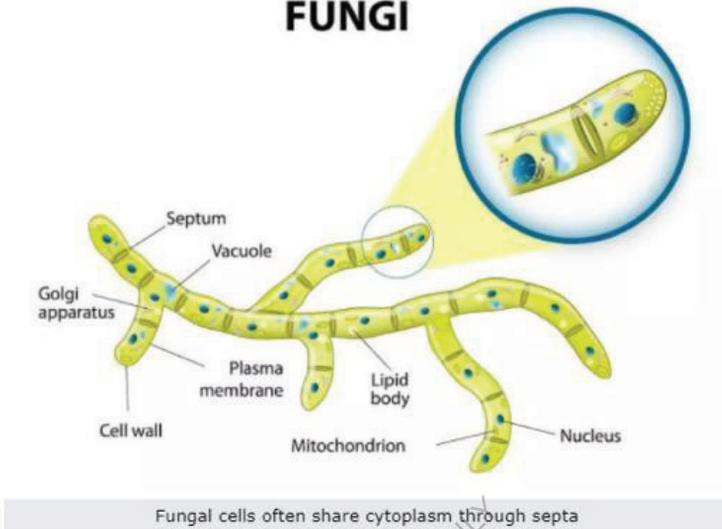


Figure (21) : Les cellules fongiques partagent souvent le cytoplasme à travers des septa.

Cellules animales

Les cellules animales n'ont pas de parois cellulaires. Au lieu de cela, elles ne possèdent qu'une membrane plasmique. L'absence de paroi cellulaire permet aux cellules animales de prendre de nombreuses formes différentes. Cela permet aux processus de phagocytose ("manger la cellule") et de pinocytose ("boire la cellule") de se produire. Les cellules animales se distinguent des cellules végétales par l'absence de chloroplastes et par la présence

de nombreuses petites vacuoles au lieu d'une grande vacuole centrale.

Protozoaires

Les protozoaires sont des organismes eucaryotes constitués d'une seule cellule. Ils peuvent se déplacer, manger d'autres petits organismes et digérer les aliments dans des vacuoles. Certains protozoaires possèdent de nombreux **cils**, de petits poils mobiles qui leur permettent de se déplacer. D'autres utilisent de grandes structures de flagelles - qui ressemblent à une grande queue - pour nager dans l'eau. Certains protistes possèdent également une fine couche appelée pellicule qui sert de support à la membrane cellulaire.



Figure (22) : Plusieurs types de protozoaires.

B- Cellule procaryote

Les procaryotes sont des micro-organismes unicellulaires connus pour être les plus anciens sur terre. Les procaryotes comprennent les bactéries et les archées. Les procaryotes photosynthétiques comprennent les cyanobactéries qui réalisent la photosynthèse.

Une cellule procaryote est constituée d'une seule membrane et, par conséquent, toutes les réactions se produisent dans le cytoplasme. Ils peuvent vivre librement ou être des parasites.

Caractéristiques de la cellule procaryote

Les cellules procaryotes présentent différentes caractéristiques. Les caractéristiques des cellules procaryotes sont mentionnées ci-dessous.

1. Ils sont dépourvus de membrane nucléaire.
2. Les mitochondries, les corps de Golgi, les chloroplastes et les lysosomes sont absents.
3. Le matériel génétique est présent sur un seul chromosome.
4. Les protéines histones, les constituants importants des chromosomes eucaryotes, leur font défaut.
5. La paroi cellulaire est constituée d'hydrates de carbone et d'acides aminés.

6. La membrane plasmique fait office de membrane mitochondriale transportant les enzymes respiratoires.
7. Ils se divisent asexuellement par fission binaire. Le mode de reproduction sexuel implique la conjugaison.

Structure des cellules procaryotes

Une cellule procaryote ne possède pas de membrane nucléaire. Cependant, le matériel génétique est présent dans une région du cytoplasme appelée nucléoïde. Elles peuvent être sphériques, en forme de bâtonnet ou en spirale. La structure d'une cellule procaryote est la suivante :

1. **Capsule** : C'est une enveloppe protectrice externe que l'on trouve dans les cellules bactériennes, en plus de la paroi cellulaire. Elle aide à la rétention de l'humidité, protège la cellule lorsqu'elle est engloutie, et aide à la fixation des cellules aux nutriments et aux surfaces.
2. **Paroi cellulaire** : C'est la couche la plus externe de la cellule qui lui donne sa forme.
3. **Cytoplasme** : Le cytoplasme est principalement composé d'enzymes, de sels, d'organelles cellulaires et est un composant semblable à un gel.
4. **Membrane cellulaire** : Cette couche entoure le cytoplasme et régule l'entrée et la sortie des substances dans les cellules.

5. **Pili** : Ce sont des excroissances en forme de poils qui se fixent à la surface d'autres cellules bactériennes.
6. **Flagelles** : Ce sont de longues structures en forme de fouet, qui aident à la locomotion d'une cellule.
7. **Ribosomes** : Ils sont impliqués dans la synthèse des protéines.
8. **Les plasmides** : Les plasmides sont des structures d'ADN non chromosomiques. Ils ne participent pas à la reproduction.
9. **Région nucléoïde** : C'est la région du cytoplasme où se trouve le matériel génétique.

Une cellule procaryote est dépourvue de certains organites comme les mitochondries, le réticulum endoplasmique et les corps de Golgi.

PROKARYOTIC CELLS

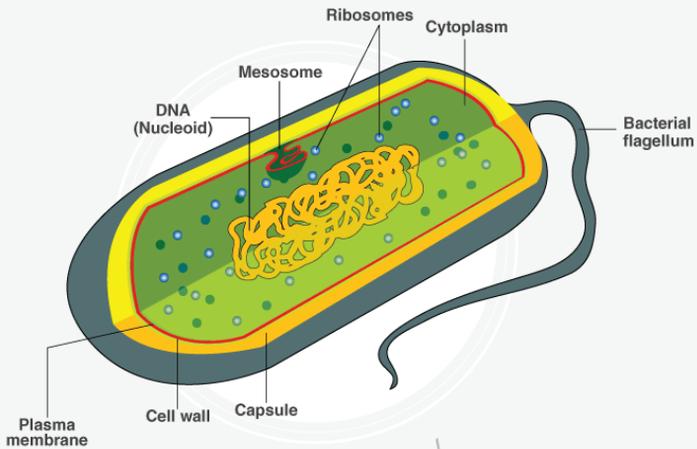


Figure (23) : Le diagramme d'une cellule procaryote illustre l'absence d'un véritable noyau.

1-2 Composants des cellules procaryotes

Les cellules procaryotes ont quatre composants principaux :

Membrane plasmique - Il s'agit d'une enveloppe protectrice extérieure constituée de molécules de phospholipides qui sépare la cellule du milieu environnant.

Cytoplasme - C'est une substance gélatineuse présente à l'intérieur de la cellule. Tous les organites de la cellule y sont suspendus.

ADN - C'est le matériel génétique de la cellule. Tous les procaryotes possèdent un ADN circulaire. Il dirige les protéines que la cellule crée. Il régule également les actions de la cellule.

Ribosomes - La synthèse des protéines a lieu ici.

Certaines cellules procaryotes possèdent des cils et des flagelles qui les aident à se déplacer.

Reproduction chez les procaryotes

Un procaryote se reproduit de deux façons :

- Asexuellement par fission binaire
- Sexuellement par conjugaison

Fission binaire

1. L'ADN d'un organisme se réplique et les nouvelles copies se fixent à la membrane cellulaire.

2. La paroi cellulaire commence à augmenter de taille et à se déplacer vers l'intérieur.
3. Une paroi cellulaire se forme alors entre chaque ADN, divisant la cellule en deux cellules filles.

Recombinaison

Dans ce processus, les gènes d'une bactérie sont transférés au génome d'une autre bactérie. Il s'effectue de trois manières : conjugaison, transformation, transduction.

- **La conjugaison** est le processus par lequel des gènes sont transférés entre deux bactéries par l'intermédiaire d'une structure tubulaire protéique appelée pilus.
- **La transformation** est le mode de reproduction sexuée dans lequel l'ADN de l'environnement est pris par la cellule bactérienne et incorporé dans son ADN.
- **La transduction** est le processus par lequel le matériel génétique est transféré dans la cellule bactérienne à l'aide de virus. Les bactériophages sont les virus qui initient ce processus.

Exemples de cellules procaryotes

Les exemples de cellules procaryotes sont mentionnés ci-dessous :

Cellules bactériennes

Ce sont des organismes unicellulaires que l'on trouve partout sur terre, du sol au corps humain. Ils ont des formes et des structures différentes. La paroi cellulaire est composée de peptidoglycane qui fournit une structure à la paroi cellulaire.

Les bactéries possèdent des structures uniques comme les pili, les flagelles et la capsule. Elles possèdent également de l'ADN extrachromosomique appelé plasmide. Elles ont la capacité de former des structures dures et dormantes, appelées endospores, qui les aident à survivre dans des conditions défavorables. Les endospores deviennent actives lorsque les conditions redeviennent favorables.

Cellules archaïques

Les archibactéries sont des organismes unicellulaires semblables aux bactéries par leur forme et leur taille. On les trouve dans des environnements extrêmes comme les sources chaudes et dans d'autres endroits comme le sol, les marais et même à l'intérieur des humains. Ils possèdent une paroi cellulaire et des flagelles. La paroi cellulaire des archées ne contient pas de peptidoglycane. Les membranes des archées ont des lipides différents avec une stéréochimie complètement différente. Tout comme les bactéries, les archées ont un chromosome circulaire. Elles possèdent également des plasmides. Pour plus d'informations sur les cellules

procaryotes, sa définition, sa structure, ses caractéristiques et des exemples, continuez à visiter le site Web de biologie de BYJU ou téléchargez l'application BYJU pour plus de références.

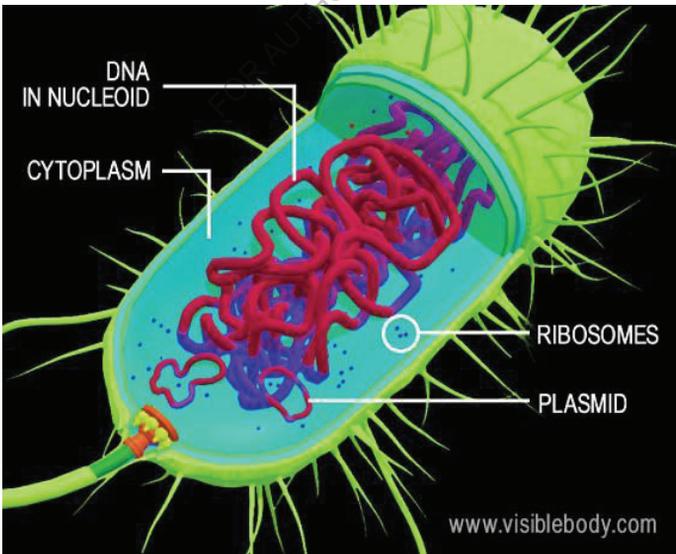
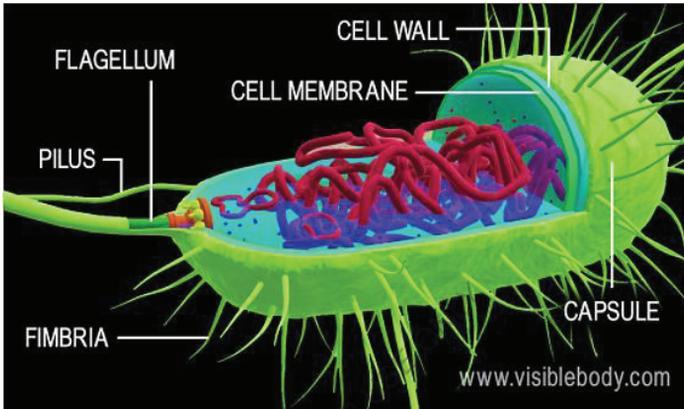


Figure (24) : Structures bactériennes.

FOR AUTHOR USE ONLY

Paroi de la cellule A

La paroi cellulaire est la paroi d'une cellule chez les plantes, les bactéries, les champignons, les algues et certaines archées. Les cellules animales n'ont pas de paroi cellulaire, pas plus que les protozoaires. Les parois cellulaires protègent les cellules contre les dommages. Elle sert également à rendre la cellule solide, à conserver sa forme et à contrôler la croissance de la cellule et de la plante.

La paroi cellulaire est la couche dure, généralement flexible mais parfois assez rigide, qui entoure certains types de cellules. Elle se trouve à l'extérieur de la membrane cellulaire et assure le soutien et la protection de ces cellules, tout en jouant le rôle de filtre. La paroi cellulaire agit également comme un récipient sous pression, empêchant la surexpansion lorsque l'eau pénètre dans la cellule par osmose.

Le matériau de la paroi cellulaire varie. Chez les plantes et les algues, la paroi cellulaire est constituée de longues molécules de cellulose, de pectine et d'hémicellulose. La paroi cellulaire comporte des canaux qui laissent entrer certaines protéines et en empêchent d'autres d'entrer. L'eau et les petites molécules peuvent traverser la paroi cellulaire et la membrane cellulaire.

La paroi cellulaire possède une résistance mécanique et soutient la forme de la cellule. Cette résistance mécanique est sa principale fonction :

Imaginez la paroi cellulaire comme un panier en osier dans lequel un ballon a été gonflé de manière à exercer une pression de l'intérieur. Un tel panier est très rigide et résistant aux dommages mécaniques. Ainsi, les cellules [des organismes] qui ont une paroi cellulaire) acquièrent leur force grâce à une membrane plasmique flexible qui exerce une pression sur une paroi cellulaire rigide".

Bien que la paroi cellulaire des plantes soit solide, elle n'est pas rigide ou raide. La flexibilité des parois cellulaires est visible lorsque les plantes se flétrissent, de sorte que les tiges et les feuilles commencent à s'affaisser.

Certaines plantes ajoutent un matériau raidisseur à certaines de leurs parois cellulaires. Une paroi cellulaire *secondaire* est une couche supplémentaire de cellulose qui augmente la rigidité de la paroi. On peut ajouter d'autres couches contenant de la lignine dans les parois cellulaires du xylème, ou contenant de la subérine dans les parois cellulaires du liège. Ces composés sont rigides et imperméables. Ils rendent la paroi secondaire rigide. Les cellules du bois et de l'écorce des arbres possèdent toutes deux des parois secondaires. D'autres parties des plantes, comme le pétiole des feuilles, peuvent être renforcées pour résister à la pression des forces physiques.

Perméabilité

Les petites molécules, y compris les petites protéines, peuvent facilement traverser la paroi cellulaire primaire de la plante. L'eau

et le dioxyde de carbone sont distribués dans toute la plante. Le pH est un facteur important dans le transport des molécules à travers les parois cellulaires.

Paroi cellulaire bactérienne

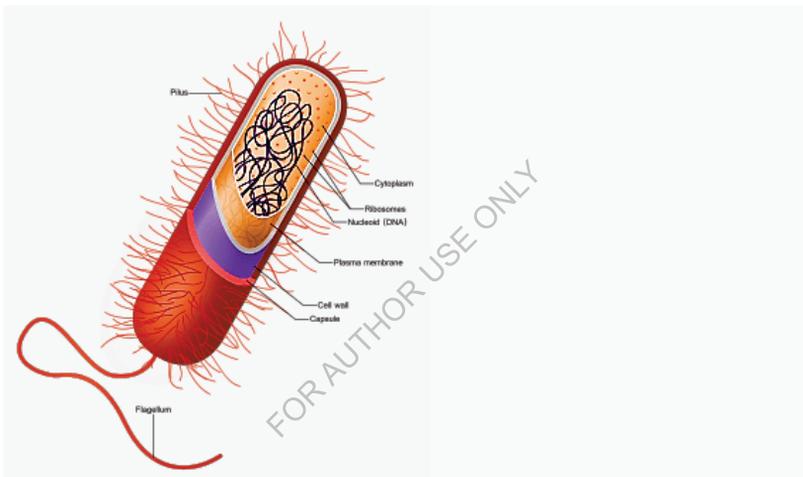


Figure (25) : Diagramme d'une bactérie Gram-positive typique.

L'enveloppe cellulaire comporte une membrane plasmique, en vert, et une paroi cellulaire épaisse contenant du peptidoglycane (la couche jaune). Il n'y a pas de membrane lipidique externe, comme c'est le cas pour les bactéries Gram-négatives. La couche rouge, la capsule, est distincte de l'enveloppe cellulaire.

Autour de l'extérieur de la membrane cellulaire se trouve la paroi cellulaire bactérienne. Les parois cellulaires bactériennes sont constituées de peptidoglycane, composé de chaînes de polysaccharides réticulées par des peptides inhabituels contenant des acides D-aminés. Les parois cellulaires bactériennes sont différentes des parois cellulaires des plantes et des champignons, qui sont respectivement constituées de cellulose et de chitine.

La paroi cellulaire des bactéries est également distincte de celle des archées, qui ne contiennent pas de peptidoglycane. La paroi cellulaire est essentielle à la survie de nombreuses bactéries. L'antibiotique pénicilline est capable de tuer les bactéries en empêchant la réticulation du peptidoglycane, ce qui affaiblit et lyse la paroi cellulaire. L'enzyme lysozyme peut également endommager les parois cellulaires des bactéries.

Lamelle moyenne

La lamelle médiane donne à la cellule sa forme, son support et sa résistance. Elle est composée de calcium et de magnésium. Même si elle est appelée lamelle *moyenne*, elle est la partie extérieure de la cellule. La lamelle moyenne est la première paroi de la cellule à offrir une protection.

Membrane des cellules animales

Les cellules animales n'ont pas de parois cellulaires. Elles ont des microfilaments (les filaments les plus fins du cytosquelette).

FOR AUTHOR USE ONLY

Noyau B

En biologie cellulaire, le **noyau** (pl. *nuclei* ; du latin *nucleus* ou *nuculeus*, signifiant *noyau* ou *graine*) est un organite lié à la membrane que l'on trouve dans les cellules eucaryotes. Les eucaryotes ont généralement un seul noyau, mais quelques types de cellules, comme les globules rouges des mammifères, n'ont pas de noyau, et quelques autres, comme les ostéoclastes, en ont plusieurs. Les principales structures qui composent le noyau sont l'enveloppe nucléaire, une double membrane qui entoure l'organite entier et isole son contenu du cytoplasme cellulaire, et la matrice nucléaire (qui comprend la lamelle nucléaire), un réseau à l'intérieur du noyau qui ajoute un support mécanique, tout comme le cytosquelette soutient la cellule dans son ensemble.

Le noyau cellulaire contient tout le génome de la cellule, à l'exception d'une petite quantité d'ADN mitochondrial et, dans les cellules végétales, d'ADN plastidial. L'ADN nucléaire est organisé en plusieurs longues molécules linéaires dans un complexe avec une grande variété de protéines, comme les histones, pour former les chromosomes. Les gènes contenus dans ces chromosomes sont structurés de manière à favoriser la fonction cellulaire. Le noyau maintient l'intégrité des gènes et contrôle les activités de la cellule en régulant l'expression des gènes, le noyau est donc le centre de contrôle de la cellule car l'enveloppe nucléaire est imperméable aux grosses molécules, les pores nucléaires sont nécessaires pour

réguler le transport nucléaire des molécules à travers l'enveloppe. Les pores traversent les deux membranes nucléaires, fournissant un canal à travers lequel les grandes molécules doivent être activement transportées par des protéines porteuses tout en permettant le libre mouvement des petites molécules et des ions. Le mouvement des grosses molécules telles que les protéines et l'ARN à travers les pores est nécessaire à l'expression des gènes et à la maintenance des chromosomes.

Bien que l'intérieur du noyau ne contienne aucun sous-compartiment lié à une membrane, son contenu n'est pas uniforme et il existe un certain nombre de corps nucléaires, composés de protéines uniques, de molécules d'ARN et de parties particulières des chromosomes. Le plus connu d'entre eux est le nucléole, qui participe principalement à l'assemblage des ribosomes. Après avoir été produits dans le nucléole, les ribosomes sont exportés vers le cytoplasme où ils traduisent l'ARN messager.

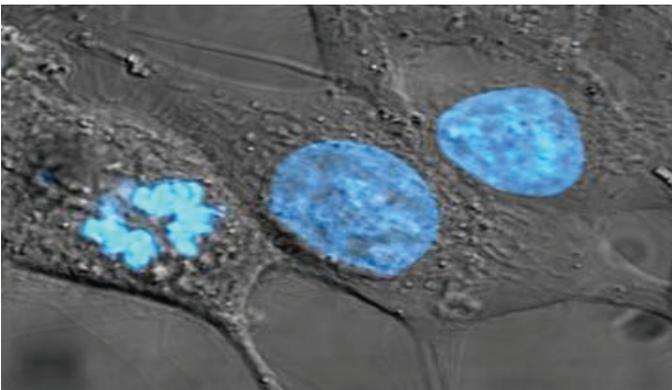


Figure (26) : Nucléus.

Le noyau contient presque tout l'ADN de la cellule, entouré d'un réseau de filaments intermédiaires fibreux et enveloppé d'une double membrane appelée "enveloppe nucléaire". L'enveloppe nucléaire sépare le fluide à l'intérieur du noyau, appelé nucléoplasme, du reste de la cellule. La taille du noyau dépend de la taille de la cellule dans laquelle il est contenu, le noyau occupant généralement environ 8 % du volume total de la cellule. Le noyau est le plus grand organe des cellules animales. Dans les cellules de mammifères, le diamètre moyen du noyau est d'environ 6 micromètres (μm).

Enveloppe nucléaire et pores

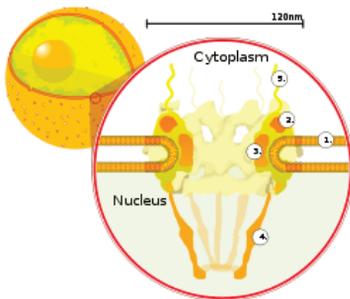


Figure (27) : Enveloppe nucléaire et pores.

Coupe transversale d'un pore nucléaire à la surface de l'enveloppe nucléaire (1). Les autres étiquettes du diagramme montrent (2) l'anneau extérieur, (3) les rayons, (4) le panier et (5) les filaments.

L'enveloppe nucléaire est constituée de deux membranes, une membrane nucléaire interne et une membrane nucléaire externe. Ensemble, ces membranes servent à séparer le matériel génétique de la cellule du reste du contenu cellulaire, et permettent au noyau de maintenir un environnement distinct du reste de la cellule. Malgré leur étroite apposition autour d'une grande partie du noyau, les deux membranes diffèrent considérablement par leur forme et leur contenu. La membrane interne entoure le contenu du noyau et en constitue le bord. Au sein de la membrane interne, diverses protéines lient les filaments intermédiaires qui donnent au noyau sa structure. La membrane externe entoure la membrane interne et est en continuité avec la membrane adjacente du réticulum endoplasmique. Faisant partie de la membrane du réticulum endoplasmique, la membrane nucléaire externe est constellée de ribosomes qui traduisent activement les protéines à travers la membrane. L'espace entre les deux membranes, appelé "espace périnucléaire", est en continuité avec la lumière du réticulum endoplasmique.

Les pores nucléaires, qui constituent des canaux aqueux à travers l'enveloppe, sont composés de plusieurs protéines, collectivement appelées nucléoporines. Les pores ont un poids moléculaire

d'environ 60 à 80 millions de daltons et sont composés d'une cinquantaine (chez la levure) à plusieurs centaines de protéines (chez les vertébrés). Les pores ont un diamètre total de 100 nm ; cependant, l'espace à travers lequel les molécules diffusent librement n'est large que d'environ 9 nm, en raison de la présence de systèmes de régulation au centre du pore. Cette taille permet le passage sélectif de petites molécules hydrosolubles tout en empêchant les grosses molécules, comme les acides nucléiques et les grosses protéines, d'entrer ou de sortir du noyau de manière inappropriée. Ces grosses molécules doivent plutôt être transportées activement dans le noyau. Le noyau d'une cellule de mammifère typique comporte environ 3 000 à 4 000 pores dans toute son enveloppe, chacun d'entre eux contenant une structure en forme d'anneau à symétrie octuple à l'endroit où les membranes interne et externe fusionnent. Une structure appelée **panier nucléaire**, qui s'étend dans le nucléoplasme, et une série d'extensions filamenteuses qui s'étendent dans le cytoplasme sont attachées à l'anneau. Ces deux structures servent à faciliter la liaison avec les protéines de transport nucléaire.

La plupart des protéines, des sous-unités ribosomiques et certains ARN sont transportés à travers les complexes de pores dans un processus médié par une famille de facteurs de transport appelés caryophérines. Les caryophérines qui interviennent dans le déplacement vers le noyau sont également appelées importines,

tandis que celles qui interviennent dans le déplacement hors du noyau sont appelées exportines. La plupart des caryophérines interagissent directement avec leur chargement, bien que certaines utilisent des protéines adaptatrices. Les hormones stéroïdiennes telles que le cortisol et l'aldostérone, ainsi que d'autres petites molécules liposolubles impliquées dans la signalisation intercellulaire, peuvent traverser la membrane cellulaire et se diffuser dans le cytoplasme, où elles se lient à des protéines réceptrices nucléaires qui sont transportées dans le noyau. Là, ils servent de facteurs de transcription lorsqu'ils sont liés à leur ligand ; en l'absence de ligand, beaucoup de ces récepteurs fonctionnent comme des histones désacétylases qui répriment l'expression génétique.

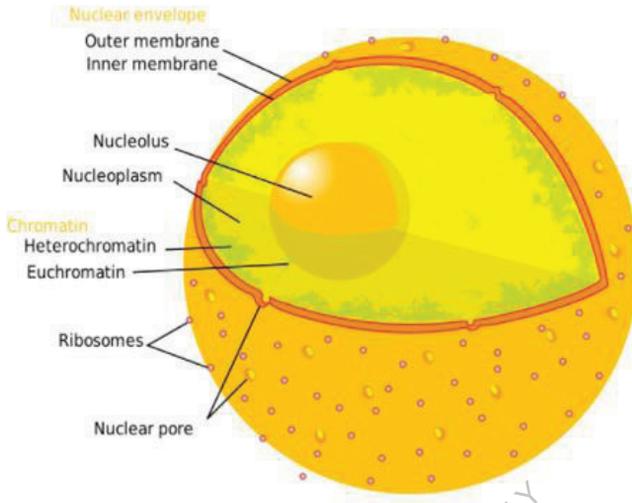


Figure (28) : Enveloppe nucléaire et pores.

Lamelle nucléaire

Dans les cellules animales, deux réseaux de filaments intermédiaires assurent le soutien mécanique du noyau : La lamina nucléaire forme un maillage organisé sur la face interne de l'enveloppe, tandis qu'un support moins organisé est fourni sur la face cytosolique de l'enveloppe. Les deux systèmes fournissent un support structurel pour l'enveloppe nucléaire et des sites d'ancrage pour les chromosomes et les pores nucléaires.

La lamina nucléaire est composée principalement de protéines laminaires. Comme toutes les protéines, les lamines sont synthétisées dans le cytoplasme puis transportées à l'intérieur du

noyau, où elles sont assemblées avant d'être incorporées au réseau existant de lamines nucléaires. Les lamines que l'on trouve sur la face cytosolique de la membrane, comme l'émerine et la nesprine, se lient au cytosquelette pour fournir un support structurel. Les lamines se trouvent également à l'intérieur du nucléoplasme où elles forment une autre structure régulière, appelée *voile nucléoplasmique*, visible par microscopie à fluorescence. La fonction réelle du voile n'est pas claire, bien qu'il soit exclu du nucléole et qu'il soit présent pendant l'interphase. Les structures laminaires qui composent le voile, comme LEM3, lient la chromatine et la perturbation de leur structure inhibe la transcription des gènes codant pour des protéines.

Comme les composants d'autres filaments intermédiaires, le monomère de lamine contient un domaine alpha-hélice utilisé par deux monomères pour s'enrouler l'un autour de l'autre, formant une structure dimère appelée bobine enroulée. Deux de ces structures dimères se joignent ensuite côte à côte, dans une disposition antiparallèle, pour former un tétramère appelé *protofilament*. Huit de ces protofilaments forment un arrangement latéral qui est torsadé pour former un *filament* en forme de rouleau. Ces filaments peuvent être assemblés ou désassemblés de manière dynamique, ce qui signifie que les changements dans la longueur du filament dépendent des taux concurrents d'ajout et de retrait des filaments.

Des mutations dans les gènes des lamines entraînant des défauts dans l'assemblage des filaments sont à l'origine d'un groupe de maladies génétiques rares appelées *laminopathies*. La laminopathie la plus notable est la famille de maladies connue sous le nom de progéria, qui provoque l'apparition d'un vieillissement prématuré chez les personnes qui en souffrent. Le mécanisme exact par lequel les changements biochimiques associés donnent lieu au phénotype âgé n'est pas bien compris.

Chromosomes

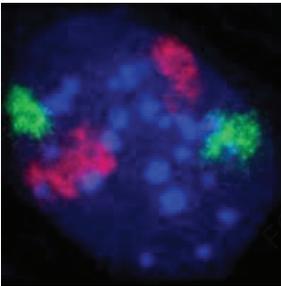


Figure (28) : Un noyau de fibroblaste de souris dans lequel l'ADN est coloré en bleu. Les territoires chromosomiques distincts du chromosome 2 (rouge) et du chromosome 9 (vert) sont colorés par hybridation in situ fluorescente.

Le noyau cellulaire contient la majorité du matériel génétique de la cellule sous la forme de multiples molécules d'ADN linéaires organisées en structures appelées chromosomes. Chaque cellule humaine contient environ deux mètres d'ADN. Pendant la majeure

partie du cycle cellulaire, ces molécules sont organisées en un complexe ADN-protéine appelé chromatine, et pendant la division cellulaire, on peut voir la chromatine former les chromosomes bien définis que l'on connaît grâce au caryotype. Une petite fraction des gènes de la cellule est située dans la mitochondrie.

Il existe deux types de chromatine. L'euchromatine est la forme d'ADN la moins compacte, et contient les gènes qui sont fréquemment exprimés par la cellule. L'autre type, l'hétérochromatine, est la forme la plus compacte, et contient l'ADN qui est rarement transcrit. Cette structure est encore catégorisée en hétérochromatine *facultative*, constituée de gènes qui ne sont organisés en hétérochromatine que dans certains types de cellules ou à certains stades de développement, et en hétérochromatine *constitutive*, constituée de composants structurels des chromosomes tels que les télomères et les centromères. Pendant l'interphase, la chromatine s'organise en plaques individuelles discrètes appelées *territoires chromosomiques*. Les gènes actifs, qui se trouvent généralement dans la région euchromatique du chromosome, ont tendance à être situés vers la limite du territoire du chromosome.

Les anticorps dirigés contre certains types d'organisation de la chromatine, en particulier les nucléosomes, ont été associés à un certain nombre de maladies auto-immunes, comme le lupus érythémateux systémique. Ils sont connus sous le nom d'anticorps

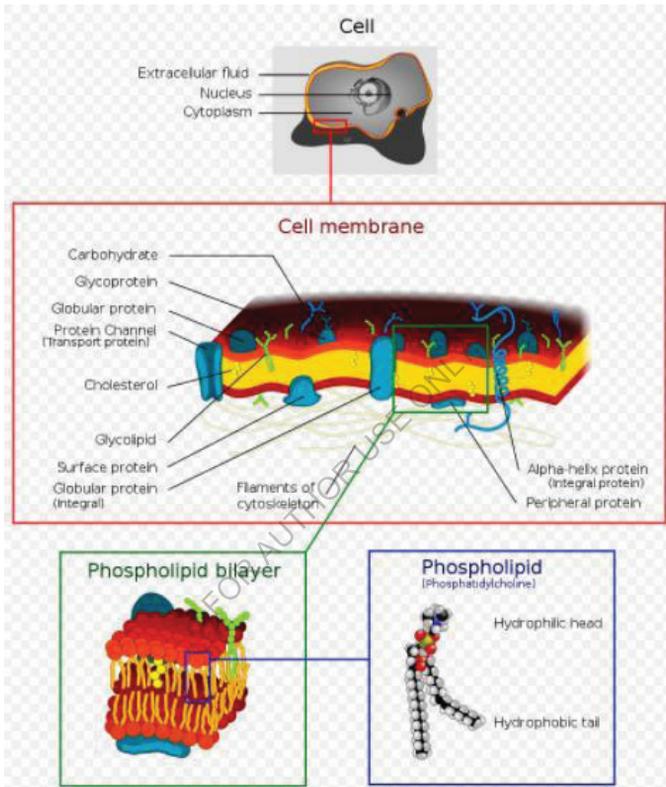
antinucléaires (ANA) et ont également été observés de concert avec la sclérose en plaques dans le cadre d'un dysfonctionnement général du système immunitaire.

FOR AUTHOR USE ONLY

Membrane des cellules C

La membrane cellulaire, également connue sous le nom de membrane plasmique (PM) ou de membrane cytoplasmique et historiquement appelée plasmalemme, est une membrane biologique qui sépare l'intérieur de toutes les cellules du milieu extérieur (l'espace extracellulaire) et qui protège la cellule de son environnement. La membrane cellulaire est constituée d'une bicouche lipidique, comprenant des cholestérols (un composant lipidique) qui se situent entre les phospholipides pour maintenir leur fluidité à différentes températures. La membrane contient également des protéines membranaires, notamment des protéines intégrales qui traversent la membrane en servant de transporteurs membranaires et des protéines périphériques qui se fixent de manière lâche sur le côté extérieur (périphérique) de la membrane cellulaire, agissant comme des enzymes façonnant la cellule. La membrane cellulaire contrôle le mouvement des substances qui entrent et sortent des cellules et des organites. Ainsi, elle est sélectivement perméable aux ions et aux molécules organiques.^[4] En outre, les membranes cellulaires sont impliquées dans divers processus cellulaires tels que l'adhésion cellulaire, la conductivité ionique et la signalisation cellulaire et servent de surface d'attache pour plusieurs structures extracellulaires, notamment la paroi cellulaire, la couche d'hydrates de carbone appelée glycocalyx et le réseau intracellulaire de fibres protéiques appelé cytosquelette.

Dans le domaine de la biologie synthétique, les membranes cellulaires peuvent être réassemblées artificiellement.



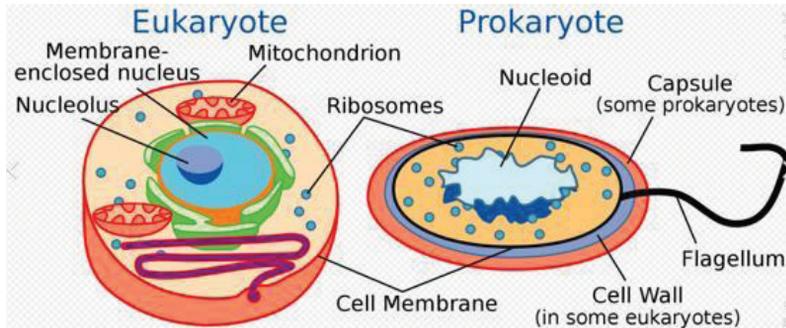


Figure (29) : Cellule eucaryote et cellule procaryote.

Composition

Les membranes cellulaires contiennent une variété de molécules biologiques, notamment des lipides et des protéines. La composition n'est pas fixe, mais change constamment en fonction de la fluidité et des modifications de l'environnement, et fluctue même au cours des différentes étapes du développement cellulaire. Plus précisément, la quantité de cholestérol dans la membrane des cellules primaires de neurones humains change, et ce changement de composition affecte la fluidité tout au long des étapes du développement.

Les matériaux sont incorporés dans la membrane, ou supprimés de celle-ci, par divers mécanismes :

- La fusion des vésicules intracellulaires avec la membrane (exocytose) permet non seulement d'excréter le contenu de la

vésicule mais aussi d'incorporer les composants de la membrane de la vésicule dans la membrane cellulaire. La membrane peut former des boursofflures autour du matériel extracellulaire qui se détachent pour devenir des vésicules (endocytose).

- Si une membrane est continue avec une structure tubulaire faite de matériau de membrane, alors le matériau du tube peut être aspiré dans la membrane en continu.
- Bien que la concentration des composants de la membrane dans la phase aqueuse soit faible (les composants stables de la membrane ont une faible solubilité dans l'eau), il existe un échange de molécules entre les phases lipidique et aqueuse.

Lipides

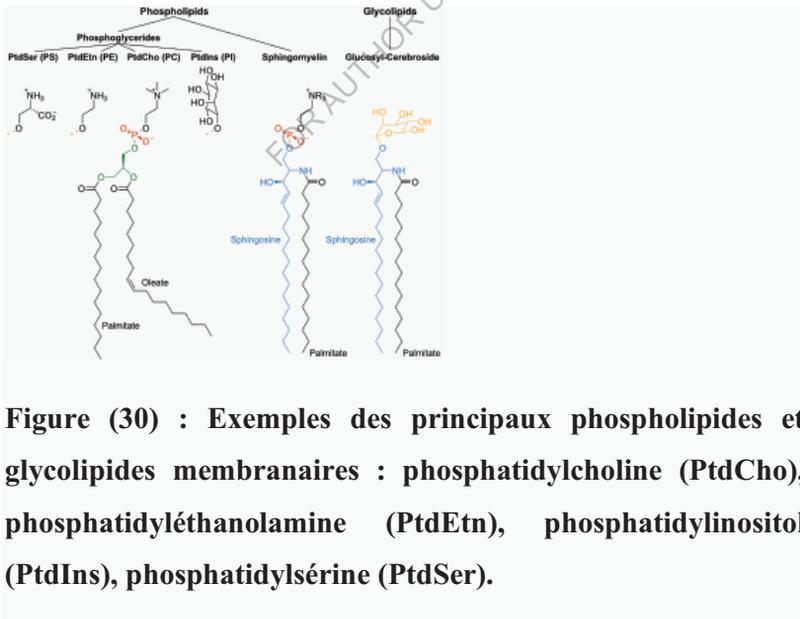


Figure (30) : Exemples des principaux phospholipides et glycolipides membranaires : phosphatidylcholine (PtdCho), phosphatidyléthanolamine (PtdEtn), phosphatidylinositol (PtdIns), phosphatidylsérine (PtdSer).

La membrane cellulaire est constituée de trois classes de lipides amphipathiques : les phospholipides, les glycolipides et les stérols. La quantité de chacun dépend du type de cellule, mais dans la majorité des cas, les phospholipides sont les plus abondants, représentant souvent plus de 50 % de tous les lipides des membranes plasmiques. Les glycolipides ne représentent qu'une infime quantité d'environ 2 % et les stérols constituent le reste. Dans les études sur les globules rouges, 30 % de la membrane plasmique est constituée de lipides. Cependant, pour la majorité des cellules eucaryotes, la composition des membranes plasmiques est d'environ la moitié des lipides et la moitié des protéines en poids.

Les chaînes grasses des phospholipides et des glycolipides contiennent habituellement un nombre pair d'atomes de carbone, généralement entre 16 et 20. Les acides gras à 16 et 18 atomes de carbone sont les plus courants. Les acides gras peuvent être saturés ou insaturés, la configuration des doubles liaisons étant presque toujours "cis". La longueur et le degré d'insaturation des chaînes d'acides gras ont un effet profond sur la fluidité de la membrane, car les lipides insaturés créent un coude, empêchant les acides gras de s'agglutiner aussi étroitement, ce qui diminue la température de fusion (et augmente la fluidité) de la membrane. La capacité de certains organismes à réguler la fluidité de leurs membranes cellulaires en modifiant la composition des lipides est appelée adaptation homéoviscale.

L'ensemble de la membrane est maintenu par une interaction non covalente des queues hydrophobes, mais la structure est assez fluide et n'est pas fixée de manière rigide. Dans des conditions physiologiques, les molécules de phospholipides de la membrane cellulaire sont à l'état de cristaux liquides. Cela signifie que les molécules lipidiques sont libres de diffuser et présentent une diffusion latérale rapide le long de la couche dans laquelle elles sont présentes. Cependant, l'échange de molécules de phospholipides entre les feuilletts intracellulaires et extracellulaires de la bicouche est un processus très lent. Les radeaux lipidiques et les cavéoles sont des exemples de microdomaines enrichis en cholestérol dans la membrane cellulaire. En outre, une fraction du lipide en contact direct avec les protéines membranaires intégrales, qui est étroitement liée à la surface de la protéine, est appelée enveloppe lipidique annulaire ; elle se comporte comme une partie du complexe protéique.

Dans les cellules animales, le cholestérol est normalement dispersé à des degrés divers dans les membranes cellulaires, dans les espaces irréguliers entre les queues hydrophobes des lipides membranaires, où il confère un effet de rigidité et de renforcement de la membrane. En outre, la quantité de cholestérol dans les membranes biologiques varie selon les organismes, les types de cellules et même les cellules individuelles. Le cholestérol, un composant majeur des membranes plasmiques animales, régule

la fluidité de la membrane globale, ce qui signifie que le cholestérol contrôle la quantité de mouvement des différents composants de la membrane cellulaire en fonction de ses concentrations. À haute température, le cholestérol inhibe le mouvement des chaînes d'acides gras des phospholipides, ce qui entraîne une réduction de la perméabilité aux petites molécules et de la fluidité de la membrane. Le contraire est vrai pour le rôle du cholestérol à des températures plus basses. La production de cholestérol, et donc sa concentration, est régulée à la hausse (augmentée) en réponse à une température froide. À des températures froides, le cholestérol interfère avec les interactions des chaînes d'acides gras. Agissant comme un antigel, le cholestérol maintient la fluidité de la membrane. Le cholestérol est plus abondant chez les animaux de climat froid que chez ceux de climat chaud. Chez les plantes, qui sont dépourvues de cholestérol, des composés apparentés appelés stérols remplissent la même fonction que le cholestérol.

Phospholipides formant des vésicules lipidiques

Les vésicules lipidiques ou liposomes sont des poches approximativement sphériques qui sont entourées d'une bicouche lipidique. Ces structures sont utilisées en laboratoire pour étudier les effets des produits chimiques dans les cellules en délivrant ces produits directement à la cellule, ainsi que pour mieux comprendre la perméabilité de la membrane cellulaire. Les vésicules lipidiques

et les liposomes sont formés en mettant d'abord en suspension un lipide dans une solution aqueuse, puis en agitant le mélange par sonication, ce qui donne une vésicule. En mesurant le taux d'efflux de l'intérieur de la vésicule vers la solution ambiante, le chercheur peut mieux comprendre la perméabilité de la membrane. Les vésicules peuvent être formées avec des molécules et des ions à l'intérieur de la vésicule en formant la vésicule avec la molécule ou l'ion désiré présent dans la solution. Les protéines peuvent également être incorporées dans la membrane en solubilisant les protéines souhaitées en présence de détergents et en les attachant aux phospholipides dans lesquels le liposome est formé. Les chercheurs disposent ainsi d'un outil pour examiner les diverses fonctions des protéines membranaires.

Glucides

Les membranes plasmiques contiennent également des glucides, principalement des glycoprotéines, mais aussi quelques glycolipides (cérébrosides et gangliosides). Les glucides jouent un rôle important dans la reconnaissance cellule-cellule chez les eucaryotes ; ils sont situés à la surface de la cellule où ils reconnaissent les cellules hôtes et partagent des informations, les virus qui se lient aux cellules à l'aide de ces récepteurs provoquent une infection. La plupart du temps, aucune glycosylation n'a lieu sur les membranes à l'intérieur de la cellule ; la glycosylation a

plutôt lieu sur la surface extracellulaire de la membrane plasmique. Le glycocalyx est une caractéristique importante de toutes les cellules, en particulier des épithéliums à microvillosités. Des données récentes suggèrent que le glycocalyx participe à l'adhésion cellulaire, à la localisation des lymphocytes et à bien d'autres fonctions. L'avant-dernier sucre est le galactose et le sucre terminal est l'acide sialique, le squelette du sucre étant modifié dans l'appareil de Golgi. L'acide sialique porte une charge négative, fournissant une barrière externe aux particules chargées.

Protéines

La membrane cellulaire contient une grande quantité de protéines, généralement environ 50 % du volume de la membrane. Ces protéines sont importantes pour la cellule car elles sont responsables de diverses activités biologiques. Environ un tiers des gènes de la levure codent spécifiquement pour elles, et ce nombre est encore plus élevé chez les organismes multicellulaires.^[24] Les protéines membranaires sont de trois types principaux : les protéines intégrales, les protéines périphériques et les protéines à ancrage lipidique. Les protéines intégrales sont des protéines transmembranaires amphipathiques. Les protéines intégrales sont des protéines transmembranaires amphipathiques. Les canaux ioniques, les pompes à protons et les récepteurs couplés aux protéines G sont des exemples de protéines intégrales. Les canaux ioniques permettent aux ions inorganiques tels que le sodium, le

potassium, le calcium ou le chlore de diffuser le long de leur gradient électrochimique à travers la bicouche lipidique en passant par les pores hydrophiles de la membrane. Le comportement électrique des cellules, par exemple des cellules nerveuses, est contrôlé par les canaux ioniques.^[4] Les pompes à protons sont des pompes protéiques intégrées à la bicouche lipidique qui permettent aux protons de traverser la membrane en passant d'une chaîne latérale d'acides aminés à une autre. Des processus tels que le transport des électrons et la production d'ATP utilisent des pompes à protons. Un récepteur couplé à une protéine G est une chaîne polypeptidique unique qui traverse sept fois la bicouche lipidique en réponse à des molécules de signalisation, par exemple des hormones et des neurotransmetteurs. Les récepteurs couplés aux protéines G sont utilisés dans des processus tels que la signalisation intercellulaire, la régulation de la production d'AMPc et la régulation des canaux ioniques.

La membrane cellulaire, étant exposée à l'environnement extérieur, est un site important de communication entre les cellules. À ce titre, une grande variété de récepteurs protéiques et de protéines d'identification, comme les antigènes, sont présents à la surface de la membrane. Les fonctions des protéines membranaires peuvent également inclure le contact cellule-cellule, la reconnaissance de surface, le contact avec le cytosquelette, la

signalisation, l'activité enzymatique ou le transport de substances à travers la membrane.

La plupart des protéines membranaires doivent être insérées d'une manière ou d'une autre dans la membrane. Pour ce faire, une "séquence signal" d'acides aminés à l'extrémité N-terminale dirige les protéines vers le réticulum endoplasmique, qui les insère dans une bicouche lipidique. Une fois insérées, les protéines sont ensuite transportées vers leur destination finale dans des vésicules, où la vésicule fusionne avec la membrane cible.

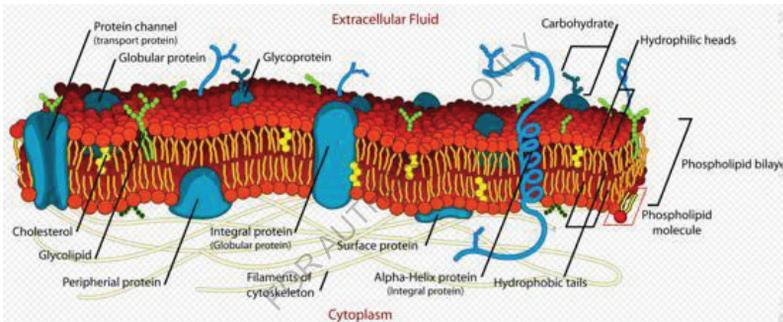


Figure (30) : Membrane plasmique.

La membrane cellulaire entoure le cytoplasme des cellules vivantes, séparant physiquement les composants intracellulaires de l'environnement extracellulaire. La membrane cellulaire joue également un rôle dans l'ancrage du cytosquelette pour donner une forme à la cellule, et dans l'attachement à la matrice extracellulaire et aux autres cellules pour les maintenir ensemble et former des tissus. Les champignons, les bactéries, la plupart des archées et les

plantes possèdent également une paroi cellulaire, qui fournit un support mécanique à la cellule et empêche le passage de plus grosses molécules.

La membrane cellulaire est sélectivement perméable et capable de réguler ce qui entre et sort de la cellule, facilitant ainsi le transport des matériaux nécessaires à la survie. Le mouvement des substances à travers la membrane peut être soit "passif", se produisant sans apport d'énergie cellulaire, soit "actif", nécessitant que la cellule dépense de l'énergie pour le transporter. La membrane maintient également le potentiel cellulaire. La membrane cellulaire fonctionne donc comme un filtre sélectif qui ne permet qu'à certaines choses d'entrer ou de sortir de la cellule. La cellule utilise un certain nombre de mécanismes de transport qui impliquent des membranes biologiques :

1. Osmose et diffusion passives : Certaines substances (petites molécules, ions) telles que le dioxyde de carbone (CO_2) et l'oxygène (O_2), peuvent traverser la membrane plasmique par diffusion, qui est un processus de transport passif. Comme la membrane agit comme une barrière pour certaines molécules et certains ions, ils peuvent se trouver à des concentrations différentes des deux côtés de la membrane. La diffusion se produit lorsque de petites molécules et des ions se déplacent librement d'une concentration élevée vers une concentration faible afin d'équilibrer la membrane. Elle est considérée comme un processus de transport

passif car elle ne nécessite pas d'énergie et est propulsée par le gradient de concentration créé par chaque côté de la membrane. Un tel gradient de concentration à travers une membrane semi-perméable crée un flux osmotique pour l'eau. L'osmose, dans les systèmes biologiques, implique qu'un solvant se déplace à travers une membrane semi-perméable de la même manière que la diffusion passive, car le solvant se déplace toujours avec le gradient de concentration et ne nécessite aucune énergie. Si l'eau est le solvant le plus courant dans les cellules, il peut également s'agir d'autres liquides ainsi que de liquides et de gaz supercritiques.

2. Les canaux et les transporteurs des protéines transmembranaires : Les protéines transmembranaires s'étendent à travers la bicouche lipidique des membranes ; elles fonctionnent des deux côtés de la membrane pour transporter des molécules à travers celle-ci. Les nutriments, tels que les sucres ou les acides aminés, doivent entrer dans la cellule, et certains produits du métabolisme doivent en sortir. Ces molécules peuvent diffuser passivement à travers des canaux protéiques tels que les aquaporines dans le cas d'une diffusion facilitée ou sont pompées à travers la membrane par des transporteurs transmembranaires. Les protéines de canaux protéiques, également appelées *perméases*, sont généralement assez spécifiques, et ne reconnaissent et ne transportent qu'une variété limitée de substances chimiques, souvent limitée à une seule substance. Un autre exemple de protéine transmembranaire

est un récepteur de surface cellulaire, qui permet aux molécules de signalisation cellulaire de communiquer entre les cellules.

3. Endocytose : L'endocytose est le processus par lequel les cellules absorbent des molécules en les engloutissant. La membrane plasmique crée une petite déformation vers l'intérieur, appelée invagination, dans laquelle la substance à transporter est capturée. Cette invagination est provoquée par des protéines situées à l'extérieur de la membrane cellulaire, qui agissent comme des récepteurs et se regroupent dans des dépressions qui favorisent l'accumulation de davantage de protéines et de lipides du côté cytosolique de la membrane. La déformation se détache alors de la membrane à l'intérieur de la cellule, créant une vésicule contenant la substance capturée. L'endocytose est une voie d'internalisation des particules solides "cell eating" ou phagocytose, des petites molécules et des ions "cell drinking" ou pinocytose et des macromolécules. L'endocytose nécessite de l'énergie et constitue donc une forme de transport actif.

4. L'exocytose : De même que du matériel peut être amené dans la cellule par invagination et formation d'une vésicule, la membrane d'une vésicule peut être fusionnée avec la membrane plasmique, extrudant son contenu vers le milieu environnant. C'est le processus d'exocytose. L'exocytose se produit dans diverses cellules pour éliminer les résidus non digérés des substances apportées par endocytose, pour sécréter des substances telles que les hormones et

les enzymes, et pour transporter une substance à travers une barrière cellulaire. Dans le processus d'exocytose, la vacuole alimentaire contenant des déchets non digérés ou la vésicule sécrétoire bourgeonnée de l'appareil de Golgi, est d'abord déplacée par le cytosquelette de l'intérieur de la cellule vers la surface. La membrane de la vésicule entre en contact avec la membrane plasmique. Les molécules lipidiques des deux bicouches se réarrangent et les deux membranes sont ainsi fusionnées. Un passage se forme dans la membrane fusionnée et la vésicule déverse son contenu à l'extérieur de la cellule.

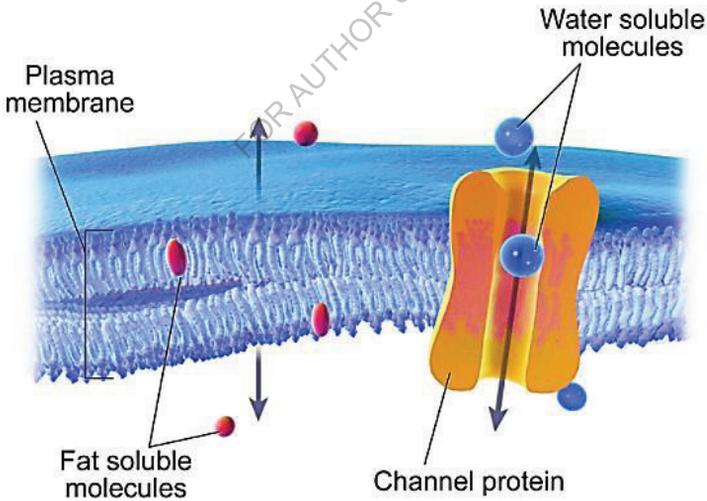


Figure (31) : Diffusion à travers la membrane plasmique.

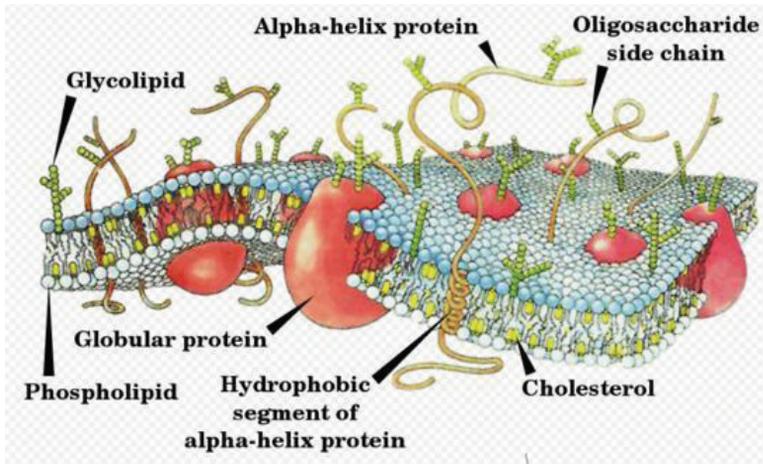


Figure (32) : Glycolipide, protéine à hélice alpha, cholestérol, segment hydrophobe de la protéine à hélice alpha et chaîne latérale oligosaccharidique de la membrane plasmique.

Structures

Modèle de mosaïque de fluides

Selon le modèle de mosaïque fluide de S. J. Singer et G. L. Nicolson (1972), qui a remplacé le modèle antérieur de Davson et Danielli, les membranes biologiques peuvent être considérées comme un liquide bidimensionnel dans lequel les molécules de lipides et de protéines diffusent plus ou moins facilement. Bien que les bicouches lipidiques qui constituent la base des membranes forment effectivement des liquides bidimensionnels par elles-

mêmes, la membrane plasmique contient également une grande quantité de protéines, qui apportent plus de structure. Les complexes protéine-protéine, les piquets et les clôtures formés par le cytosquelette à base d'actine et éventuellement les radeaux lipidiques sont des exemples de telles structures.

Bicouche lipidique

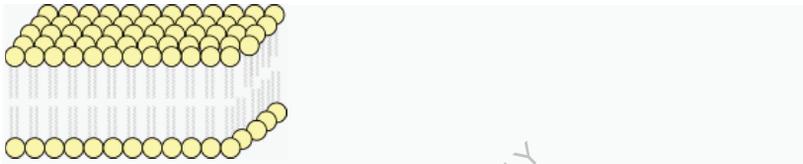


Figure (33) : Schéma de l'arrangement des molécules lipidiques amphipathiques pour former une bicouche lipidique. Les groupes polaires de tête jaunes séparent les queues hydrophobes grises des environnements aqueux cytosolique et extracellulaire.

Les bicouches lipidiques se forment par le processus d'auto-assemblage. La membrane cellulaire est principalement constituée d'une fine couche de phospholipides amphipathiques qui s'agencent spontanément de manière à ce que les régions hydrophobes de la "queue" soient isolées de l'eau environnante tandis que les régions hydrophiles de la "tête" interagissent avec les faces intracellulaires (cytosoliques) et extracellulaires de la bicouche résultante. Cela forme une bicouche lipidique sphérique et continue. Les

interactions hydrophobes (également connues sous le nom d'effet hydrophobe) sont les principales forces motrices de la formation des bicouches lipidiques. Une augmentation des interactions entre les molécules hydrophobes (provoquant un regroupement des régions hydrophobes) permet aux molécules d'eau de se lier plus librement entre elles, ce qui augmente l'entropie du système. Cette interaction complexe peut inclure des interactions non covalentes telles que les liaisons de van der Waals, les liaisons électrostatiques et les liaisons hydrogène.

Les bicouches lipidiques sont généralement imperméables aux ions et aux molécules polaires. La disposition des têtes hydrophiles et des queues hydrophobes de la bicouche lipidique empêche les solutés polaires, tels que les acides aminés, les acides nucléiques, les glucides, les protéines et les ions, de diffuser à travers la membrane, mais permet généralement la diffusion passive des molécules hydrophobes. Cela donne à la cellule la possibilité de contrôler le mouvement de ces substances par l'intermédiaire de complexes protéiques transmembranaires tels que les pores, les canaux et les portes. Les flippases et les scramblases concentrent la phosphatidyl serine, qui porte une charge négative, sur la membrane interne. Avec le NANA, cela crée une barrière supplémentaire aux entités chargées qui se déplacent à travers la membrane.

Les membranes remplissent diverses fonctions dans les cellules eucaryotes et procaryotes. L'une d'entre elles consiste à réguler le mouvement des matières qui entrent et sortent des cellules. La structure de la bicouche phospholipidique (modèle de la mosaïque fluide) avec des protéines membranaires spécifiques explique la perméabilité sélective de la membrane et les mécanismes de transport passif et actif. En outre, les membranes des procaryotes et celles des mitochondries et des chloroplastes des eucaryotes facilitent la synthèse d'ATP par chimiosmose.

Polarité de la membrane

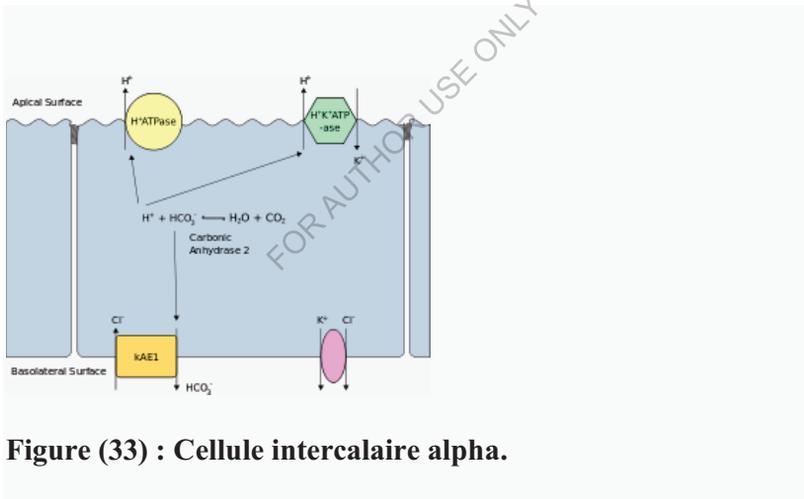


Figure (33) : Cellule intercalaire alpha.

La membrane apicale d'une cellule polarisée est la surface de la membrane plasmique qui est tournée vers l'intérieur de la lumière. Ceci est particulièrement évident dans les cellules épithéliales et endothéliales, mais décrit également d'autres cellules polarisées, comme les neurones. La membrane basolatérale d'une cellule

polarisée est la surface de la membrane plasmique qui forme ses surfaces basale et latérale. Elle est orientée vers l'extérieur, vers l'interstitium, et à l'opposé de la lumière. La membrane basolatérale est une expression composée qui renvoie aux termes "membrane basale (de base)" et "membrane latérale (de côté)" qui, en particulier dans les cellules épithéliales, sont identiques en termes de composition et d'activité. Les protéines (telles que les canaux ioniques et les pompes) sont libres de se déplacer de la surface basale à la surface latérale de la cellule ou vice versa, conformément au modèle de la mosaïque fluide. Des jonctions serrées relient les cellules épithéliales près de leur surface apicale pour empêcher la migration des protéines de la membrane basolatérale vers la membrane apicale. Les surfaces basale et latérale restent donc à peu près équivalentes l'une à l'autre, tout en étant distinctes de la surface apicale.

Structures membranaires

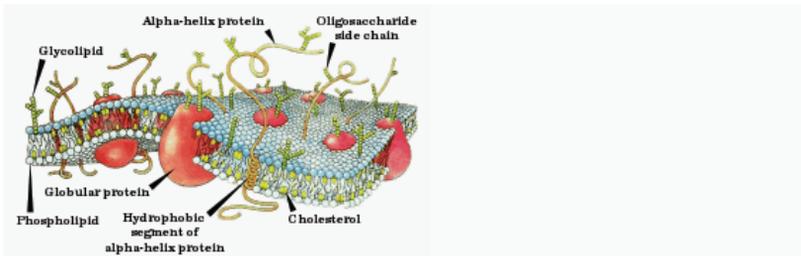


Figure (34) : Diagramme des structures de la membrane cellulaire.

La membrane cellulaire peut former différents types de structures "supramembranaires" telles que la cavéole, la densité postsynaptique, le podosome, l'invadopode, l'adhésion focale et différents types de jonctions cellulaires. Ces structures sont généralement responsables de l'adhésion cellulaire, de la communication, de l'endocytose et de l'exocytose. Elles peuvent être visualisées par microscopie électronique ou par microscopie à fluorescence. Elles sont composées de protéines spécifiques, telles que les intégrines et les cadhérines.

Cytosquelette

Le cytosquelette se trouve sous la membrane cellulaire, dans le cytoplasme, et fournit un échafaudage auquel les protéines membranaires peuvent s'ancrer, tout en formant les organites qui s'étendent à partir de la cellule. En effet, les éléments du cytosquelette interagissent largement et intimement avec la membrane cellulaire. L'ancrage des protéines les restreint à une surface cellulaire particulière - par exemple, la surface apicale des cellules épithéliales qui tapissent l'intestin des vertébrés - et limite la portée de leur diffusion dans la bicouche. Le cytosquelette est capable de former des appendices, comme les organites, tels que les cils, qui sont des extensions à base de microtubules recouvertes par la membrane cellulaire, et les filopodes, qui sont des extensions

à base d'actine. Ces prolongements sont enveloppés dans la membrane et se projettent à partir de la surface de la cellule afin de détecter l'environnement extérieur et/ou d'entrer en contact avec le substrat ou d'autres cellules. Les surfaces apicales des cellules épithéliales sont denses avec des projections en forme de doigts à base d'actine, connues sous le nom de microvillosités, qui augmentent la surface cellulaire et donc le taux d'absorption des nutriments. Le découplage localisé du cytosquelette et de la membrane cellulaire entraîne la formation d'une bulle.

Les membranes intracellulaires

Le contenu de la cellule, à l'intérieur de la membrane cellulaire, est composé de nombreux organites liés à la membrane, qui contribuent à la fonction globale de la cellule. L'origine, la structure et la fonction de chaque organite entraînent une grande variation de la composition de la cellule en raison du caractère unique associé à chaque organite.

- On considère que les mitochondries et les chloroplastes ont évolué à partir de bactéries, ce que l'on appelle la théorie endosymbiotique. Cette théorie est née de l'idée que *Paracoccus* et *Rhodospseudomonas*, des types de bactéries, partagent des fonctions similaires aux mitochondries et que les algues bleues, ou cyanobactéries, partagent des fonctions similaires aux

chloroplastes. La théorie endosymbiotique propose qu'au cours de l'évolution, une cellule eucaryote a englouti ces deux types de bactéries, ce qui a conduit à la formation de mitochondries et de chloroplastes à l'intérieur des cellules eucaryotes. Cet englobement a donné naissance aux deux systèmes membranaires de ces organites, la membrane externe provenant de la membrane plasmique de l'hôte et la membrane interne étant la membrane plasmique de l'endosymbiote. Le fait que les mitochondries et les chloroplastes contiennent tous deux leur propre ADN confirme que ces deux organites ont évolué à partir de bactéries englouties qui ont prospéré à l'intérieur d'une cellule eucaryote.

- Dans les cellules eucaryotes, la membrane nucléaire sépare le contenu du noyau du cytoplasme de la cellule. La membrane nucléaire est formée d'une membrane interne et d'une membrane externe, assurant la régulation stricte des matériaux entrant et sortant du noyau. Les matériaux se déplacent entre le cytosol et le noyau à travers les pores nucléaires de la membrane nucléaire. Si le noyau d'une cellule est plus actif dans la transcription, sa membrane aura plus de pores. La composition protéique du noyau peut être très différente de celle du cytosol, car de nombreuses protéines sont incapables de traverser les pores par diffusion. Au sein de la membrane nucléaire, la composition protéique des membranes interne et externe varie, et seule la membrane externe est en continuité avec la membrane du

réticulum endoplasmique (RE). Comme le RE, la membrane externe possède également des ribosomes responsables de la production et du transport des protéines dans l'espace entre les deux membranes. La membrane nucléaire se désassemble pendant les premiers stades de la mitose et se réassemble dans les stades ultérieurs de la mitose.

- Le RE, qui fait partie du système endomembranaire, qui constitue une très grande partie du contenu total de la membrane de la cellule. Le RE est un réseau fermé de tubules et de sacs, et ses principales fonctions sont la synthèse des protéines et le métabolisme des lipides. Il existe deux types de RE : lisse et rugueux. Le RE rugueux comporte des ribosomes qui servent à la synthèse des protéines, tandis que le RE lisse est davantage utilisé pour le traitement des toxines et la régulation du calcium dans la cellule.
- L'appareil de Golgi comporte deux citernes de Golgi rondes interconnectées. Les compartiments de l'appareil forment de multiples réseaux tubulaires-réticulaires responsables de l'organisation, de la connexion des piles et du transport des cargaisons qui présentent des vésicules filiformes continues en forme de raisin de 50 à 60 nm. L'appareil se compose de trois compartiments principaux, d'une citerne plate en forme de disque avec des réseaux tubulaires-réticulaires et des vésicules.

Variations

La membrane cellulaire a des compositions lipidiques et protéiques différentes dans les différents types de cellules et peut donc avoir des noms spécifiques pour certains types de cellules.

- Le sarcolemme dans les cellules musculaires : Le sarcolemme est le nom donné à la membrane cellulaire des cellules musculaires. Bien que le sarcolemme soit similaire aux autres membranes cellulaires, il a d'autres fonctions qui le distinguent. Par exemple, le sarcolemme transmet des signaux synaptiques, aide à générer des potentiels d'action et est très impliqué dans la contraction musculaire. Contrairement aux autres membranes cellulaires, le sarcolemme est constitué de petits canaux appelés tubules en T qui traversent la totalité des cellules musculaires. On a également constaté que l'épaisseur moyenne du sarcolemme est de 10 nm, contre 4 nm pour la membrane cellulaire générale.
- L'oolemme est la membrane cellulaire des ovocytes : L'oolemme des ovocytes (ovules immatures) ne correspond pas à une bicouche lipidique car il n'en a pas et n'est pas constitué de lipides. La structure possède plutôt une couche interne, l'enveloppe de fécondation, et l'extérieur est constitué de la couche vitelline, qui est composée de glycoprotéines ;

cependant, les canaux et les protéines sont toujours présents pour leurs fonctions dans la membrane.

- Axolemma : Membrane plasmique spécialisée située sur les axones des cellules nerveuses et responsable de la génération du potentiel d'action. Il est constitué d'une bicouche lipidique granuleuse et très dense qui travaille en étroite collaboration avec les composants du cytosquelette que sont la spectrine et l'actine. Ces composants du cytosquelette sont capables de se lier et d'interagir avec les protéines transmembranaires de l'axolemma.

Permabilité

La perméabilité d'une membrane est le taux de diffusion passive des molécules à travers la membrane. Ces molécules sont connues sous le nom de molécules perméantes. La perméabilité dépend principalement de la charge électrique et de la polarité de la molécule et, dans une moindre mesure, de la masse molaire de la molécule. En raison de la nature hydrophobe de la membrane cellulaire, les petites molécules électriquement neutres traversent la membrane plus facilement que les grosses molécules chargées. L'incapacité des molécules chargées à traverser la membrane cellulaire entraîne une répartition du pH des substances dans les compartiments liquidiens de l'organisme.

D- Organelles

En biologie cellulaire, un organe est une sous-unité spécialisée, généralement au sein d'une cellule, qui a une fonction spécifique. Le nom d'organe vient de l'idée que ces structures sont des parties de la cellule, comme les organes le sont pour le corps, d'où organelle, le suffixe -elle étant un diminutif. Les organites sont soit enfermés séparément dans leur propre bicouche lipidique (également appelés organites membranaires), soit des unités fonctionnelles spatialement distinctes sans bicouche lipidique environnante (organites non membranaires). Bien que la plupart des organites soient des unités fonctionnelles à l'intérieur des cellules, certaines unités fonctionnelles qui s'étendent à l'extérieur des cellules sont souvent appelées organites, comme les cils, le flagelle et l'archaellum, et le trichocyste.

Les organites sont identifiés par microscopie, et peuvent également être purifiés par fractionnement cellulaire. Il existe de nombreux types d'organites, en particulier dans les cellules eucaryotes. Ils comprennent les structures qui constituent le système endomembranaire interne (comme l'enveloppe nucléaire, le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi) et d'autres structures comme les mitochondries et les plastes. Si les procaryotes ne possèdent pas d'organites eucaryotes, certains contiennent des micro-compartiments bactériens à enveloppe protéique, qui agiraient comme des organites procaryotes primitifs,

et il existe également des preuves de l'existence d'autres structures membranaires. De même, le flagelle procaryote, qui fait saillie à l'extérieur de la cellule, et son moteur, ainsi que le pilus largement extracellulaire, sont souvent considérés comme des organites.

En biologie, les organes sont définis comme des unités fonctionnelles confinées dans un organisme.^[3] L'analogie entre les organes corporels et les sous-structures cellulaires microscopiques est évidente. Dès les premiers travaux, les auteurs des manuels respectifs s'étendent rarement sur la distinction entre les deux.

Dans les années 1830, Félix Dujardin réfute la théorie d'Ehrenberg selon laquelle les micro-organismes possèdent les mêmes organes que les animaux multicellulaires, mais en plus petit.

Le zoologiste allemand Karl August Möbius (1884) a été le premier à utiliser un diminutif d'organe, par exemple "petit organe" pour les structures cellulaires, en utilisant le terme organula (pluriel d'organulum, diminutif du latin organum). Dans une note de bas de page, qui a été publiée sous forme de correction dans le numéro suivant de la revue, il a justifié sa suggestion d'appeler les organes d'organismes unicellulaires "organella" puisqu'ils ne sont que des parties d'une cellule formées différemment, contrairement aux organes multicellulaires d'organismes multicellulaires.

Types

Alors que la plupart des biologistes cellulaires considèrent que le terme organite est synonyme de compartiment cellulaire, un espace souvent délimité par une ou deux bicouches lipidiques, certains biologistes cellulaires choisissent de limiter le terme pour inclure uniquement les compartiments cellulaires qui contiennent de l'acide désoxyribonucléique (ADN), provenant d'organismes microscopiques autrefois autonomes acquis par endosymbiose.

Selon cette définition, il n'y aurait que deux grandes catégories d'organites, par exemple ceux qui contiennent leur propre ADN et ceux qui proviennent de bactéries endosymbiotiques :

- les mitochondries (chez presque tous les eucaryotes)
- les plastides (par exemple, chez les plantes, les algues et certains protistes).

D'autres organites sont également suggérés comme ayant des origines endosymbiotiques, mais ils ne contiennent pas leur propre ADN.

Une deuxième définition, moins restrictive, des organites est qu'il s'agit de structures liées à une membrane. Cependant, même en utilisant cette définition, certaines parties de la cellule qui se sont avérées être des unités fonctionnelles distinctes ne sont pas considérées comme des organites. Par conséquent, l'utilisation du terme "organite" pour désigner également des structures non

membranaires telles que les ribosomes est courante et acceptée. Cela a conduit de nombreux textes à établir une distinction entre les organites liés à la membrane et les organites **non** liés à la **membrane**. Les organites non liés à la membrane, également appelés grands complexes biomoléculaires, sont de grands assemblages de macromolécules qui remplissent des fonctions particulières et spécialisées, mais ils ne sont pas liés à la membrane. Beaucoup d'entre eux sont appelés "organites protéiques" car leur structure principale est constituée de protéines. Parmi ces structures cellulaires, citons :

- grands complexes ARN et protéines : ribosome, spliceosome, voûte
- grands complexes protéiques : protéasome, holoenzyme de l'ADN polymérase III, holoenzyme de l'ARN polymérase II, capsid virale symétrique, complexe de GroEL et GroES ; complexes protéiques membranaires : porosome, photosystème I, ATP synthase.
- grands complexes d'ADN et de protéines : nucléosome
- centriole et centre d'organisation des microtubules (MTOC)
- cytosquelette
- flagelle
- nucléole
- granule de stress
- granule de cellule germinale

- granule de transport neuronal

Les mécanismes par lesquels ces organites non liés à une membrane se forment et conservent leur intégrité spatiale ont été comparés à la séparation de phases liquide-liquide.

Les cellules eucaryotes sont structurellement complexes et, par définition, elles sont organisées, en partie, par des compartiments intérieurs qui sont eux-mêmes enfermés par des membranes lipidiques qui ressemblent à la membrane cellulaire la plus externe. Les plus grands organites, tels que le noyau et les vacuoles, sont facilement visibles au microscope optique. Ils ont été parmi les premières découvertes biologiques faites après l'invention du microscope.

Toutes les cellules eucaryotes ne possèdent pas chacun des organites énumérés ci-dessous. Des organismes exceptionnels ont des cellules qui ne comprennent pas certains organites qui pourraient autrement être considérés comme universels aux eucaryotes (comme les mitochondries). Il existe également des exceptions occasionnelles quant au nombre de membranes entourant les organites, énumérées dans les tableaux ci-dessous. Par exemple, certains organites à double membrane sont parfois dotés d'une ou de trois membranes. En outre, le nombre d'organites individuels de chaque type présents dans une cellule donnée varie en fonction de la fonction de cette cellule.

Organelle	Fonction principale	Structure	Organismes	Notes
Membrane cellulaire	sépare l'intérieur de toutes les cellules de l'environnement extérieur (l'espace extracellulaire), ce qui protège la cellule de son environnement.	liquide bidimensionnel	tous les eucaryotes	
Paroi cellulaire	La paroi cellulaire est une structure rigide composée de cellulose qui donne sa forme à la cellule, aide à maintenir les organites à l'intérieur de la cellule et empêche la cellule d'éclater sous l'effet de la pression osmotique.	divers	plantes, protistes, rares organismes kleptoplastiques	
Chloroplaste (plastide)	la photosynthèse, qui capte l'énergie de la lumière du soleil	compartiment à double membrane	plantes, protistes, rares organismes kleptoplastiques	possède son propre ADN ; on pense qu'elle a été engloutie par la cellule eucaryote ancestrale (endosymbiosi).
Réticulum endoplasmique	traduction et repliement de nouvelles protéines (réticulum endoplasmique rugueux), expression des lipides (réticulum endoplasmique lisse).	compartiment à membrane unique	tous les eucaryotes	le réticulum endoplasmique rugueux est recouvert de ribosomes et présente des plis qui

				<p>sont des sacs plats ; le réticulum endoplasmique lisse présente des plis qui sont tubulaires.</p>
Flagellum	locomotion, sensorielle	protéine	certains eucaryotes	
appareil de Golgi	tri, conditionnement, transformation et modification des protéines	compartiment à membrane unique	tous les eucaryotes	<p>Face cis (convexe) la plus proche du réticulum endoplasmique rugueux ; face trans (concave) la plus éloignée du réticulum endoplasmique rugueux.</p>
Mitochondrie	la production d'énergie à partir de l'oxydation des substances de glucose et la libération d'adénosine triphosphate	compartiment à double membrane	la plupart des eucaryotes	<p>élément constitutif du chondriome ; possède son propre ADN ; on pense qu'il a été englouti par une</p>

				cellule eucaryote ancestrale (endosymbiose). ^[20]
Nucleus	Entretien de l'ADN, contrôle toutes les activités de la cellule, transcription de l'ARN.	compartiment à double membrane	tous les eucaryotes	contient l'essentiel du génome
Vacuole	stockage, transport, aide à maintenir l'homéostasie	compartiment à membrane unique	eucaryotes	

Les mitochondries et les plastes, y compris les chloroplastes, possèdent des doubles membranes et leur propre ADN. Selon la théorie endosymbiotique, ils proviendraient d'organismes procaryotes incomplètement consommés ou envahis.

Tableau (2) : Organites eucaryotes mineurs et composants cellulaires

Organelle/Macromolécule	Fonction principale	Structure	Organismes
Acrosome	aide les spermatozoïdes à fusionner avec l'ovule.	compartiment à membrane unique	la plupart des animaux
Autophagosome	vésicule qui séquestre le matériel cytoplasmique et les organites en vue de leur dégradation.	compartiment à double membrane	tous les eucaryotes

Centriole	Ancrage du cytosquelette, organise la division cellulaire en formant des fibres fusiformes.	Protéine microtubulaire	animaux
Cilium	mouvement dans ou du milieu extérieur ; "voie de signalisation critique du développement". ^[21]	Protéine microtubulaire	animaux, protistes, quelques plantes
Cnidocyste	piqûre de rappel	tubule creux enroulé	cnidaires
Appareil à taches oculaires	détecte la lumière, permettant à la phototaxie d'avoir lieu		les algues vertes et d'autres organismes photosynthétiques unicellulaires tels que les euglènes
Glycosome	effectue la glycolyse	compartiment à membrane unique	Certains protozoaires, comme les trypanosomes.
Glyoxysome	la transformation des graisses en sucres	compartiment à	plantes

		membrane unique	
Hydrogénosome	énergie et production d'hydrogène	compartiment à double membrane	quelques eucaryotes unicellulaires
Lysosome	dégradation des grosses molécules (par exemple, protéines + polysaccharides)	compartiment à membrane unique	animaux
Mélanosome	stockage des pigments	compartiment à membrane unique	animaux
Mitosome	joue probablement un rôle dans l'assemblage de l'amas fer-soufre (Fe-S)	compartiment à double membrane	Quelques eucaryotes unicellulaires dépourvus de mitochondries.
Myofibrille	contraction des myocytes	filaments groupés	animaux
Nucléolus	la production de pré-ribosomes	protéine-ADN-ARN	la plupart des eucaryotes

Ocelloïde	détecte la lumière et éventuellement les formes, permettant ainsi la phototaxie	compartiment à double membrane	membres de la famille Warnowiaceae
Parenthèse	non caractérisé	non caractérisé	champignons
Peroxisome	dégradation du peroxyde d'hydrogène métabolique	compartiment à membrane unique	tous les eucaryotes
Porosome	portail sécrétoire	compartiment à membrane unique	tous les eucaryotes
Protéasome	dégradation des protéines inutiles ou endommagées par protéolyse	très grand complexe de protéines	tous les eucaryotes, tous les archées et certaines bactéries
Ribosome (80S)	la traduction de l'ARN en protéines	ARN-protéine	tous les eucaryotes
granule de stress	stockage de l'ARNm ^[22]	sans membrane (complexes mRNP)	la plupart des eucaryotes

Domaine TIGRE	ARNm codant pour des protéines	sans membrane	la plupart des organismes
Vésicule	transport des matériaux	compartiment à membrane unique	tous les eucaryotes

Les procaryotes n'ont pas la même complexité structurale que les eucaryotes et on pensait autrefois qu'ils avaient peu d'organisation interne et qu'ils étaient dépourvus de compartiments cellulaires et de membranes internes, mais peu à peu, des détails émergent sur les structures internes des procaryotes qui renversent ces hypothèses. L'idée développée dans les années 1970 selon laquelle les bactéries pourraient contenir des replis de la membrane cellulaire appelés mésosomes a été l'une des premières fausses pistes, mais il s'est avéré par la suite qu'il s'agissait d'artefacts produits par les produits chimiques utilisés pour préparer les cellules pour la microscopie électronique.

Cependant, il existe de plus en plus de preuves de la compartimentation chez au moins certains procaryotes. Des recherches récentes ont révélé qu'au moins certains procaryotes possèdent des micro-compartiments, tels que les carboxysomes. Ces compartiments subcellulaires ont un diamètre de 100 à 200 nm et sont entourés d'une enveloppe de protéines. La description de

magnétosomes membranaires chez les bactéries, rapportée en 2006, est encore plus frappante.

Le phylum bactérien des Planctomycètes a révélé un certain nombre de caractéristiques de compartimentation. Le plan cellulaire des Planctomycètes comprend une membrane intracytoplasmique qui sépare le cytoplasme en paryphoplasme (un espace extérieur sans ribosomes) et en pirellosome (ou riboplasme, un espace intérieur contenant des ribosomes). Des anammoxosomes membranaires ont été découverts dans cinq genres de Planctomycetes "anammox", qui effectuent une oxydation anaérobie de l'ammonium. Chez l'espèce de Planctomycètes Gemmata obscuriglobus, une structure semblable à un noyau entourée de membranes lipidiques a été signalée.

La compartimentation est une caractéristique des structures photosynthétiques procaryotes. Les bactéries violettes ont des "chromatophores", qui sont des centres de réaction situés dans des invaginations de la membrane cellulaire. Les bactéries sulfureuses vertes ont des chlorosomes, qui sont des complexes d'antennes photosynthétiques liés aux membranes cellulaires. Les cyanobactéries ont des membranes thylakoïdes internes pour la photosynthèse dépendante de la lumière ; des études ont révélé que la membrane cellulaire et les membranes thylakoïdes ne sont pas continues l'une avec l'autre.

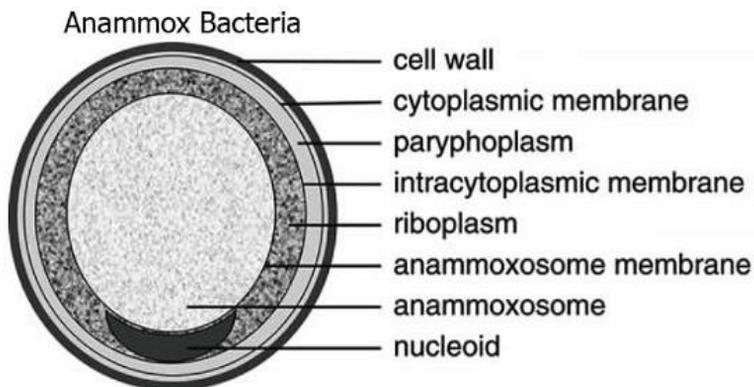


Figure (35) : Bactéries anammox.

Tableau (3) : Organites procaryotes et composants cellulaires

Organelle/ macromolécule	Fonction principale	Structure	Organismes
Anammoxosome	oxydation anaérobie de l'ammonium	ladderane membrane lipidique	Bactéries "candidates" au sein des Planctomycètes
Carboxysome	fixation du carbone	microcompartiment bactérien à enveloppe protéique	certaines bactéries
Chlorosome	photosynthèse	complexe de collecte de la lumière fixé à la membrane cellulaire	bactéries sulfureuses vertes
Flagellum	mouvement dans un milieu extérieur	filament de protéine	certaines procaryotes

Magnétosome	orientation magnétique	cristal inorganique, membrane lipidique	bactéries magnétotactiques
Nucléotide	Maintien de l'ADN, transcription en ARN	ADN-protéine	procaryotes
Pilus	Adhésion à d'autres cellules pour la conjugaison ou à un substrat solide pour créer des forces mobiles.	un appendice ressemblant à un cheveu qui sort de la membrane plasmique (mais qui y est partiellement intégré).	cellules procaryotes
Plasmide	Échange d'ADN	ADN circulaire	certaines bactéries
Ribosome (70S)	la traduction de l'ARN en protéines	ARN-protéine	les bactéries et les archées
Membranes thylakoïdes	photosynthèse	protéines et pigments du photosystème	principalement des cyanobactéries

E - Acides nucléiques

Les acides nucléiques sont des biopolymères, ou grandes biomolécules, essentiels à toutes les formes de vie connues. Ils sont composés de nucléotides, qui sont des monomères constitués de trois éléments : un sucre à 5 atomes de carbone, un groupe phosphate et une base azotée. Les deux principales classes d'acides nucléiques sont l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN). Si le sucre est le ribose, le polymère est l'ARN ; si le sucre est le dérivé ribose du désoxyribose, le polymère est l'ADN.

Les acides nucléiques sont des composés chimiques naturels qui servent de principales molécules porteuses d'informations dans les cellules et constituent le matériel génétique. Les acides nucléiques se trouvent en abondance dans tous les êtres vivants où ils créent, codent et stockent les informations de chaque cellule vivante de chaque forme de vie sur Terre. À leur tour, ils ont pour fonction de transmettre et d'exprimer ces informations à l'intérieur et à l'extérieur du noyau cellulaire, vers les opérations intérieures de la cellule et, en fin de compte, vers la génération suivante de chaque organisme vivant. L'information codée est contenue et transmise par la séquence d'acide nucléique, qui fournit l'ordre des nucléotides en "échelle" dans les molécules d'ARN et d'ADN. Ils jouent un rôle particulièrement important en dirigeant la synthèse des protéines.

Les chaînes de nucléotides sont liées pour former des squelettes hélicoïdaux - généralement un pour l'ARN, deux pour l'ADN - et assemblées en chaînes de paires de bases choisies parmi les cinq nucléobases primaires, ou canoniques, qui sont l'adénine, la cytosine, la guanine, la thymine et l'uracile. La thymine est présente uniquement dans l'ADN et l'uracile uniquement dans l'ARN. L'utilisation des acides aminés et le processus connu sous le nom de synthèse des protéines,^[1] le séquençage spécifique dans l'ADN de ces paires de nucléobases permet de stocker et de transmettre des instructions codées sous forme de gènes. Dans l'ARN, le séquençage des paires de bases permet de fabriquer de nouvelles protéines qui déterminent les cadres et les parties et la plupart des processus chimiques de toutes les formes de vie.

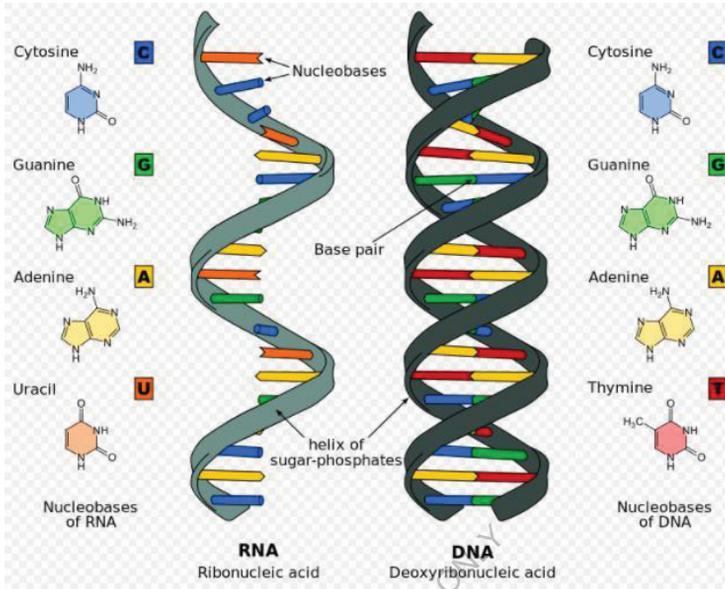


Figure (36) : Structures de l'ADN et de l'ARN.

- La nucléine a été découverte par Friedrich Miescher en 1869 à l'université de Tübingen, en Allemagne.
- Au début des années 1880, Albrecht Kossel a purifié davantage la substance et a découvert ses propriétés hautement acides. Plus tard, il a également identifié les nucléobases.
- En **1889**, Richard Altmann crée le terme "acide nucléique".
- En **1938**, Astbury et Bell ont publié le premier schéma de diffraction des rayons X de l'ADN.
- En **1944**, l'expérience Avery-MacLeod-McCarty a montré que l'ADN est le support de l'information génétique.
- En **1953**, Watson et Crick ont présenté la structure de l'ADN.

Les études expérimentales sur les acides nucléiques constituent une part importante de la recherche biologique et médicale moderne, et forment une base pour la science génomique et médico-légale, ainsi que pour les industries biotechnologiques et pharmaceutiques.

Les acides nucléiques sont généralement des molécules de très grande taille. En effet, les molécules d'ADN sont probablement les plus grandes molécules individuelles connues. La taille des molécules d'acide nucléique biologiques bien étudiées varie de 21 nucléotides (petit ARN interférent) à de grands chromosomes (le chromosome humain 1 est une molécule unique qui contient 247 millions de paires de bases).

Dans la plupart des cas, les molécules d'ADN naturelles sont à double brin et les molécules d'ARN sont à simple brin. Il existe toutefois de nombreuses exceptions : certains virus ont des génomes constitués d'ARN double brin, d'autres ont des génomes d'ADN simple brin et, dans certaines circonstances, des structures d'acide nucléique à trois ou quatre brins peuvent se former.

Les acides nucléiques sont des polymères (chaînes) linéaires de nucléotides. Chaque nucléotide est constitué de trois composants : une nucléobase purique ou pyrimidique (parfois appelée *base azotée* ou simplement *base*), un sucre pentose et un groupe phosphate qui rend la molécule acide. La sous-structure constituée d'une nucléobase et d'un sucre est appelée nucléoside. Les types d'acides nucléiques diffèrent par la structure du sucre dans leurs

nucléotides : l'ADN contient du 2'-désoxyribose tandis que l'ARN contient du ribose (la seule différence étant la présence d'un groupe hydroxyle). Les nucléobases présentes dans les deux types d'acide nucléique sont également différentes : l'adénine, la cytosine et la guanine sont présentes à la fois dans l'ARN et l'ADN, tandis que la thymine est présente dans l'ADN et l'uracile dans l'ARN.

Les sucres et les phosphates des acides nucléiques sont reliés entre eux en une chaîne alternée (squelette sucre-phosphate) par des liaisons phosphodiester. Dans la nomenclature conventionnelle, les carbones auxquels les groupes phosphates s'attachent sont les carbones 3'-end et 5'-end du sucre. Cela confère aux acides nucléiques un caractère directionnel, et les extrémités des molécules d'acide nucléique sont appelées extrémité 5' et extrémité 3'. Les nucléobases sont liées aux sucres par une liaison N-glycosidique impliquant l'azote du cycle de la nucléobase (N-1 pour les pyrimidines et N-9 pour les purines) et le carbone 1' du cycle du sucre pentose.

Les nucléosides non standard sont également présents dans l'ARN et l'ADN et proviennent généralement de la modification des nucléosides standard au sein de la molécule d'ADN ou du transcrit primaire (initial) de l'ARN. Les molécules d'ARN de transfert (ARNt) contiennent un nombre particulièrement élevé de nucléosides modifiés.

- Quelques-uns des derniers articles ont été étiquetés acides nucléiques alors qu'il ne s'agit pas vraiment d'acides nucléiques. Les acides nucléiques sont présents dans les noyaux des cellules, mais des molécules telles que les PNA ou les Morpholinos sont des analogues purement synthétiques. Elles devraient soit être étiquetées comme telles, soit être retirées de cette liste (bien que je pense qu'elles présentent un intérêt suffisant pour être conservées).
- J'ai fait une page "essayant" les analogues d'acides nucléiques pour lier les analogues, il y a beaucoup d'articles orphelins, catégorisés soit en génétique soit en biochimie (selon la discipline des auteurs ?). Est-ce qu'un "autres" serait décent pour le modèle ? Squidonium (talk) 14:58, 20 novembre 2007 (UTC) résolu.
- cpDNA (chloroplast DNA) devrait être ajouté ; cependant il n'y a pas encore de page pour lui (cpDNA redirige vers chloroplast).
- tameria (talk) 04:28, 11 Décembre 2007 (UTC)

Une molécule d'ADN ou d'ARN diffère d'une autre principalement par la séquence des nucléotides. Les séquences de nucléotides sont d'une grande importance en biologie car elles portent les instructions ultimes qui codent toutes les molécules biologiques, les assemblages moléculaires, les structures subcellulaires et cellulaires, les organes et les organismes, et permettent directement la cognition, la mémoire et le

comportement. D'énormes efforts ont été déployés pour mettre au point des méthodes expérimentales permettant de déterminer la séquence nucléotidique des molécules d'ADN et d'ARN biologiques,^{[24][25]} et aujourd'hui, des centaines de millions de nucléotides sont séquencés chaque jour dans des centres de génomique et de petits laboratoires du monde entier. Outre la maintenance de la base de données GenBank sur les séquences d'acides nucléiques, le NCBI fournit des ressources d'analyse et d'extraction pour les données de GenBank et d'autres données biologiques disponibles sur le site Web du NCBI.^[26]

Acide désoxyribonucléique

L'acide désoxyribonucléique (ADN) est un acide nucléique contenant les instructions génétiques utilisées dans le développement et le fonctionnement de tous les organismes vivants connus. Les segments d'ADN portant cette information génétique sont appelés gènes. De même, d'autres séquences d'ADN ont des fonctions structurelles ou sont impliquées dans la régulation de l'utilisation de cette information génétique. Avec l'ARN et les protéines, l'ADN est l'une des trois principales macromolécules qui sont essentielles à toutes les formes de vie connues. L'ADN est constitué de deux longs polymères d'unités simples appelées nucléotides, dont les squelettes sont constitués de sucres et de groupes phosphates reliés par des liaisons ester. Ces deux brins sont

de sens contraire l'un par rapport à l'autre et sont donc antiparallèles. Chaque sucre est lié à l'un des quatre types de molécules appelées nucléobases (ou bases). C'est la séquence de ces quatre nucléobases le long du squelette qui code l'information. Cette information est lue à l'aide du code génétique qui spécifie la séquence des acides aminés dans les protéines. Le code est lu en copiant des segments d'ADN dans l'acide nucléique correspondant, l'ARN, au cours d'un processus appelé transcription. Dans les cellules, l'ADN est organisé en longues structures appelées chromosomes. Au cours de la division cellulaire, ces chromosomes sont dupliqués dans le processus de réplication de l'ADN, fournissant à chaque cellule son propre jeu complet de chromosomes. Les organismes eucaryotes (animaux, plantes, champignons et protistes) stockent la plupart de leur ADN à l'intérieur du noyau cellulaire et une partie de leur ADN dans des organelles, comme les mitochondries ou les chloroplastes. En revanche, les procaryotes (bactéries et archées) stockent leur ADN uniquement dans le cytoplasme. À l'intérieur des chromosomes, les protéines de la chromatine, comme les histones, compactent et organisent l'ADN. Ces structures compactes guident les interactions entre l'ADN et les autres protéines, contribuant ainsi à contrôler les parties de l'ADN qui sont transcrites.

Acide ribonucléique

L'acide ribonucléique (ARN) a pour fonction de convertir les informations génétiques des gènes en séquences d'acides aminés des protéines. Les trois types universels d'ARN sont l'ARN de transfert (ARNt), l'ARN messenger (ARNm) et l'ARN ribosomal (ARNr). L'ARN messenger sert à transporter l'information de la séquence génétique entre l'ADN et les ribosomes, dirigeant la synthèse des protéines et transportant les instructions de l'ADN dans le noyau au ribosome. L'ARN ribosomal lit la séquence d'ADN et catalyse la formation des liaisons peptidiques. L'ARN de transfert sert de molécule porteuse pour les acides aminés à utiliser dans la synthèse des protéines, et est responsable du décodage de l'ARNm. En outre, de nombreuses autres classes d'ARN sont désormais connues.

Acide nucléique artificiel

Des analogues d'acides nucléiques artificiels ont été conçus et synthétisés par des chimistes, et comprennent l'acide nucléique peptidique, l'acide nucléique morpholino- et verrouillé, l'acide nucléique glycolique et l'acide nucléique thréose. Chacun d'entre eux se distingue de l'ADN ou de l'ARN naturel par des modifications du squelette des molécules.

Structures des acides nucléiques

La structure des acides nucléiques fait référence à la structure des acides nucléiques tels que l'ADN et l'ARN. Chimiquement parlant, l'ADN et l'ARN sont très similaires. La structure des acides nucléiques est souvent divisée en quatre niveaux différents : primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire.

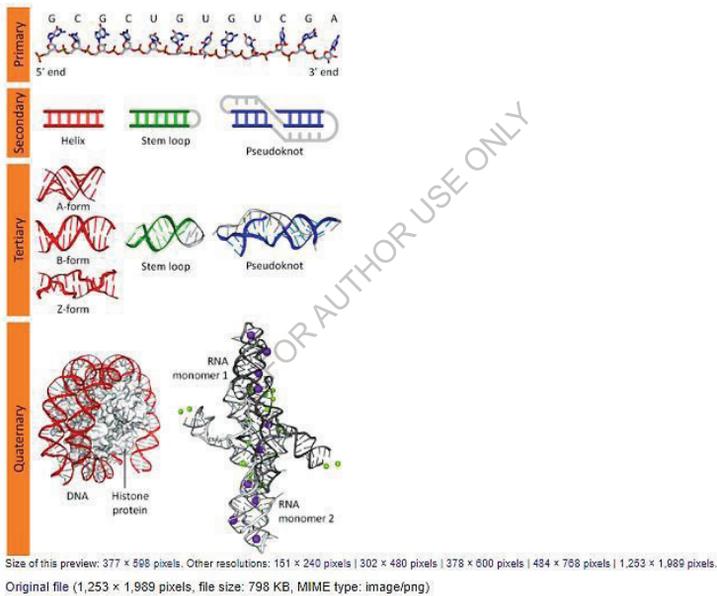


Figure (37) : La structure primaire consiste en une séquence linéaire de nucléotides.

La structure primaire consiste en une séquence linéaire de nucléotides qui sont liés entre eux par une liaison phosphodiester.

C'est cette séquence linéaire de nucléotides qui constitue la structure primaire de l'ADN ou de l'ARN. Les nucléotides sont constitués de 3 composants :

1. Base azotée

1. Adénine

2. Guanine

3. Cytosine

4. Thymine (présente uniquement dans l'ADN)

5. Uracil (présent uniquement dans l'ARN)

2. Un sucre à 5 carbones appelé désoxyribose (présent dans l'ADN) et ribose (présent dans l'ARN).

3. Un ou plusieurs groupes phosphates.^[1]

Les bases azotées adénine et guanine sont de structure purique et forment une liaison glycosidique entre leur azote 9 et le groupe 1' -OH du désoxyribose. La cytosine, la thymine et l'uracile sont des pyrimidines, et les liaisons glycosidiques se forment donc entre leur azote 1 et le groupe 1' -OH du désoxyribose. Pour les bases puriques et pyrimidiques, le groupe phosphate forme une liaison avec le sucre désoxyribose par une liaison ester entre l'un de ses groupes oxygénés chargés négativement et le 5' -OH du sucre. La polarité de l'ADN et de l'ARN provient des atomes d'oxygène et d'azote de leur squelette. Les acides nucléiques sont formés lorsque les nucléotides s'assemblent par des liaisons phosphodiester entre les atomes de carbone 5' et 3'. Une séquence d'acide nucléique est

l'ordre des nucléotides dans une molécule d'ADN (GACT) ou d'ARN (GACU) qui est déterminé par une série de lettres. Les séquences sont présentées de l'extrémité 5' à 3' et déterminent la structure covalente de la molécule entière. Les séquences peuvent être complémentaires d'une autre séquence en ce sens que la base sur chaque position est complémentaire ainsi que dans l'ordre inverse. Un exemple de séquence complémentaire à AGCT est TCGA. L'ADN est un double brin contenant à la fois un brin sens et un brin antisens. Par conséquent, la séquence complémentaire sera celle du brin sens.

FOR AUTHOR USE ONLY

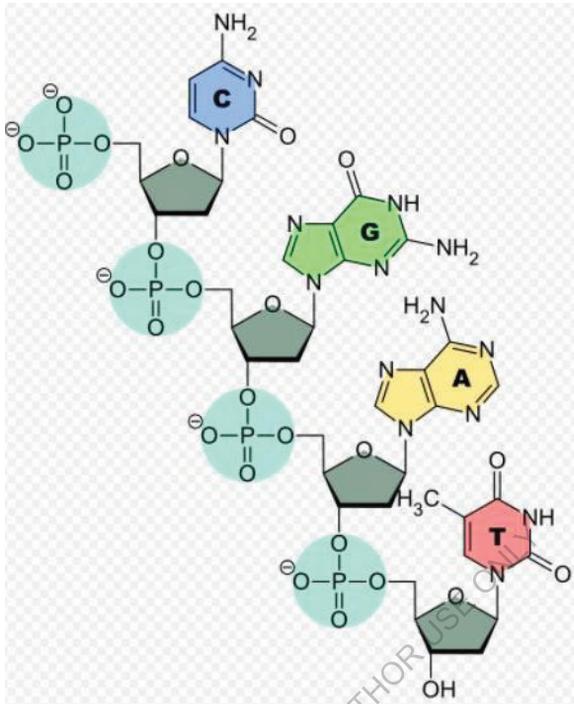


Figure (38) : Structures de la base azotée.

ADN

La structure secondaire est l'ensemble des interactions entre les bases, c'est-à-dire les parties des brins qui sont liées les unes aux autres. Dans la double hélice d'ADN, les deux brins d'ADN sont maintenus ensemble par des liaisons hydrogène. Les nucléotides d'un brin forment des paires de bases avec le nucléotide de l'autre brin. La structure secondaire est responsable de la forme que prend l'acide nucléique. Les bases de l'ADN sont classées en purines et

pyrimidines. Les purines sont l'adénine et la guanine. Les purines sont constituées d'une structure à double anneau, un anneau à six membres et un anneau à cinq membres contenant de l'azote. Les pyrimidines sont la cytosine et la thymine. Elles ont une structure à un seul cycle, un cycle à six chaînons contenant de l'azote. Une base purique se couple toujours avec une base pyrimidique (la guanine (G) se couple avec la cytosine (C) et l'adénine (A) se couple avec la thymine (T) ou l'uracile (U)). La structure secondaire de l'ADN est principalement déterminée par l'appariement des bases des deux brins de polynucléotides enroulés l'un autour de l'autre pour former une double hélice. Bien que les deux brins soient alignés par des liaisons hydrogène dans les paires de bases, les forces les plus fortes qui maintiennent les deux brins ensemble sont les interactions d'empilement entre les bases. Ces interactions d'empilement sont stabilisées par les forces de Van der Waals et les interactions hydrophobes, et présentent une grande variabilité structurale locale. Il existe également deux sillons dans la double hélice, appelés sillon majeur et sillon mineur en fonction de leur taille relative.

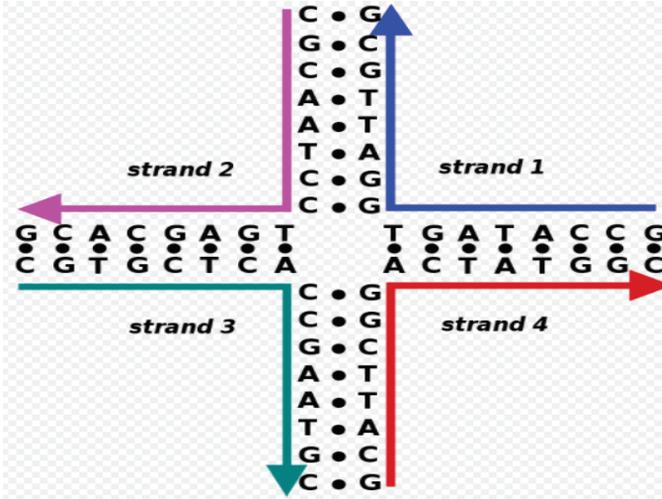


Figure (39) : Brin 1, brin 2, brin 3 et brin 4 de l'acide nucléique (ADN).

ARN

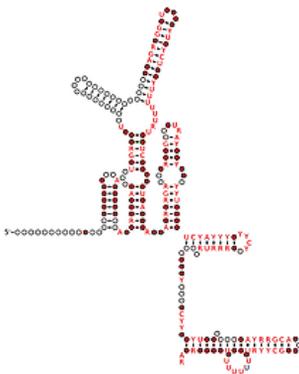


Figure (40) : Structure secondaire de l'ARN.

Un exemple de structure secondaire d'ARN. Cette image comprend plusieurs éléments structurels, notamment des zones simple et double brin, des renflements, des boucles internes et des boucles en épingle à cheveux. L'ARN double brin forme une structure hélicoïdale de type A, contrairement à la conformation de type B communément adoptée par les molécules d'ADN double brin.

La structure secondaire de l'ARN est constituée d'un seul polynucléotide. L'appariement des bases dans l'ARN se produit lorsque l'ARN se replie entre des régions de complémentarité. On trouve souvent des régions à simple et à double brin dans les molécules d'ARN.

Les quatre éléments de base de la structure secondaire de l'ARN sont :

- **Helices**
- **Bulges**
- **Boucles**
- **Jonctions**

Les brins antiparallèles forment une forme hélicoïdale.^[3] Les renflements et les boucles internes sont formés par la séparation de

la double hélice sur un brin (renflement) ou sur les deux brins (boucles internes) par des nucléotides non appariés.

La boucle en étoile ou en épingle à cheveux est l'élément le plus courant de la structure secondaire de l'ARN. La boucle en tige est formée lorsque les chaînes d'ARN se replient sur elles-mêmes pour former une double hélice appelée "tige", les nucléotides non appariés forment une région simple brin appelée "boucle". Une téraloop est une structure d'ARN en épingle à cheveux de quatre paires de bases. Il existe trois familles communes de téralos dans l'ARN ribosomal : UNCG, GNRA et CUUG (*N* est l'un des quatre nucléotides et *R* est une purine). L'UNCG est le téraloop le plus stable.

Le pseudo-not est une structure secondaire d'ARN identifiée pour la première fois dans le virus de la mosaïque jaune du navet. Les pseudo-noeuds sont formés lorsque les nucléotides de l'épingle à cheveux-boucle se couplent avec une région simple brin à l'extérieur de l'épingle à cheveux pour former un segment hélicoïdal. Les pseudo-noeuds de type H sont les mieux caractérisés. Dans le pli de type H, les nucléotides de l'épingle à cheveux-boucle s'apparient avec les bases situées à l'extérieur de la tige de l'épingle à cheveux pour former une seconde tige et une boucle. Cela entraîne la formation de pseudo-noeuds avec deux tiges et deux boucles. Les pseudo-noeuds sont des éléments

fonctionnels de la structure de l'ARN ayant des fonctions diverses et se trouvant dans la plupart des classes d'ARN.

La structure secondaire de l'ARN peut être prédite par des données expérimentales sur les éléments de la structure secondaire, les hélices, les boucles et les renflements. La méthode DotKnot-PW est utilisée pour la prédiction comparative des pseudo-noeuds. Les points principaux de la méthode DotKnot-PW sont de noter les similarités trouvées dans les tiges, les éléments secondaires et les pseudo-noeuds de type H.

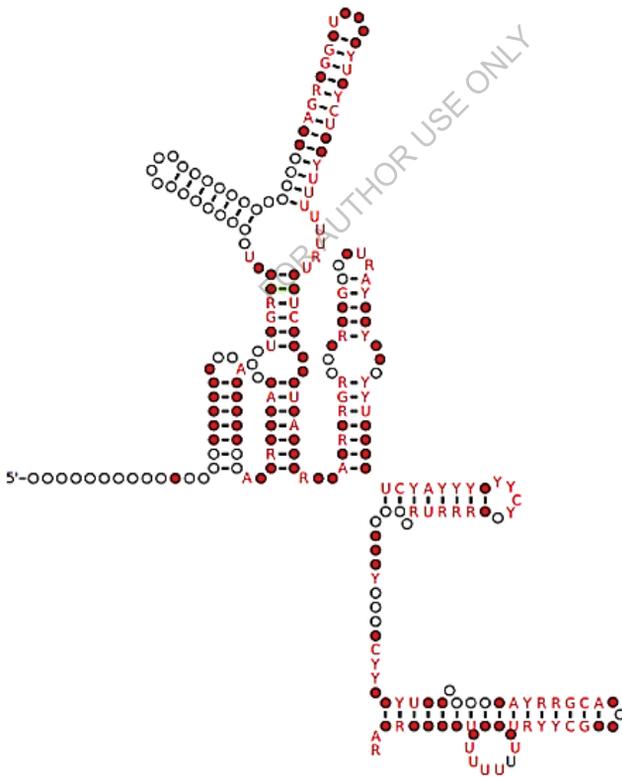


Figure (41) : Structure tertiaire de l'ARN.

La structure tertiaire fait référence à l'emplacement des atomes dans l'espace tridimensionnel, en tenant compte des contraintes géométriques et stériques. Il s'agit d'un ordre supérieur à la structure secondaire, dans laquelle un pliage à grande échelle se produit dans un polymère linéaire et la chaîne entière est repliée dans une forme tridimensionnelle spécifique. Il existe 4 domaines dans lesquels les formes structurales de l'ADN peuvent différer.

1. Manipulation - droite ou gauche
2. Longueur du tour d'hélice
3. Nombre de paires de bases par tour
4. Différence de taille entre les sillons majeurs et mineurs^[3]

La disposition tertiaire de la double hélice de l'ADN dans l'espace comprend l'ADN-B, l'ADN-A et l'ADN-Z.

L'ADN-B est la forme la plus courante d'ADN in vivo. Il s'agit d'une hélice plus étroite et plus allongée que l'ADN-A. Son grand sillon rend les protéines plus accessibles. Son large sillon majeur le rend plus accessible aux protéines. En revanche, il possède un sillon mineur étroit. Les conformations préférées de l'ADN-B se produisent à des concentrations d'eau élevées ; l'hydratation du sillon mineur semble favoriser l'ADN-B. Les paires de bases de l'ADN-B sont presque perpendiculaires à l'axe de l'hélice. Le

chicotage du sucre qui détermine la forme de l'hélice a, c'est-à-dire si l'hélice existera sous la forme A ou B, se produit à l'extrémité C2'.

L'ADN-A est une forme du duplex d'ADN observée dans des conditions de déshydratation. Elle est plus courte et plus large que l'ADN-B. L'ARN adopte cette forme en double hélice, et les duplex ARN-ADN sont le plus souvent de forme A, mais des duplex ARN-ADN de forme B ont été observés. Dans des contextes localisés de dinucléotides à brin unique, l'ARN peut également adopter la forme B sans s'apparier à l'ADN. L'ADN-A possède un sillon majeur profond et étroit qui ne le rend pas facilement accessible aux protéines. En revanche, son sillon mineur large et peu profond le rend accessible aux protéines, mais avec un contenu en information plus faible que le sillon majeur. Sa conformation préférée se situe à de faibles concentrations d'eau. Les paires de bases de l'ADN-A sont inclinées par rapport à l'axe de l'hélice, et sont déplacées par rapport à l'axe. Le plissement du sucre se produit au niveau de l'extrémité C3' et, dans l'ARN, le 2'-OH inhibe la conformation de l'extrémité C2'.^[14] Longtemps considéré comme un simple artifice de laboratoire, l'ADN-A est désormais connu pour avoir plusieurs fonctions biologiques.

L'ADN-Z est une double hélice gauchère relativement rare. Si la séquence et la tension superhéliçoïdale appropriées sont réunies, il peut être formé *in vivo*, mais sa fonction n'est pas claire. Son hélice

est plus étroite et plus allongée que celle de A ou B. Le sillon majeur de l'ADN-Z n'est pas vraiment un sillon et son sillon mineur est étroit. La conformation la plus favorable se produit lorsque la concentration en sel est élevée. Il existe quelques substitutions de bases mais elles nécessitent une séquence alternée purine-pyrimidine. Le N2-amino de G se lie à 5' PO, ce qui explique l'échange lent de protons et la nécessité de la purine G. Les paires de bases de l'ADN-Z sont presque perpendiculaires à l'axe de l'hélice. L'ADN-Z ne contient pas de paires de bases simples mais plutôt une répétition de GpC avec des distances P-P variant pour GpC et CpG. Sur la pile GpC, il y a un bon chevauchement des bases, alors que sur la pile CpG, il y a moins de chevauchement. Le squelette en zigzag de l'ADN-Z est dû à la conformation du sucre C qui compense la conformation de la liaison glycosidique G. La conformation du G est syn, C2'-endo ; pour le C, elle est anti, C3'-endo.

Une molécule d'ADN linéaire ayant des extrémités libres peut tourner, pour s'adapter aux changements de divers processus dynamiques dans la cellule, en modifiant le nombre de fois où les deux chaînes de sa double hélice s'enroulent l'une autour de l'autre. Certaines molécules d'ADN sont circulaires et sont topologiquement contraintes. Plus récemment, l'ARN circulaire a également été décrit comme une classe naturelle omniprésente d'acides nucléiques, exprimée dans de nombreux organismes.

Un ADN circulaire fermé de manière covalente, également connu sous le nom d'ADNc, est topologiquement contraint car le nombre de fois où les chaînes sont enroulées les unes autour des autres ne peut pas changer. Cet ADNc peut être superenroulé, ce qui constitue la structure tertiaire de l'ADN. Le superenroulement est caractérisé par le nombre de liaisons, la torsion et l'enroulement. Le nombre de liaisons (Lk) pour l'ADN circulaire est défini comme le nombre de fois qu'un brin doit passer à travers l'autre brin pour séparer complètement les deux brins. Le nombre de liaisons de l'ADN circulaire ne peut être modifié que par la rupture d'une liaison covalente dans l'un des deux brins. Toujours un nombre entier, le nombre de liaison d'un ADNc est la somme de deux composantes : les torsions (T_w) et les torsions (W_r).

Les torsions sont le nombre de fois où les deux brins d'ADN s'enroulent l'un autour de l'autre. Les torsions sont le nombre de fois où l'hélice d'ADN se croise sur elle-même. Dans les cellules, l'ADN est en superhélice négative et a tendance à se dérouler. Par conséquent, la séparation des brins est plus facile dans l'ADN en superhélice négative que dans l'ADN relaxé. Les deux composants de l'ADN superenroulé sont le solénoïde et le plectonémique. Le superenroulement plectonémique est présent chez les procaryotes, tandis que le superenroulement solénoïdal est surtout observé chez les eucaryotes.

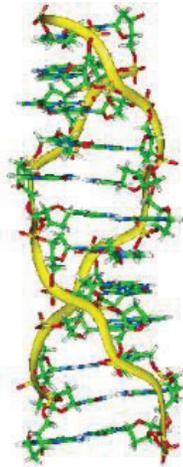
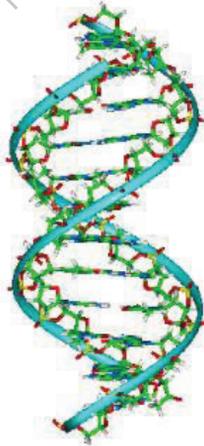
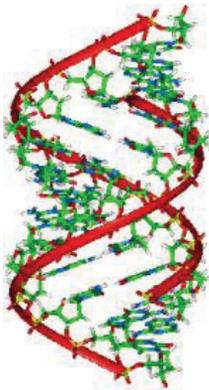
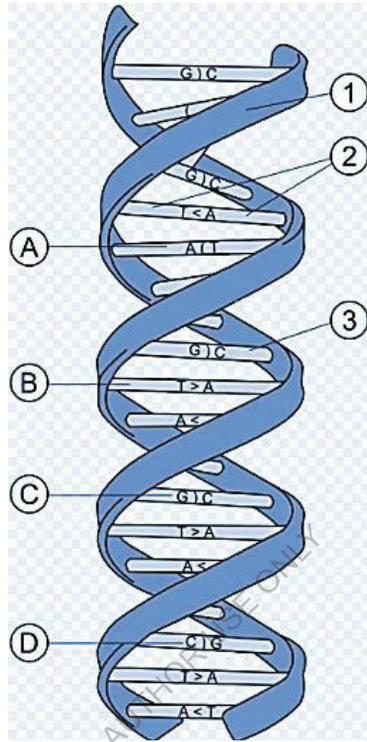


Figure (42) : Structure quaternaire de l'acide nucléique.

La structure quaternaire des acides nucléiques est similaire à la structure quaternaire des protéines. Bien que certains des concepts ne soient pas exactement les mêmes, la structure quaternaire fait référence à un niveau supérieur d'organisation des acides nucléiques. De plus, elle fait référence aux interactions des acides nucléiques avec d'autres molécules. La forme la plus courante d'organisation supérieure des acides nucléiques est la chromatine, qui entraîne des interactions avec les petites protéines histones. De même, la structure quaternaire fait référence aux interactions entre des unités d'ARN distinctes dans le ribosome ou le spliceosome .

FOR AUTHOR USE ONLY

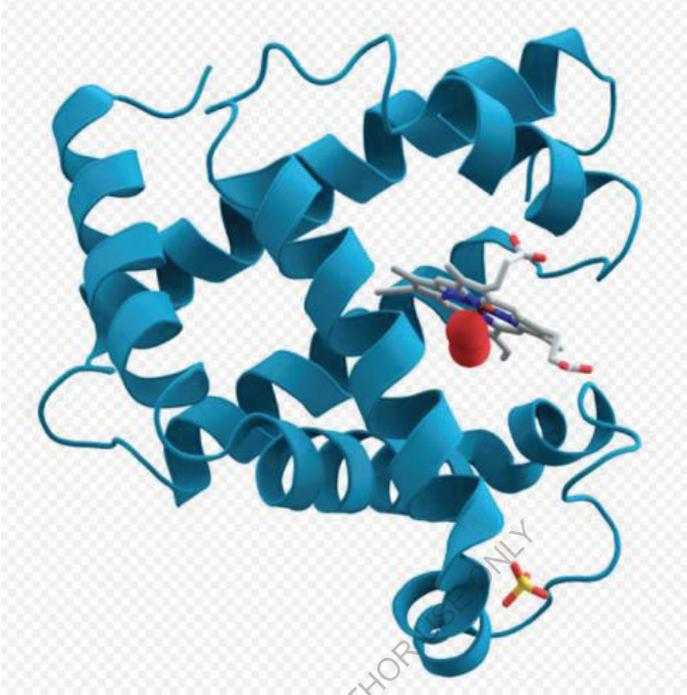


Figure (43) : Structure quaternaire de l'acide nucléique.

Les méthodes de l'acide nucléique sont les techniques utilisées pour étudier les acides nucléiques : l'ADN et l'ARN.

- Purification
- Extraction de l'ADN
- Extraction au phénol-chloroforme
- Purification par minicolonne
- Extraction de l'ARN
- Méthode de la flèche
- Purification de l'ADN par modification synchrone du coefficient de traînée (SCODA)

Quantification

- Abondance en poids : quantification spectroscopique des acides nucléiques
- Abondance absolue en nombre : réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR quantitative)
- Abondance relative à haut débit : Micropuces à ADN
- Abondance absolue à haut débit : analyse sérielle de l'expression génétique (SAGE)
- Taille : électrophorèse sur gel

Synthèse

- *De novo* : synthèse d'oligonucléotides
- Amplification : réaction en chaîne par polymérase (PCR).

Cinétique

- Résonance plasmonique de surface multiparamétrique
- Interférométrie à double polarisation
- Microbalance à cristal de quartz avec contrôle de la dissipation (QCM-D).

Fonction du gène

Interférence ARN

Autre

- Séquençage bisulfite
- Séquençage de l'ADN
- Clonage d'expression
- Hybridation in situ par fluorescence
- Laboratoire sur puce
- Comparaison des logiciels de simulation d'acides nucléiques
- Northern blot

- Test d'usure nucléaire
- La radioactivité dans les sciences de la vie
- Transfert de Southern
- Centrifugation différentielle (gradient de saccharose)
- Essai d'empreinte
- Plusieurs méthodes bioinformatiques, comme le montre la liste des logiciels de prédiction de la structure de l'ARN.

Technique utilisée en génétique moléculaire

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est une méthode largement utilisée pour fabriquer rapidement des millions ou des milliards de copies (copies complètes ou partielles) d'un échantillon d'ADN spécifique, ce qui permet aux scientifiques de prendre un très petit échantillon d'ADN et de l'amplifier (ou une partie de celui-ci) jusqu'à une quantité suffisamment importante pour l'étudier en détail. La PCR a été inventée en 1983 par le biochimiste américain Kary Mullis à Cetus Corporation. Elle est fondamentale pour de nombreuses procédures utilisées dans les tests et la recherche génétiques, notamment l'analyse d'anciens échantillons d'ADN et l'identification d'agents infectieux. Avec la PCR, des copies de très petites quantités de séquences d'ADN sont amplifiées de manière exponentielle dans une série de cycles de changements de température. La PCR est désormais une technique courante et souvent indispensable, utilisée dans les laboratoires

médicaux pour une grande variété d'applications, notamment la recherche biomédicale et la criminalistique.

La majorité des méthodes de PCR reposent sur le cycle thermique. Le cycle thermique expose les réactifs à des cycles répétés de chauffage et de refroidissement afin de permettre différentes réactions dépendant de la température, notamment la fusion de l'ADN et la réplication de l'ADN par les enzymes. La PCR utilise deux réactifs principaux : des amorces, qui sont de courts fragments d'ADN simple brin appelés oligonucléotides, dont la séquence est complémentaire de la région d'ADN cible, et une ADN polymérase. Dans la première étape de la PCR, les deux brins de la double hélice d'ADN sont physiquement séparés à une température élevée dans un processus appelé dénaturation de l'acide nucléique. Dans la deuxième étape, la température est abaissée et les amorces se lient aux séquences complémentaires de l'ADN. Les deux brins d'ADN deviennent alors des matrices pour que l'ADN polymérase assemble par voie enzymatique un nouveau brin d'ADN à partir de nucléotides libres, les éléments constitutifs de l'ADN. Au fur et à mesure que la PCR progresse, l'ADN généré est lui-même utilisé comme modèle pour la réplication, déclenchant une réaction en chaîne dans laquelle le modèle d'ADN original est amplifié de manière exponentielle.

Presque toutes les applications de PCR utilisent une ADN polymérase thermostable, comme la polymérase *Taq*, une enzyme

isolée à l'origine de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*. Si la polymérase utilisée était sensible à la chaleur, elle se dénaturerait sous les températures élevées de l'étape de dénaturation. Avant l'utilisation de la *Taq* polymérase, l'ADN polymérase devait être ajouté manuellement à chaque cycle, ce qui était un processus fastidieux et coûteux.

Les applications de la technique comprennent le clonage de l'ADN pour le séquençage, le clonage et la manipulation des gènes, la mutagenèse des gènes, la construction de phylogénies basées sur l'ADN ou l'analyse fonctionnelle des gènes, le diagnostic et le suivi des troubles génétiques, l'amplification de l'ADN ancien, l'analyse des empreintes génétiques pour le profilage de l'ADN (par exemple, en médecine légale et dans les tests de filiation) et la détection des agents pathogènes dans les tests d'acide nucléique pour le diagnostic des maladies infectieuses.



Figure (44) : La PCR amplifie une région spécifique d'un brin d'ADN.

Principes

La PCR amplifie une région spécifique d'un brin d'ADN (la cible ADN). La plupart des méthodes PCR amplifient des fragments d'ADN d'une longueur comprise entre 0,1 et 10 kilo paires de bases (kbp), bien que certaines techniques permettent l'amplification de fragments allant jusqu'à 40 kbp. La quantité de produit amplifié est déterminée par les substrats disponibles dans la réaction, qui deviennent limitants à mesure que la réaction progresse.

Une configuration PCR de base nécessite plusieurs composants et réactifs, notamment :

- Modèle d'ADN qui contient la région cible de l'ADN à amplifier.
- ADN polymérase : enzyme qui polymérise de nouveaux brins d'ADN ; la polymérase *Taq*, résistante à la chaleur, est particulièrement courante, car elle a plus de chances de rester intacte pendant le processus de dénaturation de l'ADN à haute température.
- Deux amorces d'ADN complémentaires aux extrémités 3' (trois amorces) de chacun des brins sens et anti-sens de l'ADN cible (l'ADN polymérase ne peut se lier et s'allonger qu'à partir d'une région bicaténaire de l'ADN ; sans amorces, il n'y a pas de site d'initiation bicaténaire auquel la polymérase peut se lier), des amorces spécifiques complémentaires à la région de l'ADN cible sont sélectionnées au préalable, et sont souvent fabriquées sur mesure dans un laboratoire ou achetées auprès de fournisseurs commerciaux de produits biochimiques.
- les désoxynucléosides triphosphates ou dNTP, parfois appelés désoxynucléotides triphosphates, nucléotides contenant des groupes triphosphates, éléments constitutifs à partir desquels l'ADN polymérase synthétise un nouveau brin d'ADN

- une solution tampon fournissant un environnement chimique approprié pour une activité et une stabilité optimales de l'ADN polymérase
- des cations bivalents, généralement des ions magnésium (Mg) ou manganèse (Mn) ; Mg^{2+} est le plus courant, mais Mn^{2+} peut être utilisé pour la mutagenèse de l'ADN médiée par PCR, car une concentration plus élevée de Mn^{2+} augmente le taux d'erreur pendant la synthèse de l'ADN et des *cations monovalents*, généralement des ions potassium (K).

La réaction est généralement réalisée dans un volume de 10-200 μ L dans de petits tubes de réaction (volumes de 0,2-0,5 mL) dans un thermocycleur. Le thermocycleur chauffe et refroidit les tubes de réaction pour atteindre les températures requises à chaque étape de la réaction. De nombreux thermocycleurs modernes utilisent l'effet Peltier, qui permet à la fois de chauffer et de refroidir le bloc contenant les tubes PCR en inversant simplement le courant électrique. Les tubes de réaction à paroi mince offrent une conductivité thermique favorable pour permettre un équilibre thermique rapide. La plupart des thermocycleurs sont équipés de couvercles chauffants pour éviter la condensation au sommet du tube de réaction. Les anciens thermocycleurs dépourvus de couvercle chauffant nécessitent une couche d'huile sur le mélange réactionnel ou une boule de cire à l'intérieur du tube.



Figure (45) : En général, la PCR consiste en une série de 20 à 40 changements de température répétés, appelés cycles thermiques.

Procédure

En général, la PCR consiste en une série de 20 à 40 changements de température répétés, appelés cycles thermiques, chaque cycle comprenant généralement deux ou trois étapes de température distinctes (voir la figure ci-dessous). Le cycle est souvent précédé d'une seule étape de température à une température très élevée (>90 °C (194 °F)), et suivi d'un arrêt à la fin pour l'extension finale du produit ou un bref stockage. Les températures utilisées et la durée

de leur application dans chaque cycle dépendent de divers paramètres, notamment de l'enzyme utilisée pour la synthèse de l'ADN, de la concentration d'ions bivalents et de dNTP dans la réaction, et de la température de fusion (T_m) des amorces. Les différentes étapes communes à la plupart des méthodes PCR sont les suivantes :

- Initialisation : Cette étape n'est nécessaire que pour les ADN polymérases qui nécessitent une activation thermique par PCR à démarrage à chaud. Elle consiste à chauffer la chambre de réaction jusqu'à une température de 94-96 °C (201-205 °F), ou 98 °C (208 °F) si des polymérases extrêmement thermostables sont utilisées, température qui est ensuite maintenue pendant 1-10 minutes.
- Dénaturation : Cette étape est le premier événement du cycle régulier et consiste à chauffer la chambre de réaction à 94-98 °C (201-208 °F) pendant 20-30 secondes. Cela provoque la fusion de l'ADN, ou dénaturation, de la matrice d'ADN double brin en brisant les liaisons hydrogène entre les bases complémentaires, ce qui donne deux molécules d'ADN simple brin.
- Recuit : Dans l'étape suivante, la température de la réaction est abaissée à 50-65 °C (122-149 °F) pendant 20-40 secondes, ce qui permet l'annexion des amorces à chacun des modèles d'ADN simple brin. Deux amorces différentes sont généralement incluses dans le mélange réactionnel : une pour chacun des deux

compléments simple brin contenant la région cible. Les amorces sont elles-mêmes des séquences monocaténaïres, mais elles sont beaucoup plus courtes que la longueur de la région cible, ne complétant que de très courtes séquences à l'extrémité 3' de chaque brin.

Il est essentiel de déterminer une température appropriée pour l'étape de recuit car l'efficacité et la spécificité sont fortement affectées par la température de recuit. Cette température doit être suffisamment basse pour permettre l'hybridation de l'amorce au brin, mais suffisamment élevée pour que l'hybridation soit spécifique, c'est-à-dire que l'amorce doit se lier uniquement à une partie parfaitement complémentaire du brin, et nulle part ailleurs. Si la température est trop basse, l'amorce peut se lier imparfaitement. Si elle est trop élevée, l'amorce peut ne pas se lier du tout. Une température d'anneau typique se situe environ 3 à 5 °C en dessous de la T_m des amorces utilisées. Des liaisons hydrogène stables entre les bases complémentaires ne se forment que lorsque la séquence de l'amorce correspond très étroitement à la séquence de la matrice. Au cours de cette étape, la polymérase se lie à l'hybride amorce-matrice et commence la formation de l'ADN.

- Extension/élongation : La température de cette étape dépend de l'ADN polymérase utilisée ; la température d'activité optimale pour l'ADN polymérase thermostable de la

polymérase *Taq* est d'environ 75-80 °C (167-176 °F),^{[13][14]} bien qu'une température de 72 °C soit couramment utilisée avec cette enzyme. Dans cette étape, l'ADN polymérase synthétise un nouveau brin d'ADN complémentaire du brin d'ADN matrice en ajoutant des dNTP libres du mélange réactionnel qui est complémentaire de la matrice dans la direction 5' à 3', condensant le groupe 5'-phosphate des dNTP avec le groupe 3'-hydroxy à l'extrémité du brin d'ADN naissant (élongation). Le temps précis nécessaire à l'élongation dépend à la fois de l'ADN polymérase utilisée et de la longueur de la région cible de l'ADN à amplifier. En règle générale, à leur température optimale, la plupart des ADN polymérases polymérisent un millier de bases par minute. Dans des conditions optimales, par exemple s'il n'y a pas de limitations dues à la limitation des substrats ou des réactifs à chaque étape d'extension/allongement, le nombre de séquences cibles d'ADN est doublé. À chaque cycle successif, les brins de la matrice d'origine et tous les brins nouvellement générés deviennent des brins de la matrice pour le cycle d'élongation suivant, ce qui entraîne une amplification exponentielle (géométrique) de la région cible d'ADN spécifique.

Les processus de dénaturation, de recuit et d'élongation constituent un seul cycle. Des cycles multiples sont nécessaires pour amplifier la cible ADN jusqu'à des millions

de copies. La formule utilisée pour calculer le nombre de copies d'ADN formées après un nombre donné de cycles est 2^n , où n est le nombre de cycles. Ainsi, une réaction réglée pour 30 cycles donne 2^{30} , ou 1 073 741 824 copies de la région cible d'ADN double brin d'origine.

- Élongation finale : Cette étape unique est facultative, mais elle est réalisée à une température de 70-74 °C (la plage de température requise pour une activité optimale de la plupart des polymérases utilisées dans la PCR) pendant 5 à 15 minutes après le dernier cycle de PCR pour garantir que tout ADN simple brin restant est complètement allongé.
- Maintien final : L'étape finale consiste à refroidir la chambre de réaction à 4-15 °C (39-59 °F) pendant une durée indéterminée, et peut être utilisée pour le stockage à court terme des produits PCR.

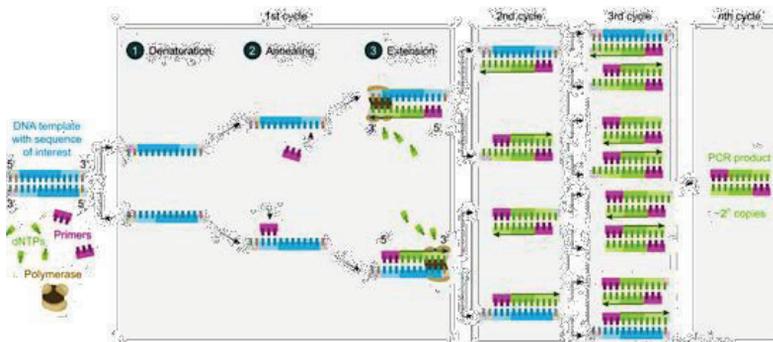


Figure (46) : Étapes de la PCR.

Pour vérifier si la PCR a réussi à générer la région cible d'ADN prévue, parfois appelée amplimère ou amplicon, on peut utiliser l'électrophorèse sur gel d'agarose pour séparer la taille des produits de la PCR. La taille des produits de la PCR est déterminée par comparaison avec une échelle d'ADN, un marqueur de poids moléculaire qui contient des fragments d'ADN de taille connue, qui se déplace sur le gel à côté des produits de la PCR.

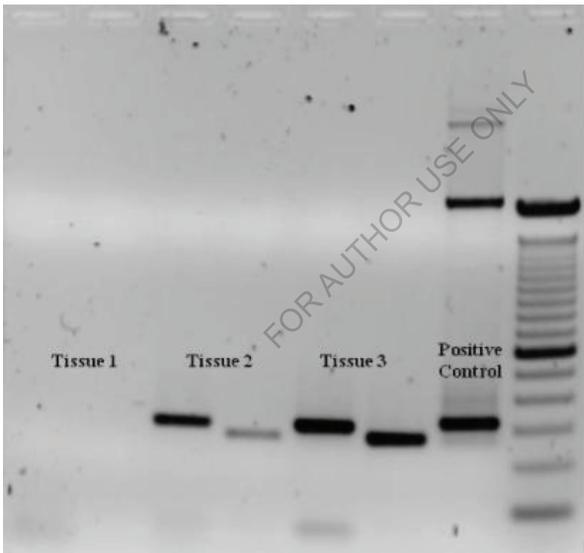


Figure (47) : Electrophorèse sur gel.

Étapes

Comme pour les autres réactions chimiques, la vitesse de réaction et l'efficacité de la PCR sont affectées par des facteurs limitatifs. Ainsi, l'ensemble du processus PCR peut être divisé en trois étapes en fonction de la progression de la réaction :

- Amplification exponentielle : À chaque cycle, la quantité de produit est doublée (en supposant une efficacité de réaction de 100 %). Après 30 cycles, une seule copie d'ADN peut être augmentée jusqu'à 1 000 000 000 (un milliard) de copies. En un sens, la réplication d'un brin discret d'ADN est donc manipulée dans un tube dans des conditions contrôlées.^[15] La réaction est très sensible : seules des quantités infimes d'ADN doivent être présentes.
- Phase de stabilisation : La réaction ralentit à mesure que l'ADN polymérase perd de son activité et que la consommation de réactifs, tels que les dNTP et les amorces, les rend plus limités.
- Plateau : Plus aucun produit ne s'accumule en raison de l'épuisement des réactifs et de l'enzyme.

Optimisation

Dans la pratique, la PCR peut échouer pour diverses raisons, en partie à cause de sa sensibilité à la contamination qui entraîne l'amplification de produits d'ADN parasites. C'est pourquoi un

certain nombre de techniques et de procédures ont été développées pour optimiser les conditions de la PCR. La contamination par de l'ADN étranger est traitée par des protocoles et des procédures de laboratoire qui séparent les mélanges pré-PCR des contaminants d'ADN potentiels. Cela implique généralement la séparation spatiale des zones de préparation de la PCR des zones d'analyse ou de purification des produits de la PCR, l'utilisation de matériel en plastique jetable et le nettoyage minutieux de la surface de travail entre les préparations de réaction. Les techniques de conception des amorces sont importantes pour améliorer le rendement des produits PCR et éviter la formation de produits parasites, et l'utilisation d'autres composants de tampon ou d'enzymes de polymérase peut faciliter l'amplification de longues régions d'ADN ou d'autres régions problématiques. L'ajout de réactifs, tels que le formamide, dans les systèmes tampons peut augmenter la spécificité et le rendement de la PCR. Des simulations par ordinateur des résultats théoriques de la PCR (PCR électronique) peuvent être réalisées pour aider à la conception des amorces.

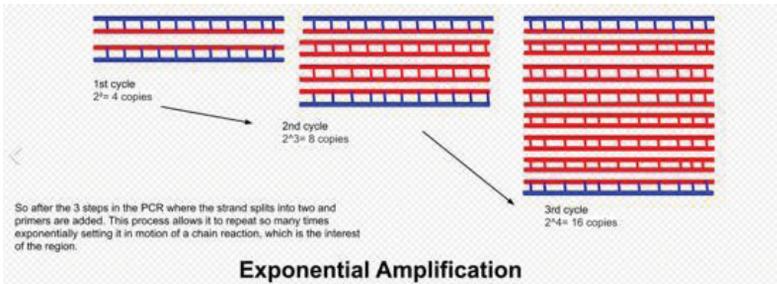


Figure (48) : Amplification exponentielle.

Isolation sélective de l'ADN

La PCR permet d'isoler des fragments d'ADN à partir de l'ADN génomique par amplification sélective d'une région spécifique de l'ADN. Cette utilisation de la PCR complète de nombreuses méthodes, telles que la génération de sondes d'hybridation pour l'hybridation de Southern ou de Northern et le clonage d'ADN, qui nécessitent de plus grandes quantités d'ADN, représentant une région spécifique de l'ADN. La PCR fournit à ces techniques de grandes quantités d'ADN pur, ce qui permet d'analyser des échantillons d'ADN même à partir de très petites quantités de matériel de départ.

Parmi les autres applications de la PCR, citons le séquençage de l'ADN pour déterminer les séquences inconnues amplifiées par la PCR, dans lequel l'une des amorces d'amplification peut être utilisée dans le séquençage de Sanger, l'isolement d'une séquence d'ADN pour accélérer les technologies de recombinaison de l'ADN impliquant l'insertion d'une séquence d'ADN dans un plasmide, un phage ou un cosmide selon la taille ou le matériel génétique d'un autre organisme. Les colonies bactériennes telles que *E. coli* peuvent être rapidement criblées par PCR pour détecter les constructions correctes de vecteurs d'ADN. La PCR peut

également être utilisée pour les empreintes génétiques ; une technique médico-légale utilisée pour identifier une personne ou un organisme en comparant des ADN expérimentaux par différentes méthodes basées sur la PCR.

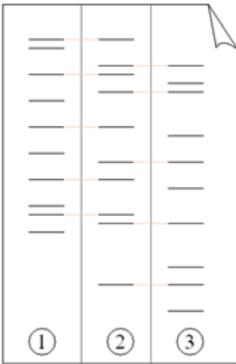


Figure (49) : Electrophorèse des fragments d'ADN amplifiés par la PCR :

Père

1. Enfant
2. Mère

L'enfant a hérité d'une partie, mais pas de la totalité, des empreintes digitales de chacun de ses parents, ce qui lui donne une nouvelle empreinte digitale unique.

Certaines méthodes d'empreintes PCR ont un pouvoir discriminant élevé et peuvent être utilisées pour identifier les relations génétiques entre individus, par exemple entre parents et

enfants ou entre frères et sœurs, et sont utilisées dans les tests de paternité. Cette technique peut également être utilisée pour déterminer les relations évolutives entre les organismes lorsque certaines horloges moléculaires sont utilisées, par exemple les gènes *16SrRNA* et *recA* des micro-organismes).

Amplification et quantification de l'ADN

Comme la PCR amplifie les régions d'ADN qu'elle cible, elle peut être utilisée pour analyser des quantités extrêmement faibles d'échantillons. Cela est souvent crucial pour les analyses médico-légales, lorsque seule une quantité infime d'ADN est disponible comme preuve. La PCR peut également être utilisée pour l'analyse d'ADN ancien, vieux de dizaines de milliers d'années. Ces techniques basées sur la PCR ont été utilisées avec succès sur des animaux, comme un mammouth vieux de quarante mille ans, ainsi que sur de l'ADN humain, dans des applications allant de l'analyse de momies égyptiennes à l'identification d'un tsar russe et du corps du roi anglais Richard III.

Les méthodes de PCR quantitative ou de PCR en temps réel (qPCR à ne pas confondre avec la RT-PCR) permettent d'estimer la quantité d'une séquence donnée présente dans un échantillon - une technique souvent appliquée pour déterminer quantitativement les niveaux d'expression des gènes. La PCR quantitative est un outil établi pour la quantification de l'ADN qui mesure

l'accumulation du produit d'ADN après chaque cycle d'amplification par PCR.

La qPCR permet la quantification et la détection d'une séquence d'ADN spécifique en temps réel puisqu'elle mesure la concentration pendant que le processus de synthèse a lieu. Il existe deux méthodes de détection et de quantification simultanées. La première méthode consiste à utiliser des colorants fluorescents qui sont retenus de manière non spécifique entre les doubles brins. La seconde méthode fait appel à des sondes qui codent pour des séquences spécifiques et sont marquées par fluorescence. La détection de l'ADN à l'aide de ces méthodes n'est visible qu'après l'hybridation des sondes avec son ADN complémentaire. Une combinaison intéressante de techniques est la PCR en temps réel et la transcription inverse. Cette technique sophistiquée, appelée RT-qPCR, permet de quantifier une petite quantité d'ARN. Grâce à cette technique combinée, l'ARNm est converti en ADNc, qui est ensuite quantifié par qPCR. Cette technique réduit la possibilité d'erreur au point final de la PCR,^[24] ce qui augmente les chances de détecter les gènes associés à des maladies génétiques telles que le cancer.^[4] Les laboratoires utilisent la RT-qPCR dans le but de mesurer de manière sensible la régulation des gènes. Les fondements mathématiques de la quantification fiable de la PCR et de la RT-qPCR facilitent la mise en œuvre de procédures d'ajustement précises des données expérimentales dans les

applications de recherche, médicales, de diagnostic et de maladies infectieuses.

Applications médicales et diagnostiques

Les parents potentiels peuvent être testés pour savoir s'ils sont porteurs de gènes, ou leurs enfants peuvent être testés pour savoir s'ils sont effectivement atteints d'une maladie.^[1] Les échantillons d'ADN pour les tests prénataux peuvent être obtenus par amniocentèse, prélèvement de villosités choriales, ou même par l'analyse de rares cellules fœtales circulant dans le sang de la mère. L'analyse par PCR est également essentielle au diagnostic génétique préimplantatoire, qui consiste à rechercher des mutations dans les cellules individuelles d'un embryon en développement.

- La PCR peut également être utilisée dans le cadre d'un test sensible pour le typage tissulaire, vital pour la transplantation d'organes. En 2008, il existe même une proposition visant à remplacer les tests traditionnels de détermination du groupe sanguin basés sur les anticorps par des tests basés sur la PCR.
- De nombreuses formes de cancer impliquent des altérations des oncogènes. En utilisant des tests basés sur la PCR pour étudier ces mutations, les schémas thérapeutiques peuvent parfois être adaptés individuellement à un patient. La PCR permet un diagnostic précoce des maladies malignes telles que les leucémies et les lymphomes. Cette technique est actuellement la

plus développée dans la recherche sur le cancer et est déjà utilisée de façon routinière. Les tests PCR peuvent être effectués directement sur des échantillons d'ADN génomique pour détecter des cellules malignes spécifiques à une translocation, avec une sensibilité au moins 10 000 fois supérieure à celle d'autres méthodes. La PCR est très utile dans le domaine médical car elle permet d'isoler et d'amplifier les suppresseurs de tumeurs. La PCR quantitative, par exemple, peut être utilisée pour quantifier et analyser des cellules uniques, ainsi que pour reconnaître les confirmations et les combinaisons d'ADN, d'ARNm et de protéines.

Applications dans le domaine des maladies infectieuses

La PCR permet un diagnostic rapide et hautement spécifique des maladies infectieuses, notamment celles causées par des bactéries ou des virus.^[33] La PCR permet également l'identification de micro-organismes non cultivables ou à croissance lente, tels que les mycobactéries, les bactéries anaérobies ou les virus, à partir d'essais sur cultures de tissus et de modèles animaux. La base des applications diagnostiques de la PCR en microbiologie est la détection d'agents infectieux et la discrimination des souches non pathogènes et pathogènes en vertu de gènes spécifiques.

La caractérisation et la détection des organismes responsables de maladies infectieuses ont été révolutionnées par la PCR de la manière suivante :

- Le virus de l'immunodéficience humaine, ou VIH, est une cible difficile à trouver et à éradiquer. Les premiers tests d'infection reposaient sur la présence d'anticorps contre le virus circulant dans le sang. Cependant, les anticorps n'apparaissent que plusieurs semaines après l'infection, les anticorps maternels masquent l'infection d'un nouveau-né et les agents thérapeutiques destinés à combattre l'infection n'ont aucun effet sur les anticorps. On a mis au point des tests PCR qui peuvent détecter un seul génome viral parmi l'ADN de plus de 50 000 cellules hôtes. Les infections peuvent être détectées plus tôt, les dons de sang peuvent être dépistés directement pour le virus, les nouveau-nés peuvent être immédiatement testés pour l'infection et les effets des traitements antiviraux peuvent être quantifiés.
- Certains organismes pathogènes, comme celui de la tuberculose, sont difficiles à prélever sur les patients et lents à être cultivés en laboratoire. Les tests basés sur la PCR ont permis de détecter un petit nombre d'organismes pathogènes (vivants ou morts) dans des échantillons pratiques. Une analyse génétique détaillée peut également être utilisée pour détecter la résistance aux antibiotiques, ce qui permet une thérapie immédiate et efficace.

Les effets de la thérapie peuvent également être évalués immédiatement.

- La propagation d'un organisme pathogène à travers des populations d'animaux domestiques ou sauvages peut être suivie par des tests PCR. Dans de nombreux cas, l'apparition de nouveaux sous-types virulents peut être détectée et suivie. Les sous-types d'un organisme qui étaient responsables d'épidémies antérieures peuvent également être déterminés par analyse PCR.
- L'ADN viral peut être détecté par PCR. Les amorces utilisées doivent être spécifiques des séquences ciblées dans l'ADN d'un virus. La PCR peut être utilisée pour des analyses diagnostiques ou le séquençage de l'ADN du génome viral. La grande sensibilité de la PCR permet de détecter les virus peu après l'infection et même avant l'apparition de la maladie.^[33] Une telle détection précoce peut donner aux médecins un temps d'avance important dans le traitement. La quantité de virus ("charge virale") chez un patient peut également être quantifiée par des techniques de quantification de l'ADN basées sur la PCR. Une variante de la PCR (RT-PCR) est utilisée pour détecter l'ARN viral plutôt que l'ADN : dans ce test, l'enzyme transcriptase inverse est utilisée pour générer une séquence d'ADN qui correspond à l'ARN viral ; cet ADN est ensuite amplifié selon la méthode PCR habituelle. La RT-PCR est largement utilisée pour détecter le génome viral du SRAS-CoV-2.

- Les maladies telles que la coqueluche sont causées par la bactérie *Bordetella pertussis*. Cette bactérie se caractérise par une grave infection respiratoire aiguë qui touche divers animaux et l'homme et a entraîné la mort de nombreux jeunes enfants. La toxine pertussique est une exotoxine protéique qui se lie aux récepteurs cellulaires par deux dimères et réagit avec différents types de cellules comme les lymphocytes T qui jouent un rôle dans l'immunité cellulaire. La PCR est un outil de test important qui permet de détecter des séquences dans le gène de la toxine de la coqueluche. Comme la PCR a une sensibilité élevée pour la toxine et un délai d'exécution rapide, elle est très efficace pour diagnostiquer la coqueluche par rapport à la culture.

Applications médico-légales

Le développement de protocoles d'empreintes génétiques (ou ADN) basés sur la PCR a connu une large application en médecine légale :

- Dans sa forme la plus discriminante, l'*empreinte génétique* permet de distinguer de manière unique une personne parmi l'ensemble de la population mondiale. De minuscules échantillons d'ADN peuvent être isolés sur une scène de crime et comparés à ceux des suspects, ou à ceux d'une base de données ADN contenant des preuves antérieures ou des condamnés. Des versions plus simples de ces tests sont souvent

utilisées pour exclure rapidement des suspects au cours d'une enquête criminelle. Les preuves de crimes vieux de plusieurs décennies peuvent être testées, confirmant ou disculpant les personnes initialement condamnées.

- L'identification génétique médico-légale a été un moyen efficace d'identifier ou de disculper des suspects criminels grâce à l'analyse des preuves découvertes sur une scène de crime. Le génome humain comporte de nombreuses régions répétitives qui peuvent se trouver dans des séquences de gènes ou dans des régions non codantes du génome. Plus précisément, jusqu'à 40 % de l'ADN humain est répétitif. Il existe deux catégories distinctes pour ces régions répétitives et non codantes du génome. La première catégorie est appelée répétitions en tandem à nombre variable (VNTR), qui ont une longueur de 10 à 100 paires de bases, et la seconde catégorie est appelée répétitions en tandem courtes (STR), qui consistent en des sections répétées de 2 à 10 paires de bases. La PCR est utilisée pour amplifier plusieurs VNTR et STR bien connus à l'aide d'amorces qui encadrent chacune des régions répétitives. La taille des fragments obtenus à partir d'un individu pour chacune des STR indique quels allèles sont présents. En analysant plusieurs STR pour un individu, on trouvera un ensemble d'allèles pour chaque personne qui, statistiquement, est susceptible d'être unique. Les chercheurs ont identifié la séquence complète du génome humain. Cette séquence est

facilement accessible sur le site Web du NCBI et est utilisée dans de nombreuses applications de la vie réelle. Par exemple, le FBI a compilé un ensemble de sites de marqueurs d'ADN utilisés pour l'identification, et ces sites sont appelés la base de données ADN du système CODIS (Combined DNA Index System). L'utilisation de cette base de données permet d'utiliser une analyse statistique pour déterminer la probabilité de correspondance d'un échantillon d'ADN. La PCR est un outil d'analyse très puissant et important pour l'identification génétique médico-légale, car les chercheurs n'ont besoin que d'une très petite quantité d'ADN cible pour l'analyse. Par exemple, un seul cheveu humain avec le follicule pileux attaché possède suffisamment d'ADN pour effectuer l'analyse. De même, quelques spermatozoïdes, des échantillons de peau prélevés sous les ongles ou une petite quantité de sang peuvent fournir suffisamment d'ADN pour une analyse concluante.

- Des formes moins discriminantes d'empreintes génétiques peuvent être utiles dans les tests de paternité par ADN, où un individu est comparé à ses proches parents. L'ADN de restes humains non identifiés peut être testé et comparé à celui de parents, frères et sœurs ou enfants potentiels. Des tests similaires peuvent être utilisés pour confirmer les parents biologiques d'un enfant adopté ou enlevé. Le père biologique réel d'un nouveau-né peut également être confirmé (ou écarté).

- La conception de la PCR AMGX/AMGY a été facilitée dans l'amplification des séquences d'ADN à partir d'une quantité très minuscule de génome. Cependant, elle peut également être utilisée pour déterminer le sexe en temps réel à partir d'échantillons d'os médico-légaux. Il s'agit d'un moyen puissant et efficace de déterminer le sexe dans les affaires médico-légales et les spécimens anciens.

Applications

La PCR a été appliquée à de nombreux domaines de recherche en génétique moléculaire :

- La PCR permet de produire rapidement de courts morceaux d'ADN, même lorsque l'on ne connaît pas plus que la séquence des deux amorces. Cette capacité de la PCR renforce de nombreuses méthodes, comme la production de sondes d'hybridation pour l'hybridation par transfert de Southern ou de Northern. La PCR fournit à ces techniques de grandes quantités d'ADN pur, parfois sous forme de brin unique, ce qui permet d'effectuer des analyses même à partir de très petites quantités de matériel de départ.
- La PCR peut également faciliter le séquençage de l'ADN. Des segments d'ADN connus peuvent facilement être produits à partir d'un patient présentant une mutation de maladie génétique. Des modifications de la technique d'amplification

permettent d'extraire des segments d'un génome totalement inconnu, ou de générer un seul brin d'une zone d'intérêt.

- La PCR a de nombreuses applications au processus plus traditionnel de clonage de l'ADN. Elle peut extraire d'un génome plus important des segments à insérer dans un vecteur, qui peuvent n'être disponibles qu'en petites quantités. En utilisant un seul jeu d'amorces de vecteur, elle peut également analyser ou extraire des fragments qui ont déjà été insérés dans des vecteurs. Certaines altérations du protocole PCR peuvent générer des mutations (générales ou dirigées vers un site) d'un fragment inséré.
- Les sites marqués par la séquence sont un processus où la PCR est utilisée comme indicateur de la présence d'un segment particulier d'un génome dans un clone donné. Le projet du génome humain a trouvé cette application vitale pour cartographier les clones cosmides qu'il séquençait et pour coordonner les résultats des différents laboratoires.
- Une application de la PCR est l'analyse phylogénique de l'ADN provenant de sources anciennes, comme celui trouvé dans les ossements récupérés des Néandertaliens, dans les tissus congelés des mammouths ou dans le cerveau des momies égyptiennes. Dans certains cas, l'ADN hautement dégradé de ces sources peut être réassemblé au cours des premières étapes de l'amplification.

- Une application courante de la PCR est l'étude des modèles d'expression génétique. Les tissus (ou même les cellules individuelles) peuvent être analysés à différents stades pour voir quels gènes sont devenus actifs ou ont été désactivés. Cette application peut également utiliser la PCR quantitative pour quantifier les niveaux réels d'expression.
- La capacité de la PCR à amplifier simultanément plusieurs loci à partir de spermatozoïdes individuels a considérablement amélioré la tâche plus traditionnelle de cartographie génétique en étudiant les croisements chromosomiques après la méiose. Des événements rares de croisement entre des loci très proches ont été directement observés en analysant des milliers de spermatozoïdes individuels. De même, des délétions, insertions, translocations ou inversions inhabituelles peuvent être analysées, le tout sans avoir à attendre ou à payer les longs et laborieux processus de fécondation, d'embryogenèse.
- Mutagenèse dirigée : La PCR peut être utilisée pour créer des gènes mutants avec des mutations choisies à volonté par les scientifiques. Ces mutations peuvent être choisies afin de comprendre comment les protéines accomplissent leurs fonctions, et de modifier ou d'améliorer la fonction des protéines.

Avantages

La PCR présente un certain nombre d'avantages. Elle est assez simple à comprendre et à utiliser, et produit des résultats rapidement. La technique est très sensible et permet de produire des millions ou des milliards de copies d'un produit spécifique pour le séquençage, le clonage et l'analyse. La qRT-PCR partage les mêmes avantages que la PCR, avec en plus la quantification du produit synthétisé. Elle peut donc être utilisée pour analyser les altérations des niveaux d'expression des gènes dans les tumeurs, les microbes ou d'autres états pathologiques.

La PCR est un outil de recherche très puissant et pratique. La PCR permet de déterminer le séquençage d'étiologies inconnues de nombreuses maladies. La technique peut aider à identifier la séquence de virus inconnus liés à ceux déjà connus et ainsi nous permettre de mieux comprendre la maladie elle-même. Si la procédure peut être encore simplifiée et si des systèmes de détection non radiométriques sensibles peuvent être développés, la PCR occupera une place importante dans le laboratoire clinique pour les années à venir.

Limites

L'une des principales limites de la PCR est que des informations préalables sur la séquence cible sont nécessaires pour générer les amorces qui permettront son amplification sélective. Cela signifie que, généralement, les utilisateurs de la PCR doivent connaître la

ou les séquences précises en amont de la région cible sur chacun des deux modèles simple brin afin de s'assurer que l'ADN polymérase se lie correctement aux hybrides amorce-template et génère ensuite la région cible entière pendant la synthèse de l'ADN.

Comme toutes les enzymes, les ADN polymérases sont également sujettes à des erreurs, ce qui entraîne des mutations dans les fragments PCR générés.

Une autre limite de la PCR est que même la plus petite quantité d'ADN contaminant peut être amplifiée, ce qui entraîne des résultats trompeurs ou ambigus. Pour minimiser les risques de contamination, les enquêteurs doivent réserver des pièces séparées pour la préparation des réactifs, la PCR et l'analyse du produit. Les réactifs doivent être distribués dans des aliquotes à usage unique. Il convient d'utiliser systématiquement des pipettes à piston jetable et des embouts de pipette extra-longs. Il est en outre recommandé de s'assurer que l'installation du laboratoire suit un flux de travail unidirectionnel. Aucun matériel ou réactif utilisé dans les salles de PCR et d'analyse ne doit être amené dans la salle de préparation de la PCR sans une décontamination complète. Les échantillons environnementaux qui contiennent des acides humiques peuvent inhiber l'amplification PCR et conduire à des résultats inexacts.

Variations

- PCR spécifique d'allèle : technique de diagnostic ou de clonage basée sur les variations mononucléotidiques (SNV à ne pas confondre avec les SNP) (différences d'une seule base chez un patient). Elle nécessite la connaissance préalable d'une séquence d'ADN, y compris les différences entre les allèles, et utilise des amorces dont les extrémités 3' englobent le SNV (un tampon de paires de bases autour du SNV est généralement incorporé). L'amplification par PCR dans des conditions rigoureuses est beaucoup moins efficace en présence d'un décalage entre le modèle et l'amorce, de sorte qu'une amplification réussie avec une amorce spécifique au SNP signale la présence du SNP spécifique dans une séquence.
- Assemblage PCR ou Polymerase Cycling Assembly (PCA) : synthèse artificielle de longues séquences d'ADN en effectuant une PCR sur un pool de longs oligonucléotides avec de courts segments se chevauchant. Les oligonucléotides alternent entre les directions sens et antisens, et les segments qui se chevauchent déterminent l'ordre des fragments PCR, produisant ainsi sélectivement le produit final d'ADN long.
- PCR asymétrique : amplifie préférentiellement un brin d'ADN dans une matrice d'ADN double brin. Elle est utilisée dans le séquençage et les sondes d'hybridation où l'amplification d'un seul des deux brins complémentaires est nécessaire. La PCR s'effectue comme d'habitude, mais avec un grand excès d'amorce pour le brin visé par l'amplification. En raison de la

lenteur de l'amplification (arithmétique) plus tard dans la réaction, après l'épuisement de l'amorce limitante, des cycles supplémentaires de PCR sont nécessaires. Une modification récente de ce processus, connue sous le nom de Linear-After-The-Exponential-PCR (LATE-PCR), utilise une amorce limitante dont la température de fusion (T_m) est supérieure à celle de l'amorce excédentaire afin de maintenir l'efficacité de la réaction lorsque la concentration de l'amorce limitante diminue au milieu de la réaction.^[46]

- PCR convective : une manière pseudo-isotherme de réaliser la PCR. Au lieu de chauffer et de refroidir de manière répétée le mélange PCR, la solution est soumise à un gradient thermique. Le flux convectif résultant de l'instabilité thermique déplace automatiquement les réactifs PCR des régions chaudes et froides, permettant ainsi la PCR. Des paramètres tels que les conditions thermiques limites et la géométrie de l'enceinte de PCR peuvent être optimisés pour produire une PCR robuste et rapide en exploitant l'émergence de champs d'écoulement chaotiques.^[48] Une telle configuration de PCR à flux convectif réduit considérablement la puissance requise et le temps de fonctionnement du dispositif.
- PCR à distance : méthode hautement parallèle permettant de récupérer des molécules d'ADN précises pour la synthèse de gènes. Une bibliothèque complexe de molécules d'ADN est modifiée par des étiquettes flanquantes uniques avant le

séquençage massivement parallèle. Des amorces dirigées vers les marqueurs permettent ensuite de récupérer les molécules avec les séquences souhaitées par PCR.

- PCR numérique (dPCR) : utilisée pour mesurer la quantité d'une séquence d'ADN cible dans un échantillon d'ADN. L'échantillon d'ADN est fortement dilué de sorte qu'après avoir exécuté de nombreuses PCR en parallèle, certaines d'entre elles ne reçoivent pas une seule molécule de l'ADN cible. La concentration de l'ADN cible est calculée à partir de la proportion de résultats négatifs. D'où le nom de "PCR numérique".
- Amplification dépendante de l'hélicase : similaire à la PCR traditionnelle, mais utilise une température constante plutôt que de passer par des cycles de dénaturation et d'annexion/extension. L'ADN hélicase, une enzyme qui déroule l'ADN, est utilisée à la place de la dénaturation thermique.
- PCR à démarrage à chaud : une technique qui réduit l'amplification non spécifique pendant les étapes initiales de la PCR. Elle peut être réalisée manuellement en chauffant les composants de la réaction à la température de dénaturation (par exemple, 95 °C) avant d'ajouter la polymérase. On a mis au point des systèmes enzymatiques spécialisés qui inhibent l'activité de la polymérase à température ambiante, soit par la liaison d'un anticorps^{[12][52]} soit par la présence d'inhibiteurs liés de manière covalente qui ne se dissocient qu'après une étape

d'activation à haute température. La PCR à démarrage à chaud et à froid est réalisée avec de nouvelles polymérases hybrides qui sont inactives à température ambiante et sont instantanément activées à la température d'élongation.

- *La PCR in silico* (PCR numérique, PCR virtuelle, PCR électronique, e-PCR) fait référence aux outils informatiques utilisés pour calculer les résultats théoriques de la réaction en chaîne par polymérase en utilisant un ensemble donné d'amorces (sondes) pour amplifier des séquences d'ADN à partir d'un génome ou d'un transcriptome séquencé. La PCR in silico a été proposée comme un outil pédagogique pour la biologie moléculaire.^[53]
- *PCR spécifique à l'interséquence (ISSR)* : méthode de PCR pour la détermination des empreintes génétiques qui amplifie les régions situées entre les répétitions de séquences simples pour produire une empreinte unique des longueurs de fragments amplifiés.
- *PCR inverse* : est couramment utilisée pour identifier les séquences flanquantes autour des inserts génomiques. Elle implique une série de digestions d'ADN et d'auto-ligation, ce qui permet d'obtenir des séquences connues à chaque extrémité de la séquence inconnue.
- *PCR à médiation par ligature* : utilise de petits lieurs d'ADN ligaturés à l'ADN d'intérêt et de multiples amorces s'hybridant

aux lieurs d'ADN ; elle a été utilisée pour le séquençage de l'ADN, la marche du génome et l'empreinte de l'ADN.

- PCR spécifique à la méthylation (MSP) : développée par Stephen Baylin et James G. Herman à la Johns Hopkins School of Medicine, elle est utilisée pour détecter la méthylation des îlots CpG dans l'ADN génomique. L'ADN est d'abord traité au bisulfite de sodium, qui convertit les bases cytosine non méthylées en uracile, lequel est reconnu par les amorces PCR comme de la thymine. Deux PCR sont ensuite effectuées sur l'ADN modifié, en utilisant des jeux d'amorces identiques sauf au niveau des îlots CpG dans les séquences d'amorces. À ces endroits, un ensemble d'amorces reconnaît l'ADN avec des cytosines pour amplifier l'ADN méthylé, et un ensemble reconnaît l'ADN avec de l'uracile ou de la thymine pour amplifier l'ADN non méthylé. La PSM utilisant la qPCR peut également être réalisée pour obtenir des informations quantitatives plutôt que qualitatives sur la méthylation.
- Miniprimère PCR : utilise une polymérase thermostable (S-Tbr) qui peut étendre des amorces courtes "smalligos" aussi courtes que 9 ou 10 nucléotides. Cette méthode permet de cibler par PCR des régions de liaison d'amorces plus petites, et est utilisée pour amplifier des séquences d'ADN conservées, telles que le gène de l'ARNr 16S ou 18S des eucaryotes.
- Amplification multiplex par sonde dépendante de la ligature (MLPA) : permet d'amplifier plusieurs cibles avec une seule

paire d'amorces, évitant ainsi les limites de résolution de la PCR multiplex.

- Multiplex-PCR : consiste à utiliser plusieurs jeux d'amorces dans un seul mélange PCR pour produire des amplicons de tailles différentes qui sont spécifiques à différentes séquences d'ADN. En ciblant plusieurs gènes à la fois, des informations supplémentaires peuvent être obtenues à partir d'un seul test qui, autrement, nécessiterait plusieurs fois plus de réactifs et plus de temps. Les températures de recuit de chacun des ensembles d'amorces doivent être optimisées pour fonctionner correctement dans une seule réaction, ainsi que la taille des amplicons. C'est-à-dire que la longueur de leurs paires de bases doit être suffisamment différente pour former des bandes distinctes lorsqu'elles sont visualisées par électrophorèse sur gel.
- PCR assistée par nanoparticules (nanoPCR) : certaines nanoparticules (NP) peuvent améliorer l'efficacité de la PCR (on parle alors de nanoPCR), et certaines peuvent même surpasser les amplificateurs de PCR originaux. Il a été signalé que les points quantiques (QD) peuvent améliorer la spécificité et l'efficacité de la PCR. Les nanotubes de carbone à paroi simple (SWCNT) et les nanotubes de carbone à paroi multiple (MWCNT) sont efficaces pour améliorer l'amplification de la PCR longue. La nanopoudre de carbone (CNP) peut améliorer l'efficacité de la PCR répétée et de la PCR longue, tandis que

l'oxyde de zinc, le dioxyde de titane et les NPs d'Ag ont été trouvés pour augmenter le rendement de la PCR. Des données antérieures indiquaient que les NP non métalliques conservaient une fidélité d'amplification acceptable. Étant donné que de nombreuses NP sont capables d'améliorer l'efficacité de la PCR, il est clair que le potentiel d'amélioration de la technologie nanoPCR et de développement de produits est important.^{[59][60]}

- Nested PCR : augmente la spécificité de l'amplification de l'ADN, en réduisant le bruit de fond dû à l'amplification non spécifique de l'ADN. Deux jeux d'amorces sont utilisés dans deux PCR successives. Dans la première réaction, une paire d'amorces est utilisée pour générer des produits d'ADN, qui, outre la cible visée, peuvent encore être constitués de fragments d'ADN amplifiés de manière non spécifique. Le ou les produits sont ensuite utilisés dans une seconde PCR avec un ensemble d'amorces dont les sites de liaison sont complètement ou partiellement différents et situés en 3' de chacune des amorces utilisées dans la première réaction. La PCR nichée réussit souvent mieux que la PCR classique à amplifier spécifiquement de longs fragments d'ADN, mais elle exige une connaissance plus détaillée des séquences cibles.
- PCR par extension par recouvrement ou épissage par extension par recouvrement (SOEing) : technique de génie génétique utilisée pour épisser ensemble deux ou plusieurs fragments d'ADN contenant des séquences complémentaires. Elle est

utilisée pour joindre des morceaux d'ADN contenant des gènes, des séquences régulatrices ou des mutations ; la technique permet de créer des constructions d'ADN spécifiques et longues. Elle peut également introduire des délétions, des insertions ou des mutations ponctuelles dans une séquence d'ADN.

- PAN-AC : utilise des conditions isothermes pour l'amplification, et peut être utilisé dans des cellules vivantes.
- PCR quantitative (qPCR) : utilisée pour mesurer la quantité d'une séquence cible (généralement en temps réel). Elle mesure quantitativement les quantités initiales d'ADN, d'ADNc ou d'ARN. La PCR quantitative est couramment utilisée pour déterminer si une séquence d'ADN est présente dans un échantillon et le nombre de ses copies dans l'échantillon. La *PCR quantitative* a un degré de précision très élevé. Les méthodes de PCR quantitative utilisent des colorants fluorescents, comme le Sybr Green, l'EvaGreen ou des sondes d'ADN contenant des fluorophores, comme le TaqMan, pour mesurer la quantité de produit amplifié en temps réel. Elle est aussi parfois abrégée en RT-PCR (PCR en temps réel) mais cette abréviation ne doit être utilisée que pour la PCR par transcription inverse. qPCR est la contraction appropriée pour PCR quantitative (PCR en temps réel).
- PCR à complément inverse (RC-PCR) : Permet l'ajout de domaines fonctionnels ou de séquences de choix à ajouter indépendamment à chaque extrémité de l'amplicon généré dans

une seule réaction en tube fermé. Cette méthode génère des amorces spécifiques à la cible dans la réaction par l'interaction d'amorces universelles (qui contiennent les séquences ou domaines souhaités à ajouter) et de sondes RC.

- PCR par transcription inverse (*RT-PCR*) : pour amplifier l'ADN à partir de l'ARN. La transcriptase inverse transcrit l'ARN en ADNc, qui est ensuite amplifié par PCR. La RT-PCR est largement utilisée dans le profilage d'expression, pour déterminer l'expression d'un gène ou pour identifier la séquence d'une transcription d'ARN, y compris les sites de début et de fin de transcription. Si la séquence d'ADN génomique d'un gène est connue, la RT-PCR peut être utilisée pour cartographier l'emplacement des exons et des introns dans le gène. L'extrémité 5' d'un gène (correspondant au site de début de transcription) est généralement identifiée par RACE-PCR (Rapid Amplification of cDNA Ends).
- PCR dépendante de la RNase H (*rhPCR*) : une modification de la PCR qui utilise des amorces avec un bloc d'extension en 3' qui peut être retiré par une enzyme RNase HII thermostable. Ce système réduit le nombre d'amorces et permet d'effectuer des réactions multiplexées avec un nombre plus élevé d'amorces.
- Single Specific Primer-PCR (*SSP-PCR*) : permet l'amplification de l'ADN double brin même lorsque l'information sur la séquence n'est disponible qu'à une seule extrémité. Cette méthode permet l'amplification de gènes pour lesquels on ne

dispose que d'une information partielle sur la séquence, et permet une marche unidirectionnelle du génome à partir de régions connues vers des régions inconnues du chromosome.

- PCR en phase solide : englobe de multiples significations, y compris l'amplification en phase polonaise où les colonies PCR sont dérivées dans une matrice de gel, par exemple, la PCR à pont (les amorces sont liées de manière covalente à une surface de support solide), la PCR en phase solide conventionnelle (où la PCR asymétrique est appliquée en présence d'une amorce portant un support solide dont la séquence correspond à l'une des amorces aqueuses) et la PCR en phase solide améliorée où la PCR en phase solide conventionnelle peut être améliorée en employant une amorce de support solide à T_m élevé et imbriquée avec l'application facultative d'une " étape " thermique pour favoriser l'amorçage du support solide.
- PCR suicide : elle est généralement utilisée en paléogénétique ou dans d'autres études où la priorité absolue est d'éviter les faux positifs et de garantir la spécificité du fragment amplifié. Elle a été décrite à l'origine dans une étude visant à vérifier la présence du microbe *Yersinia pestis* dans des échantillons dentaires prélevés dans des tombes du XIVe siècle de personnes supposées avoir été tuées par la peste pendant l'épidémie médiévale de peste noire. La méthode prescrit l'utilisation d'une combinaison d'amorces une seule fois dans une PCR, d'où le terme "suicide", qui ne doit jamais avoir été utilisée dans une

réaction PCR de contrôle positif, et les amorces doivent toujours cibler une région génomique qui n'a jamais été amplifiée auparavant dans le laboratoire à l'aide de cette série d'amorces ou de toute autre. Cela permet de s'assurer qu'aucun ADN contaminant provenant de réactions PCR précédentes n'est présent dans le laboratoire, ce qui pourrait autrement générer des faux positifs.

- PCR thermique asymétrique entrelacée (TAIL-PCR) : pour l'isolement d'une séquence inconnue flanquant une séquence connue. Dans la séquence connue, la TAIL-PCR utilise une paire d'amorces imbriquées avec des températures d'hybridation différentes ; une amorce dégénérée est utilisée pour amplifier dans l'autre sens à partir de la séquence inconnue.
- Touchdown PCR (Step-down PCR) : variante de la PCR qui vise à réduire le bruit de fond non spécifique en abaissant progressivement la température d'hybridation au fur et à mesure des cycles de PCR. La température de recuit lors des cycles initiaux est généralement supérieure de quelques degrés (3-5 °C) à la T_m des amorces utilisées, tandis que lors des cycles ultérieurs, elle est inférieure de quelques degrés (3-5 °C) à la T_m des amorces. Les températures plus élevées donnent une plus grande spécificité pour la liaison des amorces, et les températures plus basses permettent une amplification plus efficace à partir des produits spécifiques formés lors des cycles initiaux.

- Universal Fast Walking (marche rapide universelle) : pour la marche du génome et les empreintes génétiques à l'aide d'une PCR "bilatérale" plus spécifique que les approches "unilatérales" conventionnelles (utilisant seulement une amorce spécifique au gène et une amorce générale, ce qui peut entraîner un "bruit" artéfactuel) en vertu d'un mécanisme impliquant la formation d'une structure lariat. Les dérivés simplifiés de l'UFW sont LaNe RAGE (PCR nichée dépendante de la structure lariat pour l'amplification rapide des extrémités de l'ADN génomique), 5'RACE LaNe et 3'RACE LaNe.

Les enzymes résistantes à la chaleur, qui sont un élément clé de la réaction en chaîne de la polymérase, ont été découvertes dans les années 1960 comme produit d'une forme de vie microbienne qui vivait dans les eaux surchauffées de la Mushroom Spring de Yellowstone.

En 1971, Kjell Kleppe et ses collègues du laboratoire de H. Gobind Khorana ont décrit pour la première fois une méthode permettant d'utiliser un test enzymatique pour répliquer une courte matrice d'ADN avec des amorces *in vitro*. Toutefois, cette première manifestation du principe de base de la PCR n'a pas reçu beaucoup d'attention à l'époque et l'invention de la réaction en chaîne par polymérase en 1983 est généralement attribuée à Kary Mullis.

Lorsque Mullis a développé la PCR en 1983, il travaillait à Emeryville, en Californie, pour Cetus Corporation, l'une des

premières sociétés de biotechnologie, où il était chargé de synthétiser de courtes chaînes d'ADN. Mullis a écrit qu'il a conçu l'idée de la PCR alors qu'il se promenait un soir en voiture sur l'autoroute de la côte du Pacifique. Il jouait dans son esprit avec une nouvelle façon d'analyser les mutations de l'ADN lorsqu'il s'est rendu compte qu'il avait plutôt inventé une méthode d'amplification de n'importe quelle région de l'ADN par des cycles répétés de duplication entraînés par l'ADN polymérase. Dans Scientific American, Mullis a résumé la procédure : "Partant d'une seule molécule du matériel génétique qu'est l'ADN, la PCR peut générer 100 milliards de molécules similaires en un après-midi. La réaction est facile à exécuter. Elle ne nécessite pas plus qu'un tube à essai, quelques réactifs simples et une source de chaleur." Les empreintes génétiques ont été utilisées pour la première fois pour les tests de paternité en 1988.

Mullis et le professeur Michael Smith, qui avaient mis au point d'autres moyens essentiels de manipuler l'ADN, ont reçu conjointement le prix Nobel de chimie en 1993, sept ans après que Mullis et ses collègues de Cetus aient mis sa proposition en pratique. L'article de Mullis publié en 1985 avec R. K. Saiki et H. A. Erlich, "Enzymatic Amplification of β -globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia" (Amplification enzymatique des séquences génomiques de la β -globine et analyse des sites de restriction pour

le diagnostic de l'anémie falciforme) - l'invention de la réaction en chaîne par polymérase (PCR) - a été honoré par une citation pour le Chemical Breakthrough Award de la Division of History of Chemistry de l'American Chemical Society en 2017.

Au cœur de la méthode PCR se trouve l'utilisation d'une ADN polymérase appropriée capable de résister aux températures élevées de $>90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($194\text{ }^{\circ}\text{F}$) nécessaires à la séparation des deux brins d'ADN dans la double hélice de l'ADN après chaque cycle de réplication. Les ADN polymérases initialement employées pour les expériences *in vitro* présageant la PCR étaient incapables de résister à ces hautes températures. Les premières procédures de réplication de l'ADN étaient donc très inefficaces et longues, et nécessitaient de grandes quantités d'ADN polymérase et une manipulation continue tout au long du processus.

La découverte en 1976 de la *Taq* polymérase, une ADN polymérase purifiée à partir de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus*, qui vit naturellement dans des environnements chauds ($50\text{ à }80\text{ }^{\circ}\text{C}$) tels que les sources chaudes, a ouvert la voie à des améliorations spectaculaires de la méthode PCR. L'ADN polymérase isolée de *T. aquaticus* est stable à haute température et reste active même après dénaturation de l'ADN, ce qui évite d'avoir à ajouter une nouvelle ADN polymérase après chaque cycle. Cela a permis d'automatiser le processus d'amplification de l'ADN à l'aide d'un thermocycleur.

Litiges en matière de brevets

La technique PCR a été brevetée par Kary Mullis et attribuée à Cetus Corporation, où Mullis travaillait lorsqu'il a inventé la technique en 1983. L'enzyme *Taq* polymérase était également couverte par des brevets. La technique a fait l'objet de plusieurs procès très médiatisés, dont un procès intenté sans succès par DuPont. La société pharmaceutique suisse Hoffmann-La Roche a acheté les droits sur les brevets en 1992 et détient actuellement ceux qui sont encore protégés.

Une bataille de brevets connexe sur l'enzyme *Taq* polymérase est toujours en cours dans plusieurs juridictions du monde entre Roche et Promega. Les arguments juridiques se sont prolongés au-delà de la durée de vie des brevets originaux de PCR et de *Taq* polymérase, qui ont expiré le 28 mars 2005.



Figure (50) : Processus d'amplification de l'ADN basé sur un thermocycleur.

RT-PCR

RT-PCR" redirige ici. Pour la réaction en chaîne par polymérase en temps réel, également appelée réaction en chaîne par polymérase quantitative en temps réel (qPCR) ou réaction en chaîne par polymérase cinétique, voir Réaction en chaîne par polymérase en temps réel.

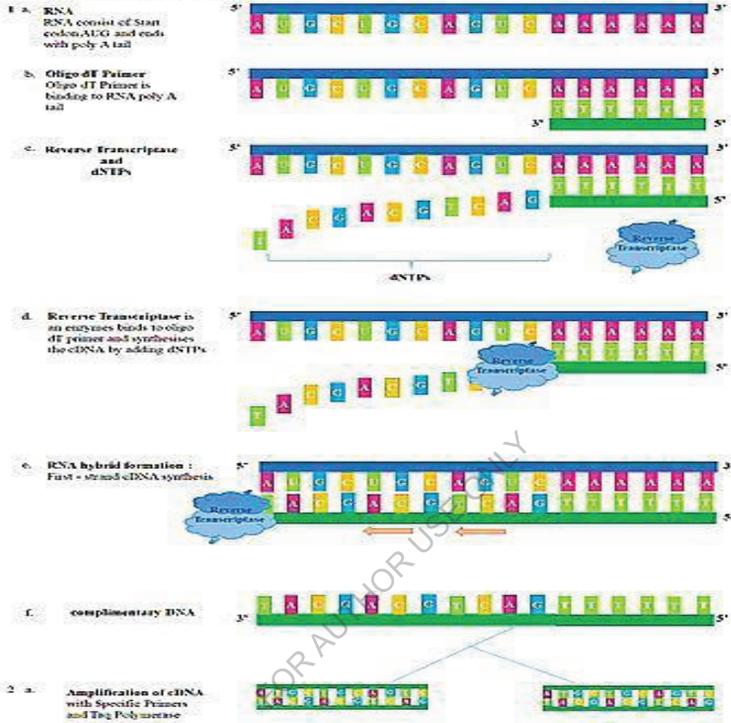
Transcription inverse de l'amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR)

est une technique de laboratoire combinant la transcription inverse de l'ARN en ADN, appelé dans ce contexte ADN complémentaire ou ADNc, et l'amplification de cibles ADN spécifiques à l'aide de la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Elle est principalement utilisée pour mesurer la quantité d'un ARN spécifique. Pour ce faire, on surveille la réaction d'amplification par fluorescence, une technique appelée PCR en temps réel ou PCR quantitative (qPCR). La RT-PCR et la qPCR combinées sont couramment utilisées pour l'analyse de l'expression génétique et la quantification de l'ARN viral dans la recherche et en milieu clinique.

L'association étroite entre la RT-PCR et la qPCR a conduit à l'utilisation métonymique du terme qPCR pour désigner la RT-PCR. Cette utilisation peut prêter à confusion, car la RT-PCR peut être utilisée sans la qPCR, par exemple pour permettre le clonage moléculaire, le séquençage ou la simple détection de l'ARN. Inversement, la qPCR peut être utilisée sans RT-PCR, par exemple pour quantifier le nombre de copies d'un fragment d'ADN spécifique.

4.8 Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

In RT-PCR, the RNA population is converted to cDNA by reverse transcription (RT), and then the cDNA is amplified by the polymerase chain reaction. The cDNA amplification step provides opportunities to further study the original RNA species, even when they are limited in amount or expressed in low abundance. Common applications of RT-PCR include detection of expressed genes, examination of transcript variants, and generation of cDNA templates for cloning and sequencing.



© Lokesh Thimmanna, under the guidance of Dr. G. Mallikarjuna, Assistant Professor, Molecular Biology, Agri Biotech Foundation.

Figure (51) : Technique RT-PCR et q PCR.

La technique combinée de RT-PCR et de qPCR a été décrite comme une RT-PCR quantitative ou une RT-PCR en temps réel (parfois même appelée RT-PCR quantitative en temps réel), a été diversement abrégée en qRT-PCR, RT-qPCR, RRT-PCR et rRT-PCR. Afin d'éviter toute confusion, les abréviations suivantes seront utilisées de manière cohérente tout au long du tableau (4).

Tableau (4) : Abréviations des types de techniques PCR.

Technique	Abréviation
Réaction en chaîne par polymérase	PCR
Transcription inverse de l'amplification en chaîne par polymérase	RT-PCR
Réaction en chaîne par polymérase en temps réel	qPCR
Technique combinée RT-PCR / qPCR	qRT-PCR

Tous les auteurs, surtout les plus anciens, n'utilisent pas cette convention et le lecteur doit être prudent lorsqu'il suit les liens. RT-PCR a été utilisé pour désigner à la fois la PCR en temps réel (qPCR) et la PCR par transcription inverse (RT-PCR).

Depuis son introduction en 1977, le Northern blot a été largement utilisé pour la quantification de l'ARN malgré ses inconvénients : (a) technique longue, (b) nécessite une grande quantité d'ARN pour la détection, et (c) quantitativement inexacte en raison de la faible abondance du contenu en ARN.^{[10][11]} Cependant, depuis son invention par Kary Mullis en 1983, la RT

PCR a supplanté le northern blot comme méthode de choix pour la détection et la quantification de l'ARN.

La RT-PCR est devenue la technologie de référence pour la détection et/ou la comparaison des niveaux d'ARN pour plusieurs raisons : (a) elle ne nécessite pas de traitement post-PCR, (b) une large gamme ($>10^7$ -fold) d'abondance d'ARN peut être mesurée, et (c) elle fournit un aperçu des données qualitatives et quantitatives.^[5] En raison de sa simplicité, de sa spécificité et de sa sensibilité, la RT-PCR est utilisée dans un large éventail d'applications, allant d'expériences aussi simples que la quantification de cellules de levure dans le vin à des utilisations plus complexes comme outils de diagnostic pour la détection d'agents infectieux tels que le virus de la grippe aviaire et le SRAS-CoV-2.

Principes

Dans la RT-PCR, la matrice d'ARN est d'abord convertie en ADN complémentaire (ADNc) à l'aide d'une transcriptase inverse (TI). L'ADNc est ensuite utilisé comme modèle pour une amplification exponentielle par PCR. L'utilisation de la RT-PCR pour la détection de la transcription de l'ARN a révolutionné l'étude de l'expression des gènes de plusieurs manières importantes :

- Il est désormais théoriquement possible de détecter les transcrits de pratiquement tous les gènes.^[16]
- Permet l'amplification de l'échantillon et élimine le besoin de matériel de départ abondant requis lors de l'utilisation de l'analyse par transfert Nord.
- Tolérance assurée pour la dégradation de l'ARN tant que l'ARN couvrant l'amorce est intact.

RT-PCR en une étape vs RT-PCR en deux étapes

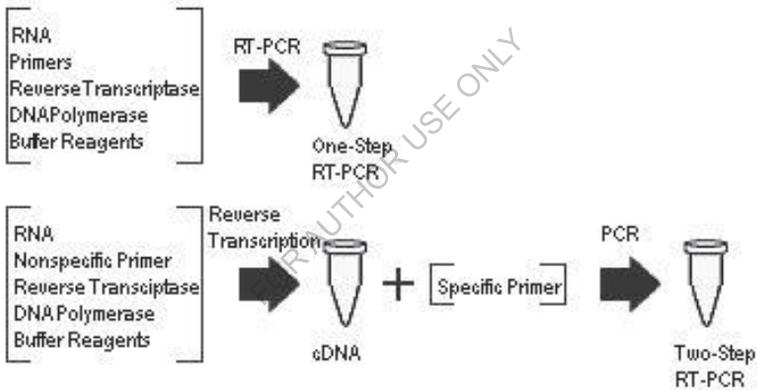


Figure (52) : RT-PCR en une étape vs RT-PCR en deux étapes

RT-PCR en une ou deux étapes

La quantification de l'ARNm par RT-PCR peut être réalisée en une ou deux étapes. La différence entre les deux approches réside dans le nombre de tubes utilisés lors de la réalisation de la procédure. La réaction en deux étapes nécessite que la réaction de

transcriptase inverse et l'amplification par PCR soient réalisées dans des tubes séparés. L'inconvénient de l'approche en deux étapes est la susceptibilité à la contamination due à la manipulation plus fréquente des échantillons. En revanche, l'ensemble de la réaction, de la synthèse de l'ADNc à l'amplification par PCR, se déroule dans un seul tube dans l'approche en une étape. L'approche en une étape est censée minimiser la variation expérimentale en contenant toutes les réactions enzymatiques dans un seul environnement. Elle élimine les étapes de pipetage du produit d'ADNc, qui demandent beaucoup de travail et sont susceptibles de contaminer la réaction de PCR. L'utilisation de polymérases tolérantes aux inhibiteurs et d'amplificateurs de polymérase dans des conditions optimisées de RT-PCR en une seule étape permet la transcription inverse de l'ARN à partir d'échantillons bruts ou non purifiés, tels que le sang entier et le sérum. Cependant, les modèles d'ARN de départ sont susceptibles de se dégrader dans l'approche en une étape, et l'utilisation de cette approche n'est pas recommandée lorsque des essais répétés à partir du même échantillon sont nécessaires. En outre, l'approche en une étape est considérée comme moins précise que l'approche en deux étapes. C'est également la méthode d'analyse privilégiée lors de l'utilisation de colorants de liaison à l'ADN tels que le SYBR Green, car l'élimination des amorces-dimères peut être obtenue par une simple modification de la température de fusion. Néanmoins, l'approche en une étape est une

solution relativement pratique pour la détection rapide de l'ARN cible directement en biodétection.

RT-PCR en point final vs RT-PCR en temps réel

La quantification des produits de la RT-PCR peut être divisée en deux catégories : en bout de chaîne et en temps réel. L'utilisation de la RT-PCR en point final est préférable pour mesurer les changements d'expression génétique dans un petit nombre d'échantillons, mais la RT-PCR en temps réel est devenue la méthode de référence pour valider les résultats quantitatifs obtenus à partir d'analyses de réseaux ou les changements d'expression génétique à l'échelle mondiale.

RT-PCR au point final

Les méthodes de mesure de la RT-PCR au point final nécessitent la détection des niveaux d'expression des gènes par l'utilisation de colorants fluorescents tels que le bromure d'éthidium, le marquage P32 des produits PCR à l'aide d'un phosphorimage ou par comptage à scintillation. La RT-PCR au point final est généralement réalisée à l'aide de trois méthodes différentes : relative, compétitive et comparative.

RT-PCR relative

Les quantifications relatives de la RT-PCR impliquent la co-amplification d'un contrôle interne simultanément avec le gène d'intérêt. Le contrôle interne est utilisé pour normaliser les échantillons. Une fois normalisé, une comparaison directe des abondances relatives des transcriptions dans plusieurs échantillons d'ARNm peut être effectuée. Une précaution à noter est que le contrôle interne doit être choisi de manière à ne pas être affecté par le traitement expérimental. Le niveau d'expression doit être constant dans tous les échantillons et avec l'ARNm d'intérêt pour que les résultats soient précis et significatifs. Étant donné que la quantification des résultats est analysée en comparant la gamme linéaire de l'amplification de la cible et du contrôle, il est crucial de prendre en considération la concentration de départ des molécules cibles et leur taux d'amplification avant de commencer l'analyse. Les résultats de l'analyse sont exprimés sous forme de rapports entre le signal du gène et le signal du contrôle interne. Ces valeurs peuvent ensuite être utilisées pour la comparaison entre les échantillons dans l'estimation de l'expression relative de l'ARN cible.

RT-PCR compétitive

La technique de RT-PCR compétitive est utilisée pour une quantification absolue. Elle implique l'utilisation d'un ARN

synthétique "concurrent" qui peut être distingué de l'ARN cible par une petite différence de taille ou de séquence. Il est important que la conception de l'ARN synthétique soit identique en séquence mais légèrement plus courte que l'ARN cible pour obtenir des résultats précis. Une fois conçu et synthétisé, une quantité connue de l'ARN concurrent est ajoutée aux échantillons expérimentaux et est co-amplifiée avec la cible par RT-PCR. Ensuite, une courbe de concentration de l'ARN concurrent est produite et elle est utilisée pour comparer les signaux RT-PCR produits par les transcrits endogènes afin de déterminer la quantité de cible présente dans l'échantillon.

RT-PCR comparative

La RT-PCR comparative est similaire à la RT-PCR compétitive en ce sens que l'ARN cible entre en compétition pour les réactifs d'amplification dans une seule réaction avec un standard interne de séquence non apparentée. Une fois la réaction terminée, les résultats sont comparés à une courbe standard externe pour déterminer la concentration de l'ARN cible. Par rapport aux méthodes de quantification relative et compétitive, la RT-PCR comparative est considérée comme la méthode la plus pratique à utiliser car elle ne nécessite pas que l'investigateur réalise une expérience pilote ; dans la RT-PCR relative, la plage d'amplification exponentielle de l'ARNm doit être prédéterminée

et dans la RT-PCR compétitive, un ARN concurrent synthétique doit être synthétisé.

RT-PCR en temps réel

L'émergence de nouvelles techniques de marquage de l'ADN fluorescent au cours des dernières années a permis l'analyse et la détection des produits de la PCR en temps réel et a donc conduit à l'adoption généralisée de la RT-PCR en temps réel pour l'analyse de l'expression des gènes. Non seulement la RT-PCR en temps réel est désormais la méthode de choix pour la quantification de l'expression des gènes, mais elle est également la méthode privilégiée pour obtenir des résultats d'analyses de réseaux et d'expressions génétiques à l'échelle mondiale. Il existe actuellement quatre sondes d'ADN fluorescentes différentes pour la détection par RT-PCR en temps réel des produits de la PCR : SYBR Green, TaqMan, les balises moléculaires et les sondes scorpion. Toutes ces sondes permettent la détection des produits de la PCR en générant un signal fluorescent. Alors que le colorant SYBR Green émet son signal fluorescent simplement en se liant à l'ADN double brin en solution, la génération de la fluorescence des sondes TaqMan, des balises moléculaires et des scorpions dépend du couplage par transfert d'énergie de résonance de Förster (FRET) de la molécule de colorant et d'une fraction quencher aux substrats oligonucléotidiques.

Vert SYBR

Lorsque le SYBR Green se lie à l'ADN double brin des produits PCR, il émet de la lumière par excitation. L'intensité de la fluorescence augmente au fur et à mesure que les produits de la PCR s'accumulent. Cette technique est facile à utiliser car la conception de sondes n'est pas nécessaire étant donné le manque de spécificité de sa liaison. Cependant, comme le colorant ne discrimine pas l'ADN double brin des produits de la PCR et celui des amorces-dimères, la surestimation de la concentration cible est un problème courant. Lorsqu'une quantification précise est une nécessité absolue, il faut procéder à d'autres analyses pour valider les résultats. Néanmoins, parmi les méthodes de détection des produits de la RT-PCR en temps réel, le SYBR Green est le plus économique et le plus facile à utiliser.

Sondes Taq Man

Les sondes TaqMan sont des oligonucléotides qui ont une sonde fluorescente attachée à l'extrémité 5' et un quencher à l'extrémité 3'. Au cours de l'amplification par PCR, ces sondes s'hybrident aux séquences cibles situées dans l'amplicon et, lorsque la polymérase réplique la matrice avec le TaqMan lié, elle clive également la sonde fluorescente en raison de l'activité 5'-nucléase de la polymérase. Comme l'étroite proximité entre la molécule de

quench et la sonde fluorescente empêche normalement la détection de la fluorescence par FRET, le découplage se traduit par une augmentation de l'intensité de la fluorescence proportionnelle au nombre de cycles de clivage de la sonde. Bien que les sondes TaqMan bien conçues produisent des résultats précis de RT-PCR en temps réel, leur synthèse est coûteuse et prend beaucoup de temps lorsqu'il faut fabriquer des sondes distinctes pour chaque cible d'ARNm analysée. De plus, ces sondes sont sensibles à la lumière et doivent être soigneusement congelées sous forme d'aliquotes pour éviter leur dégradation.

FOR AUTHOR USE ONLY

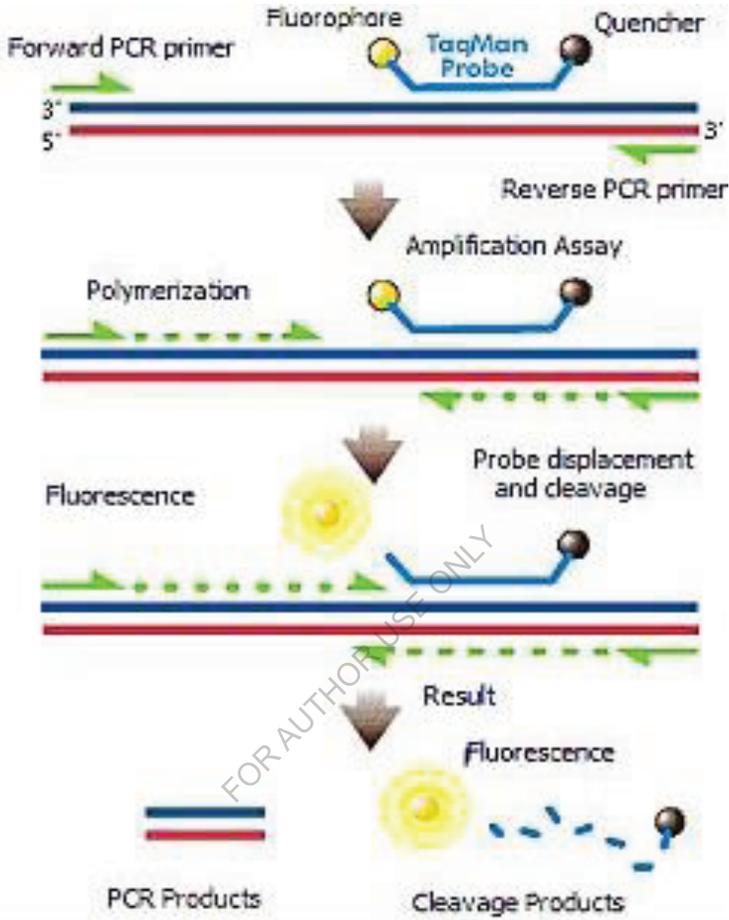


Figure (52) : Étapes de la RT-PCR.

Sondes à balises moléculaires

Comme les sondes TaqMan, les balises moléculaires utilisent également la détection FRET avec des sondes fluorescentes fixées à l'extrémité 5' et un quencher fixé à l'extrémité 3' d'un substrat oligonucléotidique. Cependant, alors que les sondes fluorescentes

TaqMan sont clivées pendant l'amplification, les sondes des balises moléculaires restent intactes et se lient à nouveau à une nouvelle cible à chaque cycle de réaction. Lorsqu'elles sont libres en solution, la proximité de la sonde fluorescente et de la molécule quencher empêche la fluorescence par FRET. Cependant, lorsque les sondes balises moléculaires s'hybrident à une cible, le colorant fluorescent et le quencher sont séparés, ce qui entraîne l'émission de lumière lors de l'excitation. Comme pour les sondes TaqMan, les balises moléculaires sont coûteuses à synthétiser et nécessitent des sondes distinctes pour chaque cible ARN.

Sondes scorpion

Les sondes Scorpion, comme les balises moléculaires, ne seront pas fluorescentes à l'état non hybridé, encore une fois parce que la sonde fluorescente à l'extrémité 5' est éteinte par la partie à l'extrémité 3' d'un oligonucléotide, mais avec les Scorpions, l'extrémité 3' contient également une séquence complémentaire au produit d'extension de l'amorce à l'extrémité 5'. Lorsque l'extension Scorpion se lie à son complément sur l'amplicon, la structure Scorpion s'ouvre, empêche le FRET et permet de mesurer le signal fluorescent.

Sondes multiplexes

Les sondes TaqMan, les balises moléculaires et les scorpions permettent de mesurer simultanément les produits de la PCR dans

un seul tube. Cela est possible car chacun des différents colorants fluorescents peut être associé à un spectre d'émission spécifique. Non seulement l'utilisation de sondes multiplex permet d'économiser du temps et des efforts sans compromettre l'utilité du test, mais son application dans de vastes domaines de recherche tels que l'analyse des délétions génétiques, l'analyse des mutations et du polymorphisme, l'analyse quantitative et la détection de l'ARN, en font une technique inestimable pour les laboratoires de nombreuses disciplines.

Deux stratégies sont couramment employées pour quantifier les résultats obtenus par RT-PCR en temps réel : la méthode de la courbe standard et la méthode du seuil comparatif.

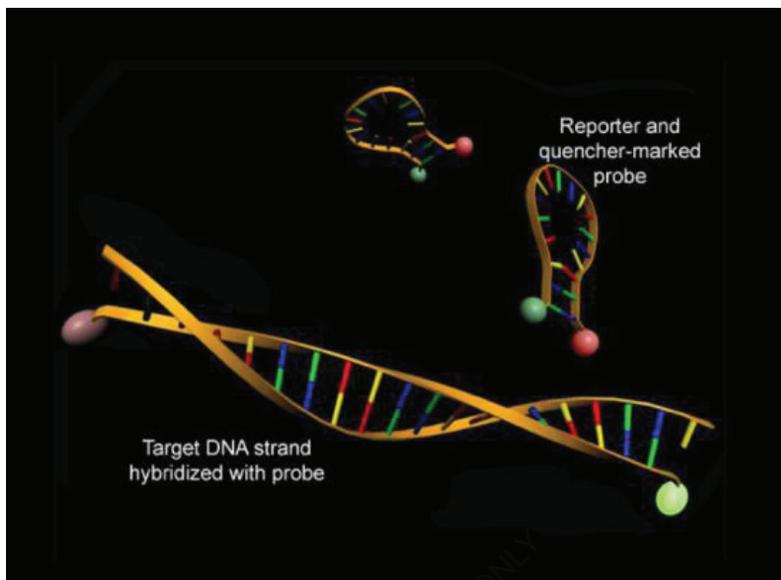


Figure (53) : Brin d'ADN cible hybridé avec la sonde, le rapporteur et la sonde marquée par un quencher.

Utilisation en ingénierie cellulaire

Des sondes oligonucléotidiques fluorogènes de signalisation ont été signalées pour être utilisées afin de détecter et d'isoler des cellules exprimant un ou plusieurs gènes souhaités, y compris la production de lignées cellulaires stables multigéniques exprimant le canal sodique épithélial hétéromultimère ($\alpha\beta\gamma$ -ENaC), le canal ionique 1.7 (NaV1.7- $\alpha\beta1\beta2$), quatre combinaisons uniques de sous-unités de canal ionique du récepteur de l'acide γ -aminobutyrique A (GABAA) $\alpha1\beta3\gamma2s$, $\alpha2\beta3\gamma2s$, $\alpha3\beta3\gamma2s$ et $\alpha5\beta3\gamma2s$, le régulateur de conductance de la fibrose kystique

(CFTR), CFTR- Δ 508 et deux récepteurs couplés aux protéines G (RCPG).

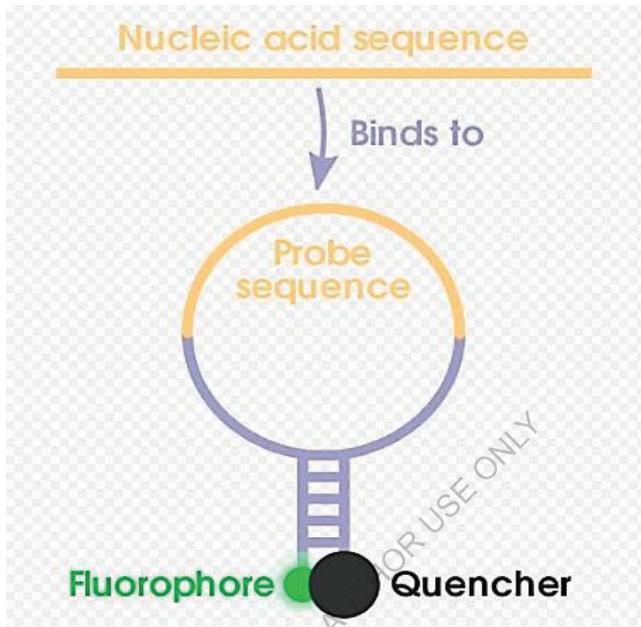


Figure (54) : Les structures d'une sonde balise moléculaire typique.

Applications

L'amplification exponentielle par transcription inverse de la réaction en chaîne de la polymérase fournit une technique très sensible dans laquelle un très faible nombre de copies de molécules d'ARN peut être détecté. La RT-PCR est largement utilisée dans le diagnostic des maladies génétiques et, de manière semi-quantitative, dans la détermination de l'abondance de différentes

molécules d'ARN spécifiques dans une cellule ou un tissu comme mesure de l'expression génétique.

Méthodologie de la RT-PCR

La RT-PCR est couramment utilisée dans les méthodes de recherche pour mesurer l'expression des gènes. Par exemple, Lin et al. ont utilisé la qRT-PCR pour mesurer l'expression des gènes Gal dans les cellules de levure. Tout d'abord, Lin et al. ont créé une mutation d'une protéine soupçonnée de participer à la régulation des gènes Gal. On a supposé que cette mutation abolissait sélectivement l'expression de Gal. Pour le confirmer, les niveaux d'expression des gènes des cellules de levure contenant cette mutation ont été analysés par qRT-PCR. Les chercheurs ont pu déterminer de manière concluante que la mutation de cette protéine régulatrice réduisait l'expression de Gal. L'analyse par transfert de Nord est utilisée pour étudier plus avant l'expression génétique de l'ARN.

Insertion de gènes

La RT-PCR peut également être très utile pour l'insertion de gènes eucaryotes dans des procaryotes. Comme la plupart des gènes eucaryotes contiennent des introns, qui sont présents dans le génome mais pas dans l'ARNm mature, l'ADNc généré par une

réaction de RT-PCR est la séquence d'ADN exacte (sans tenir compte de la nature sujette aux erreurs des transcriptases inverses) qui serait directement traduite en protéine après la transcription. Lorsque ces gènes sont exprimés dans des cellules procaryotes en vue de la production ou de la purification de protéines, l'ARN produit directement à partir de la transcription n'a pas besoin de subir d'épissage puisque le transcrit ne contient que des exons. Les procaryotes, tels que *E. coli*, ne disposent pas du mécanisme d'épissage de l'ARNm des eucaryotes.

Diagnostic des maladies génétiques

La RT-PCR peut être utilisée pour diagnostiquer une maladie génétique telle que le syndrome de Lesch-Nyhan. Cette maladie génétique est causée par un dysfonctionnement du gène HPRT1, qui entraîne cliniquement la formation d'un calcul urinaire d'acide urique fatal et des symptômes similaires à ceux de la goutte. L'analyse des niveaux d'expression de l'ARNm de l'HPRT1 chez une mère enceinte et un fœtus révélera si la mère est porteuse et si le fœtus est susceptible de développer le syndrome de Lesch-Nyhan.

Détection du cancer

Les scientifiques travaillent sur les moyens d'utiliser la RT-PCR dans la détection du cancer afin d'améliorer le pronostic et de surveiller la réponse au traitement. Les cellules tumorales en

circulation produisent des transcriptions d'ARNm uniques en fonction du type de cancer. L'objectif est de déterminer les transcriptions d'ARNm qui constituent les meilleurs biomarqueurs pour un type particulier de cellules cancéreuses, puis d'analyser leurs niveaux d'expression par RT-PCR.

La RT-PCR est couramment utilisée dans l'étude des génomes des virus dont les génomes sont composés d'ARN, comme l'Influenzavirus A, les rétrovirus comme le VIH et le SRAS-CoV-2.

Défis

Malgré ses avantages majeurs, la RT-PCR n'est pas sans inconvénients. La croissance exponentielle de l'ADN complémentaire transcrit à l'envers (ADNc) pendant les multiples cycles de la PCR produit une quantification inexacte du point final en raison de la difficulté à maintenir la linéarité.^[45] Afin de fournir une détection et une quantification précises du contenu en ARN d'un échantillon, la qRT-PCR a été développée en utilisant une modification basée sur la fluorescence pour surveiller les produits d'amplification pendant chaque cycle de la PCR. L'extrême sensibilité de cette technique peut être une arme à double tranchant, car la moindre contamination par l'ADN peut entraîner des résultats indésirables. Une méthode simple pour éliminer les résultats faussement positifs consiste à inclure des ancres, ou étiquettes,

dans la région 5' d'une amorce spécifique à un gène. En outre, la planification et la conception des études de quantification peuvent être techniquement difficiles en raison de l'existence de nombreuses sources de variation, notamment la concentration de la matrice et l'efficacité de l'amplification. L'ajout d'une quantité connue d'ARN dans un échantillon, l'ajout d'une série de dilutions d'ARN générant une courbe standard, et l'ajout d'un échantillon sans copie de matrice (sans ADNc) peuvent servir de contrôles. La RT-PCR peut être réalisée par le protocole RT-PCR en une étape ou le protocole RT-PCR en deux étapes.

RT-PCR en une étape

La RT-PCR en une étape soumet les ARNm cibles jusqu'à 6 kb à une transcription inverse suivie d'une amplification par PCR dans un seul tube à essai. Il est important de noter que l'utilisation d'un ARN intact et de haute qualité et d'une amorce spécifique à la séquence produira les meilleurs résultats.

Une fois qu'un kit de RT-PCR en une étape avec un mélange de transcriptase inverse, d'ADN polymérase Taq et de polymérase de correction a été sélectionné et que tous les matériaux et équipements nécessaires ont été obtenus, un mélange réactionnel doit être préparé. Le mélange réactionnel comprend des dNTP, des amorces, un ARN matrice, les enzymes nécessaires et une solution tampon. Le mélange réactionnel est ajouté à un tube PCR pour

chaque réaction, suivi de l'ARN matrice. Les tubes PCR sont ensuite placés dans un thermocycleur pour commencer le cycle. Au cours du premier cycle, la synthèse de l'ADNc a lieu. Le deuxième cycle est la dénaturation initiale où la transcriptase inverse est inactivée. Les 40 à 50 cycles restants correspondent à l'amplification, qui comprend la dénaturation, le recuit et l'élongation. Lorsque l'amplification est terminée, les produits de la RT-PCR peuvent être analysés par électrophorèse sur gel.

RT-PCR en deux étapes

La RT-PCR en deux étapes, comme son nom l'indique, se déroule en deux temps. D'abord la transcription inverse, puis la PCR. Cette méthode est plus sensible que la méthode en une étape. Des kits sont également utiles pour la RT-PCR en deux étapes. Comme pour la PCR en une étape, n'utilisez que de l'ARN intact et de haute qualité pour obtenir les meilleurs résultats. L'amorce pour la PCR en deux étapes ne doit pas nécessairement être spécifique à la séquence.

Première étape

Combiner d'abord l'ARN matrice, l'amorce, le mélange de dNTP et l'eau sans nucléase dans un tube PCR. Ensuite, ajouter un inhibiteur de RNase et une transcriptase inverse dans le tube PCR.

Ensuite, placez le tube PCR dans un thermocycleur pendant un cycle au cours duquel se produisent l'hybridation, l'extension et l'inactivation de la transcriptase inverse. Enfin, passer directement à l'étape 2, qui est la PCR, ou conserver le produit sur la glace jusqu'à ce que la PCR puisse être effectuée.

Deuxième étape

Ajouter le master mix qui contient un tampon, un mélange de dNTP, du $MgCl_2$, de la Taq polymérase et de l'eau sans nucléase dans chaque tube PCR. Ajouter ensuite l'amorce nécessaire dans les tubes. Ensuite, placez les tubes PCR dans un thermocycleur pour 30 cycles du programme d'amplification. Ce programme comprend : la dénaturation, le recuit et l'élongation. Les produits de la RT-PCR peuvent être analysés par électrophorèse sur gel.

Guides de publication

Le test RT-PCR quantitatif est considéré comme l'étalon-or pour mesurer le nombre de copies de cibles ADNc spécifiques dans un échantillon, mais il est mal standardisé. En conséquence, bien qu'il existe de nombreuses publications utilisant cette technique, beaucoup d'entre elles fournissent des détails expérimentaux inadéquats et utilisent des analyses de données inadaptées pour tirer des conclusions inappropriées. En raison de la variabilité inhérente à la qualité de toute donnée de PCR quantitative, non seulement les évaluateurs ont du mal à évaluer ces manuscrits, mais les études deviennent également impossibles à reproduire. Conscients de la

nécessité de normaliser le compte rendu des conditions expérimentales, un consortium international de scientifiques universitaires a publié les directives MIQE (Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments, prononcer mykee). Les lignes directrices MIQE décrivent les informations minimales nécessaires à l'évaluation des expériences de PCR quantitative qui devraient être requises pour la publication afin d'encourager de meilleures pratiques expérimentales et de garantir la pertinence, l'exactitude, l'interprétation correcte et la répétabilité des données de PCR quantitative. Outre les lignes directrices relatives à l'établissement des rapports, la MIQE souligne la nécessité de normaliser la nomenclature associée à la PCR quantitative afin d'éviter toute confusion. Par exemple, l'abréviation qPCR devrait être utilisée pour la PCR quantitative en temps réel et RT-qPCR pour la transcription inverse-qPCR, et les gènes utilisés pour la normalisation devraient être appelés gènes de référence au lieu de gènes de maintien. Il est également proposé de ne pas utiliser de termes dérivés du commerce comme les sondes TaqMan, mais de les appeler sondes d'hydrolyse. En outre, il est proposé que le cycle de quantification (Cq) soit utilisé pour décrire le cycle de PCR utilisé pour la quantification au lieu du cycle de seuil (Ct), du point de croisement (Cp) et du point de décollage (TOP), qui font référence à la même valeur mais ont été inventés par différents fabricants d'instruments en temps réel.

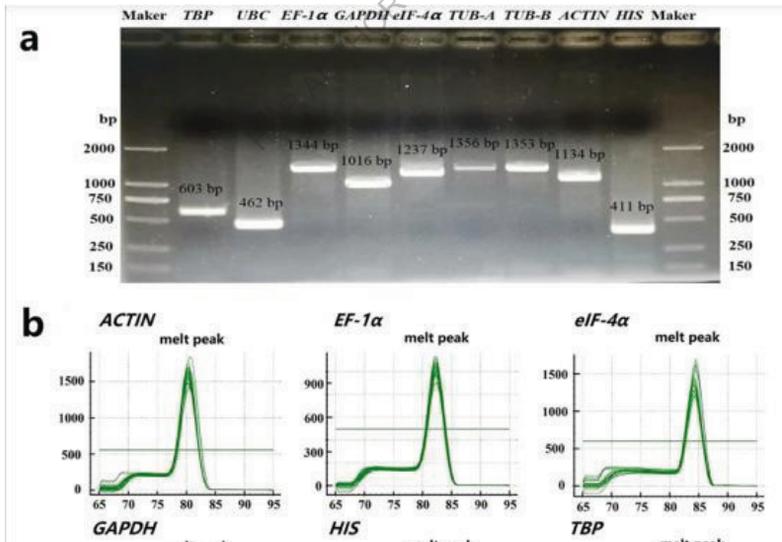
La ligne directrice se compose des éléments suivants :

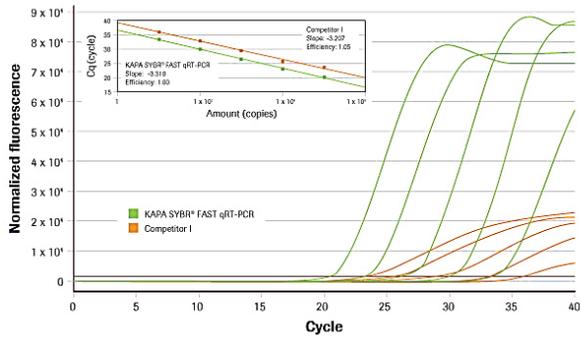
- 1) la conception expérimentale.
- 2) échantillon.
- 3) l'extraction des acides nucléiques.
- 4) transcription inverse.
- 5) Informations sur la cible de la qPCR.
- 6) les oligonucléotides.
- 7) le protocole.
- 8) validation.
- 9) l'analyse des données.

Les éléments spécifiques de chaque élément portent une étiquette E (essentiel) ou D (souhaitable). Les éléments étiquetés E sont considérés comme critiques et indispensables, tandis que ceux étiquetés D sont considérés comme périphériques mais importants pour les meilleures pratiques.



Figure (55) : RT-PCR en deux étapes





RRM1 gene (94 bp, 45.7% GC) amplified from 10-fold dilution series of RNA (100 ng to 10 pg per 20 μ L reaction) isolated from human placenta. KAPA SYBR FAST One-Step qRT-PCR Kit demonstrates earlier C_q values, higher fluorescence, and optimal reaction efficiencies.

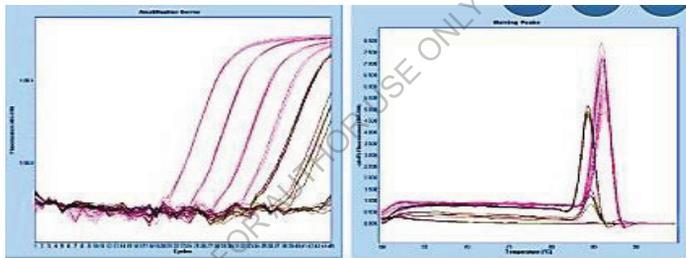


Fig 2. Exceptional Speed and Sensitivity of AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix.

qPCR amplification and melt traces of mouse housekeeping gene Phosphoglycerate kinase 1 (PGK-1) directly from Total RNA (dilution series).

Panel B: AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix (Purple) is compared with Qiagen QuantiTect® SYBR Green RT-PCR Kit (Black). In each case, AzuraQuant™ Green One-Step qPCR Mix exhibits earlier Ct values and improved sensitivity.

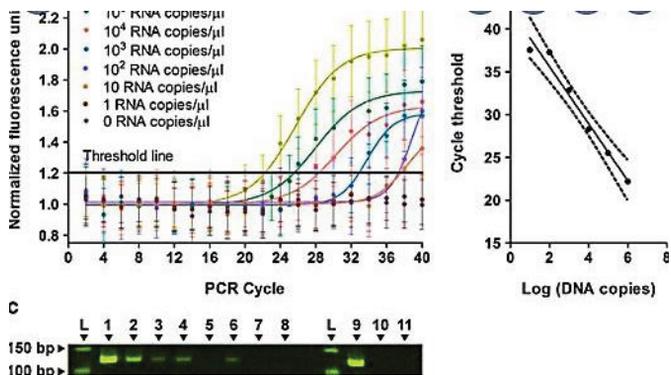


Figure (56) : CT de la RT-PCR avec le pic d'expression du gène.

FOR AUTHOR USE ONLY

1-3 Références

1. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). "L'évolution, les thèmes de la biologie et la démarche scientifique". Campbell Biology (11e édition). New York : Pearson. pp. 2-26. ISBN 978-0134093413.
2. Hillis, David M. ; Heller, H. Craig ; Hacker, Sally D. ; Laskowski, Marta J. ; Sadava, David E. (2020). "Étudier la vie". Life : The Science of Biology(12th ed.). W. H. Freeman. ISBN 978-1319017644.
3. Freeman, Scott ; Quillin, Kim ; Allison, Lizabeth ; Black, Michael ; Podgorski, Greg ; Taylor, Emily ; Carmichael, Jeff (2017). " La biologie et les trois de la vie ". Biological Science (6e édition). Hoboken, N.J. : Pearson. pp. 1-18. ISBN 978-0321976499.
4. Modell, Harold ; Cliff, William ; Michael, Joel ; McFarland, Jenny ; Wenderoth, Mary Pat ; Wright, Ann (décembre 2015). "Le point de vue d'un physiologiste sur l'homéostasie". Progrès dans l'enseignement de la physiologie. **39** (4) : 259–266. doi:10.1152/advan.00107.2015. ISSN 1043-4046. PMC 4669363. PMID 26628646.
5. Davies, PC ; Rieper, E ; Tuszynski, JA (janvier 2013). "Auto-organisation et réduction de l'entropie dans une cellule

- vivante". *Bio Systems*. 111 (1) : 1–10. doi:10.1016/j.biosystems.2012.10.005. PMC 3712629. PMID 23159919.
6. Basé sur la définition de : "Aquarena Wetlands Project glossary of terms". Université d'État du Texas à San Marcos. Archivé de l'original le 2004-06-08.
 7. Craig, Nancy (2014). *Biologie moléculaire, principes de fonctionnement du génome*. ISBN 978-0-19-965857-2.
 8. Mosconi, Francesco ; Julou, Thomas ; Desprat, Nicolas ; Sinha, Deepak Kumar ; Allemand, Jean-François ; Vincent Croquette ; Bensimon, David (2008). "Quelques défis non linéaires en biologie". *Nonlinearity*. 21 (8) : T131. Bibcode:2008Nonli...21..131M. doi:10.1088/0951-7715/21/8/T03. ISSN 0951-7715.
 9. Howell, Elizabeth (8 décembre 2014). "Comment la vie est-elle devenue complexe, et cela pourrait-il se produire au-delà de la Terre ?". *Astrobiology Magazine*. Archivé de l'original le 17 août 2018. Consulté le 14 février 2018.
 10. Pearce, Ben K.D. ; Tupper, Andrew S. ; Pudritz, Ralph E. ; et al. (1er mars 2018). "Constraining the Time Interval for the Origin of Life on Earth". *Astrobiologie*. 18 (3) : 343-364. arXiv:1808.09460. Bibcode:2018AsBio...18..343P. doi:10.1089/ast.2017.1674. ISSN 1531-1074. PMID 29570409. S2CID 4419671.

11. "Qui a inventé le terme "biologie" ?". Info.com. Archivé de l'original le 2013-05-09. Consulté le 2012-06-03.
12. "Biologie". Dictionnaire étymologique en ligne. Archivé de l'original le 2013-03-07.
13. Richards, Robert J. (2002). *La conception romantique de la vie : Science and Philosophy in the Age of Goethe*. University of Chicago Press. ISBN 978-0-226-71210-9.
14. Lindberg, David C. (2007). "Science before the Greeks". *The beginnings of Western science : the European Scientific tradition in philosophical, religious, and institutional context (Deuxième édition)*. Chicago, Illinois : University of Chicago Press. pp. 1-20. ISBN 978-0-226-48205-7.
15. Grant, Edward (2007). "De l'Égypte ancienne à Platon". *Une histoire de la philosophie naturelle : From the Ancient World to the Nineteenth Century (Première édition)*. New York, New York : Cambridge University Press. pp. 1-26. ISBN 978-052-1-68957-1.
16. Magner, Lois N. (2002). *A History of the Life Sciences, Revised and Expanded*. CRC Press. ISBN 978-0-203-91100-6. Archivé de l'original le 2015-03-24.
17. Serafini, Anthony (2013). *L'histoire épique de la biologie*. ISBN 978-1-4899-6327-7. Consulté le 14 juillet 2015.

18. Une ou plusieurs des phrases précédentes incorporent le texte d'une publication maintenant dans le domaine public : Chisholm, Hugh, ed. (1911). "Theophrastus. Encyclopædia Britannica (11e éd.). Cambridge University Press.
19. Fahd, Toufic (1996). "Botanique et agriculture". Dans Morelon, Régis ; Rashed, Roshdi (eds.). Encyclopédie de l'histoire des sciences arabes. 3. Routledge. p. 815. ISBN 978-0-415-12410-2.
20. Magner, Lois N. (2002). A History of the Life Sciences, Revised and Expanded. CRC Press. pp. 133-44. ISBN 978-0-203-91100-6. Archived from the original on 2015-03-24.
21. Sapp, Jan (2003). "7". Genèse : The Evolution of Biology. New York : Oxford University Press. ISBN 978-0-19-515618-8.
22. Coleman, William (1977). La biologie au dix-neuvième siècle : Problems of Form, Function, and Transformation. New York : Cambridge University Press. ISBN 978-0-521-29293-1.
23. Mayr, Ernst. L'essor de la pensée biologique, chapitre 4
24. Mayr, Ernst. L'essor de la pensée biologique, chapitre 7
25. Darwin 1909, p. 53

26. Gould, Stephen Jay. La structure de la théorie de l'évolution. The Belknap Press of Harvard University Press : Cambridge, 2002. ISBN 0-674-00613-5. p. 187.
27. Lamarck (1914)
28. Mayr, Ernst. The Growth of Biological Thought, chapitre 10 : "Darwin's evidence for evolution and common descent" ; et chapitre 11 : "The causation of evolution : natural selection".
29. Larson, Edward J. (2006). "Ch. 3". Evolution : The Remarkable History of a Scientific Theory. Random House Publishing Group. ISBN 978-1-58836-538-5. Archivé de l'original le 2015-03-24.
30. Henig (2000). Op. cit, p. 134-138.
31. Miko, Ilona (2008). "Les principes d'hérédité de Gregor Mendel constituent la pierre angulaire de la génétique moderne. Mais qu'est-ce qu'ils sont au juste ?". Éducation à la nature. **1** (1) : 134.
32. Futuyma, Douglas J. ; Kirkpatrick, Mark (2017). " Biologie évolutive ". Evolution (4th ed.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. pp. 3-26.
33. Noble, Ivan (2003-04-14). "Le génome humain enfin complet". BBC News. Archivé de l'original le 2006-06-14. Consulté le 2006-07-22.

34. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). " Le contexte chimique de la vie ". Campbell Biology(11th ed.). New York : Pearson. pp. 28-43. ISBN 978-0134093413.
35. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). " L'eau et la vie ". Campbell Biology (11e édition). New York : Pearson. pp. 44-55. ISBN 978-0134093413.
36. "Liaison ionique". Compendium de terminologie chimique de l'UICPA. 2009. doi:10.1351/goldbook.IT07058. ISBN 978-0-9678550-9-7.
37. Campbell, Neil A. ; Williamson, Brad ; Heyden, Robin J. (2006). Biologie : Exploring Life. Boston. ISBN 0-13-250882-6. Consulté le 2012-02-05.^[Une meilleure source est nécessaire]
38. Freeman, Scott ; Quillin, Kim ; Allison, Lizabeth ; Black, Michael ; Podgorski, Greg ; Taylor, Emily ; Carmichael, Jeff (2017). " L'eau et le carbone : la base chimique de la vie ". Biological Science (6e éd.). Hoboken, N.J. : Pearson. pp. 55-77. ISBN 978-0321976499.
39. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). "La diversité moléculaire de la vie". Campbell Biology (11e édition). New York : Pearson. pp. 56-65. ISBN 978-0134093413.

40. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). "La structure et la fonction des grandes molécules biologiques". Campbell Biology (11e éd.). New York : Pearson. pp. 66-92. ISBN 978-0134093413.
41. Mazzeo, P (mai 1999). "Un concept unificateur : l'histoire de la théorie cellulaire". Nature Cell Biology. **1** (1) : E13-15. doi:10.1038/8964. PMID 10559875. S2CID 7338204.
42. Campbell NA, Williamson B, Heyden RJ (2006). Biology : Exploring Life. Boston ; Pearson Prentice Hall. ISBN 9780132508827.
43. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). " Structure et fonction des membranes ". Campbell Biology (11e édition). New York : Pearson. pp. 126-142. ISBN 978-0134093413.
44. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. (2002). Molecular Biology of the Cell(4th ed.). New York : Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3. Archivedfrom the original on 2017-12-20.
45. Tom Herrmann ; Sandeep Sharma (2 mars 2019). "Physiologie, membrane". StatPearls. PMID 30855799.
46. Cell Movements and the Shaping of the Vertebrate Body (Mouvements cellulaires et formation du corps des

vertébrés) au chapitre 21 de la quatrième édition de *Molecular Biology of the Cell* (Biologie moléculaire de la cellule), éditée par Bruce Alberts (2002) et publiée par Garland Science.

Le texte d'Alberts traite de la manière dont les "blocs de construction cellulaires" se déplacent pour façonner les embryons en développement. Il est également courant de décrire de petites molécules telles que les acides aminés comme des "blocs de construction moléculaires".

47. Freeman, Scott ; Quillin, Kim ; Allison, Lizabeth ; Black, Michael ; Podgorski, Greg ; Taylor, Emily ; Carmichael, Jeff (2017). "L'énergie et les enzymes : Une introduction au métabolisme". *Science biologique* (6e éd.). Hoboken, N.J. : Pearson. pp. 171-188. ISBN 978-0321976499.
48. Bailey, Regina. "Respiration cellulaire". Archivé de l'original le 2012-05-05.
49. Schmidt-Rohr, K. (2015). " Pourquoi les combustions sont toujours exothermiques, donnant environ 418 kJ par mole de O₂ ", *J. Chem. Educ.* **92**: 2094-2099.<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jchemed.5b00333>
50. Lodish, Harvey ; Berk, Arnold ; Kaiser, Chris A. ; Krieger, Monty ; Scott, Matthew P. ; Bretscher, Anthony ; Ploegh, Hidde ; Matsudaira, Paul (2008). "Énergétique

- cellulaire". *Molecular Cell Biology* (6e éd.). New York : W.H. Freeman and Company. pp. 479-532. ISBN 978-0716776017.
51. "photosynthèse". Dictionnaire étymologique en ligne. Archivé de l'original le 2013-03-07. Consulté le 2013-05-23.
 52. Liddell, Henry George ; Scott, Robert ; Un lexique grec-anglais au projet Perseus
 53. Liddell, Henry George ; Scott, Robert ; Un lexique grec-anglais au projet Perseus
 54. Bryant DA, Frigaard NU (Nov 2006). " Prokaryotic photosynthesis and phototrophy illuminated ". *Trends in Microbiology*. **14** (11) : 488-496. doi:10.1016/j.tim.2006.09.001. PMID 16997562.
 55. Reece J, Urry L, Cain M, Wasserman S, Minorsky P, Jackson R (2011). *Biology* (International ed.). Upper Saddle River, N.J. : Pearson Education. pp. 235, 244. ISBN 978-0-321-73975-9. Cette incorporation initiale de carbone dans les composés organiques est connue sous le nom de fixation du carbone.
 56. Neitzel, James ; Rasband, Matthew. "La communication cellulaire". *Nature Education*. Consulté le 29 mai 2021.
 57. "La signalisation cellulaire". *Éducation à la nature*. Consulté le 29 mai 2021.

58. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). " Les membranes cellulaires et la signalisation ". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, p. 82-104. ISBN 978-1464175121.
59. Martin EA, Hine R (2020). *Un dictionnaire de biologie* (6e éd.). Oxford : Oxford University Press. ISBN 9780199204625. OCLC 176818780.
60. Griffiths AJ (2012). *Introduction à l'analyse génétique* (10e éd.). New York : W.H. Freeman and Co. ISBN 9781429229432. OCLC 698085201.
61. "10.2 Le cycle cellulaire - Biologie 2e | OpenStax". openstax.org. Consulté le 24 novembre 2020.
62. Freeman, Scott ; Quillin, Kim ; Allison, Lizabeth ; Black, Michael ; Podgorski, Greg ; Taylor, Emily ; Carmichael, Jeff (2017). "Meiosis". *Biological Science*(6th ed.). Hoboken, N.J. : Pearson. pp. 271-289. ISBN 978-0321976499.
63. Casiraghi A, Suigo L, Valoti E, Straniero V (février 2020). "Cibler la division cellulaire bactérienne : A Binding Site-Centered Approach to the Most Promising Inhibitors of the Essential Protein FtsZ". *Antibiotics*. **9** (2) : 69. doi:10.3390/antibiotics9020069. PMC 7167804. PMID 32046082.

64. Griffiths, Anthony J. ; Wessler, Susan R. ; Carroll, Sean B. ; Doebley, John (2015). " La révolution génétique ". Une introduction à l'analyse génétique(11e éd.). Sunderland, Mass. : W.H. Freeman & Company. pp. 1-30. ISBN 978-1464109485.
65. Griffiths, Anthony J.F. ; Miller, Jeffrey H. ; Suzuki, David T. ; Lewontin, Richard C. ; Gelbart, William M., eds. (2000). "La génétique et l'organisme : Introduction". An Introduction to Genetic Analysis (7e édition). New York : W. H. Freeman. ISBN 978-0-7167-3520-5.
66. Hartl, D ; Jones, E (2005). Génétique : Analysis of Genes and Genomes(6th ed.). Jones & Bartlett. ISBN 978-0-7637-1511-3.
67. Rutgers : Principes mendéliens
68. Miko, Ilona (2008), "Test crosses", Éducation à la nature, **1** (1) : 136
69. Miko, Ilona (2008), "Thomas Hunt Morgan et le lien entre les sexes", Nature Education, **1** (1) : 143
70. "Pedigree". Institut national de recherche sur le génome humain. Consulté le 28 mai 2021. Le pedigree est la représentation génétique d'un arbre généalogique qui illustre la transmission d'un trait ou d'une maladie sur plusieurs générations. Le pedigree montre les relations entre les

membres de la famille et indique quels individus expriment ou portent silencieusement le trait en question.

71. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). "Mendel et l'idée du gène". *Campbell Biology* (11^e édition). New York : Pearson. pp. 269-293. ISBN 978-0134093413.
72. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2014). *Biologie moléculaire de la cellule* (6^e éd.). Garland. p. Chapitre 4 : ADN, chromosomes et génomes. ISBN 978-0-8153-4432-2. Archivé de l'original le 14 juillet 2014.
73. Purcell A. "ADN". *Basic Biology*. Archivé de l'original le 5 janvier 2017.
74. Russell P (2001). *iGenetics*. New York : Benjamin Cummings. ISBN 0-8053-4553-1.
75. Thanbichler, M ; Wang, SC ; Shapiro, L (octobre 2005). "Le nucléoïde bactérien : une structure hautement organisée et dynamique". *Journal of Cellular Biochemistry*. **96** (3) : 506-21. doi:10.1002/jcb.20519. PMID 15988757. S2CID 25355087.
76. "Définition du génotype - Définitions du dictionnaire médical". *Medterms.com*. 2012-03-19. Archivé de l'original le 2013-09-21. Consulté le 2013-10-02.

77. Crick FH (1958). "Sur la synthèse des protéines". Symposia de la Société de Biologie Expérimentale. **12** : 138-63. PMID 13580867.
78. Crick F (août 1970). "Dogme central de la biologie moléculaire". Nature. **227**(5258) : 561-3. Bibcode:1970Natur.227.. 561C. doi:10.1038/227561a0. PMID 4913914. S2CID 4164029.
79. "Le dogme central inversé". Nature. **226** (5252) : 1198-9. Juin 1970. Bibcode:1970Natur.226.1198.. doi:10.1038/2261198a0. PMID 5422595. S2CID 4184060.
80. "Uracil". Genome.gov. Consulté le 21 novembre 2019.
81. Temin HM, Mizutani S (juin 1970). "ADN polymérase ARN-dépendante dans les virions du virus du sarcome de Rous". Nature. **226** (5252) : 1211-3. doi:10.1038/2261211a0. PMID 4316301. S2CID 4187764.
82. Baltimore D (juin 1970). "ADN polymérase ARN-dépendante dans les virions des virus tumoraux à ARN". Nature. **226** (5252) : 1209–11. doi:10.1038/2261209a0. PMID 4316300. S2CID 4222378.
83. "Définitions de la génétique et de la génomique par l'OMS". Organisation mondiale de la santé.
84. Concepts de la génétique (10e éd.). San Francisco : Pearson Education. 2012. ISBN 978-0-321-72412-0.

85. Culver KW, Labow MA (8 novembre 2002). "Genomics". Dans Robinson R (ed.). Genetics. Macmillan Science Library. Macmillan Reference USA. ISBN 978-0-02-865606-9.
86. Kadakkuzha BM, Puthanveetil SV (juillet 2013). "La génomique et la protéomique dans la résolution de la complexité du cerveau". Biosystèmes moléculaires. **9** (7) : 1807–21. doi:10.1039/C3MB25391K. PMC 6425491. PMID 23615871.
87. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Biotechnologie". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 234-252. ISBN 978-1464175121.
88. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Biotechnologie". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 253-272. ISBN 978-1464175121.
89. Freeman, Scott ; Quillin, Kim ; Allison, Lizabeth ; Black, Michael ; Podgorski, Greg ; Taylor, Emily ; Carmichael, Jeff (2017). " La biologie et les trois de la vie ". Biological Science (6e édition). Hoboken, N.J. : Pearson. pp. 398-417. ISBN 978-0321976499.
90. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). " Gènes, développement et évolution

- ". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 273-298. ISBN 978-1464175121.
91. Slack, J.M.W. (2013) *Essential Developmental Biology*. Wiley-Blackwell, Oxford.
92. Slack, J.M.W. (2007). "Métaplasie et transdifférenciation : de la biologie pure à la clinique". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. **8** (5) : 369-378. doi:10.1038/nrm2146. PMID 17377526. S2CID 3353748.
93. Atala A, Lanza R (2012-12-31). *Handbook of Stem Cells (Manuel des cellules souches)*. Academic Press. p. 452. ISBN 978-0-12-385943-3.
94. Yanes, Oscar ; Clark, Julie ; Wong, Diana M. ; Patti, Gary J. ; Sánchez-Ruiz, Antonio ; Benton, H. Paul ; Trauger, Sunia A. ; Desponts, Caroline ; Ding, Sheng ; Siuzdak, Gary (juin 2010). "L'oxydation métabolique régule la différenciation des cellules souches embryonnaires". *Nature Chemical Biology*. **6** (6) : 411-417. doi:10.1038/nchembio.364. ISSN 1552-4469. PMC 2873061. PMID 20436487.
95. Carroll, Sean B. "Les origines de la forme". *Histoire naturelle*. Consulté le 9 octobre 2016. Les biologistes pouvaient dire, avec assurance, que les formes changent et que la sélection naturelle est une force importante de changement. Pourtant, ils ne pouvaient rien dire sur la

manière dont ce changement s'opère. La façon dont les corps ou les parties du corps changent, ou la façon dont de nouvelles structures apparaissent, restaient des mystères complets.

96. Abzhanov, A. ; Protas, M. ; Grant, B.R. ; Grant, P.R. ; Tabin, C.J. (2004). "Bmp4 et la variation morphologique des becs chez les pinsons de Darwin". *Science*. **305**(5689) : 1462-1465. Bibcode:2004Sci...305.1462A. doi:10.1126/science.1098095. PMID 15353802. S2CID 17226774.
97. Cohn, M.J. ; Tickle, C. (1999). "Developmental basis of limblessness and axial patterning in snakes". *Nature*. **399** (6735) : 474-479. Bibcode:1999Natur.399.. 474C. doi:10.1038/20944. PMID 10365960. S2CID 4309833.
98. Beverdam, A. ; Merlo, G.R. ; Paleari, L. ; Mantero, S. ; Genova, F. ; Barbieri, O. ; Janvier, P. ; Levi, G. (août 2002). "Transformation de la mâchoire avec gain de symétrie après l'inactivation de DLX5/DLX6 : Mirror of the Past ?" (PDF). *Genesis*. **34** (4) : 221-227. doi:10.1002/gene.10156. hdl:2318/87307. PMID 12434331. S2CID 19592597.
99. Depew, M.J. ; Lufkin, T. ; Rubenstein, J.L. (octobre 2002). "Spécification des subdivisions de la mâchoire par les gènes DLX". *Science*. **298** (5592) : 381-385.

- doi:10.1126/science.1075703. PMID 12193642. S2CID 10274300.
100. Panganiban, Grace ; Rubenstein, John L. R. (2002). " Developmental functions of the Distal-less/Dlx homeobox genes ". *Développement*. **129** (19) : 4371–4386. doi:10.1242/dev.129.19.4371. PMID 12223397.
101. Beldade, P. ; Brakefield, P.M. ; Long, A.D. (2002). "Contribution de Distal-less à la variation quantitative des ocelles des papillons". *Nature*. **415** (6869) : 315-318. doi:10.1038/415315a. PMID 11797007. S2CID 4430563.
102. Hall & Hallgrímsson 2008, pp. 4-6
103. "Ressources sur l'évolution". Washington, D.C. : Académies nationales des sciences, de l'ingénierie et de la médecine. 2016. Archivé de l'original le 2016-06-03.
104. Packard, Alpheus Spring (1901). *Lamarck, le fondateur de l'évolution : sa vie et son œuvre avec des traductions de ses écrits sur l'évolution organique*. New York : Longmans, Green. ISBN 978-0-405-12562-1.
105. "The Complete Works of Darwin Online - Biography". darwin-online.org.uk. Archivé de l'original le 2007-01-07. Consulté le 2006-12-15.
106. Dobzhansky, T. (1973). "Rien en biologie n'a de sens si ce n'est à la lumière de l'évolution". *The American Biology*

- Teacher. **35** (3) : 125-29. CiteSeerX 10.1.1.525.3586. doi:10.2307/4444260. JSTOR 4444260. S2CID 207358177.
107. Carroll, Joseph, ed. (2003). Sur l'origine des espèces au moyen de la sélection naturelle. Peterborough, Ontario : Broadview. p. 15. ISBN 978-1-55111-337-1. Comme le dit le darwiniste Joseph Carroll, de l'Université du Missouri-St. Louis, dans son introduction à une réimpression moderne de l'œuvre de Darwin : "L'origine des espèces est un ouvrage qui retient particulièrement notre attention. Il s'agit de l'une des deux ou trois œuvres les plus importantes de tous les temps - l'une de ces œuvres qui modifient de manière fondamentale et permanente notre vision du monde... Elle est argumentée avec une cohérence singulièrement rigoureuse, mais elle est aussi éloquente, imaginative et convaincante sur le plan rhétorique."
108. Shermer p. 149.
109. Lewontin, Richard C. (novembre 1970). "Les unités de sélection" (PDF). *Annual Review of Ecology and Systematics*. **1** : 1-18. doi:10.1146/annurev.es.01.110170.000245. ISSN 1545-2069. JSTOR 2096764. Archivé (PDF) de l'original le 2015-02-06.
110. Darwin, Charles (1859). L'origine des espèces, John Murray.

111. Charlesworth, Brian ; Charlesworth, Deborah (2009). "Darwin et la génétique". *Génétique*. **183** (3) : 757–766. doi:10.1534/genetics.109.109991. PMC 2778973. PMID 19933231.
112. Futuyma, Douglas J. ; Kirkpatrick, Mark (2017). "Biologie évolutive ". *Evolution* (4th ed.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. pp. 3-26.
113. Futuyma, Douglas J. ; Kirkpatrick, Mark (2017). "Mutation et variation ". *Evolution* (4th ed.). Sunderland (Massachusetts), Sinauer Associates, p. 79-101.
114. Simpson, George Gaylord (1967). *The Meaning of Evolution* (Deuxième édition). Yale University Press. ISBN 978-0-300-00952-1.
115. Masel, Joanna (25 octobre 2011). "La dérive génétique". *Current Biology*. **21**(20) : R837–R838. doi:10.1016/j.cub.2011.08.007. ISSN 0960-9822. PMID 22032182. S2CID 17619958.
116. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Speciation". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. pp. 343-356. ISBN 978-1464175121.
117. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Reconstruire et utiliser les

- phylogénies". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. pp. 325-342. ISBN 978-1464175121.
118. Woese, CR ; Kandler, O ; Wheelis, ML (juin 1990). "Vers un système naturel d'organismes : proposition pour les domaines Archaea, Bacteria, et Eucarya". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. **87** (12) : 4576-79. Bibcode:1990PNAS...87.4576W. doi:10.1073/pnas.87.12.4576. PMC 54159. PMID 2112744.
119. McNeill, J ; Barrie, FR ; Buck, WR ; Demoulin, V ; Greuter, W ; Hawksworth, DL ; et al. (2012). Code international de nomenclature des algues, champignons et plantes (Code de Melbourne) adopté par le dix-huitième Congrès botanique international Melbourne, Australie, juillet 2011. A.R.G. Gantner Verlag KG. ISBN 978-3-87429-425-6. Archivé de l'original le 2013-11-04. Recommandation 60F
120. Silyn-Roberts, Heather (2000). Writing for Science and Engineering : Papers, Presentation. Oxford : Butterworth-Heinemann. p. 198. ISBN 978-0-7506-4636-9. Archivé de l'original le 2020-10-02. Consulté le 2020-08-24.
121. Montévil, M ; Mossio, M ; Pocheville, A ; Longo, G (octobre 2016). "Principes théoriques pour la biologie : La variation". Progrès de la biophysique et de la biologie moléculaire. Du siècle du génome au siècle de l'organisme :

- Nouvelles approches théoriques. **122** (1) : 36–50.
doi:10.1016/j.pbiomolbio.2016.08.005. PMID 27530930.
Archivé de l'original le 2018-03-20.
122. De Duve, Christian (2002). *La vie en évolution : Molecules, Mind, and Meaning*. New York : Oxford University Press. p. 44. ISBN 978-0-19-515605-8.
123. Futuyma 2005
124. Futuyma, DJ (2005). *Evolution*. Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-187-3. OCLC 57311264.
125. Rosing, Minik T. (29 janvier 1999). "¹³ C-Depleted Carbon Microparticles in >3700-Ma Sea-Floor Sedimentary Rocks from West Greenland". *Science*. **283**(5402) : 674-676. Bibcode:1999Sci...283..674R. doi:10.1126/science.283.5402.674. ISSN 0036-8075. PMID 9924024.
126. Ohtomo, Yoko ; Kakegawa, Takeshi ; Ishida, Akizumi ; et al. (janvier 2014). "Preuve de la présence de graphite biogénique dans les roches métasédimentaires d'Isua de l'Archéen précoce". *Nature Geoscience*. **7** (1) : 25-28. Bibcode:2014NatGe...7...25O. doi:10.1038/ngeo2025. ISSN 1752-0894.
127. Nisbet, Euan G. ; Fowler, C.M.R. (7 décembre 1999). "Archaean metabolic evolution of microbial mats". *Proceedings of the Royal Society B*. **266**(1436) : 2375–2382.

- doi:10.1098/rspb.1999.0934. ISSN 0962-8452. PMC 1690475.
128. Knoll, Andrew H. ; Javaux, Emmanuelle J. ; Hewitt, David ; et al. (29 juin 2006). "Organismes eucaryotes dans les océans protérozoïques". *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **361** (1470) : 1023–1038. doi:10.1098/rstb.2006.1843. ISSN 0962-8436. PMC 1578724. PMID 16754612.
129. Fedonkin, Mikhail A. (31 mars 2003). " L'origine des métazoaires à la lumière du registre fossile protérozoïque " (PDF). *Paleontological Research*. **7** (1) : 9-41. doi:10.2517/prpsj.7.9. ISSN 1342-8144. S2CID 55178329. Archivé de l'original (PDF) le 2009-02-26. Consulté le 2008-09-02.
130. Bonner, John Tyler (7 janvier 1998). "Les origines de la multicellularité". *Biologie intégrative*. **1** (1) : 27–36. doi:10.1002/(SICI)1520-6602(1998)1:1< 27::AID-INBI4>3.0.CO;2-6. ISSN 1757-9694.
131. Strother, Paul K. ; Battison, Leila ; Brasier, Martin D. ; et al. (26 mai 2011). "Earth's earliest non-marine eukaryotes". *Nature*. **473** (7348) : 505-509. Bibcode:2011Natur.473.. 505S. doi:10.1038/nature09943. ISSN 0028-0836. PMID 21490597. S2CID 4418860.

132. Beraldi-Campesi, Hugo (23 février 2013). "La vie précoce sur terre et les premiers écosystèmes terrestres". *Processus écologiques*. **2** (1) : 1–17. doi:10.1186/2192-1709-2-1. ISSN 2192-1709.
133. Algeo, Thomas J. ; Scheckler, Stephen E. (29 janvier 1998). "Téléconnexions terrestres-marines au Dévonien : liens entre l'évolution des plantes terrestres, les processus d'altération et les événements anoxiques marins". *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **353** (1365) : 113–130. doi:10.1098/rstb.1998.0195. ISSN 0962-8436. PMC 1692181.
134. Jun-Yuan, Chen ; Oliveri, Paola ; Chia-Wei, Li ; et al. (25 avril 2000). "Diversité animale précambrienne : Putative phosphatized embryos from the Doushantuo Formation of China". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97** (9) : 4457-4462. Bibcode:2000PNAS...97.4457C. doi:10.1073/pnas.97.9.4457. ISSN 0027-8424. PMC 18256. PMID 10781044.
135. D-G., Shu ; H-L., Luo ; Conway Morris, Simon ; et al. (4 novembre 1999). "Vertébrés du Cambrien inférieur du sud de la Chine" (PDF). *Nature*. **402** (6757) : 42-46. Bibcode:1999Natur.402...42S. doi:10.1038/46965. ISSN 0028-0836. S2CID 4402854. Archivé de l'original (PDF) le 2009-02-26. Consulté le 2015-01-22.

136. Hoyt, Donald F. (17 février 1997). "Reptiles synapsides". ZOO 138 Vertebrate Zoology (Cours magistral). Pomona, Californie : California State Polytechnic University, Pomona. Archivé de l'original le 2009-05-20. Consulté le 22 janvier 2015.
137. Barry, Patrick L. (28 janvier 2002). Phillips, Tony (ed.). "The Great Dying ". Science@NASA. Centre de vol spatial Marshall. Archivé de l'original le 2010-04-10. Consulté le 2015-01-22.
138. Tanner, Lawrence H. ; Lucas, Spencer G. ; Chapman, Mary G. (mars 2004). "Assessing the record and causes of Late Triassic extinctions" (PDF). Earth-Science Reviews. **65** (1-2) : 103-139. Bibcode:2004ESRv.... 65.. 103T. doi:10.1016/S0012-8252(03)00082-5. Archivé de l'original (PDF)le 2007-10-25. Consulté le 2007-10-22.
139. Benton 1997
140. Fastovsky, David E. ; Sheehan, Peter M. (mars 2005). "L'extinction des dinosaures en Amérique du Nord" (PDF). GSA Today. **15** (3) : 4-10. doi:10.1130/1052-5173(2005)015< 4:TEOTDI>2.0.CO;2. ISSN 1052-5173. Archivé (PDF) de l'original le 2019-03-22. Consulté le 2015-01-23.
141. Roach, John (20 juin 2007). "L'extinction des dinosaures a favorisé l'apparition des mammifères

- modernes". National Geographic News. Washington, D.C. : National Geographic Society. Archivé de l'original le 2008-05-11. Consulté le 2020-02-21.
142. Wible, John R. ; Rougier, Guillermo W. ; Novacek, Michael J. ; et al. (21 juin 2007). "Cretaceous eutherians and Laurasian origin for placental mammals near the K/T boundary ". *Nature*. **447** (7147) : 1003-1006. Bibcode:2007Natur.447.1003W. doi:10.1038/nature05854. ISSN 0028-0836. PMID 17581585. S2CID 4334424.
143. Van Valkenburgh, Blaire (1er mai 1999). "Major Patterns in the History of Carnivorous Mammals". *Revue annuelle des sciences de la terre et des planètes*. **27** : 463-493. Bibcode:1999AREPS..27..463V. doi:10.1146/annurev.earth.27.1.463. ISSN 1545-4495.
144. Fredrickson JK, Zachara JM, Balkwill DL, Kennedy D, Li SM, Kostandarithes HM, Daly MJ, Romine MF, Brockman FJ (juillet 2004). "Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington state". *Applied and Environmental Microbiology*. **70** (7) : 4230-41. Bibcode:2004ApEnM..70.4230F. doi:10.1128/AEM.70.7.4230-4241.2004. PMC 444790. PMID 15240306.
145. Dudek NK, Sun CL, Burstein D (2017). "Nouvelle diversité microbienne et potentiel fonctionnel dans le

- microbiome oral des mammifères marins" (PDF). *Current Biology*. **27** (24) : 3752–3762. doi:10.1016/j.cub.2017.10.040. PMID 29153320. S2CID 43864355.
146. Pace NR (mai 2006). "Time for a change ". *Nature*. **441** (7091) : 289. Bibcode:2006Natur.441.. 289P. doi:10.1038/441289a. PMID 16710401. S2CID 4431143.
147. Stoeckenius W (octobre 1981). "La bactérie carrée de Walsby : structure fine d'un procaryote orthogonal". *Journal of Bacteriology*. **148** (1) : 352–60. doi:10.1128/JB.148.1.352-360.1981. PMC 216199. PMID 7287626.
148. "Biologie fondamentale des archées". Mars 2018.
149. Bang C, Schmitz RA (septembre 2015). "Archaea associées aux surfaces humaines : à ne pas sous-estimer". *FEMS Microbiology Reviews*. **39** (5) : 631–48. doi:10.1093/femsre/fuv010. PMID 25907112.
150. Moissl-Eichinger C, Pausan M, Taffner J, Berg G, Bang C, Schmitz RA (janvier 2018). "Les archées sont des composants interactifs de microbiomes complexes". *Trends in Microbiology*. **26** (1) : 70–85. doi:10.1016/j.tim.2017.07.004. PMID 28826642.
151. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "L'origine et la diversification des

- eucaryotes". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. pp. 402-419. ISBN 978-1464175121.
152. O'Malley, Maureen A. ; Leger, Michelle M. ; Wideman, Jeremy G. ; Ruiz-Trillo, Iñaki (2019-02-18). "Concepts du dernier ancêtre commun eucaryote". *Nature Ecology & Evolution*. Springer Science and Business Media LLC. **3** (3) : 338-344. doi:10.1038/s41559-019-0796-3. hdl:10261/201794. ISSN 2397-334X. PMID 30778187. S2CID 67790751.
153. Taylor, F. J. R. 'M. (2003-11-01). "L'effondrement du système à deux royaumes, l'essor de la protistologie et la fondation de la Société internationale de protistologie évolutive (ISEP)". *Journal international de microbiologie systématique et évolutive*. Société de microbiologie. **53** (6) : 1707–1714. doi:10.1099/ijms.0.02587-0. ISSN 1466-5026. PMID 14657097.
154. Pitelka, D. R. (1963). *Electron-Microscopic Structure of Protozoa*. Pergamon Press, Oxford.
155. Berner, T. (1993). *Ultrastructure of Microalgae*. Boca Raton : CRC Press. ISBN 0849363233
156. ^ Beckett, A., Heath, I. B., et Mclaughlin, D. J. (1974). *An Atlas of Fungal Ultrastructure*. Longman, Green, New York.

157. Ragan M.A. & Chapman D.J. (1978). A Biochemical Phylogeny of the Protists. Londres, New York : Academic Press. ISBN 0323155618
158. Lewin R. A. (1974). "Biochemical taxonomy", pp. 1-39 in Algal Physiology and Biochemistry, Stewart W. D. P. (ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford. ISBN 0520024109
159. Oren, A., & Papke, R. T. (2010). Phylogénie moléculaire des micro-organismes. Norfolk, UK : Caister Academic Press. ISBN 1904455670
160. Horner, D. S., & Hirt, R. P. (2004). "An overview on eukaryote origins and evolution : the beauty of the cell and the fabulous gene phylogenies", pp. 1-26 in Hirt, R.P. & D.S. Horner. Organelles, Genomes and Eukaryote Phylogeny, An Evolutionary Synthesis in the Age of Genomics. New York : CRC Press. ISBN 0203508939
161. RBG Kew (2016). Rapport sur l'état des plantes du monde - 2016. Jardins botaniques royaux, Kew. https://stateoftheworldsplants.com/report/sotwp_2016.pdf Archived2016-09-28 at the Wayback Machine.
162. "La liste des plantes - Bryophytes".
163. Christenhusz, M. J. M. & Byng, J. W. (2016). "Le nombre d'espèces végétales connues dans le monde et son

- augmentation annuelle". *Phytotaxa*. **261** (3) : 201–217.
doi:10.11646/phytotaxa.261.3.1.
164. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "L'évolution des plantes". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. pp. 420-449. ISBN 978-1464175121.
165. "Gymnospermes sur The Plant List". *Theplantlist.org*. Consulté le 24 juillet 2013.
166. Hawksworth DL, Lücking R (juillet 2017). "La diversité fongique revisitée : 2,2 à 3,8 millions d'espèces". *The Fungal Kingdom. Microbiology Spectrum*. **5**. pp. 79-95. doi:10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016. ISBN 978-1-55581-957-6. PMID 28752818.
167. Cheek, Martin ; Nic Lughadha, Eimear ; Kirk, Paul ; Lindon, Heather ; Carretero, Julia ; Looney, Brian ; et al. (2020). "Nouvelles découvertes scientifiques : Plantes et champignons". *Plants, People, Planet*. **2** (5) : 371–388. doi:10.1002/ppp3.10148.
168. "Arrêtez de négliger les champignons". *Nature Microbiology*. **2** (8) : 17120. 25 juillet 2017. doi:10.1038/nmicrobiol.2017.120. PMID 28741610.
169. Feuda R, Dohrmann M, Pett W, Philippe H, Rota-Stabelli O, Lartillot N, et al. (décembre 2017). "Une modélisation améliorée de l'hétérogénéité de la composition

- soutient les éponges en tant que sœurs de tous les autres animaux". *Current Biology*. **27** (24) : 3864–3870.e4. doi:10.1016/j.cub.2017.11.008. PMID 29199080.
170. Pisani D, Pett W, Dohrmann M, Feuda R, Rota-Stabelli O, Philippe H, et al. (décembre 2015). "Les données génomiques ne soutiennent pas les gelées de peigne comme groupe frère de tous les autres animaux". Actes de l'Académie nationale des sciences des États-Unis d'Amérique. **112** (50) : 15402-7. Bibcode:2015PNAS...11215402P. doi:10.1073/pnas.1518127112. PMC 4687580. PMID 26621703.
171. Simion P, Philippe H, Baurain D, Jager M, Richter DJ, Di Franco A, et al. (avril 2017). "Un ensemble de données phylogénomiques important et cohérent soutient les éponges comme le groupe frère de tous les autres animaux" (PDF). *Current Biology*. **27** (7) : 958–967. doi:10.1016/j.cub.2017.02.031. PMID 28318975.
172. Giribet G (1er octobre 2016). "La génomique et l'arbre de vie animal : conflits et perspectives d'avenir". *Zoologica Scripta*. **45** : 14-21. doi:10.1111/zsc.12215. ISSN 1463-6409.
173. Laumer CE, Gruber-Vodicka H, Hadfield MG, Pearse VB, Riesgo A, Marioni JC, Giribet G (2017-10-11). "Les

- Placozoaires sont des eumétazoaires apparentés aux Cnidaires". bioRxiv 10.1101/200972.
174. May, Robert M. (16 septembre 1988). "Combien d'espèces y a-t-il sur Terre ?". *Science*. **241** (4872) : 1441-1449. Bibcode:1988Sci...241.1441M. doi:10.1126/science.241.4872.1441. JSTOR 1702670. PMID 17790039. S2CID 34992724. Archivé de l'original le 15 novembre 2016. Consulté le 17 juin 2014.
175. Richards, O. W. ; Davies, R.G. (1977). *Imms' General Textbook of Entomology : Volume 1 : Structure, Physiologie et Développement Volume 2 : Classification et Biologie*. Berlin : Springer. ISBN 978-0-412-61390-6.
176. "Tableau 1a : Nombre d'espèces évaluées par rapport au nombre total d'espèces décrites, et nombre d'espèces menacées par grands groupes d'organismes". Liste rouge de l'UICN. 18 juillet 2019.
177. Wu KJ (15 avril 2020). " Il y a plus de virus que d'étoiles dans l'univers. Pourquoi seuls certains nous infectent-ils ? - Il existe plus d'un quadrillion de quadrillions de virus individuels sur Terre, mais la plupart ne sont pas prêts à s'attaquer aux humains. Pouvons-nous trouver ceux qui le sont ?". National Geographic Society. Consulté le 18 mai 2020.

178. Koonin EV, Senkevich TG, Dolja VV (septembre 2006). "L'ancien monde des virus et l'évolution des cellules". *Biologie directe*. **1** (1) : 29. doi:10.1186/1745-6150-1-29. PMC 1594570. PMID 16984643.
179. Zimmer C (26 février 2021). "La vie secrète d'un coronavirus - Une bulle de gènes huileuse de 100 nanomètres de large a tué plus de deux millions de personnes et remodelé le monde. Les scientifiques ne savent pas trop quoi en faire". Consulté le 28 février 2021.
180. "Taxonomie des virus : version 2019". talk.ictvonline.org. Comité international sur la taxonomie des virus. Consulté le 25 avril 2020.
181. Lawrence CM, Menon S, Eilers BJ, Bothner B, Khayat R, Douglas T, Young MJ (mai 2009). "Études structurales et fonctionnelles des virus archéens". *The Journal of Biological Chemistry*. **284** (19) : 12599–603. doi:10.1074/jbc.R800078200. PMC 2675988. PMID 19158076.
182. Edwards RA, Rohwer F (juin 2005). "Viral metagenomics". *Nature Reviews. Microbiology*. **3** (6) : 504–10. doi:10.1038/nrmicro1163. PMID 15886693. S2CID 8059643.
183. Canchaya C, Fournous G, Chibani-Chennoufi S, Dillmann ML, Brüßow H (août 2003). "Phage as agents of

- lateral gene transfer". *Current Opinion in Microbiology*. **6** (4) : 417–24. doi:10.1016/S1369-5274(03)00086-9. PMID 12941415.
184. Rybicki EP (1990). "The classification of organisms at the edge of life, or problems with virus systematics". *Revue sud-africaine des sciences*. **86** : 182-86.
185. Koonin EV, Starokadomskyy P (octobre 2016). "Les virus sont-ils vivants ? Le paradigme du répliqueur jette une lumière décisive sur une question ancienne mais mal posée". *Études en histoire et philosophie des sciences biologiques et biomédicales*. **59** : 125-34. doi:10.1016/j.shpsc.2016.02.016. PMC 5406846. PMID 26965225.
186. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Le corps des plantes". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 521-536. ISBN 978-1464175121.
187. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "La nutrition et le transport des plantes". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 537-554. ISBN 978-1464175121.
188. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "La croissance et le développement des plantes". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 555-572. ISBN 978-1464175121.

189. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "La reproduction des plantes à fleurs". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. pp. 573-588. ISBN 978-1464175121.
190. "Auto-pollinisation et pollinisation croisée | Biologie pour les majors II". courses.lumenlearning.com.
191. Harmer SL, Panda S, Kay SA (2001). "Bases moléculaires des rythmes circadiens". *Revue annuelle de biologie cellulaire et du développement*. **17** : 215-53. doi:10.1146/annurev.cellbio.17.1.215. PMID 11687489.
192. Strong, Donald R. ; Ray, Thomas S. (1er janvier 1975). "Host Tree Location Behavior of a Tropical Vine (*Monstera gigantea*) by Skototropism". *Science*. **190** (4216) : 804-806. Bibcode:1975Sci...190,. 804S. doi:10.1126/science.190.4216.804. JSTOR 1741614. S2CID 84386403.
193. Jaffe MJ, Forbes S (février 1993). "Thigmomorphogenèse : l'effet de la perturbation mécanique sur les plantes". *Régulation de la croissance des plantes*. **12** (3) : 313–24. doi:10.1007/BF00027213. PMID 11541741. S2CID 29466083.
194. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Principes fondamentaux de la fonction animale". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland,

- Mass. : Sinauer Associates. p. 605-623. ISBN 978-1464175121.
195. Rodolfo, Kelvin (janvier 2000). "Qu'est-ce que l'homéostasie ?". *Scientific American*. Archivé de l'original le 2013-12-03.
196. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). " L'équilibre de l'eau et du sel ". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 751-767. ISBN 978-1464175121.
197. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). " Nutrition, alimentation et digestion ". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 624-642. ISBN 978-1464175121.
198. Campbell, Neil A. (1990). *Biology* (2nd ed.). Redwood City, Californie : Benjamin/Cummings Pub. Co. pp. 834-835. ISBN 0-8053-1800-3.
199. Hsia, CC ; Hyde, DM ; Weibel, ER (15 mars 2016). "La structure pulmonaire et les défis intrinsèques de l'échange gazeux". *Comprehensive Physiology*. **6** (2) : 827–95. doi:10.1002/cphy.c150028. PMC 5026132. PMID 27065169.
200. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Circulation". *Principes de la vie* (2e

- éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 661-680. ISBN 978-1464175121.
201. "Système cardiovasculaire" dans le Dorland's Medical Dictionary.
202. "Comment fonctionne le système de circulation sanguine ?". PubMed Health. 1er août 2016.
203. Pawlina, Wojciech ; Ross, Michael H. (2011). Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology (6th ed.). Philadelphie : Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health. ISBN 9780781772006. OCLC 548651322.
204. Standring, Susan (2016). L'anatomie de Gray : la base anatomique de la pratique clinique (Quarante et unième édition). Philadelphie. ISBN 9780702052309. OCLC 920806541.
205. Hillis, David M. ; Sadava, David E. ; Price, Mary V. (2014). " Le muscle et le mouvement ". Principes de vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 681-698. ISBN 978-1-464-10947-8.
206. Gardner, C.R. (1976). "Le contrôle neuronal de la locomotion chez le ver de terre". Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society. **51** (1) : 25-52. doi:10.1111/j.1469-185X.1976.tb01119.x. PMID 766843. S2CID 9983649.

207. Alexander, R. McNeill (2003). "Muscle, le moteur".
Principes de la locomotion animale (2e édition). Princeton,
N.J. : Princeton University Press. pp. 15-37. ISBN 978-0-
691-12634-0.
208. Josephson, R. K. ; Malamud, J. G. ; Stokes, D. R.
(2000-09-15). "Le muscle asynchrone : une introduction".
Journal of Experimental Biology. **203**(18) : 2713-2722.
doi:10.1242/jeb.203.18.2713. ISSN 0022-0949. PMID
10952872.
209. Lee WC, Huang H, Feng G, Sanes JR, Brown EN, So
PT, Nedivi E (février 2006). "Dynamic remodeling of
dendritic arbors in GABAergic interneurons of adult visual
cortex". PLOS Biology. **4** (2) : e29.
doi:10.1371/journal.pbio.0040029. PMC 1318477. PMID
16366735.
210. "Système nerveux". Encyclopédie Columbia.
Columbia University Press.
211. Aidley, David J. (1998). "Introduction". The
Physiology of Excitable Cells (4ème édition). New York :
Cambridge University Press. pp. 1-7. ISBN 978-
0521574211.
212. Aidley, David J. (1998). "La base ionique de la
conduction nerveuse". The Physiology of Excitable Cells

- (4ème édition). New York : Cambridge University Press. pp. 54-75. ISBN 978-0521574211.
213. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Neurones, organes des sens et systèmes nerveux". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 699-732. ISBN 978-1464175121.
214. Freeman, Scott ; Quillin, Kim ; Allison, Lizabeth ; Black, Michael ; Podgorski, Greg ; Taylor, Emily ; Carmichael, Jeff (2017). " Les systèmes sensoriels des animaux ". Biological Science (6e édition). Hoboken, N.J. : Pearson. pp. 922-941. ISBN 978-0321976499.
215. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Contrôle par les systèmes endocrinien et nerveux". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 733-750. ISBN 978-1464175121.
216. Shuster M (2014-03-14). La biologie pour un monde en mutation, avec la physiologie(Deuxième édition). New York, NY. ISBN 9781464151132. OCLC 884499940.
217. Marieb E (2014). Anatomie et physiologie. Glenview, IL : Pearson Education, Inc. ISBN 978-0-321-86158-0.

218. Knobil, Ernst (1998). Encyclopédie de la reproduction, Volume 1. Academic Press. p. 315. ISBN 978-0-12-227020-8.
219. Schwartz, Jill (2010). Master the GED 2011. Peterson's. p. 371. ISBN 978-0-7689-2885-3.
220. Hamilton, Matthew B. (2009). Population genetics. Wiley-Blackwell. p. 55. ISBN 978-1-4051-3277-0.
221. Ville, Claude Alvin ; Walker, Warren Franklin ; Barnes, Robert D. (1984). General zoology. Saunders College Pub. p. 467. ISBN 978-0-03-062451-3.
222. Hamilton, William James ; Boyd, James Dixon ; Mossman, Harland Winfield (1945). Embryologie humaine : (développement prénatal de la forme et de la fonction). Williams & Wilkins. p. 330.
223. Philips, Joy B. (1975). Développement de l'anatomie des vertébrés. Mosby. p. 176. ISBN 978-0-8016-3927-2.
224. L'Encyclopedia Americana : une bibliothèque de la connaissance universelle, Volume 10. Encyclopedia Americana Corp. 1918. p. 281.
225. Romoser, William S. ; Stoffolano, J. G. (1998). La science de l'entomologie. WCB McGraw-Hill. p. 156. ISBN 978-0-697-22848-2.
226. Adiyodi, K.G. ; Hughes, Roger N. ; Adiyodi, Rita G. (juillet 2002). Reproductive Biology of Invertebrates,

- Volume 11, Progress in Asexual Reproduction. Wiley. p. 116. ISBN 978-0-471-48968-9.
227. Schatz, Phil. "Concepts de la biologie | Comment les animaux se reproduisent". Collège OpenStax. Archivé de l'original le 6 mars 2018. Consulté le 5 mars 2018.
228. Jungnickel MK, Sutton KA, Florman HM (août 2003). "Au commencement : leçons de la fécondation chez les souris et les vers". *Cell*. **114** (4) : 401–4. doi:10.1016/s0092-8674(03)00648-2. PMID 12941269.
229. Gilbert, S. F. ; Barresi, M. J. F. (2017-05-01). "Biologie du développement, 11e édition 2016 ". *Journal américain de génétique médicale partie A*. **173** (5) : 1430. doi:10.1002/ajmg.a.38166. ISSN 1552-4833.
230. Edlund, Helena (juillet 2002). "Organogenèse : Organogenèse pancréatique - mécanismes de développement et implications pour la thérapie". *Nature Reviews Genetics*. **3** (7) : 524-532. doi:10.1038/nrg841. ISSN 1471-0064. PMID 12094230. S2CID 2436869.
231. Rankin, Scott (2018). "Timing is everything : Reiterative Wnt, BMP and RA signaling regulate developmental competence during endoderm organogenesis". *Biologie du développement*. **434** (1) : 121–132. doi:10.1016/j.ydbio.2017.11.018. PMC 5785443. PMID 29217200 - via NCBI.

232. Ader, Marius ; Tanaka, Elly M (2014). "Modélisation du développement humain en culture 3D". *Opinion courante en biologie cellulaire*. **31** : 23-28. doi:10.1016/j.ceb.2014.06.013. PMID 25033469.
233. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). " Le comportement animal ". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 827-844. ISBN 978-1464175121.
234. Páez-Rondón, Oscar ; Aldana, Elis ; Dickens, Joseph ; Otálora-Luna, Fernando (mai 2018). "Description éthologique d'un schéma d'action fixe chez une punaise de baiser (Triatominae) : vision, gustation, extension de la trompe et consommation d'eau et de goyave". *Journal of Ethology*. **36** (2) : 107-116. doi:10.1007/s10164-018-0547-y. ISSN 0289-0771.
235. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). " Le comportement animal ". *Campbell Biology* (11e édition). New York : Pearson. pp. 1137-1161. ISBN 978-0134093413.
236. Begon, M ; Townsend, CR ; Harper, JL (2006). *Ecology : From individuals to ecosystems* (4th ed.). Blackwell. ISBN 978-1-4051-1117-1.
237. *Habitats du monde*. New York : Marshall Cavendish. 2004. p. 238. ISBN 978-0-7614-7523-1.

238. Tansley (1934) ; Molles (1999), p. 482 ; Chapin et al. (2002), p. 380 ; Schulze et al. (2005) ; p. 400 ; Gurevitch et al. (2006), p. 522 ; Smith & Smith 2012, p. G-5.
239. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "La répartition des systèmes écologiques de la Terre". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 845-863. ISBN 978-1464175121.
240. Odum, Eugene P (1971). Fundamentals of Ecology (troisième édition). New York : Saunders. ISBN 978-0-534-42066-6.
241. Chapin III, F. Stuart ; Matson, Pamela A. ; Mooney, Harold A. (2002). "Le concept d'écosystème". Principes de l'écologie des écosystèmes terrestres. New York : Springer. p. 10. ISBN 978-0-387-95443-1.
242. Planton, Serge (France ; éditeur) (2013). " Annexe III. Glossaire : GIEC - Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat " (PDF). Cinquième rapport d'évaluation du GIEC. p. 1450. Archivé de l'original (PDF) le 2016-05-24. Consulté le 25 juillet 2016.
243. Shepherd, Dr. J. Marshall ; Shindell, Drew ; O'Carroll, Cynthia M. (1er février 2005). "Quelle est la différence entre la météo et le climat ?". NASA. Consulté le 13 novembre 2015.

244. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). " Populations ". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 864-897. ISBN 978-1464175121.
245. Urry, Lisa ; Cain, Michael ; Wasserman, Steven ; Minorsky, Peter ; Reece, Jane (2017). " Écologie des populations ". Campbell Biology (11e édition). New York : Pearson. pp. 1188-1211. ISBN 978-0134093413.
246. "Population". Biologie en ligne. Consulté le 5 décembre 2012.
247. "Définition de population (biologie)". Dictionnaires d'Oxford. Oxford University Press. Consulté le 5 décembre 2012. communauté d'animaux, de plantes ou d'humains entre les membres de laquelle se produisent des croisements.
248. Hartl, Daniel (2007). Principes de la génétique des populations. Sinauer Associates. p. 45. ISBN 978-0-87893-308-2.
249. Chapman, Eric J. ; Byron, Carrie J. (2018-01-01). "L'application flexible de la capacité de charge en écologie". Écologie mondiale et conservation. **13** : e00365. doi:10.1016/j.gecco.2017.e00365. ISSN 2351-9894.
250. Odum, E. P. ; Barrett, G. W. (2005). Fundamentals of Ecology (5e éd.). Brooks/Cole, une partie de Cengage

- Learning. ISBN 978-0-534-42066-6. Archivé de l'original le 2011-08-20.
251. Wootton, JT ; Emmerson, M (2005). "Measurement of Interaction Strength in Nature". *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. **36** : 419-44. doi:10.1146/annurev.ecolsys.36.091704.175535. JSTOR 30033811.
252. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "Conséquences écologiques et évolutives au sein des espèces et entre elles". *Principes de la vie* (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 882-897. ISBN 978-1464175121.
253. Smith, AL (1997). *Dictionnaire Oxford de biochimie et de biologie moléculaire*. Oxford [Oxfordshire] : Oxford University Press. p. 508. ISBN 978-0-19-854768-6. Photosynthèse - synthèse par les organismes de composés chimiques organiques, en particulier les glucides, à partir du dioxyde de carbone en utilisant l'énergie obtenue par la lumière plutôt que l'oxydation des composés chimiques.
254. Edwards, Katrina. "Microbiologie d'un bassin de sédiments et du flanc de crête sous-jacent, jeune, froid et hydrologiquement actif". Woods Hole Oceanographic Institution.

255. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). " Les communautés écologiques ". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 898-915. ISBN 978-1464175121.
256. Riebeek, Holli (16 juin 2011). "Le cycle du carbone". Observatoire de la Terre. NASA. Archivé de l'original le 5 mars 2016. Consulté le 5 avril 2018.
257. Hillis, David M. ; Sadava, David ; Hill, Richard W. ; Price, Mary V. (2014). "La répartition des systèmes écologiques de la Terre". Principes de la vie (2e éd.). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. p. 916-934. ISBN 978-1464175121.
258. IPCC AR5 WG1 Summary for Policymakers 2013, p. 4 : Le réchauffement du système climatique est sans équivoque, et depuis les années 1950, nombre des changements observés sont sans précédent sur des décennies à des millénaires. L'atmosphère et l'océan se sont réchauffés, les quantités de neige et de glace ont diminué, le niveau de la mer s'est élevé et les concentrations de gaz à effet de serre ont augmenté ; IPCC SR15 Ch1 2018, p. 54 : Des preuves empiriques abondantes du rythme sans précédent et de l'échelle mondiale de l'impact de l'influence humaine sur le système terrestre (Steffen et al., 2016 ; Waters et al., 2016) ont conduit de nombreux scientifiques à appeler à reconnaître

que la Terre est entrée dans une nouvelle époque géologique : l'Anthropocène.

259. EPA 2020 : Dioxyde de carbone (76 %), méthane (16 %), oxyde nitreux (6 %).

260. EPA 2020 : Le dioxyde de carbone pénètre dans l'atmosphère par la combustion de combustibles fossiles (charbon, gaz naturel et pétrole), de déchets solides, d'arbres et d'autres matières biologiques, et également à la suite de certaines réactions chimiques (par exemple, la fabrication du ciment). L'utilisation de combustibles fossiles est la principale source de CO

2. Le CO

2 peut également être émis en raison de l'impact direct de l'homme sur la sylviculture et d'autres utilisations des terres, comme la déforestation, le défrichage pour l'agriculture et la dégradation des sols. Le méthane est émis lors de la production et du transport du charbon, du gaz naturel et du pétrole. Les émissions de méthane résultent également de l'élevage et d'autres pratiques agricoles, ainsi que de la décomposition des déchets organiques dans les décharges de déchets solides municipaux.

261. Sahney, S. ; Benton, M. J (2008). "Recovery from the most profound mass extinction of all time". *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences.* **275** (1636) : 759–

65. doi:10.1098/rspb.2007.1370. PMC 2596898. PMID 18198148.
262. Soulé, Michael E. ; Wilcox, Bruce A. (1980). Conservation biology : an evolutionary-ecological perspective. Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-800-1.
263. Soulé, Michael E. (1986). "Qu'est-ce que la biologie de la conservation ?" (PDF). *BioScience*. Institut américain des sciences biologiques. **35** (11) : 727-34. doi:10.2307/1310054. JSTOR 1310054.
264. Hunter, Malcolm L. (1996). Fondamentaux de la biologie de la conservation. Oxford : Blackwell Science. ISBN 978-0-86542-371-8.
265. Meffe, Gary K. ; Martha J. Groom (2006). Principles of conservation biology (3e édition). Sunderland, Mass. : Sinauer Associates. ISBN 978-0-87893-518-5.
266. Van Dyke, Fred (2008). Conservation biology : foundations, concepts, applications (2e éd.). New York : Springer-Verlag. doi:10.1007/978-1-4020-6891-1. ISBN 9781402068904. OCLC 232001738.
267. Sahney, S. ; Benton, M. J. ; Ferry, P. A. (2010). "Liens entre la diversité taxonomique globale, la diversité écologique et l'expansion des vertébrés sur terre". *Biology*

- Letters. **6** (4) : 544–7. doi:10.1098/rsbl.2009.1024. PMC 2936204. PMID 20106856.
268. Koh, Lian Pin ; Dunn, Robert R. ; Sodhi, Navjot S. ; Colwell, Robert K. ; Proctor, Heather C. ; Smith, Vincent S. (2004). "Species coextinctions and the biodiversity crisis". *Science*. **305** (5690) : 1632-4. Bibcode:2004Sci...305.1632K. doi:10.1126/science.1101101. PMID 15361627. S2CID 30713492.
269. Évaluation des écosystèmes pour le millénaire (2005). Les écosystèmes et le bien-être humain : Biodiversity Synthesis. Institut des ressources mondiales, Washington, D.C. [1]
270. Jackson, J. B. C. (2008). "Extinction écologique et évolution dans le brave nouvel océan". Actes de l'Académie nationale des sciences. **105** (Suppl 1) : 11458-65. Bibcode:2008PNAS...10511458J. doi:10.1073/pnas.0802812105. PMC 2556419. PMID 18695220.
271. Soule, Michael E. (1986). *Conservation Biology : The Science of Scarcity and Diversity*. Sinauer Associates. p. 584. ISBN 978-0-87893-795-0.

272. Gabe Buckley. (2020). Eukaryotic Cell. Révisé par :
Rédacteurs BD. Dernière mise à jour : 6 novembre 2020.
Dictionnaire de biologie
273. Goodsell, D. S. Escherichia coli. Biochem. Mol. Biol.
Educ. **37**, 325-332 (2009).
274. Pilhofer, M., Ladinsky, M. S., McDowall, A. W. &
Jensen, G. J. Bacterial TEM : new insights from cryo-
microscopy. Methods Cell Biol. **96**, 21-45 (2010).
275. Pilhofer, M. et al. Architecture and host interface of
environmental chlamydiae revealed by electron
cryotomography. Environ. Microbiol. **16**, 417-429 (2014).
276. An, L. & Jensen, G. J. Electron tomography of cells. Q.
Rev. Biophys. **45**, 27-56 (2012).
277. Beeby, M., Gumbart, J. C., Roux, B. & Jensen, G. J.
Architecture and assembly of the Gram-positive cell wall.
Mol. Microbiol. **88**, 664-672 (2013).
278. Tocheva, E. I. et al. Peptidoglycan transformations
during Bacillus subtilis sporulation. Mol. Microbiol. **88**, 673-
686 (2013).
279. Howland, John L. (2000). The Surprising Archaea :
Discovering Another Domain of Life. Oxford : Oxford
University Press. pp. 69-71. ISBN 0-19-511183-4.

280. C.Michael Hogan 2010. Facteur abiotique. Encyclopédie de la Terre. eds Emily Monosson et C. Cleveland. Conseil national pour la science et l'environnement. Washington DC
281. van Heijenoort J (2001). "Formation des chaînes de glycanes lors de la synthèse du peptidoglycane bactérien". *Glycobiologie*. **11** (3) : 25R–36R. doi:10.1093/glycob/11.3.25R. PMID 11320055.
282. Koch A (2003). "La paroi bactérienne comme cible d'attaque : passé, présent et recherche future". *Clin Microbiol Rev*. **16** (4) : 673–87. doi:10.1128/CMR.16.4.673-687.2003. PMC 207114. PMID 14557293.
283. Cantwell H, Nurse P (2019). "Démêler le contrôle de la taille nucléaire". *Current Genetics*. Springer. **65** (6) : 1282. doi:10.1007/s00294-019-00999-3. PMC 6820586. PMID 31147736.
284. Lodish HF, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. (2016). *Biologie cellulaire moléculaire* (huitième édition). New York : W.H. Freeman. ISBN 978-1-4641-8339-3.
285. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). *Biologie moléculaire de la cellule* (4e éd.). New York : Garland Science. p. 197. ISBN 978-0-8153-4072-0.

286. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, Walter P (2015). *Biologie moléculaire de la cellule* (6 ed.). New York : Garland Science.
287. Rhoades R, Pflanze R, eds. (1996). "Ch3. Human Physiology (3rd ed.). Saunders College Publishing.
288. Shulga N, Mosammaparast N, Wozniak R, Goldfarb DS (mai 2000). "Nucléoporines de levure impliquées dans la perméabilité passive de l'enveloppe nucléaire". *Primaire. The Journal of Cell Biology*. **149** (5) : 1027–38. doi:10.1083/jcb.149.5.1027. PMC 2174828. PMID 10831607.
289. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky SL, Darnell J (2004). *Molecular Cell Biology* (5e éd.). New York : WH Freeman. ISBN 978-0-7167-2672-2.
290. Pemberton LF, Paschal BM (mars 2005). "Mécanismes d'importation et d'exportation nucléaires médiés par les récepteurs". *Revue. Traffic*. **6** (3) : 187-98. doi:10.1111/j.1600-0854.2005.00270.x. PMID 15702987. S2CID 172279.
291. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, eds. (2002). "Chapitre 4 : ADN et chromosomes ". *Molecular Biology of the Cell* (4e éd.). New York : Garland Science. pp. 191-234. ISBN 978-0-8153-4072-0.

292. Stuurman N, Heins S, Aebi U (1998). "Lamines nucléaires : leur structure, leur assemblage et leurs interactions". Review. *Journal of Structural Biology*. **122** (1-2) : 42–66. doi:10.1006/jsbi.1998.3987. PMID 9724605.
293. Goldman AE, Moir RD, Montag-Lowy M, Stewart M, Goldman RD (novembre 1992). "Voie d'incorporation de la lamine A micro-injectée dans l'enveloppe nucléaire". Primaire. *The Journal of Cell Biology*. **119** (4) : 72535. doi:10.1083/jcb.119.4.725. PMC 2289687. PMID 1429833.
294. Goldman RD, Gruenbaum Y, Moir RD, Shumaker DK, Spann TP (mars 2002). "Lamines nucléaires : blocs de construction de l'architecture nucléaire". Review. *Genes & Development*. **16** (5) : 533–47. doi:10.1101/gad.960502. PMID 11877373.
295. Broers JL, Ramaekers FC (2004). "Dynamique de l'assemblage et du désassemblage de la lamelle nucléaire". Review. *Symposia of the Society for Experimental Biology* (56) : 177-92. ISBN 9781134279838. PMID 15565881.
296. Moir RD, Yoon M, Khuon S, Goldman RD (décembre 2000). "Lamines nucléaires A et B1 : différentes voies d'assemblage pendant la formation de l'enveloppe nucléaire dans les cellules vivantes". Primaire. *The Journal of Cell Biology*. **151** (6) : 1155–68. doi:10.1083/jcb.151.6.1155. PMC 2190592. PMID 11121432.

297. Spann TP, Goldman AE, Wang C, Huang S, Goldman RD (février 2002). "L'altération de l'organisation des feuillets nucléaires inhibe la transcription dépendante de l'ARN polymérase II". Primary. *The Journal of Cell Biology*. **156** (4) : 603–8. doi:10.1083/jcb.200112047. PMC 2174089. PMID 11854306.
298. Mounkes LC, Stewart CL (juin 2004). "Vieillesse et organisation nucléaire : lamines et progeria". *Revue. Opinion courante en biologie cellulaire*. **16** (3) : 322–7. doi:10.1016/j.ceb.2004.03.009. PMID 15145358.
299. Ehrenhofer-Murray AE (juin 2004). "Dynamique de la chromatine lors de la réplication, de la transcription et de la réparation de l'ADN". Review. *Journal européen de biochimie*. **271** (12) : 2335-49. doi:10.1111/j.1432-1033.2004.04162.x. PMID 15182349.
300. Grigoryev SA, Bulynko YA, Popova EY (2006). "La fin ajuste les moyens : remodelage de l'hétérochromatine pendant la différenciation des cellules terminales". Review. *Chromosome Research*. **14** (1) : 53–69. doi:10.1007/s10577-005-1021-6. PMID 16506096. S2CID 6040822.
301. Schardin M, Cremer T, Hager HD, Lang M (décembre 1985). "La coloration spécifique des chromosomes humains dans les lignées cellulaires hybrides hamster chinois x homme démontre les territoires chromosomiques

- interphasiques" (PDF). Primaire. *Human Genetics*. **71** (4) : 281-7. doi:10.1007/BF00388452. PMID 2416668. S2CID 9261461.
302. Lamond AI, Earnshaw WC (avril 1998). "Structure et fonction dans le noyau" (PDF). Review. *Science*. **280** (5363) : 54753. CiteSeerX 10.1.1.323.5543. doi:10.1126/science.280.5363.547. PMID 9554838.
303. Kurz A, Lampel S, Nickolenko JE, Bradl J, Benner A, Zirbel RM, et al. (décembre 1996). "Les gènes actifs et inactifs se localisent préférentiellement à la périphérie des territoires chromosomiques". Primaire. *The Journal of Cell Biology*. **135** (5) : 1195205. doi:10.1083/jcb.135.5.1195. PMC 2121085. PMID 8947544. Archivé de l'original le 29 septembre 2007.
304. Rothfield NF, Stollar BD (novembre 1967). "The relationship of immunoglobulin class, pattern of anti-nuclear antibody, and complement-fixing antibodies to DNA in sera from patients with systemic lupus erythematosus". Primaire. *The Journal of Clinical Investigation*. **46** (11) : 1785-94. doi:10.1172/JCI105669. PMC 292929. PMID 4168731.
305. Bamed S, Goodman AD, Mattson DH (février 1995). "Fréquence des anticorps antinucléaires dans la sclérose en plaques". Primaire. *Neurology*. **45** (2) : 384-5.

doi:10.1212/WNL.45.2.384. PMID 7854544. S2CID 30482028.

306. Hernandez-Verdun D (janvier 2006). "Nucléole : de la structure à la dynamique". Revue. *Histochimie et biologie cellulaire*. **125** (1-2) : 127–37. doi:10.1007/s00418-005-0046-4. PMID 16328431. S2CID 20769260.
307. Lamond AI, Sleeman JE (octobre 2003). "Sous-structure et dynamique nucléaires". Revue. *Current Biology*. **13**(21) : R8258. doi:10.1016/j.cub.2003.10.012. PMID 14588256. S2CID 16865665.
308. Cioce M, Lamond AI (2005). "Les corps de Cajal : une longue histoire de découverte". Review. *Revue annuelle de biologie cellulaire et du développement*. **21** : 105-31. doi:10.1146/annurev.cellbio.20.010403.103738. PMID 16212489. S2CID 8807316.
309. Lafarga M, Berciano MT, Pena E, Mayo I, Castaño JG, Bohmann D, et al. (août 2002). "Clastosome : un sous-type de corps nucléaire enrichi en protéasomes 19S et 20S, en ubiquitine et en protéines substrats du protéasome". *Primaire. Biologie moléculaire de la cellule*. **13** (8) : 2771-82. CiteSeerX 10.1.1.321.6138. doi:10.1091/mbc.e02-03 0122. PMC 117941. PMID 12181345.
310. Pollard TD, Earnshaw WC (2004). *Cell Biology*. Philadelphie : Saunders. ISBN 978-0-7216-3360-2.

311. Dundr M, Misteli T (juin 2001). "Architecture fonctionnelle dans le noyau cellulaire". Review. *The Biochemical Journal*. **356**(Pt 2) : 297–310. doi:10.1042/0264-6021:3560297. PMC 1221839. PMID 11368755.
312. Bond CS, Fox AH (septembre 2009). "Paraspeckles : corps nucléaires construits sur de longs ARN non codants". Review. *The Journal of Cell Biology*. **186** (5) : 637–44. doi:10.1083/jcb.200906113. PMC 2742191. PMID 19720872.
313. Goebel HH, Warlo I (janvier 1997). "Myopathie némaline à bâtonnets intranucléaires - myopathie à bâtonnets intranucléaires". Review. *Troubles neuromusculaires*. **7** (1) : 13–9. doi:10.1016/S0960-8966(96)00404-X. PMID 9132135. S2CID 29584217.
314. Matera AG, Frey MR (août 1998). "Corps enroulés et gemmes : Janus ou Gemini ?". Review. *American Journal of Human Genetics*. **63** (2) : 317-21. doi:10.1086/301992. PMC 1377332. PMID 9683623.
315. Matera AG (août 1998). "Des corps enroulés, des pierres précieuses et des saumons". Review. *Journal of Cellular Biochemistry*. **70** (2) : 181–92. doi:10.1002/(sici)1097-4644(19980801)70:2< 181::aid-jcb4>3.0.co;2-k. PMID 9671224.

316. Navascues J, Berciano MT, Tucker KE, Lafarga M, Matera AG (juin 2004). "Targeting SMN to Cajal bodies and nuclear gems during neuritogenesis". *Primaire. Chromosome*. **112** (8) : 398–409. doi:10.1007/s00412-004-0285-5. PMC 1592132. PMID 15164213
317. Saunders WS, Cooke CA, Earnshaw WC (novembre 1991). "Compartimentation au sein du noyau : découverte d'une nouvelle région subnucléaire". *Primaire. The Journal of Cell Biology*. **115**(4) : 919–31. doi:10.1083/jcb.115.4.919. PMC 2289954. PMID 1955462.
318. Pombo A, Cuello P, Schul W, Yoon JB, Roeder RG, Cook PR, Murphy S (mars 1998). "Spécialisation régionale et temporelle dans le noyau : un domaine nucléaire transcriptionnellement actif riche en antigènes PTF, Oct1 et PIKA s'associe à des chromosomes spécifiques au début du cycle cellulaire". *Primaire. The EMBO Journal*. **17** (6) : 1768–78. doi:10.1093/emboj/17.6.1768. PMC 1170524. PMID 9501098.
319. Zimmer A, Nguyen QD, Gespach C (octobre 2004). "Corps et compartiments nucléaires : rôles fonctionnels et signalisation cellulaire dans la santé et la maladie". *Revue. Signalisation cellulaire*. **16** (10) : 1085–104. doi:10.1016/j.cellsig.2004.03.020. PMID 15240004.

320. Lallemand-Breitenbach V, de Thé H (mai 2010). "Les organes nucléaires de la PML". Review. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. **2** (5) : a000661. doi:10.1101/cshperspect.a000661. PMC 2857171. PMID 20452955.
321. Spector DL, Lamond AI (février 2011). "Taches nucléaires". Review. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. **3** (2) : a000646. doi:10.1101/cshperspect.a000646. PMC 3039535. PMID 20926517.
322. Pages de biologie de Kimball Archivé le 2009-01-25 à la Wayback Machine, Membranes cellulaires
323. Singleton P (1999). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine(5th ed.). New York : Wiley. ISBN 978-0-471-98880-9.
324. Tom Herrmann1 ; Sandeep Sharma2. (2 mars 2019). "Physiologie, membrane". StatPearls. 1 SIU School of Medicine 2 Baptist Regional Medical Center. PMID 30855799
325. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. (2002). Molecular Biology of the Cell (4th ed.). New York : Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3. Archivé de l'original le 2017-12-20.

326. Budin I, Devaraj NK (janvier 2012). "Assemblage de membranes piloté par une réaction de couplage biomimétique". *Journal of the American Chemical Society*. **134** (2) : 751-3. doi:10.1021/ja2076873. PMC 3262119. PMID 22239722.
327. Staff (25 janvier 2012). "Des chimistes synthétisent une membrane cellulaire artificielle". *ScienceDaily*. Archivé de l'original le 29 janvier 2012. Consulté le 18 février 2012.
328. Staff (26 janvier 2012). "Des chimistes créent une membrane cellulaire artificielle". *kurzweilai.net*. Archivé de l'original le 26 février 2012. Consulté le 18 février 2012.
329. Zeidi, Mahdi ; Kim, Chun IL (2018). "Les effets de la viscosité intra-membranaire sur la morphologie des membranes lipidiques : solution analytique complète". *Scientific Reports*. **8** (1) : 12845. doi:10.1038/s41598-018-31251-6. ISSN 2045-2322.
330. Lombard J (décembre 2014). "Il était une fois les membranes cellulaires : 175 ans de recherche sur les frontières cellulaires". *Biologie directe*. **9** : 32. doi:10.1186/s13062-014-0032-7. PMC 4304622. PMID 25522740.
331. Leray, C. Histoire chronologique du centre lipidique. Centre cyberlipidique. Dernière mise à jour le 11 novembre 2017. lien Archivé le 2017-10-13 à la Wayback Machine.

332. Gorter E, Grendel F (mars 1925). "On Bimolecular Layers of Lipoids on the Chromocytes of the Blood". The Journal of Experimental Medicine. **41** (4) : 439-43. doi:10.1084/jem.41.4.439. PMC 2130960. PMID 19868999.
333. S J Singer et G L Nicolson. "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes". Science. (1972) 175. 720-731.
334. de Vries H (1885). "Plasmolytische Studien über die Wand der Vakuolen". Jahrb. Wiss. Bot. **16** : 465-598.
335. Pfeffer, W. 1877. Osmotische Untersuchungen : Studien zur Zell Mechanik. Engelmann, Leipzig.
336. Pfeffer, W., 1900-1906. La physiologie des plantes, [1] Archivé le 2018-06-02 à la Wayback Machine. Traduit par A. J. Ewart de la 2e édition allemande de Pflanzenphysiologie, 1897-1904, [2] Archivé 2018-06-01 à la Wayback Machine. Clarendon Press, Oxford.
337. Sharp, L. W. (1921). Introduction à la cytologie. New York : McGraw Hill, p. 42.
338. Kleinzeller, A. 1999. Le concept de membrane cellulaire de Charles Ernest Overton. In : Membrane permeability : 100 years since Ernest Overton (ed. Deamer D.W., Kleinzeller A., Fambrough D.M.), pp. 1-18, Academic Press, San Diego.

339. Mast SO (1924). "Structure et locomotion chez Amoeba proteus". *Anat. Rec.* **29** (2) : 88. doi:10.1002/ar.1090290205.
340. Plowe JQ (1931). "Les membranes dans la cellule végétale. I. Membranes morphologiques aux surfaces protoplasmiques". *Protoplasma.* **12** : 196-220. doi:10.1007/BF01618716.
341. Wayne R (2009). *Plant Cell Biology : From Astronomy to Zoology.* Amsterdam : Elsevier/Academic Press. p. 17. ISBN 9780080921273.
342. Noutsi P, Gratton E, Chaieb S (2016-06-30). "L'évaluation des fluctuations de la fluidité membranaire au cours du développement cellulaire révèle une spécificité temporelle et de type cellulaire". *PLOS ONE.* **11** (6):0158313. Bibcode:2016PLoSO.. 1158313N. doi:10.1371/journal.pone.0158313. PMC 4928918. PMID 27362860.
343. Lodish H, Berk A, Zipursky LS, et al. (2000). "Biomembranes : Structural Organization and Basic Functions". *Molecular Cell Biology* (4e éd.). New York : Scientific American Books. ISBN 978-0-7167-3136-8.
344. Cooper GM (2000). "Structure de la membrane plasmique". *The Cell : A Molecular Approach* (2e édition). Archivé de l'original le 2017-09-19. Lodish H, Berk A,

- Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J (2000). "Biomembranes : Structural Organization and Basic Functions". *Molecular Cell Biology* (4e éd.). Archivé de l'original le 2018-06-05.
345. Brandley BK, Schnaar RL (juillet 1986). "Cell-surface carbohydrates in cell recognition and response". *Journal of Leukocyte Biology*. **40** (1) : 97–111. doi:10.1002/jlb.40.1.97. PMID 3011937.
346. Jesse Gray ; Shana Groeschler ; Tony Le ; Zara Gonzalez (2002). "Membrane Structure" (SWF). Davidson College. Archivé de l'original le 2007-01-08. Consulté le 2007-01-11.
347. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J (2000). "Modifications post-traductionnelles et contrôle de qualité dans le RE brut". *Molecular Cell Biology* (4e éd.).
348. Cooper, Geoffrey M. (2000). "Transport des petites molécules". *The Cell : A Molecular Approach* (2e édition). Archivé de l'original le 2018-06-05.
349. Kramer EM, Myers DR (avril 2013). " L'osmose n'est pas pilotée par la dilution de l'eau ". *Trends in Plant Science*. **18** (4) : 195–7. doi:10.1016/j.tplants.2012.12.001. PMID 23298880.

350. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "Protéines membranaires". *Molecular Biology of the Cell* (4e édition). Archived from the original on 2018-06-05.
351. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "Transport dans la cellule à partir de la membrane plasmique : Endocytosis". *Molecular Biology of the Cell* (4e éd.). Garland Science. Archivé de l'original le 2018-06-05.
352. Salton MR, Kim K (1996). Baron S (ed.). *Medical Microbiology* (4th ed.). Galveston (TX) : Université du Texas Medical Branch à Galveston. ISBN 978-0963117212. PMID 21413343.
353. Mishra NN, Liu GY, Yeaman MR, Nast CC, Proctor RA, McKinnell J, Bayer AS (février 2011). "Carotenoid-related alteration of cell membrane fluidity impacts *Staphylococcus aureus* susceptibility to host defense peptides". *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*. **55** (2) : 526–31. doi:10.1128/AAC.00680-10. PMC 3028772. PMID 21115796.
354. Alexander C, Rietschel ET (2001). "Lipopolysaccharides bactériens et immunité innée". *Journal of Endotoxin Research*. **7** (3) : 167–202. doi:10.1177/09680519010070030101. PMID 11581570.

355. YashRoy RC (1999). "Un modèle structurel pour les organelles de virulence des organismes gram négatifs avec référence à la pathogénicité de Salmonella dans l'iléon du poulet". *Indian Journal of Poultry Science*. **34** (2) : 213-219. Archivé de l'original le 2014-11-07.
356. Saier MH (2013). "Microcompartiments et machines à protéines chez les procaryotes". *Journal de la microbiologie moléculaire et de la biotechnologie*. **23** (4-5) : 243-69. doi:10.1159/000351625. PMC 3832201. PMID 23920489
- Singer SJ, Nicolson GL (février 1972). "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes". *Science*. **175** (4023) : 720-31. Bibcode:1972Sci...175.. 720S. doi:10.1126/science.175.4023.720. PMID 4333397.
357. Zeidi, Mahdi ; Kim, Chun IL (2018). "Les effets de la viscosité intra-membranaire sur la morphologie des membranes lipidiques : solution analytique complète". *Scientific Reports*. **8** (1) : 12845. doi:10.1038/s41598-018-31251-6. ISSN 2045-2322.
358. Doherty GJ, McMahon HT (2008). "Médiation, modulation et conséquences des interactions membrane-cytosquelette". *Revue annuelle de biophysique*. **37** : 65-95. doi:10.1146/annurev.biophys.37.032807.125912. PMID 18573073. S2CID 17352662.

359. Whatley JM, John P, Whatley FR (avril 1979). "De l'extracellulaire à l'intracellulaire : l'établissement des mitochondries et des chloroplastes". Proceedings of the Royal Society of London. Série B, Sciences biologiques. **204** (1155) : 165-87. Bibcode:1979RSPSB.204.. 165W. doi:10.1098/rspb.1979.0020. PMID 36620.
360. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "La structure et la fonction de l'ADN". Molecular Biology of the Cell (4e éd.). Garland Science.
361. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002). "Le transport des molécules entre le noyau et le cytosol". Molecular Biology of the Cell (4e édition). Garland Science.
362. Cooper GM (2000). "Le réticulum endoplasmique". The Cell : A Molecular Approach (2e édition). Archivé de l'original le 2017-10-03.
363. Xu H, Su W, Cai M, Jiang J, Zeng X, Wang H (2013-04-16). "La structure asymétrique des membranes de l'appareil de Golgi révélée par le microscope à force atomique in situ". PLOS ONE. **8** (4) : e61596. Bibcode:2013PLoSO...861596X. doi:10.1371/journal.pone.0061596. PMC 3628984. PMID 23613878.

364. Reed R, Wouston TW, Todd PM (juillet 1966). "Structure et fonction du sarcolemme du muscle squelettique". *Nature*. **211** (5048) : 534-6. Bibcode:1966Natur.211.. 534R. doi:10.1038/211534b0. PMID 5967498.
365. Campbell KP, Stull JT (avril 2003). "Skeletal muscle basement membrane-sarcolemma-cytoskeleton interaction minireview series". *The Journal of Biological Chemistry*. **278** (15) : 12599–600. doi:10.1074/jbc.r300005200. PMID 12556456.
366. Mitra K, Ubarretxena-Belandia I, Taguchi T, Warren G, Engelman DM (mars 2004). "Modulation de l'épaisseur de la bicouche des membranes de la voie exocytairre par les protéines membranaires plutôt que par le cholestérol". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **101** (12) : 4083-8. Bibcode:2004PNAS. 101.4083M. doi:10.1073/pnas.0307332101. PMC 384699. PMID 15016920.
367. Wessel GM, Wong JL (octobre 2009). "Modifications de la surface cellulaire de l'ovule lors de la fécondation". *Reproduction et développement moléculaires*. **76** (10) : 942-53. doi:10.1002/mrd.21090. PMC 2842880. PMID 19658159.

368. Raine CS (1999). "Caractéristiques du neurone". Basic Neurochemistry : Molecular, Cellular and Medical Aspects (6th ed.).
369. Fitzpatrick MO, Maxwell WL, Graham DI (mars 1998). "The role of the axolemma in the initiation of traumatically induced axonal injury". Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry. **64** (3) : 285–7. doi:10.1136/jnnp.64.3.285. PMC 2169978. PMID 9527135.
370. Kerfeld CA, Sawaya MR, Tanaka S, Nguyen CV, Phillips M, Beeby M, Yeates TO (août 2005). "Structures protéiques formant l'enveloppe des organites primitifs". Science. **309** (5736) : 936-8. Bibcode:2005Sci...309.. 936K. CiteSeerX 10.1.1.1026.896. doi:10.1126/science.1113397. PMID 16081736. S2CID
371. Murat, Dorothee ; Byrne, Meghan ; Komeili, Arash (2010-10-01). "Biologie cellulaire des organelles procaryotes". Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. **2** (10) : a000422. doi:10.1101/cshperspect.a000422. PMC 2944366. PMID 20739411.
372. Peterson L (17 avril 2010). " Maîtriser les parties d'une cellule ". Lesson Planet. Consulté le 2010-04-19.
373. Di Gregorio MA (2005). D'ici à l'éternité : Ernst Haeckel et la foi scientifique. Gottingen : Vandenhoeck & Ruprecht. p. 218.

374. Bütschli O (1888). H. G. Bronn's Klassen u. Ordnungen des Thier-Reichs wissenschaftlich dargestellt in Wort und Bild. Erster Band. Protozoaires. Dritte Abtheilung : Infusoria und System der Radiolaria. p. 1412. Die Vacuolen sind demnach in strengem Sinne keine beständigen Organe oder *O r g a n u l a* (wie Möbius die Organe der Einzelligen im Gegensatz zu denen der Vielzelligen zu nennen vorschlug).
375. Ryder JA, ed. (février 1889). "Embryologie : La structure du spermatozoïde humain". *American Naturalist*. **23** : 184. Il serait peut-être avantageux d'utiliser ici le mot *organula* au lieu d'organe, suivant une suggestion de Möbius. Les agrégats multicellulaires fonctionnellement différenciés des formes multicellulaires ou des métazoaires sont en ce sens des organes, tandis que pour les parties fonctionnellement différenciées des organismes unicellulaires ou pour les parties différenciées des éléments germinatifs unicellulaires des métazoaires, le diminutif *organula* est approprié.
376. Robin C, Pouchet G, Duval MM, Retterer E, Tourneux F (1891). *Journal de l'anatomie et de la physiologie normales et pathologiques de l'homme et des animaux*. F. Alcan.
377. Möbius K (septembre 1884). "Das Sterben der einzelligen und der vielzelligen Tiere. Vergleichend betrachtet". *Biologisches Centralblatt*. **4** (13, 14) : 389-392,

448. Während die Fortpflanzungszellen der vielzelligen Tiere unthätig fortleben bis sie sich loslösen, wandern und entwickeln, treten die einzelligen Tiere auch durch die an der Fortpflanzung beteiligten Leibesmasse in Verkehr mit der Außenwelt und viele bilden sich dafür auch besondere Organula". Note de bas de page de la page 448 : "Die Organe der Heteroplastiden bestehen aus vereinigten Zellen. Da die Organe der Monoplastiden nur verschieden ausgebildete Teile e i n e r Zelle sind schlage ich vor, sie "Organula" zu nennen.
378. Walker, Patrick (2009). Importation nucléaire d'hétérodimères contenant un motif de pliage d'histone par l'importine 13. Niedersächsische Staats-und Universitätsbibliothek Göttingen.
379. Keeling PJ, Archibald JM (avril 2008). "Organelle evolution : what's in a name ?". *Current Biology*. **18** (8) : R345-7. doi:10.1016/j.cub.2008.02.065. PMID 18430636. S2CID 11520942.
380. Imanian B, Carpenter KJ, Keeling PJ (mars-avril 2007). "Le génome mitochondrial d'un endosymbiont tertiaire conserve les gènes des protéines de transport d'électrons". *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. **54** (2) : 146-53. doi:10.1111/j.1550-7408.2007.00245.x. PMID 17403155. S2CID 20393495.

381. Mullins C (2004). "Théorie de la biogénèse des organites : A Historical Perspective". *The Biogenesis of Cellular Organelles*. Springer Science+Business Media, National Institutes of Health. ISBN 978-0-306-47990-8.
382. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. "The Genetic Systems of Mitochondria and Plastids". *Molecular Biology of the Cell*(4th ed.). ISBN 978-0-8153-3218-3.
383. Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG (2002). *Biologie* (6e éd.). Benjamin Cummings. ISBN 978-0-8053-6624-2.
384. Nott TJ, Petsalaki E, Farber P, Jervis D, Fussner E, Plochowietz A, Craggs TD, Bazett-Jones DP, Pawson T, Forman-Kay JD, Baldwin AJ (mars 2015). "La transition de phase d'une protéine de nuage désordonnée génère des organelles sans membrane sensibles à l'environnement". *Molecular Cell*. **57** (5) : 936–947. doi:10.1016/j.molcel.2015.01.013. PMC 4352761. PMID 25747659.
385. Banani SF, Lee HO, Hyman AA, Rosen MK (mai 2017). "Condensats biomoléculaires : organisateurs de la biochimie cellulaire". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. **18** (5) : 285–298. doi:10.1038/nrm.2017.7. PMC 7434221. PMID 28225081.

386. Cormack DH (1984). Introduction à l'histologie. Lippincott. ISBN 978-0-397-52114-2.
387. Brangwynne CP, Eckmann CR, Courson DS, Rybarska A, Hoeghe C, Gharakhani J, Jülicher F, Hyman AA (juin 2009). "Les granules P germinaux sont des gouttelettes liquides qui se localisent par dissolution/condensation contrôlée". *Science*. 324 (5935) : 1729-32. Bibcode:2009Sci...324.1729B. doi:10.1126/science.1172046. PMID 19460965. S2CID 42229928.
388. Fahey RC, Newton GL, Arrick B, Overdank-Bogart T, Aley SB (avril 1984). "Entamoeba histolytica : un eucaryote sans métabolisme du glutathion". *Science*. 224 (4644) : 70-2. Bibcode:1984Sci...224...70F. doi:10.1126/science.6322306. PMID 6322306.
389. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff MC, Roberts K, Walter P, Wilson JH, Hunt T (2014-11-18). *Biologie moléculaire de la cellule* (sixième édition). Garland Science. p. 679. ISBN 978-0815345244.
390. Badano JL, Mitsuma N, Beales PL, Katsanis N (septembre 2006). "The ciliopathies : an emerging class of human genetic disorders". *Revue annuelle de génomique et de génétique humaine*. 7 : 125-48.

doi:10.1146/annurev.genom.7.080505.115610. PMID
16722803.

391. Anderson P, Kedersha N (mars 2008). "Stress granules : the Tao of RNA triage". Trends in Biochemical Sciences. **33** (3) : 141–50. doi:10.1016/j.tibs.2007.12.003. PMID 18291657.
392. Tsai Y, Sawaya MR, Cannon GC, Cai F, Williams EB, Heinhorst S, Kerfeld CA, Yeates TO (juin 2007). "Analyse structurale de CsoS1A et de l'enveloppe protéique du carboxysome de *Halothiobacillus neapolitanus*". PLOS Biology. **5**(6) : e144. doi:10.1371/journal.pbio.0050144. PMC 1872035. PMID 17518518.
393. Ryter A (janvier-février 1988). "Contribution des nouvelles cryométhodes à une meilleure connaissance de l'anatomie bactérienne". Annales de l'Institut Pasteur. Microbiologie. **139** (1) : 33–44. doi:10.1016/0769-2609(88)90095-6. PMID 3289587.
394. Komeili A, Li Z, Newman DK, Jensen GJ (janvier 2006). "Les magnétosomes sont des invaginations de la membrane cellulaire organisées par la protéine de type actine MamK"(PDF). Science. **311** (5758) : 242-5. Bibcode:2006Sci...311.. 242K. doi:10.1126/science.1123231. PMID 16373532. S2CID 36909813.

395. Scheffel A, Gruska M, Faivre D, Linaroudis A, Plitzko JM, Schüler D (mars 2006). "Une protéine acide aligne les magnétosomes le long d'une structure filamenteuse chez les bactéries magnétotactiques". *Nature*. **440** (7080) : 110-4. Bibcode:2006Natur.440.. 110S. doi:10.1038/nature04382. PMID 16299495. S2CID 4372846.
396. Lindsay, M. R. ; Webb, R. I. ; Strous, M ; Jetten, M. S. ; Butler, M. K. ; Forde, R. J. ; Fuerst, J. A. (2001). " La compartimentation cellulaire chez les planctomycètes : Novel types of structural organisation for the bacterial cell". *Archives of Microbiology*. **175** (6) : 413–29. doi:10.1007/s002030100280. PMID 11491082. S2CID 21970703.
397. Jetten, Mike S. M. ; Niftrik, Laura van ; Strous, Marc ; Kartal, Boran ; Keltjens, Jan T. ; Op den Camp, Huub J. M. (2009-06-01). "Biochimie et biologie moléculaire des bactéries anammox". *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. **44** (2-3) : 65–84. doi:10.1080/10409230902722783. PMID 19247843. S2CID 205694872. Consulté le 2020-08-03.
398. Fuerst JA (13 octobre 2005). "Compartimentage intracellulaire chez les planctomycètes". *Revue annuelle de microbiologie*. **59** : 299-328.

doi:10.1146/annurev.micro.59.030804.121258. PMID
15910279

399. "Qu'est-ce que l'ADN". Qu'est-ce que l'ADN. Linda Clarks. Consulté le 6 août 2016.
400. Bill Bryson, Une brève histoire de presque tout, Broadway Books, 2015.p. 500.
401. Dahm R (janvier 2008). "La découverte de l'ADN : Friedrich Miescher et les premières années de la recherche sur les acides nucléiques". *Génétique humaine*. **122** (6) : 565-81. doi:10.1007/s00439-007-0433-0. PMID 17901982. S2CID 915930.
402. Cox M, Nelson D (2008). *Principes de biochimie*. Susan Winslow. p. 288. ISBN 9781464163074.
403. "Structure de l'ADN". Qu'est-ce que l'ADN. Linda Clarks. Consulté le 6 août 2016.
404. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. (février 2001). "Séquençage initial et analyse du génome humain"(PDF). *Nature*. **409** (6822) : 860-921. Bibcode:2001Natur.409.. 860L. doi:10.1038/35057062. PMID 11237011.
405. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. (février 2001). "La séquence du génome humain". *Science*. **291**(5507) : 1304-51.

Bibcode:2001Sci...291.1304V.

doi:10.1126/science.1058040. PMID 11181995.

406. Budowle B, van Daal A (avril 2009). "Extraction de preuves à partir d'analyses d'ADN médico-légales : orientations futures de la biologie moléculaire". *BioTechniques*. **46** (5) : 339-40, 342-50. doi:10.2144/000113136. PMID 19480629.
407. Elson D (1965). "Métabolisme des acides nucléiques (ADN et ARN macromoléculaires)". *Revue annuelle de biochimie*. **34** : 449-86. doi:10.1146/annurev.bi.34.070165.002313. PMID 17901982. S2CID 915930.
408. Dahm R (janvier 2008). "La découverte de l'ADN : Friedrich Miescher et les premières années de la recherche sur les acides nucléiques". *Génétique humaine. nih.gov*. **122** (6) : 565-81. doi:10.1007/s00439-007-0433-0. PMID 17901982. S2CID 915930.
409. Brock TD, Madigan MT (2009). *Brock : biologie des micro-organismes*. Pearson / Benjamin Cummings. ISBN 978-0-321-53615-0.
410. Hardinger, Steven ; Université de Californie, Los Angeles (2011). "Knowing Nucleic Acids" (PDF). ucla.edu.
411. Mullis, Kary B. *The Polymerase Chain Reaction (Conférence Nobel)*. 1993. (consulté le 1er décembre 2010)

http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/mullis-lecture.html

412. Verma S, Eckstein F (1998). "Oligonucléotides modifiés : synthèse et stratégie pour les utilisateurs". *Revue annuelle de biochimie*. **67** : 99-134. doi:10.1146/annurev.biochem.67.1.99. PMID 9759484.
413. Gregory SG, Barlow KF, McLay KE, Kaul R, Swarbreck D, Dunham A, et al. (mai 2006). "La séquence d'ADN et l'annotation biologique du chromosome 1 humain". *Nature*. **441** (7091) : 315-21. Bibcode:2006Natur.441..315G. doi:10.1038/nature04727. PMID 16710414.
414. Todorov TI, Morris MD (avril 2002). National Institutes of Health. "Comparaison du comportement de l'ARN, de l'ADN simple brin et de l'ADN double brin pendant l'électrophorèse capillaire dans des solutions polymères semi-diluées". *Electrophoresis. nih.gov*. **23** (7-8) : 1033–44. doi:10.1002/1522-2683(200204)23:7/8<1033::AID-ELPS1033>3.0.CO;2-7. PMID 11981850.
415. Margaret Hunt ; Université de Caroline du Sud (2010). "Stratégies de réplication du virus RN". sc.edu.
416. McGlynn P, Lloyd RG (août 1999). "Activité de l'hélicase RecG sur les structures d'ADN à trois et quatre brins". *Recherche d'Acides Nucléiques*. **27** (15) : 3049–56. doi:10.1093/nar/27.15.3049. PMC 148529. PMID

10454599418. Stryer, Lubert ; Berg, Jeremy Mark ; Tymoczko, John L. (2007). Biochemistry. San Francisco : W.H. Freeman. ISBN 978-0-7167-6766-4.
417. Rich A, RajBhandary UL (1976). "ARN de transfert : structure moléculaire, séquence et propriétés". Revue annuelle de biochimie. **45** : 805-60. doi:10.1146/annurev.bi.45.070176.004105. PMID 60910.
418. Watson JD, Crick FH (avril 1953). "Structure moléculaire des acides nucléiques ; une structure pour l'acide nucléique désoxyribose". Nature. **171** (4356) : 737-8. Bibcode:1953Natur.171.. 737W. doi:10.1038/171737a0. PMID 13054692. S2CID 4253007.
419. Ferré-D'Amaré AR, Doudna JA (1999). "RNA folds : insights from recent crystal structures". Revue annuelle de biophysique et de structure biomoléculaire. **28** : 57-73. doi:10.1146/annurev.biophys.28.1.57. PMID 10410795.
- 422- Alberts, Bruce (2008). Biologie moléculaire de la cellule. New York : Garland Science. ISBN 978-0-8153-4105-5.
420. Gilbert, Walter G. 1980. DNA Sequencing and Gene Structure (Conférence Nobel) http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1980/gilbert-lecture.html

421. Sanger, Frederick. 1980. Détermination des séquences de nucléotides dans l'ADN (Conférence Nobel) http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1980/sanger-lecture.html
422. Coordonnateurs des ressources du NCBI (janvier 2014). "Ressources des bases de données du Centre national d'information sur les biotechnologies". *Nucleic Acids Research*. **42**(Numéro de base de données) : D7-17. doi:10.1093/nar/gkt1146. PMC 3965057. PMID 24259429
423. Krieger M, Scott MP, Matsudaira PT, Lodish HF, Darnell JE, Lawrence Z, Kaiser C, Berk A (2004). "Section 4.1 : Structure of Nucleic Acids". *Biologie cellulaire moléculaire*. New York : W.H. Freeman et CO. ISBN 978-0-7167-4366-8. 427. "Structure des acides nucléiques". SparkNotes.
424. Anthony-Cahill SJ, Mathews CK, van Holde KE, Appling DR (2012). *Biochemistry (4th Edition)*. Englewood Cliffs, N.J : Prentice Hall. ISBN 978-0-13-800464-4.
425. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Wlatter P (2002). *Molecular Biology of the Cell (4e édition)*. New York NY : Garland Science. ISBN 978-0-8153-3218-3.
426. Mao C (décembre 2004). "L'émergence de la complexité : les leçons de l'ADN". *PLoS Biology*. **2** (12) :

- e431. doi:10.1371/journal.pbio.0020431. PMC 535573. PMID 15597116.
427. Katsuyuki, Aoki ; Kazutaka, Murayama ; Hu, Ning-Hai (2016). "Chapitre 3, section3. Complexes constitutifs de l'acide nucléique". In Astrid, Sigel ; Helmut, Sigel ; Roland K.O., Sigel (eds.). *The Alkali Metal Ions : Their Role in Life. Metal Ions in Life Sciences*. **16**. Springer. pp. 43–66. doi:10.1007/978-3-319-21756-7_3. ISBN 978-3-319-21755-0. PMID 26860299.
428. Sedova A, Banavali NK (2017). "Modèles géométriques pour les bases voisines près de l'état empilé dans les brins d'acide nucléique". *Biochimie*. **56** (10) : 1426–1443. doi:10.1021/acs.biochem.6b01101. PMID 28187685
429. Tinoco I, Bustamante C (octobre 1999). "How RNA folds". *Journal of Molecular Biology*. **293** (2) : 271–81. doi:10.1006/jmbi.1999.3001. PMID 10550208.
430. "Structure de l'ARN (Biologie moléculaire)".
431. Hollyfield JG, Besharse JC, Rayborn ME (décembre 1976). "L'effet de la lumière sur la quantité de phagosomes dans l'épithélium pigmentaire". *Experimental Eye Research*. **23** (6) : 623–35. doi:10.1016/0014-4835(76)90221-9. PMID 1087245.

432. Rietveld K, Van Poelgeest R, Pleij CW, Van Boom JH, Bosch L (mars 1982). "The tRNA-like structure at the 3' terminus of turnip yellow mosaic virus RNA. Differences and similarities with canonical tRNA". *Nucleic Acids Research*. **10** (6) : 1929–46. doi:10.1093/nar/10.6.1929. PMC 320581. PMID 7079175.
433. Staple DW, Butcher SE (juin 2005). "Pseudoknots : RNA structures with diverse functions". *PLoS Biology*. **3** (6) : e213. doi:10.1371/journal.pbio.0030213. PMC 1149493. PMID 15941360.
434. Sperschneider J, Datta A, Wise MJ (décembre 2012). "Prédire les structures pseudo-notées à travers deux séquences d'ARN". *Bioinformatics*. **28**(23) : 3058–65. doi:10.1093/bioinformatics/bts575. PMC 3516145.
435. Dickerson RE, Drew HR, Conner BN, Wing RM, Fratini AV, Kopka ML (avril 1982). "The anatomy of A-, B-, and Z-DNA". *Science*. **216** (4545) : 475–85. doi:10.1126/science.7071593. PMID 7071593.
436. Chen X ; Ramakrishnan B ; Sundaralingam M (1995). "Structures cristallines de chimères ADN-ARN de forme B complexées avec la distamycine". *Nature Structural Biology*. **2** (9) : 733–735. doi:10.1038/nsb0995-733.
437. Sedova A, Banavali NK (2016). "L'ARN se rapproche de la forme B dans des contextes de dinucléotides simple brin

- empilés". *Biopolymères*. **105** (2) : 65-82.
doi:10.1002/bip.22750. PMID 26443416.
438. Mirkin SM (2001). *Topologie de l'ADN : Fundamentals*. Encyclopédie des sciences de la vie.
doi:10.1038/npg.els.0001038. ISBN 978-0470016176.
439. "Biochimie structurale/Acide nucléique/Administration de l'ADN". Consulté le 11 décembre 2012.
440. Tang, Wei ; Hu, Shichao ; Wang, Huaming ; Zhao, Yan ; Li, Na ; Liu, Feng (23 septembre 2014). "Un traducteur moléculaire universel pour des cibles non acides nucléiques qui permet des assemblages dynamiques d'ADN et des opérations logiques". *Chem. Commun.* **50** (92) : 14352–14355. doi:10.1039/C4CC07041K. PMID 25295484.
441. Ihalainen, Petri ; Pettersson, Fredrik ; Pesonen, Markus ; Viitala, Tapani ; Määttänen, Anni ; Österbacka, Ronald ; Peltonen, Jouko (7 mars 2014). "Une étude impédimétrique de l'hybridation de l'ADN sur des électrodes d'or imprimées par jet d'encre sur support papier". *Nanotechnologie*. **25** (9) : 094009. Bibcode:2014Nanot..25i4009I. doi:10.1088/0957-4484/25/9/094009. PMID 24522116.
442. Berney, H. ; Oliver, K. (2005). "Dual polarization interferometry size and density characterisation of DNA immobilisation and hybridisation". *Biocapteurs et*

- Bioélectronique. **21** (4) : 618–626.
doi:10.1016/j.bios.2004.12.024. PMID 16202875.
443. Dixon, Matthew C. (juillet 2008). "Microbalance à cristal de quartz avec surveillance de la dissipation : Enabling Real-Time Characterization of Biological Materials and Their Interactions". *Journal of Biomolecular Techniques*. **19** (3) : 151-158. PMC 2563918. PMID 19137101.
444. Hannon, Gregory J. (juillet 2002). "RNA interference". *Nature*. **418** (6894) : 244-251. doi:10.1038/418244a. ISSN 1476-4687
445. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (décembre 1985). "Amplification enzymatique des séquences génomiques de la bêta-globine et analyse des sites de restriction pour le diagnostic de l'anémie falciforme". *Science*. **230** (4732) : 1350-4. Bibcode:1985Sci...230.1350S. doi:10.1126/science.2999980. PMID 2999980.
446. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. (janvier 1988). "Amplification enzymatique de l'ADN dirigée par des amorces avec une ADN polymérase thermostable". *Science*. **239** (4839) : 487-91. Bibcode:1988Sci...239.. 487S. doi:10.1126/science.239.4839.487. PMID 2448875.

447. Enners, Edward ; Porta, Angela R. (2012). "Détermination des températures de recuit pour la réaction en chaîne de la polymérase". *L'enseignant de biologie américain*. **74** (4) : 256–260. doi:10.1525/abt.2012.74.4.9. S2CID 86708426.
448. Ninfa, Alexander ; Ballou, David ; Benore, Marilee (2009). *Approches fondamentales de laboratoire pour la biochimie et la biotechnologie*. États-Unis : Wiley. pp. 408-10. ISBN 978-0-47008766-4.
449. Cheng S, Fockler C, Barnes WM, Higuchi R (juin 1994). "Amplification efficace de cibles longues à partir d'inserts clonés et d'ADN génomique humain". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **91** (12) : 56959. Bibcode:1994PNAS...91.5695C. doi:10.1073/pnas.91.12.5695. PMC 44063. PMID 8202550.
450. Carr AC, Moore SD (2012). Lucia A (ed.). "Quantification robuste des réactions en chaîne de la polymérase en utilisant l'ajustement global". *PLOS ONE*. **7** (5) : e37640. Bibcode:2012PLoSO...737640C. doi:10.1371/journal.pone.0037640. PMC 3365123. PMID 22701526.
451. Joseph Sambrook & David W. Russel (2001). *Molecular Cloning : A Laboratory Manual* (3ème édition). Cold Spring Harbor, N.Y. : Cold Spring Harbor Laboratory

- Press. ISBN 978-0-879-69576-7. Chapitre 8 : Amplification in vitro de l'ADN par la réaction en chaîne de la polymérase
452. "Réaction en chaîne par polymérase (PCR)". National Center for Biotechnology Information, Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis.
453. "PCR". Genetic Science Learning Center, Université de l'Utah.
454. Pavlov AR, Pavlova NV, Kozyavkin SA, Slesarev AI (mai 2004). "Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications". *Tendances en biotechnologie*. **22** (5) : 253–60. doi:10.1016/j.tibtech.2004.02.011. PMID 15109812.
455. Rychlik W, Spencer WJ, Rhoads RE (novembre 1990). "Optimisation de la température de recuit pour l'amplification de l'ADN in vitro". *Nucleic Acids Research*. **18** (21) : 6409–12. doi:10.1093/nar/18.21.6409. PMC 332522. PMID 2243783.
456. Sharkey DJ, Scalice ER, Christy KG, Atwood SM, Daiss JL (mai 1994). "Antibodies as thermolabile switches : high temperature triggering for the polymerase chain reaction". *Bio/Technologie*. **12** (5) : 506–9. doi:10.1038/nbt0594-506. PMID 7764710. S2CID 2885453.

457. Chien A, Edgar DB, Trela JM (septembre 1976). "L'acide désoxyribonucléique polymérase du thermophile extrême *Thermus aquaticus*". *Journal of Bacteriology*. **127** (3) : 1550–7. doi:10.1128/jb.127.3.1550-1557.1976. PMC 232952. PMID 8432.
458. Lawyer FC, Stoffel S, Saiki RK, Chang SY, Landre PA, Abramson RD, Gelfand DH (mai 1993). "Expression de haut niveau, purification et caractérisation enzymatique de l'ADN polymérase complète de *Thermus aquaticus* et d'une forme tronquée déficiente en activité exonucléase 5' à 3' ". *Méthodes et applications de la PCR*. **2** (4) : 275–87. doi:10.1101/gr.2.4.275. PMID 8324500.
459. Schochetman G, Ou CY, Jones WK (décembre 1988). "Réaction en chaîne par polymérase". *The Journal of Infectious Diseases*. **158** (6) : 1154–7. doi:10.1093/infdis/158.6.1154. JSTOR 30137034. PMID 2461996.
460. Borman, Jon ; Schuster, David ; Li, Wu-bo ; Jessee, Joel ; Rashtchian, Ayoub (2000). "PCR à partir de modèles problématiques" (PDF). *Focus*. **22** (1) : 10. Archivé de l'original (PDF) le 7 mars 2017.
461. Bogetto, Prachi ; Waidne, Lisa ; Anderson, Holly (2000). "Conseils utiles pour la PCR" (PDF). *Focus*. **22** (1) : 12. Archivé de l'original (PDF) le 7 mars 2017.

462. Sarkar G, Kapelner S, Sommer SS (décembre 1990). "Le formamide peut améliorer considérablement la spécificité de la PCR". *Nucleic Acids Research*. **18**(24) : 7465. doi:10.1093/nar/18.24.7465. PMC 332902. PMID
463. "PCR électronique". NCBI - National Center for Biotechnology Information. Consulté le 13 mars 2012.
464. Pavlov AR, Pavlova NV, Kozyavkin SA, Slesarev AI (2006). "ADN polymérase thermostables pour un large éventail d'applications : Comparaison of a Robust Hybrid TopoTaq to other enzymes". Dans Kieleczawa J (ed.). *DNA Sequencing II : Optimizing Preparation and Cleanup*. Jones & Bartlett. pp. 241-57. ISBN 978-0-7637-3383-4.
465. Pombert JF, Sístek V, Boissinot M, Frenette M (octobre 2009). "Evolutionary relationships among salivarius streptococci as inferred from multilocus phylogenies based on 16S rRNA-encoding, recA, secA, and secY gene sequences". *BMC Microbiology*. **9** : 232. doi:10.1186/1471-2180-9-232. PMC 2777182. PMID 19878555.
466. "Synthèse chimique, séquençage et amplification de l'ADN (notes de cours sur MBB/BIO 343)". Université d'État de l'Arizona. Archivé de l'original le 9 octobre 1997. Consulté le 29 octobre 2007.
467. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. (avril 2009). "The MIQE guidelines :

- minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments" (PDF). *Clinical Chemistry*. **55** (4) : 611–22. doi:10.1373/clinchem.2008.112797. PMID 19246619.
468. Garibyan L, Avashia N (mars 2013). " Réaction en chaîne par polymérase ". *The Journal of Investigative Dermatology*. **133** (3) : 1-4. doi:10.1038/jid.2013.1. PMC 4102308. PMID 23399825.
469. Schnell, S. ; Mendoza, C. (octobre 1997). "Description théorique de la réaction en chaîne de la polymérase". *Journal of Theoretical Biology*. **188** (3) : 313–318. doi:10.1006/jtbi.1997.0473. PMID 9344735.
470. Schnell, S. ; Mendoza, C. (21 février 1997). "Enzymological Considerations for the Theoretical Description of the Quantitative Competitive Polymerase Chain Reaction (QC-PCR)". *Journal of Theoretical Biology*. **184**(4) : 433–440. doi:10.1006/jtbi.1996.0283. ISSN 0022-5193. PMID 9082073.
471. Becker, Sven ; Böger, Peter ; Oehlmann, Ralfh ; Ernst, Anneliese (1 novembre 2000). "PCR Bias in Ecological Analysis : a Case Study for Quantitative Taq Nuclease Assays in Analyses of Microbial Communities". *Applied and Environmental Microbiology*. **66** (11) : 4945-4953.

- doi:10.1128/AEM.66.11.4945-4953.2000. ISSN 1098-5336.
PMC 92404. PMID 11055948.
472. Solomon, Anthony W. ; Peeling, Rosanna W. ; Foster, Allen ; Mabey, David C. W. (1 octobre 2004). "Diagnostic et évaluation du trachome". *Clinical Microbiology Reviews*. **17** (4) : 982–1011. doi:10.1128/CMR.17.4.982-1011.2004. ISSN 0893-8512. PMC 523557. PMID 15489358.
473. Ramzy, Reda M.R. (avril 2002). "Progrès récents dans les techniques de diagnostic moléculaire de la filariose lymphatique humaine et leur utilisation dans la recherche épidémiologique". *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **96** : S225-S229. doi:10.1016/S0035-9203(02)90080-5. PMID 12055843.
474. Sachse, Konrad (2003). Sachse, Konrad ; Frey, Joachim (eds.). Spécificité et performance des tests PCR de diagnostic. Détection par PCR des pathogènes microbiens. *Méthodes de biologie moléculaire*. **216**. Totowa, New Jersey : Humana Press. pp. 3–29. doi:10.1385/1-59259-344-5:03. ISBN 978-1-59259-344-6. PMID 12512353.
475. Quill E (mars 2008). "Médecine. La compatibilité du sang devient génétique". *Science*. **319** (5869) : 1478–9. doi:10.1126/science.319.5869.1478. PMID 18339916. S2CID 36945291.

476. Tomar, Rukam (2010). Marqueurs moléculaires et biotechnologie végétale. Pitman Pura, New Delhi : New India Publishing Agency. p. 188. ISBN 978-93-80235-25-7.
477. Cai HY, Caswell JL, Prescott JF (mars 2014). "Techniques moléculaires sans culture pour le diagnostic des maladies bactériennes chez les animaux : une perspective de laboratoire de diagnostic". Pathologie vétérinaire. **51** (2) : 341–50. doi:10.1177/0300985813511132. PMID 24569613.
478. Salis AD (2009). "Applications en microbiologie clinique". PCR en temps réel : Current Technology and Applications. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-39-4.
479. Kwok S, Mack DH, Mullis KB, Poiesz B, Ehrlich G, Blair D, et al. (mai 1987). "Identification des séquences du virus de l'immunodéficience humaine en utilisant l'amplification enzymatique in vitro et la détection du clivage des oligomères". Journal of Virology. **61** (5) : 1690–4. doi:10.1128/jvi.61.5.1690-1694.1987. PMC 254157. PMID 2437321.
480. "Coronavirus : il viaggio dei test". Istituto Superiore di Sanità.
481. Finger, Horst ; von Koenig, Carl Heinz Wirsing (1996). Baron, Samuel (ed.). Medical Microbiology (4th ed.).

- Galveston, TX : Université du Texas Medical Branch à Galveston. ISBN 978-0-96311721-2. PMID 21413270.
482. Yeh, Sylvia H. ; Mink, ChrisAnna M. (2012). " Bordetella pertussis et coqueluche (coqueluche) ". Netter's Infectious Diseases. Netter's Infectious Diseases. pp. 11-14. doi:10.1016/B978-1-4377-0126-5.00003-3. ISBN 978-1-43770126-5.
483. Alonso A, Martín P, Albarrán C, García P, García O, de Simón LF, et al. (janvier 2004). "Real-Time PCR Designs to Estimate Nuclear and Mitochondrial DNA Copy Number in Forensic and Ancient DNA Studies". Forensic Science International. **139** (2-3) : 141–9. doi:10.1016/j.forsciint.2003.10.008. PMID 15040907.
484. Boehnke M, Arnheim N, Li H, Collins FS (juillet 1989). "Cartographie génétique à structure fine des chromosomes humains à l'aide de la réaction en chaîne de la polymérase sur des spermatozoïdes uniques : considérations sur la conception expérimentale". American Journal of Human Genetics. **45** (1) : 21-32. PMC 1683385. PMID 2568090.
485. Zhou YH, Zhang XP, Ebright RH (novembre 1991). "Random mutagenesis of gene-sized DNA molecules by use of PCR with Taq DNA polymerase". Nucleic Acids

- Research. **19** (21) : 6052. doi:10.1093/nar/19.21.6052. PMC 329070. PMID 1658751.
486. Stursberg, Stephanie (2021). "Mise en place d'un laboratoire de PCR à partir de zéro". INTEGRA Biosciences.
487. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, et al. (avril 1989). "Analyse de toute mutation ponctuelle dans l'ADN. The amplification refractory mutation system (ARMS)". *Nucleic Acids Research*. **17** (7) : 2503–16. doi:10.1093/nar/17.7.2503. PMC 317639. PMID 2785681.
488. Stemmer WP, Cramer A, Ha KD, Brennan TM, Heyneker HL (octobre 1995). "Single-step assembly of a gene and entire plasmid from large numbers of oligodeoxyribonucleotides". *Gene*. **164** (1) : 49–53. doi:10.1016/0378-1119(95)00511-4. PMID 7590320.
489. Innis MA, Myambo KB, Gelfand DH, Brow MA (décembre 1988). "Séquençage de l'ADN avec l'ADN polymérase de *Thermus aquaticus* et séquençage direct de l'ADN amplifié par réaction en chaîne par polymérase". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **85** (24) : 9436-40. Bibcode:1988PNAS...85.9436I. doi:10.1073/pnas.85.24.9436. PMC 282767. PMID 3200828.

490. Pierce KE, Wangh LJ (2007). Linear-after-the-exponential polymerase chain reaction and allied technologies Real-time detection strategies for rapid, reliable diagnosis from single cells. *Méthodes de médecine moléculaire*. **132**. pp. 65-85. doi:10.1007/978-1-59745-298-4_7. ISBN 978-1-58829-578-1. PMID 17876077.
491. Krishnan M, Ugaz VM, Burns MA (octobre 2002). "PCR dans une cellule de convection Rayleigh-Bénard". *Science*. **298** (5594) : 793. doi:10.1126/science.298.5594.793. PMID 12399582.
492. Priye A, Hassan YA, Ugaz VM (novembre 2013). "L'advection chaotique à micro-échelle permet une réplification convective robuste de l'ADN". *Analytical Chemistry*. **85** (21) : 10536–41. doi:10.1021/ac402611s. PMID 24083802.
493. Schwartz JJ, Lee C, Shendure J (septembre 2012). "Synthèse précise de gènes avec récupération dirigée par étiquette de molécules d'ADN à séquence vérifiée". *Nature Methods*. **9** (9) : 9135. doi:10.1038/nmeth.2137. PMC 3433648. PMID 22886093.
494. Vincent M, Xu Y, Kong H (août 2004). " Helicase-dependent isothermal DNA amplification ". *Rapports EMBO*. **5** (8) : 795–800. doi:10.1038/sj.embor.7400200. PMC 1249482. PMID 15247927.

495. Chou Q, Russell M, Birch DE, Raymond J, Bloch W (avril 1992). "Prevention of pre-PCR mis-priming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications". *Nucleic Acids Research*. **20** (7) : 1717–23. doi:10.1093/nar/20.7.1717. PMC 312262. PMID 1579465.
496. Kellogg DE, Rybalkin I, Chen S, Mukhamedova N, Vlasik T, Siebert PD, Chenchik A (juin 1994). "Anticorps TaqStart : "Hot start" PCR facilitée par un anticorps monoclonal neutralisant dirigé contre l'ADN polymérase Taq". *BioTechniques*. **16** (6) : 1134-7. PMID 8074881.
497. San Millán RM, Martínez-Ballesteros I, Rementeria A, Garaizar J, Bikandi J (décembre 2013). "Exercice en ligne pour la conception et la simulation d'expériences de PCR et de PCR-RFLP". *BMC Research Notes*. **6** : 513. doi:10.1186/1756-0500-6-513. PMC 4029544. PMID 24314313.
498. Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D (mars 1994). "Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification". *Genomics*. **20** (2) : 176–83. doi:10.1006/geno.1994.1151. PMID 8020964.
499. Ochman H, Gerber AS, Hartl DL (novembre 1988). "Applications génétiques d'une réaction en chaîne par polymérase inverse". *Genetics*. **120** (3) : 621–3.

- doi:10.1093/genetics/120.3.621. PMC 1203539. PMID 2852134.
500. Mueller PR, Wold B (novembre 1989). "In vivo footprinting of a muscle specific enhancer by ligation mediated PCR". *Science*. **246** (4931) : 780-6. Bibcode:1989Sci...246.. 780M. doi:10.1126/science.2814500. PMID 2814500.
501. Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB (septembre 1996). "Methylation-specific PCR : a novel PCR assay for methylation status of CpG islands". *Actes de l'Académie nationale des sciences des États-Unis d'Amérique*. **93** (18) : 9821-6. Bibcode:1996PNAS...93.9821H. doi:10.1073/pnas.93.18.9821. PMC 38513. PMID 8790415.
502. Isenbarger TA, Finney M, Ríos-Velázquez C, Handelsman J, Ruvkun G (février 2008). "Miniprimer PCR, une nouvelle lentille pour voir le monde microbien". *Microbiologie appliquée et environnementale*. **74** (3) : 840–9. doi:10.1128/AEM.01933-07. PMC 2227730. PMID 18083877.
503. Shen C, Yang W, Ji Q, Maki H, Dong A, Zhang Z (novembre 2009). "Observation de la NanoPCR : différents niveaux de fidélité de la réplication de l'ADN dans les réactions en chaîne de la polymérase renforcées par des

- nanoparticules". *Nanotechnologie*. **20** (45) : 455103. Bibcode:2009Nanot.. 20S5103S. doi:10.1088/0957-4484/20/45/455103. PMID 19822925. S2CID 3393115.
504. Shen, Cenchao (2013). "Une vue d'ensemble de la technologie de réaction en chaîne par polymérase assistée par nanoparticules". Une vue d'ensemble de la technologie de réaction en chaîne par polymérase assistée par nanoparticules. US : Wiley-Blackwell Publishing Ltd. pp. 97-106. doi:10.1002/9781118451915.ch5. ISBN 9781118451915.
505. Horton RM, Hunt HD, Ho SN, Pullen JK, Pease LR (avril 1989). "Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes : gene splicing by overlap extension". *Gene*. **77** (1) : 61–8. doi:10.1016/0378-1119(89)90359-4. PMID 2744488.
506. Moller, Simon (2006). *PCR : The Basics*. US : Taylor & Francis Group. p. 144. ISBN 9780415355476.
507. David F, Turlotte E (novembre 1998). "[Une méthode d'amplification génique isotherme]" [Une méthode d'amplification isotherme]. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Série III*. **321** (11) : 909-14. Bibcode:1998CRASG.321.. 909D. doi:10.1016/S0764-4469(99)80005-5. PMID 9879470.

508. Fabrice David (septembre-octobre 2002). "Utiliser les propriétés topologiques de l'ADN : une nouvelle arme contre les agents pathogènes"(PDF). Fusion. Archivé de l'original (PDF) le 28 novembre 2007 (en français).
509. Dobosy JR, Rose SD, Beltz KR, Rupp SM, Powers KM, Behlke MA, Walder JA (août 2011). "RNase H-dependent PCR (rhPCR) : amélioration de la spécificité et de la détection de polymorphisme de nucléotide unique en utilisant des amorces clivables bloquées". *BMC Biotechnology*. **11** : 80. doi:10.1186/1472-6750-11-80. PMC 3224242. PMID 21831278.
510. Shyamala, V. ; Ferro-Luzzi, Ames G. (1993). Single Specific Primer-Polymerase Chain Reaction (SSP-PCR) et Genome Walking. *Méthodes en biologie moléculaire*. **15**. pp. 339–48. doi:10.1385/0-89603-244-2:339. ISBN 978-0-89603-244-6. PMID 21400290.
511. Bing DH, Boles C, Rehman FN, Audeh M, Belmarsh M, Kelley B, Adams CP (1996). "Bridge amplification : a solid phase PCR system for the amplification and detection of allelic differences in single copy genes". Actes de la conférence sur l'identité génétique, septième symposium international sur l'identification humaine. Archivé de l'original le 7 mai 2001.

512. Khan Z, Poetter K, Park DJ (avril 2008). "Enhanced solid phase PCR : mechanisms to increase priming by solid support primers". *Biochimie analytique*. **375** (2) : 391–3. doi:10.1016/j.ab.2008.01.021. PMID 18267099.
513. Raoult D, Aboudharam G, Crubézy E, Larrouy G, Ludes B, Drancourt M (novembre 2000). "Identification moléculaire par "suicide PCR" de *Yersinia pestis* comme agent de la mort noire médiévale". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **97** (23) : 12800-3. Bibcode:2000PNAS...9712800R. doi:10.1073/pnas.220225197. PMC 18844. PMID 11058154.
514. Liu YG, Whittier RF (février 1995). "Thermal asymmetric interlaced PCR : automatable amplification and sequencing of insert end fragments from P1 and YAC clones for chromosome walking". *Genomics*. **25** (3) : 674–81. doi:10.1016/0888-7543(95)80010-J. PMID 7759102.
515. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS (juillet 1991). "'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification". *Nucleic Acids Research*. **19** (14) : 4008. doi:10.1093/nar/19.14.4008. PMC 328507. PMID 1861999.

516. Myrick KV, Gelbart WM (février 2002). "Universal Fast Walking for direct and versatile determination of flanking sequence". *Gene*. **284** (1-2) : 125–31. doi:10.1016/S0378-1119(02)00384-0. PMID 11891053.
517. "Texte intégral - LaNe RAGE : un nouvel outil pour la détermination des séquences flanquantes de l'ADN génomique". www.ejbiotechnology.info.
518. Park DJ (janvier 2005). "A new 5' terminal murine GAPDH exon identified using 5'RACE LaNe". *Molecular Biotechnology*. **29** (1) : 39-46. doi:10.1385/MB:29:1:39. PMID 15668518. S2CID 45702164.
519. Park DJ (avril 2004). "3' RACE LaNe : une méthode PCR simple et rapide entièrement nichée pour déterminer la séquence 3'-terminale de l'ADNc". *BioTechniques*. **36** (4) : 586-8, 590. doi:10.2144/04364BM04. PMID 15088375.
520. "L'ingrédient clé des tests de coronavirus provient des lacs de Yellowstone". *Science*. 31 mars 2020. Consulté le 13 mai 2020.
521. Kleppe K, Ohtsuka E, Kleppe R, Molineux I, Khorana HG (mars 1971). "Études sur les polynucléotides ". XCVI. Réplifications réparatrices de courts ADN synthétiques catalysées par les ADN polymérases". *Journal of Molecular Biology*. **56**(2) : 341–61. doi:10.1016/0022-2836(71)90469-4. PMID 4927950.

522. Rabinow, Paul (1996). *Making PCR : A Story of Biotechnology*. Chicago : University of Chicago Press. ISBN 978-0-226-70146-2.
523. Mullis, Kary (1998). *Danser nu dans le champ de l'esprit*. New York : Pantheon Books. ISBN 978-0-679-44255-4.
524. Mullis KB (avril 1990). "L'origine inhabituelle de la réaction en chaîne de la polymérase". *Scientific American*. **262** (4) : 56-61, 64-5. Bibcode:1990SciAm.262d..56M. doi:10.1038/scientificamerican0490-56. PMID 2315679.
525. Patidar M, Agrawal S, Parveen F, Khare P (2015). "Aperçus moléculaires de la salive dans la résolution des conflits de paternité". *Journal of Forensic Dental Sciences*. **7**(1) : 76–9. doi:10.4103/0975-1475.150325. PMC 4330625. PMID 25709326.
526. Nichols D, Barker E (2016). " Les psychédéliques ". *Revue pharmacologique*. **68**(2) : 356. doi:10.1124/pr.115.011478. PMC 4813425. PMID 26841800. "Le prix Nobel de chimie 1993". NobelPrize.org. "Le prix Nobel de chimie 1993". NobelPrize.org.
527. "Citations des lauréats 2017 du prix de la percée chimique". Division de l'histoire de la chimie. Consulté le 12 mars 2018.

528. "Conseils sur la façon de survivre aux guerres de la Taq". GEN Genetic Engineering News - Biobusiness Channel. **26** (9). 1er mai 2006.
529. Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE (janvier 1999). "Quantitative RT-PCR : pitfalls and potential". BioTechniques. **26** (1) : 112-22, 124-5. doi:10.2144/99261rv01. PMID .
530. Mackay, Ian (2007). PCR en temps réel en microbiologie : From Diagnosis to Characterization. Norfolk, Angleterre : Caister Academic Press. pp. 440. ISBN 978-1-904455-18-9.
531. Joyce C (2002). RT-PCR quantitative. A review of current methodologies. Methods Mol. Biol. **193**. pp. 83-92. doi:10.1385/1-59259-283-X:083. ISBN 978-1-59259-283-8. PMID 12325527.
532. Kang XP, Jiang T, Li YQ, et al. (2010). "A duplex real-time RT-PCR assay for detecting H5N1 avian influenza virus and pandemic H1N1 influenza virus". Virol. J. **7** : 113. doi:10.1186/1743-422X-7-113. PMC 2892456. PMID 20515509.
533. Bustin SA, Benes V, Nolan T, Pfaffl MW (juin 2005). "Quantitative real-time RT-PCR--a perspective". J. Mol. Endocrinol. **34** (3) : 597-601. CiteSeerX 10.1.1.528.6638. doi:10.1677/jme.1.01755. PMID 15956331.

534. Varkonyi-Gasic E, Hellens RP (2010). "qRT-PCR des petits ARN". *Épigénétique végétale. Methods in Molecular Biology*. **631**. pp. 109-22. doi:10.1007/978-1-60761-646-7_10. ISBN 978-1-60761-645-0. PMID 20204872.
535. Taylor S, Wakem M, Dijkman G, Alsarraj M, Nguyen M (avril 2010). "Une approche pratique de la RT-qPCR- Publication de données conformes aux directives de la MIQE". *Methods*. **50** (4) : S1-5. doi:10.1016/j.ymeth.2010.01.005. PMID 20215014.
536. Spackman E, Senne DA, Myers TJ, et al. (septembre 2002). "Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes". *J. Clin. Microbiol.* **40** (9) : 3256-60. doi:10.1128/jcm.40.9.3256-3260.2002. PMC 130722. PMID 12202562.
537. "RÉSUMÉ DE L'AUTORISATION ACCÉLÉRÉE D'UTILISATION EN URGENCE (EUA) DU TEST COVID-19 RT-PCR (LABORATORY CORPORATION OF AMERICA)". FDA. Consulté le 3 avril 2020.
538. Alwine JC, Kemp DJ, Stark GR (décembre 1977). "Méthode de détection d'ARN spécifiques dans des gels d'agarose par transfert sur papier diazobenzyloxyméthyle et hybridation avec des sondes d'ADN". *Proc. Natl. Acad. Sci.*

- U.S.A. **74** (12) : 5350-4. Bibcode:1977PNAS...74.5350A.
doi:10.1073/pnas.74.12.5350. PMC 431715. PMID 414220.
539. Streit S, Michalski CW, Erkan M, Kleeff J, Friess H (2009). "Analyse Northern blot pour la détection et la quantification de l'ARN dans les cellules et les tissus du cancer du pancréas". *Nat Protoc.* **4** (1) : 37–43. doi:10.1038/nprot.2008.216. PMID 19131955.
540. Bustin SA (octobre 2000). "Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain assays". *J. Mol. Endocrinol.* **25** (2) : 169–93. doi:10.1677/jme.0.0250169. PMID 11013345.
541. Hierro N, Esteve-Zarzoso B, González A, Mas A, Guillamón JM (novembre 2006). "PCR quantitative en temps réel (QPCR) et transcription inverse-QPCR pour la détection et le dénombrement des levures totales dans le vin". *Appl. Environ. Microbiol.* **72** (11) : 7148-55. doi:10.1128/AEM.00388-06. PMC 1636171. PMID 17088381.
542. Slomka MJ, Pavlidis T, Coward VJ, et al. (juillet 2009). "Méthodes validées de PCR à transcriptase inverse en temps réel pour le diagnostic et le pathotypage des virus de la grippe aviaire H7 eurasienne". *Influenza and Other Respiratory Viruses.* **3** (4) : 151-64. doi:10.1111/j.1750-2659.2009.00083.x. PMC 4634683. PMID 19627372.

543. Résumé de la mission : Visite de terrain de l'OMS à Wuhan, Chine, les 20 et 21 janvier 2020 : <https://www.who.int/china/news/detail/22-01-2020-field-visit-wuhan-china-jan-2020>
544. Deepak S, Kottapalli K, Rakwal R, et al. (juin 2007). "Real-Time PCR : Revolutionizing Detection and Expression Analysis of Genes". *Curr. Genomics*. **8** (4) : 234–51. doi:10.2174/138920207781386960. PMC 2430684. PMID 18645596.
545. Bustin SA (août 2002). "Quantification de l'ARNm à l'aide de la PCR à transcription inverse en temps réel (RT-PCR) : tendances et problèmes". *J. Mol. Endocrinol.* **29** (1) : 23–39. doi:10.1677/jme.0.0290023. PMID 12200227.
546. Souazé F, Ntodou-Thomé A, Tran CY, Rostène W, Forgez P (août 1996). "RT-PCR quantitative : limites et précision". *BioTechniques*. **21** (2) : 280-5. doi:10.2144/96212rr01. PMID 8862813.
547. Wong ML, Medrano JF (juillet 2005). "PCR en temps réel pour la quantification de l'ARNm". *BioTechniques*. **39** (1) : 75-85. doi:10.2144/05391rv01. PMID 16060372.
548. Li, Lang ; He, Jian-an ; Wang, Wei ; Xia, Yun ; Song, Li ; Chen, Ze-han ; Zuo, Hang-zhi ; Tan, Xuan-Ping ; Ho, Aaron Ho-Pui ; Kong, Siu-Kai ; Loo, Jacky Fong-Chuen (2019-08-01). "Développement d'un test de PCR quantitative

- à transcription inverse directe (dirRT-qPCR) pour le diagnostic clinique du Zika". *Journal international des maladies infectieuses*. **85** : 167-174. doi:10.1016/j.ijid.2019.06.007. ISSN 1201-9712. PMID 31202908.
549. Bachofen, Claudia ; Willoughby, Kim ; Zadoks, Ruth ; Burr, Paul ; Mellor, Dominic ; Russell, George C. (2013-06-01). "La RT-PCR directe à partir du sérum permet une analyse phylogénétique rapide et rentable du virus de la diarrhée virale bovine". *Journal of Virological Methods*. **190** (1) : 1–3. doi:10.1016/j.jviromet.2013.03.015. ISSN 0166-0934. PMID 23541784.
550. Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Mills AG, Gorn V, Singer MJ, Reed MW (octobre 2000). "Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay : comparison of endpoint and real-time methods". *Anal. Biochem*. **285** (2) : 194–204. doi:10.1006/abio.2000.4753. PMID 11017702. S2CID 258810.
551. Rajeevan MS, Vernon SD, Taysavang N, Unger ER (février 2001). "Validation des profils d'expression génétique basés sur des matrices par RT-PCR (cinétique) en temps réel". *J Mol Diagn*. **3** (1) : 26–31. doi:10.1016/S1525-1578(10)60646-0. PMC 1907344. PMID 11227069.

552. Stone-Marschat M, Carville A, Skowronek A, Laegreid WW (mars 1994). "Détection du virus de la peste équine par transcription inverse-PCR". *J. Clin. Microbiol.* **32** (3) : 697–700. doi:10.1128/JCM.32.3.697-700.1994. PMC 263109. PMID 8195381.
553. Minton AP (avril 1995). "Le confinement comme déterminant de la structure et de la réactivité macromoléculaires. II. Effets des interactions faiblement attractives entre les macrosolutés confinés et les structures de confinement". *Biophys. J.* **68** (4) : 1311-22. Bibcode:1995BpJ....68.1311M. doi:10.1016/S0006-3495(95)80304-8. PMC 1282026. PMID 7787020.
554. Hsu M, Yu EY, Sprušanský O, McEachern MJ, Lue NF (juillet 2012). "L'analyse fonctionnelle de l'unique homologue de Est1/Ebs1 chez *Kluyveromyces lactis* révèle des rôles à la fois dans la maintenance des télomères et la résistance à la rapamycine". *Eukaryotic Cell.* **11** (7) : 932–42. doi:10.1128/EC.05319-11. PMC 3416500. PMID 22544908.
555. Schmittgen TD, Livak KJ (2008). "Analyse des données de PCR en temps réel par la méthode comparative C(T)". *Nat Protoc.* **3** (6) : 1101–8. doi:10.1038/nprot.2008.73. PMID 18546601.

556. Tang, Yi-Wei (2012-09-13), Techniques avancées en microbiologie diagnostique, ISBN 978-1461439691
557. Gause WC, Adamovicz J (juin 1994). "L'utilisation de la PCR pour quantifier l'expression des gènes". PCR Methods Appl. **3** (6) : S123–35. doi:10.1101/gr.3.6.s123. PMID 7522722.
558. Tsai SJ, Wiltbank MC (novembre 1996). "Quantification de l'ARNm à l'aide de la RT-PCR compétitive avec la méthodologie de la courbe standard". BioTechniques. **21**(5) : 862-6. doi:10.2144/96215st04. PMID 8922627.
559. Ramakers C, Ruijter JM, Deprez RH, Moorman AF (mars 2003). "Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data". Neurosci. Lett. **339** (1) : 62–6. doi:10.1016/S0304-3940(02)01423-4. PMID 12618301.
560. Halford WP, Falco VC, Gebhardt BM, Carr DJ (janvier 1999). "The inherent quantitative capacity of the reverse transcription-polymerase chain reaction". Anal. Biochem. **266** (2) : 181–91. doi:10.1006/abio.1998.2913. PMID 9888974.
561. King N (2010). "L'utilisation de la RT-PCR quantitative comparative pour étudier l'effet de l'incubation de la cystéine sur l'expression de GPx1 dans les cardiomyocytes

- fraîchement isolés". *Protocoles de RT-PCR. Methods in Molecular Biology.* **630**. pp. 215-32. doi:10.1007/978-1-60761-629-0_14. ISBN 978-1-60761-628-3. PMID 20301000.
562. Chang JT, Chen IH, Liao CT, et al. (novembre 2002). "A reverse transcription comparative real-time PCR method for quantitative detection of angiogenic growth factors in head and neck cancer patients". *Clin. Biochem.* **35** (8) : 591–6. doi:10.1016/S0009-9120(02)00403-4. PMID 12498992.
563. Holden, M. J. ; Wang, L. (2008). "PCR quantitative en temps réel : Fluorescent Probe Options and Issues". *Standardization and Quality Assurance in Fluorescence Measurements II. Springer Series on Fluorescence.* **6**. p. 489. doi:10.1007/4243_2008_046. ISBN 978-3-540-70570-3.
564. Yang DK, Kweon CH, Kim BH, et al. (décembre 2004). " TaqMan reverse transcription polymerase chain reaction for the detection of Japanese encephalitis virus ". *J. Vet. Sci.* **5** (4) : 345–51. doi:10.4142/jvs.2004.5.4.345. PMID 15613819.
565. Sharkey FH, Banat IM, Marchant R (juillet 2004). "Détection et quantification de l'expression génétique en bactériologie environnementale". *Appl. Environ. Microbiol.* **70** (7) : 3795–806. doi:10.1128/AEM.70.7.3795-3806.2004. PMC 444812. PMID 15240248.

566. Ratcliff RM, Chang G, Kok T, Sloots TP (juillet 2007). "Diagnostic moléculaire des virus médicaux". *Curr Issues Mol Biol.* **9** (2) : 87-102. PMID 17489437.
567. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE (octobre 2000). "Multiplex PCR : optimization and application in diagnostic virology". *Clin. Microbiol. Rev.* **13** (4) : 559–70. doi:10.1128/cmr.13.4.559-570.2000. PMC 88949. PMID 11023957.
568. Bustin SA (juillet 2005). "Real-time, fluorescence-based quantitative PCR : a snapshot of current procedures and preferences". *Expert Rev. Mol. Diagn.* **5**(4) : 493–8. doi:10.1586/14737159.5.4.493. PMID 16013967. S2CID 1833811.
569. Lin L, Chamberlain L, Zhu LJ, Green MR (février 2012). "Analyse de l'activation de la transcription dirigée par Gal4 en utilisant des mutants Tra1 sélectivement défectueux pour l'interaction avec Gal4". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109** (6) : 1997-2002. Bibcode:2012PNAS. 109.1997L. doi:10.1073/pnas.1116340109. PMC 3277556. PMID 22308403.
570. Torres RJ, Garcia MG, Puig JG (décembre 2012). "Portage et diagnostic prénatal de la maladie de Lesch-Nyhan due à un défaut de régulation de l'expression du gène HPRT

- ". Gene. **511** (2) : 306–7. doi:10.1016/j.gene.2012.09.121. PMID 23046577.
571. Xi L, Nicastrì DG, El-Hefnawy T, Hughes SJ, Luketich JD, Godfrey TE (juillet 2007). "Optimal markers for real-time quantitative reverse transcription PCR detection of circulating tumor cells from melanoma, breast, colon, esophageal, head and neck, and lung cancers". Clin. Chem. **53** (7) : 1206–15. doi:10.1373/clinchem.2006.081828. PMID 17525108.
572. "Coronavirus : il viaggio dei test". Istituto Superiore di Sanità.
573. Shiao YH (décembre 2003). "A new reverse transcription-polymerase chain reaction method for accurate quantification". BMC Biotechnol. **3** : 22. doi:10.1186/1472-6750-3-22. PMC 317330. PMID 14664723.
574. Gettemy JM, Ma B, Alic M, Gold MH (février 1998). "Reverse transcription-PCR analysis of the regulation of the manganese peroxidase gene family". Appl. Environ. Microbiol. **64** (2) : 569–74. doi:10.1128/AEM.64.2.569-574.1998. PMC 106084. PMID 9464395.
575. Martel, Fatima ; Dirk Grundemann ; Edgar Schöig (2002-03-31). "Une méthode simple pour l'élimination des résultats faussement positifs dans la RT-PCR". J Biochem

- Mol Biol. **35** (2) : 248–250.
doi:10.5483/BMBRep.2002.35.2.248. PMID 12297038.
576. "High Transcript Tools OneStep Kit". Biotoools.
Archivé de l'original le 20 mai 2013. Consulté le 12 décembre 2012.
577. Degen, Hans-Joachim ; Deufel, Annette ; Eisel, Doris ; Grünewald-Janho, Stefanie ; Keesey, Joe (2006). PCR Applications Manual (PDF) (3 ed.). Roche Diagnostics. pp. 135-137.
578. "Protocole de RT-PCR en deux étapes" (PDF). MIT.
Consulté le 12 décembre 2012.
579. "www.microarrays.ca" (PDF).
580. Bustin SA (avril 2010). "Why the need for qPCR publication guidelines?--The case for MIQE". *Methods*. **50** (4) : 217–26. doi:10.1016/j.ymeth.2009.12.006. PMID 20025972.
581. Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. (avril 2009). "The MIQE guidelines : minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments". *Clin. Chem.* **55** (4) : 611–22. doi:10.1373/clinchem.2008.112797. PMID 19246619.

FOR AUTHOR USE ONLY

FOR AUTHOR USE ONLY

**More
Books!**



yes
I want morebooks!

Buy your books fast and straightforward online - at one of world's fastest growing online book stores! Environmentally sound due to Print-on-Demand technologies.

Buy your books online at
www.morebooks.shop

Achetez vos livres en ligne, vite et bien, sur l'une des librairies en ligne les plus performantes au monde!

En protégeant nos ressources et notre environnement grâce à l'impression à la demande.

La librairie en ligne pour acheter plus vite
www.morebooks.shop

KS OmniScriptum Publishing
Brivibas gatve 197
LV-1039 Riga, Latvia
Telefax: +371 686 20455

info@omniscryptum.com
www.omniscryptum.com



FOR AUTHOR USE ONLY